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

世界华人消化杂志®

WORLD CHINESE JOURNAL OF DIGESTOLOGY

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2014 年 4 月 8 日　　第 22 卷　　第 10 期　(Volume 22 Number 10)



10/2014

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

ISSN 1009-3079
10>
9 771009 307056

世界华人消化杂志
www.wjgnet.com
二零一四年四月八日
第二十二卷
第十期

世界华人消化杂志®

编辑委员会

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

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

总顾问

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

名誉主编

潘伯荣教授

主编

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

编委

消化内科学

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

消化外科学

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

世界华人消化杂志®

编辑委员会

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

消化感染病学

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

消化中医药学

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

消化肿瘤学

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

消化影像学

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

消化内镜及介入治疗学

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

消化中西医结合学

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

消化基础研究

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

消化病理学

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

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目　次 ●　2014 年 4 月 8 日　第 22 卷　第 10 期　(总第450期)

述　评

1345 七味白术散加减治疗小儿腹泻的临床应用进展
彭昕欣, 舒兰, 陶洪, 曹蓉, 谭周进

临床研究

1351 磁共振在克罗恩病随访中的临床对比
李红, 杨晓春, 唐文, 庞红艳, 沈钧康, 龚建平

文献综述

1359 正加速度对大鼠实验性胃溃疡愈合质量影响的研究进展
赵锟, 杨春敏, 陈英, 李静, 唐合兰

1365 胃癌前病变及早期胃癌诊治的进展
张春霞, 董杰

1373 $CD4^+CD25^+$调节性T细胞与不同HBV感染状态的研究进展
吕红, 潘宗琴, 胡世芸, 邱隆敏

1378 非酒精性脂肪肝病治疗的研究进展
王晓青, 琚坚, 胡敏敏, 高璠, 闫福媛

研究快报

1384 健脾活血方对大鼠胃癌前病变模型CD44V6、MLH1、MSH2表达的影响
封慧, 叶柏, 朱萱萱, 严晶, 周杰

1391 曲古菌素A作用胃癌细胞SGC-7901后GDF-15的表达及其在胃腺癌组织中的表达
李云龙, 崔武, 李晓林, 王浩, 田瑜, 曹志刚, 佟柏峰, 邹小明

1396 参杖颗粒含药血清对HSC增殖及α-SMA表达的抑制效应
段妍君, 殷妮娜, 高清华, 万莹, 马维平, 张昌文, 吕文亮

1402 大鼠胆管梗阻后肝脏纤维化相关细胞因子的变化
孙珅, 张辰, 秦鸣放, 邹富胜, 刘大全, 李东华, 元海成

1409 苦参素逆转人肝癌细胞株HepG2/ADM多药耐药的作用
王炜, 黄赞松, 周喜汉, 覃月秋

1417 改良胆胰转流术对GK大鼠血糖和血脂的影响
林春忠, 徐常国, 冯苏, 张斌, 翁山耕

1423 5'-Aza-CdR对HT-29和LoVo结直肠癌细胞株中*CDX2*基因甲基化状态、mRNA表达及蛋白表达的影响
许春伟, 葛畅, 王鲁平, 方园, 张玉萍

1431 胃转流术对2型糖尿病大鼠胰腺胰岛素抵抗的影响
温雨晴, 谭迎春, 吕墩涛, 张蓬波, 任泽强

1436 A20与EGFP共表达腺病毒载体的构建及转染THP-1细胞
郭永红, 陈琳, 何瑜, 周云, 范超, 张颖, 纪光晰, 秦源, 张凌云, 贾战生

临床经验

1442 新疆哈萨克族食管癌风险的预测
李婧, 秦江梅

1446 FOLFOX4与FLP方案治疗食管胃交界部癌和远端胃癌的疗效比较
陆圣雄, 张耿, 胡少敏

1451 超声测定内脏脂肪厚度与非酒精性脂肪性肝病的关系
蔡怀阳, 李运泽, 李莉, 涂强

1455 CT引导下^{125}I粒子植入联合GP方案治疗局部进展期胰腺癌
杨文魁, 陈勇, 王磊, 吴晓东

1460 护理干预对大肠癌腹会阴联合直肠癌根治术患者精神和心理健康的影响
吴俊晓, 陈英

1465 经内镜治疗急性非静脉曲张性上消化道出血的应用价值
田书信, 陈卫刚, 黎永军, 陈世耀, 阮开学, 尚国臣, 郑勇

1471 受试者工作曲线评价盆底表面肌电对功能性肛门直肠痛的诊断价值
薛雅红, 丁曙晴, 丁义江, 王静, 李敏, 曹建葆, 周惠芬

1475 克拉霉素+甲硝唑+奥美拉唑三联疗法治疗小儿幽门螺杆菌阳性消化系溃疡的效果
郭鲁闽, 许韫, 于群

1479 皮下注射胰岛素联合口服二甲双胍治疗儿童2型糖尿病的回顾性分析
许航燕, 斯海燕

病例报告	1484 食管结核1例 杨正德, 张丽艳, 付国静, 魏艳红, 李心红
附　　录	I－V 《世界华人消化杂志》投稿须知 I 2014年国内国际会议预告
志　　谢	I 志谢世界华人消化杂志编委
消　　息	1350 中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》影响因子0.873 1372 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版) 1401 《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号 1430 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊 1441 《世界华人消化杂志》参考文献要求
封面故事	《世界华人消化杂志》编委, 谭周进, 教授, 410208, 湖南省长沙市, 湖南中医药大学
本期责任人	编务 车新鑫; 送审编辑 鲁亚静, 郭鹏; 组版编辑 鲁亚静; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 郭鹏; 形式规范审核编辑部主任 田滢; 最终清样审核总编 马连生

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平　题写封面刊名
陈可冀　题写版权刊名
(旬刊)

创　刊 1993-01-15
改　刊 1998-01-25
出　版 2014-04-08
原刊名 新消化病学杂志

期刊名称
世界华人消化杂志

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

主编
程英升, 教授, 200233, 上海市, 上海交通大学附属第六人民医院放射科
党双锁, 教授, 710004, 陕西省西安市, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科
江学良, 教授, 250031, 山东省济南市, 中国人民解放军济南军区总医院消化科
刘连新, 教授, 150001, 黑龙江省哈尔滨市, 哈尔滨医科大学第一临床医学院普外科
刘占举, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院消化内科
吕宾, 教授, 310006, 浙江省杭州市, 浙江中医药大学附属医院(浙江省中医院)消化科
马大烈, 教授, 200433, 上海市, 中国人民解放军第二军医大学附属长海医院病理科
王俊平, 教授, 030001, 山西省太原市, 山西省人民医院消化科
王小众, 教授, 350001, 福建省福州市, 福建医科大学附属协和医院消化内科
姚登福, 教授, 226001, 江苏省南通市, 南通大学附属医院临床医学研究中心
张宗明, 教授, 100016, 北京市, 清华大学第一附属医院消化医学中心

编辑部
田滢, 主任
《世界华人消化杂志》编辑部
100025, 北京市朝阳区东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室
电话: 010-59080035　手机: 13901166126
传真: 010-85381893
E-mail: wcjd@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com

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

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

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

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

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

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

定价
每期90.67元 全年36期3264.00元

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

World Chinese Journal of Digestology

April 2014 Contents in Brief Volume 22 Number 10

EDITORIAL

1345 Clinical application of addition and subtraction of Qiweibaizhusan for treatment of infantile diarrhea
Peng XX, Shu L, Tao H, Cao R, Tan ZJ

CLINICAL RESEARCH

1351 Magnetic resonance imaging for follow-up of Crohn's disease
Li H, Yang XC, Tang W, Pang HY, Shen JK, Gong JP

REVIEW

1359 Progress in understanding effects of positive acceleration on quality of ulcer healing in rats with experimental gastric ulcer
Zhao K, Yang CM, Chen Y, Li J, Tang HL

1365 Progress in diagnosis and treatment of precancerous lesions and early gastric cancer
Zhang CX, Dong J

1373 $CD4^+CD25^+$ regulatory T cells and different states of HBV infection
Lv H, Pan ZQ, Hu SY, Qiu LM

1378 Progress in treatment of non-alcoholic fatty liver disease
Wang XQ, Ju J, Hu MM, Gao F, Yan FY

RAPID COMMUNICATION

1384 Effect of Jianpi Huoxue decoction on CD44V6, MLH1 and MSH2 expression in precancerous lesions of gastric cancer in rats
Feng H, Ye B, Zhu XX, Yan J, Zhou J

1391 Expression of GDF-15 in trichostatin A-treated gastric cancer SGC-7901 cells and in gastric adenocarcinoma tissues
Li YL, Cui W, Li XL, Wang H, Tian Y, Cao ZG, Tong BF, Zou XM

1396 Shenzhang granules inhibit cell proliferation and reduce α-SMA expression in hepatic stellate cells
Duan YJ, Yin NN, Gao QH, Wan Y, Ma WP, Zhang CW, Lv WL

1402 Changes in expression of hepatic fibrosis related cell factors in rats with bile duct obstruction
Sun S, Zhang C, Qin MF, Zou FS, Liu DQ, Li DH, Yuan HC

1409 Oxymatrine reverses multidrug resistance of human hepatocellular carcinoma HepG2/ADM cells
Wang W, Huang ZS, Zhou XH, Qin YQ

1417 A new biliopancreatic diversion surgery decreases plasma glucose and lipids in Goto-Kakizaki rats
Lin CZ, Xu CG, Feng S, Zhang B, Weng SG

1423 Effect of 5'-Aza-2'-deoxycytidine on methylation, mRNA and protein expression of *CDX2* gene in colorectal cancer HT-29 and LoVo cells
Xu CW, Ge C, Wang LP, Fang Y, Zhang YP

1431 Influence of gastric bypass on pancreatic insulin resistance in type 2 diabetic rats
Wen YQ, Tan YC, Lv DT, Zhang PB, Ren ZQ

1436 Construction and identification of a recombinant adenoviral vector expressing A2 and EGFP
Guo YH, Chen L, He Y, Zhou Y, Fan C, Zhang Y, Ji GX, Qin Y, Zhang LY, Jia ZS

CLINICAL PRACTICE

1442 Prediction of risk for esophageal cancer in Kazak people in Xinjiang
Li J, Qin JM

1446 Clinical effects of FOLFOX4 regimen versus FLP regimen for patients with gastroesophageal junction cancer or distal gastric cancer
Lu SX, Zhang G, Hu SM

1451 Relationship between visceral fat thickness measured by ultrasonography and nonalcoholic fatty liver disease
Cai HY, Li YZ, Li L, Tu Q

1455 CT-guided ^{125}I seed interstitial implantation combined with gemcitabine/cisplatin chemotherapy for treatment of locally advanced pancreatic carcinoma
Yang WK, Chen Y, Wang L, Wu XD

1460 Effect of nursing intervention on mental and physical health in patients with rectal cancer after Miles operation
Wu JX, Chen Y

1465 Endoscopic treatment of acute non-variceal upper gastrointestinal bleeding
Tian SX, Chen WG, Li YJ, Chen SY, Ruan KX, Shang GC, Zheng Y

1471 Diagnostic value of pelvic floor surface electromyography in functional anorectal pain
Xue YH, Ding SQ, Ding YJ, Wang J, Li M, Cao JB, Zhou HF

1475 Clarithromycin-based triple therapy for treatment of peptic ulcer in *Helicobacter pylori*-positive children
Guo LM, Xu Y, Yu Q

1479 Clinical effect of subcutaneous insulin injection combined with metformin for type 2 diabetes mellitus in children
Xu HY, Si HY

CASE REPORT	1484 Esophageal tuberculosis: A case report and literature review *Yang ZD, Zhang LY, Fu GJ, Wei YH, Li XH*
APPENDIX	I – V Instructions to authors of *World Chinese Journal of Digestology* I Meeting events calendar in 2014
ACKNOWLEDGMENT	I Acknowledgments to reviewers of *World Chinese Journal of Digestology*
COVER	Editorial Board Member of *World Chinese Journal of Digestology*, Zhou-Jin Tan, Professor, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, Hunan Province, China
RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE	Assistant Editor: *Xin-Xin Che* Review Editor: *Ya-Jing Lu, Peng Guo* Electronic Page Editor: *Ya-Jing Lu* English Language Editor: *Tian-Qi Wang* Editor-in-Charge: *Peng Guo* Proof Editor: *Ying Tian* Layout Editor: *Lian-Sheng Ma*

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

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993
Renamed on January 25, 1998
Publication date April 8, 2014

NAME OF JOURNAL
World Chinese Journal of Digestology

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

EDITOR-IN-CHIEF
Ying-Sheng Cheng, Professor, Department of Radiology, Sixth People's Hospital of Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200233, China
Shuang-Suo Dang, Professor, Department of Infectious Diseases, the Second Affiliated Hospital of Medical School of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, Shaanxi Province, China
Xue-Liang Jiang, Professor, Department of Gastroenterology, General Hospital of Jinan Military Command of Chinese PLA, Jinan 250031, Shandong Province, China
Lian-Xin Liu, Professor, Department of General Surgery, the First Clinical Medical College of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China
Zhan-Ju Liu, Professor, Department of Gastroenterology, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China
Bin Lv, Professor, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hang-zhou 310006, Zhejiang Province, China
Da-Lie Ma, Professor, Department of Pathology, Changhai Hospital, the Second Military Medical University of Chinese PLA, Shanghai 200433, China
Jun-Ping Wang, Professor, Department of Gastroenterology, People's Hospital of Shanxi, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China
Xiao-Zhong Wang, Professor, Department of Gastroenterology, Union Hospital, Fujian Medical University, Fuzhou 350001, Fujian Province, China
Deng-Fu Yao, Professor, Clinical Research Center, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China
Zong-Ming Zhang, Professor, Department of General Surgery, Digestive Medical Center, the First Affiliated Hospital, School of Medicine, Tsinghua University, Beijing 100016, China

EDITORIAL OFFICE
Ying Tian, Director
World Chinese Journal of Digestology
Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China
Telephone: +86-10-59080035 13901166126
Fax: +86-10-85381893
E-mail: wcjd@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com

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

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

PRINT SUBSCRIPTION
RMB 90.67 Yuan for each issue
RMB 3264 Yuan for one year

COPYRIGHT
© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved. Articles published by this Open Access journal are distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-commercial License, which permits use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited, the use is non commercial and is otherwise in compliance with the license.

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

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

世界华人消化杂志 2014年4月8日; 22(10): 1345-1350
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

述评 EDITORIAL

七味白术散加减治疗小儿腹泻的临床应用进展

彭昕欣, 舒 兰, 陶 洪, 曹 蓉, 谭周进

彭昕欣, 舒兰, 陶洪, 湖南中医药大学第一附属医院 湖南省长沙市 410007
曹蓉, 谭周进, 湖南中医药大学 湖南省长沙市 410208
谭周进, 教授, 博士生导师, 主要从事中医药微生态学的研究.
国家自然科学基金资助项目, No. 81173214
作者贡献分布: 本文综述由彭昕欣、陶洪及曹蓉完成; 谭周进与舒兰审校.
通讯作者: 谭周进, 教授, 410208, 湖南省长沙市含浦科教园区象嘴路, 湖南中医药大学. tanzhjin@sohu.com
电话: 0731-85381154
收稿日期: 2014-01-15 修回日期: 2014-02-20
接受日期: 2014-02-28 在线出版日期: 2014-04-08

Clinical application of addition and subtraction of Qiweibaizhusan for treatment of infantile diarrhea

Xin-Xin Peng, Lan Shu, Hong Tao, Rong Cao, Zhou-Jin Tan

Xin-Xin Peng, Lan Shu, Hong Tao, the First Affiliated Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410007, Hunan Province, China
Rong Cao, Zhou-Jin Tan, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, Hunan Province, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81173214
Correspondence to: Zhou-Jin Tan, Professor, Hunan University of Chinese Medicine, Xiangzui Road, Changsha 410208, Hunan Province, China. tanzhjin@sohu.com
Received: 2014-01-15 Revised: 2014-02-20
Accepted: 2014-02-28 Published online: 2014-04-08

Abstract
Qiweibaizhusan is a widely used pediatric recipe in recent years, showing an excellent effect in the treatment of infantile diarrhea. However, there have been very few reports on the relevant experience with its addition and subtraction. This article tries to summarize the experience of ancient and modern pediatric physicians on adding and subtracting Qiweibaizhusan in clinical practice for curing infantile diarrhea, with an aim to provide a valuable reference for clinical medication of Qiweibaizhusan.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Qiweibaizhusan; Infantile diarrhea; Clinical application; Chinese medicine; Digestive diseases

Peng XX, Shu L, Tao H, Cao R, Tan ZJ. Clinical application of addition and subtraction of Qiweibaizhusan for treatment of infantile diarrhea. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(10): 1345-1350 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1345.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i10.1345

摘要
七味白术散是治疗儿科腹泻的验方, 对多种因素引起的小儿腹泻具有良好的疗效, 已被广泛应用于临床, 但相关经验总结报道甚少. 本文从七味白术散立方依据、古今儿科医家的临床应用及加减运用用药心得等方面进行归纳总结, 为七味白术散在小儿腹泻临床治疗实践中提供经验借鉴.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 七味白术散; 小儿腹泻; 临床应用; 中药; 脾胃病

核心提示: 七味白术散对不同病因引起的腹泻的治疗效果是不同的, 医者根据临床经验进行合理加减运用, 对于灵活应用七味白术散治疗相关疾病具有最实际的意义.

彭昕欣, 舒兰, 陶洪, 曹蓉, 谭周进. 七味白术散加减治疗小儿腹泻的临床应用进展. 世界华人消化杂志 2014; 22(10): 1345-1350
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1345.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i10.1345

0 引言
七味白术散是宋代钱乙所创, 由人参、炒白术、茯苓、甘草、藿香、木香、葛根七味药物组成, 用于治疗小儿腹泻具有较高的临床效价, 对之进行随症加减, 可以达到得心应手的效果[1]. 本文对该方加减用于临床的情况进行论述, 为该方的进一步应用提供依据.

1 七味白术散立方依据
1.1 中医理论依据 从钱氏所述的七味白术散来

■背景资料
七味白术散是宋代钱乙所创用于小儿腹泻的良方、验方, 立方严谨, 对治疗多种因素引起的腹泻具有良好的效果. 中医中药是中华民族的瑰宝, 医者在祖先的基础上发扬光大, 结合自身的应用经验, 进行了加减运用, 为经典方的针对性应用提供了宝贵财富. 本文就这方面进行综述.

■同行评议者
牛英才, 研究员, 齐齐哈尔医学院医药科学研究所

■研发前沿
七味白术散对小儿迁延性腹泻、霉菌性肠炎、溃疡性结肠炎、轮状病毒腹泻等多种肠道疾病有很好的治疗效果. 学者们从免疫学角度、肠道微生态角度对其疗效机制进行了研究, 为七味白术散的立方提供了现代实验依据. 医者们根据自己的经验, 针对不同腹泻进行加减运用, 为七味白术散的灵活配伍提供宝贵的临床经验, 发扬祖先的内涵.

说, 使用的中药味数不多, 但是在临床上能够达到很好的效果, 非常符合小儿腹泻病机的本质. 该方中的人参、茯苓、白术、甘草是四君子汤所用药物, 可以补益脾胃, 在四君子汤的基础上添加木香、藿香, 可以芳香醒脾、化湿行滞, 葛根可以鼓舞胃气以止泻, 藿香、葛根具有“有表则治表, 无表则治里”的功效. 七味白术散就可以达到中正平和、不偏不倚、补中有泻、寓泻于补、泻之即所以补之、相反相成、深得补法的效果[2]. 七味白术散在临床上应用, 可谓余暑可祛、微寒可除, 湿邪去则脾胃可安, 升降调和, 则吐泻之证可愈[3,4]. 是一个立方非常严谨、配伍精当的良方、验方.

历代医家都认为七味白术散是治疗小儿腹泻的经典方剂[5]. 明·万全《幼科发挥》云: “白术散乃治泄作渴之神方”. 清·陆以滑《冷庐医话》中记载: “七味白术散, 治小儿久泻脾虚最灵”. 清代·陈复正在《幼幼集成》中云: “幼科之方, 独推此为第一, 后贤宜留意焉[6] ”. 近代儿科医家王伯岳认为本方擅长治疗长期腹泻、损伤脾胃、虚实夹杂之证.

1.2 现代药理依据 七味白术散是一个经典的复方, 现代药理研究发现, 本方中含有各种复杂的中药化学成分, 具有丰富的功能, 临床效价较高. 白术主要含有挥发油、内酯类、多糖、氨基酸、微量元素等成分[7], 其中的某些成分能够抑制大肠杆菌, 但有效成分对双歧杆菌、乳杆菌却有明显的增殖作用[8-10], 可见, 白术对肠道微生物有重要的调节作用. 茯苓主要成分为茯苓三萜和多糖类化合物, 还包括少量蛋白质和一些含量极微的化合物[11]. 茯苓多糖能促进肠道有益菌的增殖, 对肠道正常菌群有促生作用[12,13]. 人参的主要有效成分有人参皂苷和多糖, 还包括一些挥发性成分, 有机酸及其酯、酶类、蛋白质、多肽类、木质素、甾醇及其苷, 含氮化合物以及维生素类等[14,15]. 人参中的水溶性蛋白和人参炔醇对绿脓杆菌、金黄色葡萄球菌、沙门氏菌和红色毛癣菌等肠道菌具有直接的抑制作用[15,16], 皂苷类可通过提高胃肠道免疫力来间接增强抗细菌和病毒的能力[17]. 藿香的挥发油成分主要为广藿香醇、α-、β-和γ-广藿香萜烯、广藿香萜醇、广藿香酮、丁香烯等[18]; 水溶性成分主要有黄酮类和糖苷类等一些物质[19,20]. 藿香提取物具有良好的抗细菌和真菌能力, 如大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、志贺菌等一些常见的肠道菌群[21,22]. 刘晓蓉等[23]研究明确了藿香抑菌活性主要存在于挥发油成分中. 木香其有效成分主要为萜类, 还有生物碱、蒽醌、黄酮等. 木香提取物也能够表现出一定的抑菌作用, 其挥发油成分[24]、三氯甲烷提取物[25]、醇提取均对链球菌、金黄色葡萄球菌和霉菌表现出有抑菌效果, 木香的抗菌成分很可能为萜类物质. 葛根中含有丰富的氨基酸和矿物质[26], 其他化学物质还包括葛根苷、皂角苷、三萜类化合物、生物碱、异黄酮类(葛根素、大豆苷元和大豆苷)等物质[27]. 相关研究表明, 葛根粗多糖[28]和葛根素[29]对大肠杆菌、枯草芽孢杆菌和金黄色葡萄球菌均表现出一定的抑制作用. 甘草主要化学成分为: 三萜皂苷类、多糖类、香豆素类、生物碱类、黄酮类和氨基酸等[30]. 董永军等[31]研究表明甘草多糖能够促进肠道优势菌群的生长. 总之, 七味白术散通过调理肠道微生物达到疗效具有很强的理论和实验依据.

七味白术散当中, 各味中药所含上述多种成分同时对肠道微生物具有极其微妙的作用[32]. 七味白术散含有丰富的多糖、黄酮、异黄酮、甾醇、氨基酸以及酪氨酸酶等多种活性成分, 这些物质既对有害菌群起到了杀菌和抑菌作用, 又对有益菌群的增殖起到了促进作用, 在调节消化道微生物区系的平衡上发挥着重要的作用[33,34]. 因此, 灵活运用七味白术散调节肠道微生态, 治疗小儿腹泻, 临床意义非凡.

2 小儿腹泻的中西医病因病机

小儿腹泻属于中医“泄泻”范畴, 中医认为“夫泄泻者, 注下之症也, 盖大肠为传送之官, 脾胃为水谷之海, 或为饮食生冷之所伤, 或为暑湿风寒之所感, 脾胃停滞, 以至阑门清浊不分, 发注于下, 而为泄泻也[35]”.

小儿腹泻是一组由多病原、多因素引起的以大便次数增多和大便性状改变为特点的小儿常见病, 其中迁延性腹泻病程在2 wk-2 mo, 病程在2 mo以上的为慢性腹泻[36]. 中医药在治疗迁延性腹泻中发挥着重要的作用[37]. 其中最主要的原因是由于肠道正常菌群大量减少, 肠道失去了厌氧菌的屏障和拮抗作用, 为病原菌和条件致病菌趁虚而入进行侵袭与定植提供了便利, 从而促使腹泻的发生.

西医认为, 腹泻的病理基础是肠道在感染或非感染因素刺激下, 黏膜发炎、水肿、肠分泌及

运动功能亢进. 有研究表明, 乳糖酶缺乏或乳糖不耐受患者使用乳糖时, 腹泻发生率高[38]. Barrett等[39]提出, 短链碳水化合物因不能被小肠吸收而直接进入大肠, 容易引起腹泻. 短期剧烈腹泻可引起脱水和电解质紊乱, 危及生命; 持久腹泻则严重影响机体的消化吸收功能[40], 消耗患儿体内储存的营养物质, 阻碍其生长发育, 且极易变发其他疾病, 对小儿健康产生严重的影响[41,42]. 研究腹泻的治疗方案具有非常重要的意义.

3 七味白术散对不同腹泻的治疗效果

七味白术散的加减运用不但有效治愈了非感染性腹泻, 对感染性腹泻也能收到满意的疗效, 并能缩短疗程, 使许多患儿避免了因滥用抗生素导致的不良影响[43].

七味白术散对抗生素相关性腹泻(antibiotic associated diarrhea, AAD)疗效确切[44]. 调查研究显示, 门诊儿童患者该病的发生率达6.2%[45]. AAD确实存在肠道微生态失调[45], 这主要是由于抗生素的使用扰乱了肠道菌群的生态平衡而引起的[46,47], 肠道微生态平衡失调是引起抗生素相关性腹泻的基础和根本原因[48]. 肠道微生物群落实际上参与了人体的生理、病理和药理(毒理)过程, 形成了人类代谢网络中重要的组成部分[49,50]. 而七味白术散正在增殖肠内有益菌, 抑制有害菌生长, 调节消化道微生物区系的平衡上发挥着重要的作用[33]. 因此, 合理加减运用七味白术散于菌群失调腹泻, 临床意义重大.

秋季腹泻主要是由人轮状病毒(human rotavirus, HRV)感染所引起的腹泻病, 一般在秋季流行, 也是婴幼儿主要的感染性腹泻病之一[51]. HRV侵入肠道后, 在小肠绒毛顶端的柱状上皮细胞复制, 使细胞发生变性和坏死, 微毛肿胀、不规则和变短, 受累肠黏膜上皮细胞脱落, 致使水分、电解质吸收受损而发生腹泻[52]. 七味白术散从制方意义上看, 正与秋季腹泻的病机相吻合, 从其主治诸证, 也与秋季腹泻的主证一致[53]. 七味白术散可以通过提高血清IFN水平来调节HRV感染乳鼠机体免疫功能, 进一步以增强CTL(cytotoxic Tlymphocyte)和NK细胞(natural killer cell)杀伤活性及单核巨噬细胞的抗病毒能力, 达到机体清除HRV的目的[2]. 动物实验研究表明, 七味白术散能降低HRV感染的动物死亡率, 促进小肠黏膜对钠、糖的吸收, 纠正脱水, 促进粪便中HRV抗原消失, 减轻小肠黏膜病变和损伤, 从而对肠黏膜发挥保护作用, 进而维护了小肠的吸收功能[54]. 从免疫学角度阐明了七味白术散防治HRV小儿腹泻的机制.

此外, 研究证明, 七味白术散对小儿迁延性腹泻[55,56]、霉菌性肠炎[57]、溃疡性结肠炎[58]等多种肠道疾病有很好的治疗效果. 简而言之, 七味白术散对上述各型腹泻效果明显, 疗效肯定, 值得进一步研究和临床应用.

4 七味白术散加减的临床应用

七味白术散并不是适用于所有类型泄泻, 他的运用仍需辨证论治. 诸多医者在多年的临床实践中积累了宝贵的经验.

张崇泉认为, 泄泻初期以水泻为主的, 湿邪较盛, 属湿邪困脾证, 应该祛湿为先, 宜用七味白术散加苍术、薏苡仁、防风等, 以增其芳燥淡渗, 使其上下分消. 病之中期, 腹泻腹痛并存, 脾虚湿滞, 属湿积化热证, 治当升阳除湿兼以行气, 宜用七味白术散加黄连、厚朴、枳壳等, 以增其清热化湿、行气导滞之功, 并可暂去人参, 先去湿热之邪, 再健脾益气. 病之后期, 脾虚气弱, 中阳不运, 属脾气虚弱证, 当以益气升阳为主, 治宜七味白术散加炮姜、吴茱萸、桔梗等助中焦阳气升腾外达, 使脾胃气机有序升降[59], 为七味白术散治疗这类腹泻提供了很好的加减应用方.

李中梓[60]使用七味白术散加味方的经验来自于李少川等人的七味白术散化裁方. 特点是重用党参, 通常在15 g或以上, 取其健脾燥湿之意; 稍佐干姜以温煦脾阳, 脾阳得复, 脾气得充, 脾运则健, 腹泻可止; 加猪苓、泽泻等渗水利湿之品, 起利小便实大便之作用. 但仍应注意淡渗之法要防阴气之不足. 山楂炒焦, 既涩肠止泻, 又消积导滞, 此乃通因通用之法.

江育仁[61]认为, “脾健不在补贵在运, 而运脾贵在温”, 在七味白术散基础上加用炮姜、高良姜、附片等温阳止泻药, 合用就可以起到运脾益气, 升阳利湿之法. 脾胃得以健运, 正常菌群得以恢复, 所以就可以治愈. 在临床上我们发现, 霉菌性肠炎多有脾阳虚的表现, 所以温阳之药要早用, 应引起重视[58].

李春生[62]就AAD的治疗提出4个原则, 健脾、温中、分利、固涩. 此四者为治疗本病之总则, 至于先后缓急, 须临证随机灵变, 审证治之. 脾气虚弱, 则“虚者补之”重用七味白术散中“参、术、苓、草”的成分. 积虚必寒, 故遵《内经》“寒者温之”之训, 在原方基础上稍

■相关报道

七味白术散能够促进小肠黏膜对钠、糖的吸收, 纠正脱水, 促进粪便中HRV抗原消失, 减轻小肠黏膜病变和损伤, 从而对肠黏膜发挥保护作用, 进而维护了小肠的吸收功能, 降低HRV感染的动物死亡率. 七味白术散还通过增殖肠内有益菌, 抑制有害菌生长, 调节消化系微生物区系的平衡, 为抗生素相关腹泻等多类肠道疾病的疗效发挥重要的作用. 医者们针对不同泄泻进行辨证论治, 加减运用七味白术散治疗腹泻, 在临床实践中提供了宝贵的经验.

■创新盘点

本文通过对七味白术散立方的中医理论依据和现代药理依据进行分析, 综合了七味白术散对腹泻疗效的免疫学机制和现代微生态学机制, 整理了该方加减运用的相关报道, 为该方临床运用具有很好的指导意义.

佐干姜, 以达少火生气之效. 古有“泄泻不利小便, 非其治也”, 若下利较重, 可佐以分利法, 加六一散、车前子等清暑利湿, 以达到分利水湿之效. 脾虚湿盛, 当通利小便, 淡渗湿邪, “利小便而实大便”加用车前子等利水渗湿之品. 若泄泻日久, 当遵“滑者涩之”之法, 选药如马齿苋、赤石脂等.

陈宝义[63]治疗脾虚湿盛, 正虚邪恋的虚实夹杂此类腹泻之时, 多在保留七味白术散原方大部分健脾药物的同时, 加入清热化湿药物, 以达攻补兼施之效; 同时常佐以干姜, 乃寒凉药中佐以温补之品, 以防苦寒伤胃, 又助健脾之功, 寓意较深; 另外, 还常加入防风、白芷等风药, 取其“风能胜湿”, 又可振兴脾气之效. 病程迁延日久, 多损伤脾肾, 脾失运化, 肾不能固, 以致久泻不愈. 陈宝义[64]在治疗时, 多将原方中人参换为党参, 同时加入补骨脂等补肾之品, 以达健脾益肾之效. 值得提出的是陈教授还常使用石榴皮, 该药具有涩肠止泻之效, 若腹泻虚多邪少、以虚为主之时, 用之效若桴鼓.

部分医生认为, 如果脾虚已甚, 中阳不举, 清气下陷, 可以用七味白术散加黄芪来益气健脾, 升阳止泻, 达到非常理想的疗效. 食积伤脾, 运化失职, 清浊不分而泻, 以七味白术散加黄芪、莲米健脾益气, 升举清阳, 加山楂、谷麦芽消食积. 脾气健则食积消, 运化行而清浊分, 泄泻自愈[64].

舒兰[65]教授认为七味白术散的运用应遵于原方立法, 又不拘泥于原方, 临症当灵活加减运用. 自古以来中医就有“少不服参”之说, 意思是对于生机勃勃的小儿来讲, 不宜服用人参. 并有现代药理研究表明长期服用人参或人参制剂, 可出现腹泻等不良反应. 党参具“补脾而不燥, 养胃而不湿”的功效, 且药理研究表明党参能调节胃肠运动. “无湿不成泻”, 苍术与白术相比, 皆有健脾燥湿之功, 但苍术燥湿之力更胜一筹. 故舒兰教授在治疗小儿腹泻之时, 多易人参为党参, 易白术为苍术. 临证当辨寒热, 湿热之证可酌加黄连、连翘, 寒证可稍佐干姜, 呕吐加半夏、砂仁、大腹皮之类. 根据中医“利小便, 实大便”的理论, 加以车前子. 小儿脏腑娇嫩, 暴泻不止, 往往易致脱水而伤阴, 甚者阴损及阳而致阴阳两伤. 因此可酌情加用诃子、石榴皮之类酸涩止泻之品以防其变, 切不可因其虚烦口干而误用苦寒伤其脾胃. 久泻迁延不愈, 脾肾两败时, 当加用四神丸配以肉桂、附片等温补脾肾之品.

5 结论

七味白术散是健脾助运法的代表方[66], 其方简、便、廉、效, 配伍科学, 临床上若能合理应用, 则能有效发挥祖国中医药的优势, 缩短腹泻病程, 造福广大儿童. 目前有关七味白术散疗效机制的阐述主要是从免疫学指标分析入手[67,68], 对七味白术散作用于肠道益生菌调节的具体机制及其在临床上应用研究较少, 希望随着现代生物学技术在中医药临床研究中的应用和研究的进一步深入, 七味白术散机制能更明确, 从而使之加减运用于临床更有得心应手之效. 此外, 希望能对七味白术散与益生菌的配伍研究的兴起奠定一定的理论基础.

6 参考文献

1 王原, 余亮科, 韩秀红, 袁丽艳, 崔颖, 马宁. 七味白术散治疗抗生素相关性腹泻疗效观察. 时珍国医国药 2013; 24: 2351-2452
2 刘舫. 舒兰教授运用白术散治疗秋季腹泻经验. 中医儿科杂志 2010; 6: 3-4
3 赖崇杰. 七味白术散结合敷脐疗法治疗小儿秋季腹泻120例. 现代中西医结合杂志 2010; 19: 3358-3359
4 陈禧. 七味白术散浅议. 光明中医 2012; 27: 2340-2341
5 姜晓, 伍参荣, 田雪飞, 贺双藤, 李杰, 李珊, 蔡锐, 陈伶俐, 高立凡. 七味白术散对人类轮状病毒感染乳鼠小肠黏膜上皮细胞的保护作用. 中国中医药信息杂志 2010; 17: 29-30
6 刘杰. 七味白术散治疗小儿腹泻刍议. 江西中医药 2008; 39: 15-16
7 凌宗全. 白术化学成分及药理作用研究进展. 内蒙古中医药 2013; 32: 105
8 刘丽莎, 王锐, 旭日花, 尚楠, 王洋, 樊秦, 李平兰. 白术多糖对益生菌的促生长作用及结构分析. 食品科学 2010; (19): 124-128
9 方芳, 张恒, 贾建波, 赵玉萍, 任世英, 殷银宝. 7种美容中药水煎液的抑菌作用. 江苏农业科学 2013; 41: 265-268
10 文贵辉, 李丽立, 张彬, 刘振湘. 白术粗多糖对樱桃谷鸭肠道微生物的影响. 饲料研究 2010; (7): 55-58
11 沈玉萍, 李军, 贾晓斌. 中药茯苓化学成分的研究进展. 南京中医药大学学报 2012; 28: 297-300
12 曹俊敏, 杨雪静, 张伟真. 茯苓等4种中药扶植实验小鼠肠道正常菌群生长及其机理的初步研究. 中华中医药学刊 2012; 30: 393-395
13 钟熊, 王梦月, 彭颖, 李晓波. 白术、茯苓多糖的体外胃肠道代谢研究. 中国实验方剂学杂志 2012; 18: 132-135
14 郭秀丽, 高淑莲. 人参化学成分和药理研究进展. 中医临床杂志 2012; 4: 26-27
15 张翼轸, 张文驹, 穆青, 罗建平. 人参化学成分的药理活性及其含量积累的研究进展. 安徽农业科学 2011; 39: 12158-12160, 12163
16 李霞, 孙立伟, 申野. 人参水溶性蛋白活性研究进展. 中国实用医药 2010; 5: 243-244
17 黄海英. 人参皂苷Rg1药理作用研究进展. 实用中医药

杂志 2012; 28: 608-609
18 Rouach H, Fataccioli V, Gentil M, French SW, Morimoto M, Nordmann R. Effect of chronic ethanol feeding on lipid peroxidation and protein oxidation in relation to liver pathology. *Hepatology* 1997; 25: 351-355 [PMID: 9021946 DOI: 10.1002/hep.510250216]
19 王大海, 殷志琦, 张庆文, 叶文才, 张晓琦, 张健. 广藿香非挥发性化学成分的研究. 中国中药杂志 2010; 35: 2704-2707
20 黄烈军, 穆淑珍, 张建新, 邓彬, 宋智琴, 郝小江. 广藿香非挥发性化学成分的研究. 中国中药杂志 2009; 34: 410-413
21 刘红淼, 李艳玲, 杨继章. 广藿香油的药理作用研究进展. 中国药房 2012; (47): 4506-4508
22 Pattnaik S, Subramanyam VR, Kole C. Antibacterial and antifungal activity of ten essential oils in vitro. *Microbios* 1996; 86: 237-246 [PMID: 8893526]
23 刘晓蓉, 范瑞, 张媛媛, 朱美娟. 广藿香提取物的抑菌活性研究. 食品科技 2009; 34: 220-222
24 张建春, 蔡雅明, 周德斌, 王沙沙. 木香的研究进展. 甘肃科技 2010; 26: 170-173
25 李浩华, 章卫民, 高晓霞, 吴关庆, 陈玉婵, 王磊. 白木香果皮提取物的抗菌活性. 中国实验方剂学杂志 2011; 17: 100-103
26 赖玲. 葛根的研究进展. 海峡药学 2013; 25: 10-14
27 张淑萍. 葛属植物中黄酮化合物药理作用研究进展. 长治医学院学报 2006; 20: 79-80
28 杨长友. 葛根多糖抑菌活性的测定. 宁德师专学报(自然科学版) 2011; 23: 130-133
29 张继红, 罗泽宇, 陶能国, 李俊丽, 张艳, 黄江南. 葛根素的提取及其抑菌实验研究. 激光生物学报 2010; 19: 507-509
30 田武生. 甘草的化学成分和临床研究概述. 中医临床研究 2012; 4: 31-32
31 董永军, 王丽荣, 齐永华, 安志兴, 姚四新, 刘兴友. 甘草多糖对肉仔鸡肠道微生物调控的研究. 粮食与饲料工业 2012; 12: 47-49
32 张国民, 谭周进, 张熙, 蔡光先. 微生物对化学物质构效的影响研究进展. 中国药业 2010; 19: 1-3
33 谭周进, 吴海, 刘富林, 蔡莹, 蔡光先, 张华玲, 曾奥. 超微七味白术散对肠道微生物及酶活性的影响. 生态学报 2012; 32: 6856-6863
34 朱婷, 蔡光先, 吴海, 文丹, 谭周进. 植物成分对肠道微生物的影响. 中国药业 2010; 19: 19-21
35 陈倩, 胡思源. 陈宝义教授运用七昧白术散治疗小儿腹泻经验. 云南中医中药杂志 2010; 31: 3-4
36 佘文卓, 王庆波, 薛桂兰. 小儿腹泻的肠道生态治理. 光明中医 2008; 23: 1786-1787
37 丁杨, 朱萱萱, 管恩泽. 中医药治疗小儿迁延性腹泻的研究进展. 中华中医药学刊 2008; 26: 2430-2432
38 Frohmader TJ, Chaboyer WP, Robertson IK, Gowardman J. Decrease in frequency of liquid stool in enterally fed critically ill patients given the multispecies probiotic VSL#3: a pilot trial. *Am J Crit Care* 2010; 19: e1-e11 [PMID: 20436058 DOI: 10.4037/ajcc2010976]
39 Barrett JS, Shepherd SJ, Gibson PR. Strategies to manage gastrointestinal symptoms complicating enteral feeding. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 2009; 33: 21-26 [PMID: 19028933 DOI: 10.1177/0148607108325073]
40 李艳丽. 复方双苓止泻散对腹泻大鼠小肠黏膜修复及AQP4表达的影响. 河北医科大学, 2008: 5-10
41 曹美琴. 双歧杆菌乳杆菌三联活菌片联合蒙脱石散治疗小儿腹泻的临床观察. 临床和实验医学杂志 2010; 9: 1800-1801
42 方荣. 双歧杆菌活菌制剂联合蒙脱石散治疗小儿腹泻的近期疗效观察. 吉林医学 2011; 32: 5712
43 黄志红. 七味白术散临床运用浅识. 新中医 2009; 41: 92-93
44 邓红洁, 吴海, 彭晓珊, 蔡光先, 张熙, 谭周进, 欧阳锋. 超微七味白术散对菌群失调小鼠的疗效研究. 现代生物医学进展 2011; 11: 3632-3635
45 Damrongmanee A, Ukarapol N. Incidence of antibiotic-associated diarrhea in a pediatric ambulatory care setting. *J Med Assoc Thai* 2007; 90: 513-517 [PMID: 17427529]
46 Thomas C, Stevenson M, Riley TV. Antibiotics and hospital-acquired Clostridium difficile-associated diarrhoea: a systematic review. *J Antimicrob Chemother* 2003; 51: 1339-1350 [PMID: 12746372]
47 Ackermann G, Thomalla S, Ackermann F, Schaumann R, Rodloff AC, Ruf BR. Prevalence and characteristics of bacteria and host factors in an outbreak situation of antibiotic-associated diarrhoea. *J Med Microbiol* 2005; 54: 149-153 [PMID: 15673508]
48 Hempel S, Newberry SJ, Maher AR, Wang Z, Miles JN, Shanman R, Johnsen B, Shekelle PG. Probiotics for the prevention and treatment of antibiotic-associated diarrhea: a systematic review and meta-analysis. *JAMA* 2012; 307: 1959-1969 [PMID: 22570464 DOI: 10.1001/jama.2012.3507]
49 Rakoff-Nahoum S, Paglino J, Eslami-Varzaneh F, Edberg S, Medzhitov R. Recognition of commensal microflora by toll-like receptors is required for intestinal homeostasis. *Cell* 2004; 118: 229-241 [PMID: 15260992]
50 Hattori M, Taylor TD. The human intestinal microbiome: a new frontier of human biology. *DNA Res* 2009; 16: 1-12 [PMID: 19147530 DOI: 10.1093/dnares/dsn033]
51 Barnes GL, Bishop RF. Rotavirus infection and prevention. *Curr Opin Pediatr* 1997; 9: 19-23 [PMID: 9088750]
52 姜丕英, 洪丽君, 王丛礼, 杜艳玲. 综合疗法治疗小儿秋季腹泻(湿热泻)348例疗效观察. 中国中西医结合儿科学 2009; 1: 169-170
53 甘长江. 七昧白术散加减治疗小儿秋季腹泻. 农垦医学 2009; 31: 427-428
54 贺双腾, 何飞舟, 伍参荣, 刘维新, 李顺祥, 杨永芳, 胡建中, 欧力, 黄贵忠. 七味白术散治疗轮状病毒肠炎的临床与实验研究. 中国中西医结合杂志 1996; 16: 132-135
55 庞彦波, 赵玉环. 七味白术散治疗小儿迁延性腹泻、慢性腹泻100例. 中国实用医药 2008; 3: 96-97
56 杨光文. 七味白术散治疗小儿腹泻42例临床观察. 中国社区医师 2009; 25: 39
57 李刚. 七味白术散加减治疗小儿霉菌性肠炎48例. 陕西中医 2009; 30: 322-323
58 李纪三. 七味白术散加减治疗溃疡性结肠炎. 医药论坛杂志 2009; 30: 96-97
59 王淑慧. 治疗抗生素相关性腹泻经验. 内蒙古中医药 2012; 31: 94
60 徐晓东, 陈大权. 李中梓治泻九法之运用. 吉林中医药 2009; 29: 1098-1099
61 江育仁. 脾健不在补贵在运. 中医杂志 1983; 24: 4
62 周育平. 李春生教授治疗抗生素相关性腹泻经验. 中国中医急症 2003; 12: 49
63 陈倩, 胡思源. 陈宝义教授运用七昧白术散治疗小儿腹泻经验. 云南中医中药杂志 2010; 31: 3-4
64 蒋伯勋, 张德仁. 七味白术散治疗小儿非感染性腹泻. 中医药临床杂志 2008; 20: 501-502
65 高学敏, 张廷模, 张俊荣. 中药学(新世纪第二版). 北

■应用要点

七味白术散是在四君子汤的基础上进行加法运用的结果, 探讨七味白术散在临床中的加减运用, 对于灵活应用七味白术散用于治疗相关疾病具有最实际的意义, 合理运用具有很好的运用前景.

京: 中国中医药出版社, 2007: 425
66 张宁宁. 健脾助运法治疗婴幼儿脾虚泄泻. 吉林中医药 2013; 33: 893
67 王晓强. 七味白术散对脾虚泄泻幼鼠免疫机能的影响. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2007
68 杨波, 伍参荣, 唐小梅, 胡建中, 赵武能. 七味白术散对人轮状病毒感染乳鼠血清IFN-γ、TNF-α的影响. 中国中医药信息杂志 2005; 12: 36-37

■同行评价
本文具有一定指导意义.

编辑 田滢 电编 鲁亚静

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

• 消息 •

中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》影响因子0.873

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

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

世界华人消化杂志 2014年4月8日; 22(10): 1351-1358
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

磁共振在克罗恩病随访中的临床对比

李 红, 杨晓春, 唐 文, 庞红艳, 沈钧康, 龚建平

李红, 杨晓春, 唐文, 庞红艳, 沈钧康, 龚建平, 苏州大学第二附属医院影像科 江苏省苏州市 215000
李红, 在读硕士, 主要从事腹部放射学的研究.
作者贡献分布: 李红与杨晓春对此文所做贡献均等; 此课题由李红、杨晓春及唐文设计; 研究过程由李红、庞红艳、沈钧康及龚建平操作完成; 研究病例由唐文提供; 数据分析由李红与杨晓春完成; 本论文写作由李红与杨晓春完成.
通讯作者: 杨晓春, 副教授, 副主任医师, 215000, 江苏省苏州市金阊区三香路1055号, 苏州大学第二附属医院影像科.
525477967@163.com
收稿日期: 2013-12-26 修回日期: 2014-01-20
接受日期: 2014-02-03 在线出版日期: 2014-04-08

Magnetic resonance imaging for follow-up of Crohn's disease

Hong Li, Xiao-Chun Yang, Wen Tang, Hong-Yan Pang, Jun-Kang Shen, Jian-Ping Gong

Hong Li, Xiao-Chun Yang, Wen Tang, Hong-Yan Pang, Jun-Kang Shen, Jian-Ping Gong, Department of Medical Imaging, Affiliated Second Hospital, Soochow University, Suzhou 215000, Jiangsu Province, China
Correspondence to: Xiao-Chun Yang, Associate Professor, Associate Chief Physician, Department of Medical Imaging, Affiliated Second Hospital, Soochow University, Suzhou 215000, Jiangsu Province, China. 525477967@163.com
Received: 2013-12-26 Revised: 2014-01-20
Accepted: 2014-02-03 Published online: 2014-04-08

Abstract

AIM: To investigate the value of magnetic resonance imaging (MRI) in the follow-up of Crohn's disease.

METHODS: Thirty three patients (including 24 men and 9 women) with Crohn's disease diagnosed from June 2007 to August 2013 were analyzed retrospectively. According to the clinical data, the patients were divided into either an active phase group or a chronic phase group. All the patients underwent MRI, and the images were reviewed for the mural thickness, the degree of stenosis of diseased bowel segments, mesenteric lymph nodes, and complications (abscess, inflammatory mass, and fistula). Disease activity was assessed according to a multi-parameter score, and MR findings were compared with clinical data.

RESULTS: Of all patients, 24 were clinically identified to have active disease and 9 to have chronic disease, and MR-E identified active disease in 21 cases and chronic disease in the remaining 12. Using clinical diagnosis as the "gold standard", the sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive value of MR for the depiction of disease activity of CD were 79.2%, 77.8%, 90.5% and 58.3%, respectively. The diagnostic performance of MRI was well matched with that of clinical diagnosis (Kappa = 0.857, $P < 0.05$). In all the patients, 26 had two or more than 2 segments of the small bowl involved, 29 had the ileocecal area involved, 8 had enlarged mesareic lymph nodes, 17 had "comb sign", and 12 had fistula. There were significant differences in mural thickness, the degree of stenosis of diseased bowel segments, lymph nodes, "comb sign" and fistula between the active disease group and chronic disease group ($P < 0.05$ for all).

CONCLUSION: The diagnostic performance of MRE is well matched with clinical diagnosis. MRI is more effective in differentiating fistula and abscess, and more suitable for long-term follow-up.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Crohn's disease; MR enterography; Disease activity

Li H, Yang XC, Tang W, Pang HY, Shen JK, Gong JP. Magnetic resonance imaging for follow-up of Crohn's disease. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(10): 1351-1358
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1351.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i10.1351

摘要

目的: 探讨磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)在肠管克罗恩病(Crohn's disease, CD)随访中的应用价值, 并与临床进行比较.

方法: 回顾性分析2007-06/2013-08临床确诊的CD患者33例(男24例, 女9例)的临床资料, 根

■背景资料
近年在发达国家炎症性肠病的发病率上升了31%, 而克罗恩病(Crohn's disease, CD)在我国的发病率亦呈逐年上升趋势. CD是一种缓解与复发交替发生的慢性疾病, 常常需要多次复查, 如何诊断CD, 明确疾病部位、累及范围和严重程度以及有无并发症等是近年研究热点.

■同行评议者
江学良, 教授, 主任医师, 中国人民解放军济南军区总医院消化科

■研发前沿
由于对活动期与缓解期CD患者的治疗原则截然不同, 所以对其活动性的准确评估显得尤为重要. 且CD患者常需多次复查, 因此无辐射的磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)检查在其复查中将占据很大优势.

据资料将患者分为活动期组与慢性期组. 所有患者均接受了肠管MRI检查. 分析患者MR图像特征, 包括病变肠管肠壁增厚及肠腔狭窄程度、有无“梳齿征”、肠系膜淋巴结增大、有无并发症(包括瘘管及窦道形成)等, 由此分析患者活动性, 并与临床对比.

结果: 33例临床确诊的CD患者中, 临床评价为活动期24例(中度活动期19例, 重度活动期5例), 慢性期9例. MRI图像活动期21例, 慢性期12例. 以临床评估作为判断CD活动性的金标准, MRI评估活动性CD的敏感度为79.2%, 特异度为77.8%, 阳性预测值为90.5%, 阴性预测值为58.3%, 且临床评价CD活动期及慢性期与MR评价效果一致性好(Kappa值 = 0.857, P<0.05). CD肠管MRI表现为多节段肠壁增厚者26例, 回肠末端(回盲部)受累者29例, 淋巴结增大者8例, 17例发现“梳齿征”, 15例形成瘘道. 活动期组患者肠壁中重度增厚、肠腔狭窄、肠外并发症中肛瘘、淋巴结肿大、梳齿征的发生率高于慢性期组, 两组间比较, 差异有统计学意义(P<0.05).

结论: MR在诊断CD及评价CD活动性方面与临床评估一致性良好, 而且通过对肠壁增厚、黏膜异常强化、病变部位、肠管外炎性反应等这些征象, 作出了正确诊断. 此外, MRI在检测瘘管和脓肿方面占很大优势. 因此, MRI更适用于患者长期随访应用.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 克罗恩病; 磁共振肠管水成像; 活动性

核心提示: 磁共振可以评价克罗恩病(Crohn's disease, CD)患者活动性, 且其在诊断及评价克罗恩病活动性方面与临床评估(金标准)一致性良好, 可作为CD患者影像学随访的重要方法. 另外, 磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)在检测瘘管和脓肿占很大优势, 考虑检查费用和放射损伤因素, MRI更适用于患者长期随访应用.

李红, 杨晓春, 唐文, 庞红艳, 沈钧康, 龚建平. 磁共振在克罗恩病随访中的临床对比. 世界华人消化杂志 2014; 22(10): 1351-1358
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1351.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i10.1351

0 引言

克罗恩病(Crohn's disease, CD)又称节段性肠炎或非特异性局限性肠炎[1], 是一种与免疫、遗传、感染等多种因素有关的非特异性肉芽肿性疾病, 而且是一种缓解与复发交替发生的慢性疾病, 常常需要多次复查, 评价其活动性[2], 了解肠管外并发症, 以指导临床合理治疗[3]. 另外, 由于对活动期与缓解期CD患者的治疗原则截然不同, 所以对其活动性的准确评估显得尤为重要. 本研究旨在探讨磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)在CD患者随访中的应用价值.

1 材料和方法

1.1 材料 本组研究共33例临床确诊为CD患者, 男24例, 女9例, 年龄15-64岁, 平均年龄32岁. 所有患者均经临床确诊, 且均行肠镜及MRI检查, 并取活组织病检. 其中, 5例为术后MRI图像, 28例为药物治疗半年至6年后MRI图像.

1.2 方法

1.2.1 MR检查: 检查前禁食8 h, 分3段共45 min口服4%甘露醇水溶液共计1500 mL, 每次口服500 mL, 15 min. 这种高渗性的溶液能使小肠肠段更好地充盈, 同时也是一种很好的肠腔内双相对比剂, 即在T2WI上显示为高信号, 在T1WI上显示为低信号[4]. 患者仰卧位, 头先进, 配以呼吸门控. 以屏气BFFE-COR序列作为监测序列, 当造影剂抵达回盲部时臀部肌肉注入山莨菪碱(654-2)10 mg(对患有前列腺肥大、青光眼、心律不齐等患者禁用), 5 min后进行正式扫描. 扫描序列包括呼吸门控TFE T1WI-COR(TRA)、TSE T2WI-COR、TSE-SPAIR T2WI-COR、屏气DWI(2b值, b = 0、600 s/mm^2)、增强扫描序列(包括3D-FFE)、呼吸门控TFE T1WI-COR/TRA.

1.2.2 疾病诊断标准: CD诊断依据2007年中华医学会消化病学分会炎症性肠病协作组对我国炎症性肠病诊断治疗规范的共识意见. 临床诊断为活动期CD的标准: 根据CD的活动指数计算法, ≤4分为慢性期; 5-8分为中度活动期; ≥9分为重度活动期[5](表1).

1.2.3 图像分析: 两名高年资MRI科医生共同对33例小肠MRI影像图像进行讨论、分析, 对疾病性质予以判定, 分别从病变部位、累及范围、肠壁形态及黏膜改变、肠腔外病变的显示情况等多方面予以判断. 对结果予以汇总、记录. MRI主要从7个方面分析图像(表2). 将胃肠道按照部位分成5段: 十二指肠和空肠、回肠和回肠末段(包括回盲瓣)、盲肠和升结肠、横结肠和降结肠、直肠和乙状结肠[6]. 评分≤4分为慢性期, >5分为活动期. 其中, 肠壁厚度>4 mm被认为是肠壁增厚, 肠壁厚度>4 mm而<10 mm为轻、中度增厚, 肠壁厚度≥10 mm为重度增厚[7].

统计学处理 采用SPSS 17.0统计软件对数据

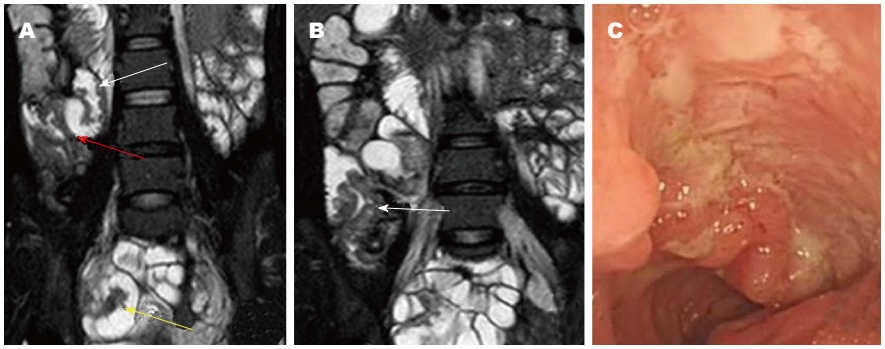


图 1 病例1. 患者, 女, 30岁, 克罗恩病患者, 病变呈多节段分布; A: T2WI-SPAIR图像, “红色箭头”所示回肠末端肠壁增厚, “黄色箭头”及“白箭头”所示肠壁系膜侧偏心增厚; B: T2WI-SPAIR图像, 可见回肠末端小溃疡(尖状突起)及裂隙状溃疡; C: 为该患者肠镜图像, 可见回肠末端浅溃疡.

表 1 克罗恩病的临床活动指数计算法

临床表现	0分	1分	2分	3分	4分
一般情况	良好	稍差	差	不良	极差
腹痛	无	轻	中	重	
腹泻	无	1次/d	2次/d	3次/d	≥4次/d
腹部包块	无	可疑	确定	伴触痛	
并发症[1]	无	1种	2种	3种	≥4种

[1]并发症包括关节痛、虹膜炎、结节性红斑坏疽性脓皮病、溃疡、裂沟瘘管和脓肿等.

表 2 克罗恩病患者MR图像评分

MR表现	0分	1分
肠壁厚度(mm)	<3	≥3
肠壁、肠腔异常[1]	<2处	≥2处
肠段强化异常	信号≤同期肝脏	信号>同期肝脏
肠系膜血管异常	无“梳齿征”	有“梳齿征”
受累肠段狭窄后扩张	无	有
受累肠系膜淋巴结(mm)	直径<10	直径≥10
并发症[2]	无	有

[1]肠壁、肠腔异常指受累肠段肠壁异常增厚、肠腔狭窄及肠壁异常强化; [2]并发症指受累肠段有脓肿、瘘道、溃疡或存在肛瘘、骶髂关节炎、结石等. MR: 磁共振.

进行统计学处理, $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 临床及MRI评价CD的活动性 33例临床确诊的CD患者中, 临床评价为活动期者24例(中度活动期19例, 重度活动期5例), 慢性期者9例. 活动期患者多表现为腹痛、腹泻, 其中2例术后患者临床症状与术前表现类似. 慢性期患者临床症状多不明显. MRI图像评价活动期者21例, 慢性期者12例. 以临床评估作为判断CD活动性为金标准, MR诊断为活动性CD为假阳性的患者2例, 假阴性者5例, 真阳性19例, 真阴性7例. MRI评估活动性CD的敏感度为79.2%, 特异度为77.8%, 阳性预测值为90.5%, 阴性预测值为58.3%. 临床评价CD活动期及慢性期与MR评价效果一致性好(Kappa值 = 0.857)(表3).

表 3 临床评价与MR评价CD活动性结果对比及一致性检验

		临床评价(金标准)	
		活动期	慢性期
MR	活动期	19	2
	慢性期	5	7

敏感度: 79.2%; 特异度: 77.8%; 阳性预测值: 90.5%; 阴性预测值: 58.3%; Kappa值: 0.875, $P<0.01$. MR: 磁共振.

表 4 小肠Crohn病的磁共振成像表现

磁共振成像征象	*n*	并发率(%)
多节段发病	26	78.8
空、回肠受累	12	54.5
回肠末段受累	29	87.9
结肠受累	22	66.7
肠系膜信号异常	17	51.5
淋巴结肿大	8	24.2
瘘管	15	45.5
肠外并发症	8	24.2

2.2 CD的主要MRI表现及肠外并发症 分析33例Crohn患者MRI图像, 每个患者被分为5组肠段进行评估, 分析33例共165段肠段(表4). 其中, 多节段发病共26例(图1), 空、回肠受累者12例, 结肠受累共22例, 回肠末段(包括回盲瓣)受累者29例, 占总患者的87.9%. 淋巴结增大者8例, 肿大淋巴

■相关报道
以往相关文献报道CT及MRI均可以清楚显示肠壁增厚程度及肠外病变, 但MRI在检测瘘管和脓肿方面明显较CT占优势. 且CD患者的长期随访过程中需要反复复查, 部分患者很难接受肠镜作为长期随访手段, 加上MRI无放射损伤等因素, MRI更适用于患者长期随访.

■创新盘点

本文将MRI评价CD活动性结果与临床评价标准比较, 发现两者一致性良好, 并可发现MRI更能明确显示肠外并发症. 除此之外, 此文研究表明CD患者的病变程度如肠壁增厚、肠腔狭窄、肿大淋巴结、梳齿征等在活动期及慢性期中的表现有显著差异, 差异有统计学意义.

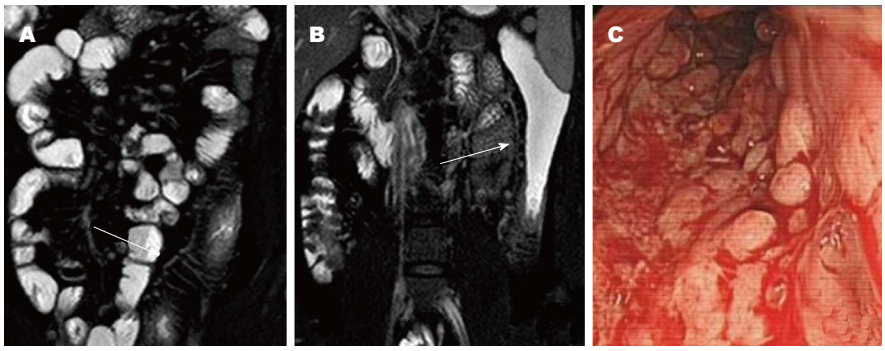


图 2 病例2. 患者, 男, 24岁, 克罗恩患者确诊半年后复查. A: T2-SPAIR图像, 可见降结肠周围肠系膜“梳齿征”; B: T2WI-SPAIR图像, 可见结肠脾区“铅管征”; C: 为该患者 肠镜图像, 可见乙状结肠段, 黏膜呈弥漫性铺路石样改变, 且见多发裂隙样或不规则形溃疡.

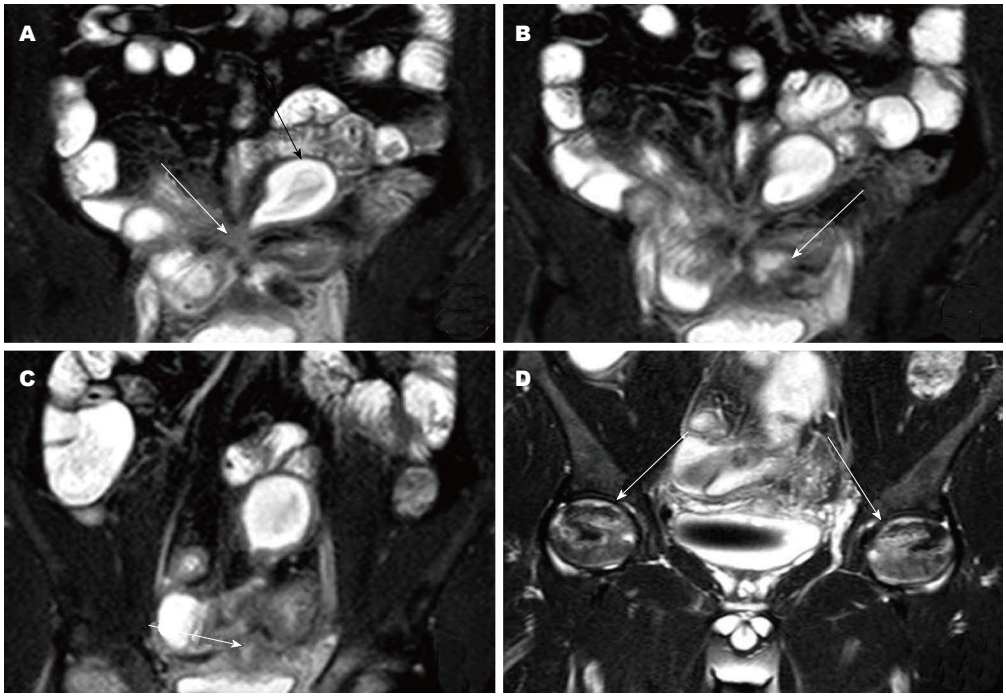


图 3 病例3. 患者, 男, 26岁, 克罗恩病确诊8年. A: T2WI-SPAIR图像, “白箭头”可见膀胱底部与邻近乙状结肠明显黏连, “黑箭头”可见黏连致近端肠管扩张, 表现为不全性肠梗阻; B: T2WI-SPAIR图像, 可见黏连处脓肿形成, 且向乙状结肠形成瘘管; C: T2WI-SPAIR图像, 可见黏连处向膀胱形成瘘管; D: T2WI-SPAIR图像, 可见双侧股骨头早期坏死表现.

结长径均在18 mm以下. 肠系膜的改变主要表现为肠系膜脂肪较为模糊、脂肪组织增生. 系膜血管的改变表现为系膜血管增多、扩张、扭曲, 并可见“梳齿征”(图2). 本组研究中, 33例患者均发现实验室检查异常(CRP升高22例, ESR升高17例). 本组患者肠外并发症主要有: 肝脏脂肪浸润、肾结石、双侧骶髂关节炎、口腔溃疡、股骨头坏死. 在MRI诊断为CD者的24例患者中, 其中13例患者合并肛瘘, 1例尿路感染症状的患者膀胱底部与邻近乙状结肠明显黏连, 连接处脓肿形成, 分别向膀胱及乙状结肠形成瘘管, 且双侧股骨头坏死早期表现(图3). 1例患者合并回肠、乙状结肠膀胱瘘, 1例由于小肠肠腔狭窄伴有胶囊内镜滞留.

2.3 活动期与慢性期影像学检查结果比较 活动期CD患者主要表现为多节段病变肠管增厚、强化较为明显, 相应肠腔狭窄(图4, 5). 增厚肠壁呈T1WI、T2WI等信号, DWI高/等信号, 局部呈小结节、息肉状向肠腔内突出. MRI共检出92段病变肠段, 平均每例2.8段, 病变肠壁厚度4-18 mm. 肠系膜及后腹膜淋巴结增大, 增大淋巴结长径多在18 mm以下. 13例患者出现肛瘘(图6), 且均发生在活动期患者. 17例患者可见“梳齿征”, 均为活动期患者, 且在平扫T2WI及T2-SPAIR序列中均可清晰显示. 活动期组患者肠壁中重度增厚、肠腔狭窄、肠外并发症(肛瘘、淋巴结肿

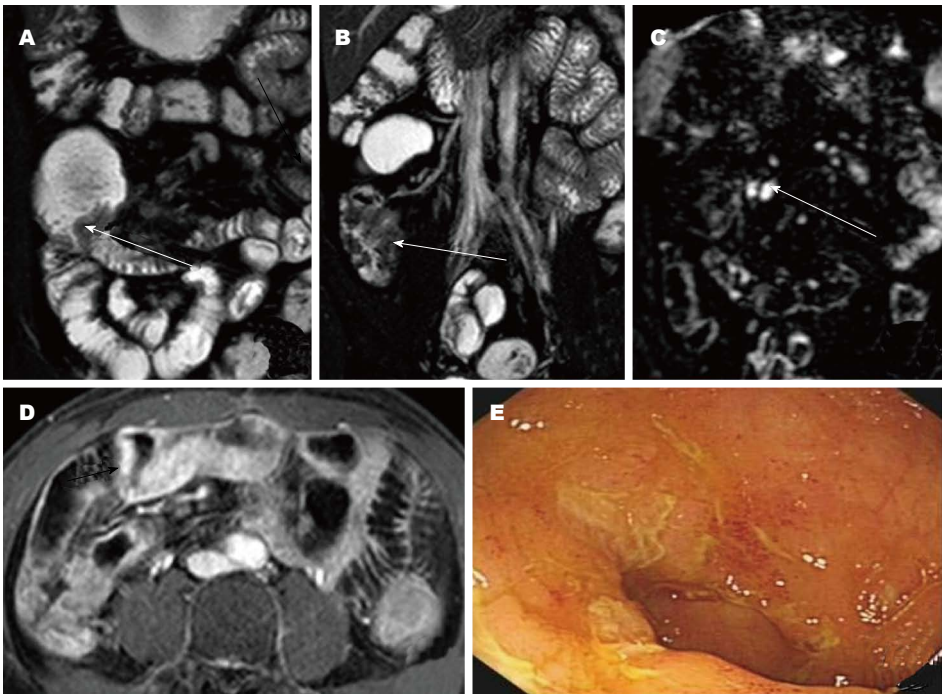


图 4 病例4. 患者, 男, 43岁, 克罗恩病术后1年. A: T2-SPAIR图像, 可见吻合口下端回肠肠壁增厚、肠腔狭窄, 上方肠管扩张, 回盲部肠壁增厚; B: T2WI-SPAIR图像, 可见回盲部肠壁增厚; C: *b*值为1000 DWI图像, 可见肠系膜淋巴结增大; D: 3D-FFE增强图像, 可见病变肠壁明显增厚、强化; E: 为该患者肠镜图像, 可见回肠末端多发溃疡性病灶.

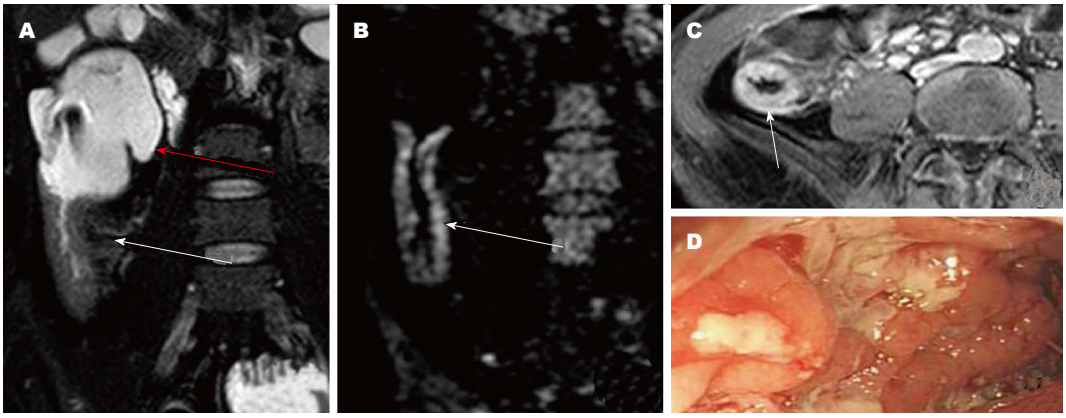


图 5 病例5. 患者, 男, 56岁, 克罗恩病术后1年. A: T2-SPAIR图像, “白箭头”所示术后吻合口下部回肠壁环形增厚, 肠系膜侧并可见肠系膜血管增生、增粗, 周围脂肪信号增高, “红箭头”所示肠管近端扩张; B: *b*值为1000 DWI图像, 可见病变肠管高信号; C: 3D-FFE增强图像, 可见病变肠管明显强化; D: 为该患者肠镜图像, 可见回肠末端多发溃疡性病灶.

大、梳齿征) 的发生率高于慢性期组, 两组间比较, 差异有统计学意义(P<0.05)(表5).

3 讨论

CD部分证据表明可能与一种未知的鲁米那抗原引起的黏膜反应有关[8], 而且是一种缓解与复发交替发生的慢性疾病, 常常需要多次复查, 评价其活动性, 了解肠管外并发症, 以指导临床合理治疗[3,9]. 由于CD的发病机制目前还不是很明确, 所以CD的患者往往只能依靠药物控制而不能根治. 对于活动期CD的患者, 通常需要类固醇激素的治疗或激素联合免疫调节剂的治疗. 而对于缓解期的患者, 往往只需要单独使用非类固醇免疫调节剂治疗[10,11]. 因此, 小肠CD活动性的判断, 对于评估患者病情的严重性、指导临床治疗方案的制定以及观察药物的疗效均十分必要, 但目前并没有评价CD活动性的标准方法[12-14].

朱庆强等[15]的研究表明, CT很难发现肠壁纵行裂隙状溃疡和卵石征, 而且CT相对高昂的价格和做整个小肠扫描和多次复查须接受大量射线, X线的照射加上CD患者服用的某些药物, 将增加这些患者罹患恶性肿瘤的可能性[16]. 肠镜

■应用要点

小肠CD活动的判断, 对于评估患者病情的严重性、指导临床治疗方案的制定以及观察药物的疗效均十分必要, 但目前并没有评价CD活动性的标准方法. 磁共振对其活动性评估敏感性和特异度均较高, 且随着MRI功能成像如DWI的应用, MRI对克罗恩活动性中的用途将更为广泛和实用.

■同行评价
本文具有一定指导意义.

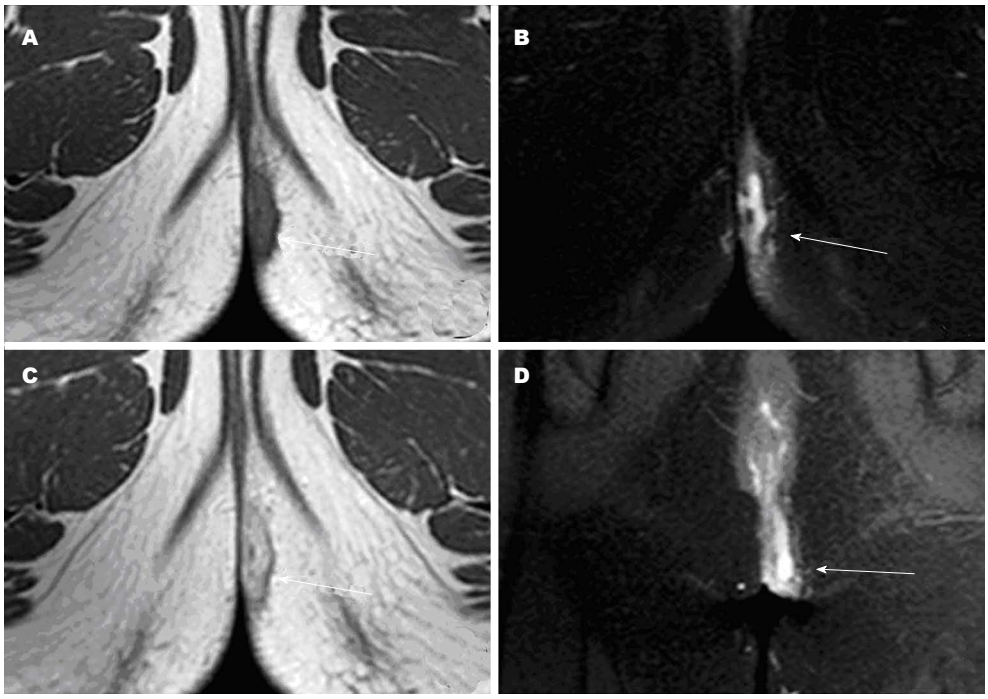


图 6 克罗恩病患者合并肛瘘. A: 盆腔横断位T1WI; B: 盆腔横断位T2WI-SPAIR图像, 可清晰显示扩约肌左侧条状T1WI低、T2WI-SPAIR高信号(白箭头所指)通向皮下, 病灶尚未到达肛提肌; C、D: 横断位T1WI增强及冠状位T1WI-SPAIR增强图像, 可见条状异常信号灶强化, 周围软组织轻度强化, 说明周围软组织轻度炎症行病变存在.

表 5 活动期和慢性期组小肠克罗恩病患者MRI表现

分组	*n*	肠管增厚程度(段)			肠腔狭窄	淋巴结大	肛瘘	梳齿征
		重度	中度	轻度				
活动期组	19	21	8	–	18	12	13	17
慢性期组	14	–	2	4	2	1	–	–
χ^2值		13.8	1.2	7.2	6.8	10.6	15.8	25
*P*值		< 0.05	> 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05

–: 阴性.

检查作为一种侵入性检查, 不易为患者长期接受, 且难以明确显示肠壁及肠管外并发症[17]. 因此, 无电离辐射诊断技术成为MRI应用于CD诊断的最大推动力[18-20]. MRI还具有通过不同脉冲序列获得较好的组织对比度和功能成像的特点, 其对软组织病变显示敏感性明显高于CT[21].

在本研究中, 与临床诊断比较, MRI评估活动性CD的敏感度为79.2%, 特异度为77.8%, 阳性预测值为90.5%, 阴性预测值为58.3%. 临床评价CD活动期及慢性期与MR评价效果一致性好(Kappa值 = 0.857), 而且结果显示MR评估CD活动性方面阳性预测值较高, 也提示MR对活动性CD的确诊率较高.

CD以小肠发病率最高, 尤其是末段回肠[22]. 本组病例中累及回盲部者占87.9%. 病变呈节段性分布, 表现为多个肠段肠壁增厚和强化增加, 称之为跳跃性病变(skip lesions). 肠壁增厚为Crohn病最常见的表现[23,24]. Choi等[25]和Wu等[26]及Grand等[27]发现CD中95%的患者可见肠壁增厚. 早期表现为黏膜或黏膜下水肿, 肠壁增厚, 严重增厚者可致肠腔狭窄甚至梗阻, 肠腔狭窄多由肠壁增厚引起, 也可由肠外包快或脓肿压迫所致. 急性期肠壁水肿明显、肠腔狭窄可导致肠梗阻. 本研究中, 肠壁中、重度强化主要发生在活动期, 慢性期患者主要表现为无明显强化或轻度强化, 活动期与慢性期强化方式对比有统计学意义. 有1例患者由于瘘道形成、肠壁增厚黏连而导致不全性肠梗阻. 另1例患者在临床确诊为CD后半年复查, MR发现病变肠段肠腔较前狭窄, 结肠镜检查进镜困难, 病情较前进展, 且肠腔狭窄

发生在活动期的概率大于慢性期, 两者有统计学意义(P<0.05). 文献报道, 病变肠壁可表现为分层强化, 黏膜层及浆膜层强化明显, 中间夹着强化较弱的肌层及水肿的黏膜下层, 肠壁分层强化, 是炎症处于活动期特征性表现[28,29]. Knollmann等[30]认为CD肠壁的异常强化可反映病变肠管的范围, 是病变活动期的表现. 本次研究有2例患者仅2段病变肠段可见肠壁分层强化, 可能与本组研究所涉及病变肠段受累类型及设备、扫描条件诸多方面因素有关. 肠壁内积气既可见于CD活动期也可见于慢性期, 本研究中病变肠段无发现肠壁内积气, 可能与患者病程及本研究病例数有关.

CD溃疡可穿透肠壁引起肠管周围蜂窝组织炎和脂肪纤维增生. 病变周围肠系膜血管增生、血管增粗、增多、密集, 加上肠周脂肪增生性堆积使增多的血管呈梳状排列, 称为“梳齿征”. 这主要由C反应蛋白增高所致, 常提示肠道存在急性炎性反应[31-34]. 本组17例患者出现“梳齿征”改变, 全部发生于活动期患者, 且在MRI平扫T2WI及T2-SPAIR序列中可清晰显示. 此外, 部分CD患者肠系膜区可出现聚集、肿大的淋巴结[35]. 肠系膜及腹膜后淋巴结增大为炎症引起的反应性增生, CD增大的淋巴结通常短径≤10 mm, 如果淋巴结直径超过10 mm, 则需考虑伴发恶性肿瘤的可能.

CD病有着较高的肠外器官改变[36], 较特征性且对诊断该病有帮助的是关节病变、皮肤病变、眼部病变、胆囊炎和胆结石、肝脏病变、泌尿系病变、肛周病变等, 多数与CD病的活动性相关, 某些可先于或独立于CD病而发生, 了解其常见肠外器官改变, 可对CD病有更全面更深刻的认识, 并有助于CD的诊断. 病情较重者可存在较多肠外并发症如蜂窝织炎及脓肿、瘘管、肠壁黏连等. 在显示肠管外并发症时, MRI较传统小肠灌肠和CT具有更多的优越性. 文献报道CD引起的肛瘘发生率可高达43%. 本组研究中13例并发肛瘘, 表现为肛周条状T1WI低、T2WI高、T2WI-SPAIR高信号通向皮下. 本研究中, 1例患者合并双侧股骨头坏死, 该患者在整个8年病程中, 糖皮质激素治疗仅2 mo, 本例CD病患者发生股骨头坏死的原因主要包括糖皮质激素的使用和疾病本身的因素两方面原因.

通过本次研究初步表明, 肠壁增厚、重度强化、溃疡、肠腔狭窄、肠瘘、蜂窝织炎、淋巴结肿大、“梳齿征”多提示CD活动期; 肠壁轻度增厚、轻度强化、不强化多提示CD慢性期. MR在诊断CD及评价其活动性方面与临床评估一致性良好, 可作为CD患者影像学随访的重要方法, 而且通过对肠壁增厚、黏膜异常强化、病变部位、肠管外炎性反应等这些征象, 作出了CD的正确诊断. 另外, MRI在检测瘘管和脓肿方面占很大优势, 考虑检查费用和放射损伤因素, MRI更适用于患者长期随访应用.

志谢: 感谢张彩元、施寅枫、庞红权在本实验中给予的大力帮助.

4 参考文献

1 Loftus CG, Loftus EV, Harmsen WS, Zinsmeister AR, Tremaine WJ, Melton LJ, Sandborn WJ. Update on the incidence and prevalence of Crohn's disease and ulcerative colitis in Olmsted County, Minnesota, 1940-2000. *Inflamm Bowel Dis* 2007; 13: 254-261 [PMID: 17206702]

2 Cullen G, Donnellan F, Doherty GA, Smith M, Cheifetz AS. Evaluation of the small bowel in inflammatory bowel disease. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2013; 7: 239-251 [PMID: 23445233 DOI: 10.1586/egh.13.11]

3 Koh DM, Miao Y, Chinn RJ, Amin Z, Zeegen R, Westaby D, Healy JC. MR imaging evaluation of the activity of Crohn's disease. *AJR Am J Roentgenol* 2001; 177: 1325-1332 [PMID: 11717076]

4 Kuehle CA, Ajaj W, Ladd SC, Massing S, Barkhausen J, Lauenstein TC. Hydro-MRI of the small bowel: effect of contrast volume, timing of contrast administration, and data acquisition on bowel distention. *AJR Am J Roentgenol* 2006; 187: W375-W385 [PMID: 16985108]

5 Solem CA, Loftus EV, Fletcher JG, Baron TH, Gostout CJ, Petersen BT, Tremaine WJ, Egan LJ, Faubion WA, Schroeder KW, Pardi DS, Hanson KA, Jewell DA, Barlow JM, Fidler JL, Huprich JE, Johnson CD, Harmsen WS, Zinsmeister AR, Sandborn WJ. Small-bowel imaging in Crohn's disease: a prospective, blinded, 4-way comparison trial. *Gastrointest Endosc* 2008; 68: 255-266 [PMID: 18513722 DOI: 10.1016/j.gie.2008.02.017]

6 Macarini L, Stoppino LP, Centola A, Muscarella S, Fortunato F, Coppolino F, Della Valle N, Ierardi V, Milillo P, Vinci R. Assessment of activity of Crohn's disease of the ileum and large bowel: proposal for a new multiparameter MR enterography score. *Radiol Med* 2013; 118: 181-195 [PMID: 22744346 DOI: 10.1007/s11547-012-0841-7]

7 Furukawa A, Saotome T, Yamasaki M, Maeda K, Nitta N, Takahashi M, Tsujikawa T, Fujiyama Y, Murata K, Sakamoto T. Cross-sectional imaging in Crohn disease. *Radiographics* 2004; 24: 689-702 [PMID: 15143222]

8 Maglinte DD, Balthazar EJ, Kelvin FM, Megibow AJ. The role of radiology in the diagnosis of small-bowel obstruction. *AJR Am J Roentgenol* 1997; 168: 1171-1180 [PMID: 9129407]

9 Ramalho M, Herédia V, Cardoso C, Matos AP, Palas J, De Freitas J, Semelka RC. Magnetic resonance imaging of small bowel Crohn's disease. *Acta Med Port* 2012; 25: 231-240 [PMID: 23079251]

10 Kugathasan S, Werlin SL, Martinez A, Rivera MT, Heikenen JB, Binion DG. Prolonged duration of response to infliximab in early but not late pediatric Crohn's disease. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 3189-3194 [PMID: 11095340 DOI: 10.1111/j.1572.0241.2000.03263.x]

11 Rutgeerts P, Diamond RH, Bala M, Olson A, Lichtenstein GR, Bao W, Patel K, Wolf DC, Safdi M, Colombel JF, Lashner B, Hanauer SB. Scheduled maintenance treatment with infliximab is superior to episodic treatment for the healing of mucosal ulceration associated with Crohn's disease. *Gastrointest Endosc* 2006; 63: 433-442; quiz 464 [PMID: 16500392 DOI: 10.1016/j.gie.2005.08.011]

12 Best WR, Becktel JM, Singleton JW, Kern F. Development of a Crohn's disease activity index. National Cooperative Crohn's Disease Study. *Gastroenterology* 1976; 70: 439-444 [PMID: 1248701]

13 Jørgensen LG, Fredholm L, Hyltoft Petersen P, Hey H, Munkholm P, Brandslund I. How accurate are clinical activity indices for scoring of disease activity in inflammatory bowel disease (IBD)? *Clin Chem Lab Med* 2005; 43: 403-411 [PMID: 15899657]

14 Best WR. Predicting the Crohn's disease activity index from the Harvey-Bradshaw Index. *Inflamm Bowel Dis* 2006; 12: 304-310 [PMID: 16633052]

15 朱庆强, 朱文荣, 王中秋, 史玉振, 童明敏, 林艳飞. X线、CT和消化内镜对克罗恩病诊断价值的评定. 实用放射学杂志 2011; 27: 729-733

16 Jaffe TA, Gaca AM, Delaney S, Yoshizumi TT, Toncheva G, Nguyen G, Frush DP. Radiation doses from small-bowel follow-through and abdominopelvic MDCT in Crohn's disease. *AJR Am J Roentgenol* 2007; 189: 1015-1022 [PMID: 17954634]

17 王健, 贾红. 胶囊内镜在小肠Crohn病的应用. 世界华人消化杂志 2007; 15: 1841-1844

18 Siddiki HA, Fidler JL, Fletcher JG, Burton SS, Huprich JE, Hough DM, Johnson CD, Bruining DH, Loftus EV, Sandborn WJ, Pardi DS, Mandrekar JN. Prospective comparison of state-of-the-art MR enterography and CT enterography in small-bowel Crohn's disease. *AJR Am J Roentgenol* 2009; 193: 113-121 [PMID: 19542402 DOI: 10.2214/AJR..08.2027]

19 Lee SS, Kim AY, Yang SK, Chung JW, Kim SY, Park SH, Ha HK. Crohn disease of the small bowel: comparison of CT enterography, MR enterography, and small-bowel follow-through as diagnostic techniques. *Radiology* 2009; 251: 751-761 [PMID: 19276325 DOI: 10.1148/radiol.2513081184]

20 Casciani E, Masselli G, Di Nardo G, Polettini E, Bertini L, Oliva S, Floriani I, Cucchiara S, Gualdi G. MR enterography versus capsule endoscopy in paediatric patients with suspected Crohn's disease. *Eur Radiol* 2011; 21: 823-831 [PMID: 20922391 DOI: 10.1007/s00330-010-1976-3]

21 Al-Hawary MM, Zimmermann EM, Hussain HK. MR imaging of the small bowel in Crohn disease. *Magn Reson Imaging Clin N Am* 2014; 22: 13-22 [PMID: 24238129 DOI: 10.1016/j.mric.2013.09.001]

22 Rimola J, Rodriguez S, García-Bosch O, Ordás I, Ayala E, Aceituno M, Pellisé M, Ayuso C, Ricart E, Donoso L, Panés J. Magnetic resonance for assessment of disease activity and severity in ileocolonic Crohn's disease. *Gut* 2009; 58: 1113-1120 [PMID: 19136510]

23 Maglinte DD, Siegelman ES, Kelvin FM. MR enteroclysis: the future of small-bowel imaging? *Radiology* 2000; 215: 639-641 [PMID: 10831678 DOI: 10.1148/radiology.215.3.roojn50639]

24 张继斌, 范觉昕, 许建铭, 李伟, 秦明明, 刘仁坚. 肠道磁共振水成像检查技术探讨. 实用放射学杂志 2008; 24: 1116-1118

25 Choi D, Jin Lee S, Ah Cho Y, Lim HK, Hoon Kim S, Jae Lee W, Hoon Lim J, Park H, Rae Lee Y. Bowel wall thickening in patients with Crohn's disease: CT patterns and correlation with inflammatory activity. *Clin Radiol* 2003; 58: 68-74 [PMID: 12565208]

26 Wu YW, Tang YH, Hao NX, Tang CY, Miao F. Crohn's disease: CT enterography manifestations before and after treatment. *Eur J Radiol* 2012; 81: 52-59 [PMID: 21185142 DOI: 10.1016/j.ejrad.2010.11.010]

27 Grand DJ, Beland MD, Machan JT, Mayo-Smith WW. Detection of Crohn's disease: Comparison of CT and MR enterography without anti-peristaltic agents performed on the same day. *Eur J Radiol* 2012; 81: 1735-1741 [PMID: 21645982 DOI: 10.1016/j.ejrad.2011.04.068]

28 章士正, 任小军, 周合山. 小肠磁共振水成像的诊断价值. 中国计算机成像杂志 2003; 9: 421-425

29 任小军, 章士正. MR注气小肠灌肠及水成像对小肠疾病诊断价值的比较. 放射学实践 2006; 21: 223-227

30 Knollmann FD, Dietrich T, Bleckmann T, Böck J, Mäurer J, Radtke C, Felix R. Magnetic resonance imaging of inflammatory bowel disease: evaluation in a rabbit model. *J Magn Reson Imaging* 2002; 15: 165-173 [PMID: 11836772]

31 Masselli G, Brizi GM, Parrella A, Minordi LM, Vecchioli A, Marano P. Crohn disease: magnetic resonance enteroclysis. *Abdom Imaging* 2004; 29: 326-334 [PMID: 15354341]

32 Wiarda BM, Horsthuis K, Dobben AC, Geenen RW, Heitbrink MA, Moolenaar W, Kuipers EJ, Stoker J. Magnetic resonance imaging of the small bowel with the true FISP sequence: intra- and interobserver agreement of enteroclysis and imaging without contrast material. *Clin Imaging* 2009; 33: 267-273 [PMID: 19559348 DOI: 10.1016/j.clinimag.2008.11.005]

33 Knuesel PR, Kubik RA, Crook DW, Eigenmann F, Froehlich JM. Assessment of dynamic contrast enhancement of the small bowel in active Crohn's disease using 3D MR enterography. *Eur J Radiol* 2010; 73: 607-613 [PMID: 19131201 DOI: 10.1016/j.ejrad.2008.12.001]

34 Paolantonio P, Ferrari R, Vecchietti F, Cucchiara S, Laghi A. Current status of MR imaging in the evaluation of IBD in a pediatric population of patients. *Eur J Radiol* 2009; 69: 418-424 [PMID: 19144484 DOI: 10.1016/j.ejrad.2008.11.023]

35 Ajaj W, Goyen M, Schneemann H, Kuehle C, Nuefer M, Ruehm SG, Goehde SC, Lauenstein TC. Oral contrast agents for small bowel distension in MRI: influence of the osmolarity for small bowel distention. *Eur Radiol* 2005; 15: 1400-1406 [PMID: 15754160]

36 朱庆强, 王中秋, 吴晶涛, 王守安. CT及X线造影对小肠克罗恩病的诊断价值评价. 中华胃肠外科杂志 2013; 16: 443-447

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com
世界华人消化杂志 2014年4月8日; 22(10): 1359-1364
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

文献综述 REVIEW

正加速度对大鼠实验性胃溃疡愈合质量影响的研究进展

赵 锟, 杨春敏, 陈 英, 李 静, 唐合兰

赵锟, 河北北方学院研究生院 河北省张家口市 075000
杨春敏, 陈英, 李静, 唐合兰, 中国人民解放军空军总医院干部病房东楼消化科 北京市 100142
赵锟, 在读硕士, 主要从事航空航天医学消化系统方面的研究.
全军十二五后勤科研计划基金资助项目, No. AKJ11J004
作者贡献分布: 赵锟与杨春敏对此文贡献均等; 此课题由杨春敏与赵锟提出和设计; 文献内容由陈英、李静及唐合兰给予建议和完善; 本综述写作由赵锟完成; 杨春敏审校.
通讯作者: 杨春敏, 教授, 主任医师, 100142, 北京市海淀区阜成路30号, 中国人民解放军空军总医院干部病房东楼消化科.
chunmyang@sina.com
电话: 010-66928118-68141
收稿日期: 2014-01-17 修回日期: 2014-02-03
接受日期: 2014-02-18 在线出版日期: 2014-04-08

Progress in understanding effects of positive acceleration on quality of ulcer healing in rats with experimental gastric ulcer

Kun Zhao, Chun-Min Yang, Ying Chen, Jing Li, He-Lan Tang

Kun Zhao, Graduate School, Hebei North University, Zhangjiakou 075000, Hebei Province, China
Chun-Min Yang, Ying Chen, Jing Li, He-Lan Tang, Department of Gastroenterology General Hospital of Air Force of Chinese PLA, Beijing 100142, China
Supported by: the Military Scientific and Technological Project during the "Twelfth Five-year" Period, No. AKJ11J004
Correspondence to: Chun-Min Yang, Professor, Chief Physician, General Hospital of Air Force of Chinese PLA, 30 Fucheng Road, Haidian District, Beijing 100142, China.
chunmyang@sina.com
Received: 2014-01-17 Revised: 2014-02-03
Accepted: 2014-02-18 Published online: 2014-04-08

Abstract
Injuries associated with high-performance fighter aircrafts and spacecrafts are bringing serious challenges to pilots. Exposure to positive acceleration (+Gz) can increase the incidence and recurrence of peptic ulcer. Recurrence of ulcer is closely related to quality of ulcer healing (QOUH), and improving QOUH is considered to be the third leap of understanding of peptic ulcer and has become a hotspot of aerospace medicine research. In this paper, we review the recent advances in understanding the effects of +Gz exposure on QOUH in rats with experimental gastric ulcer in terms of animal model development, QOUH assessment, and influencing factors for QOUH, with an aim to improve the protection against injuries caused by +Gz exposure, strengthen the pilot's overall ability to resist +Gz, and enhance the safety of flight.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Peptic ulcer; +Gz; Quality of ulcer healing; Research progress; Review

Zhao K, Yang CM, Chen Y, Li J, Tang HL. Progress in understanding effects of positive acceleration on quality of ulcer healing in rats with experimental gastric ulcer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(10): 1359-1364
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1359.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i10.1359

摘要
随着高性能战斗机和航天宇宙飞船的应用, 高空环境对飞行员的损伤给他们带来了严峻的挑战. 其中, 正加速度(+Gz)暴露后消化性溃疡的发病率和复发率在进一步提高. 溃疡复发是现代医学的难点, 与溃疡愈合质量(quality of ulcer healing, QOUH)密切相关, 提高QOUH被认为是对消化性溃疡认识的第3次飞跃, 已成为目前航天航空医学的主要研究热点. 本文从胃溃疡动物模型的建立、溃疡愈合质量的评价、+Gz对溃疡愈合质量影响的相关因素、实际应用等方面, 对+Gz对大鼠实验性QOUH影响的研究进展进行综述, 旨在促进相关的应用基础研究和提高针对高+Gz损伤的胃肠防护, 进而增强飞行员的整体抗+Gz能力, 提高飞行的安全性.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 消化性溃疡; +Gz; 溃疡愈合质量; 研究进展; 综述

核心提示: 消化性溃疡是飞行员的常见疾病, 复发率高, 提高溃疡愈合质量(quality of ulcer healing, QOUH)被认为是对消化性溃疡认识的第3次飞跃, 在基础和临床方面都取得了突破性的进展, 关于加速度对胃溃疡愈合质量影响的研究

■背景资料
随着高性能战斗机和航天宇宙飞船的应用, 高空环境对飞行员的损伤给他们带来了严峻的挑战. 据资料统计, 在航空航天医学中, 消化系统、骨骼系统及心脑血管系统疾病位居飞行员住院原因的前3位, 其中, 正加速度暴露后消化性溃疡的发病率和复发率在进一步提高. 溃疡复发是现代医学的难点, 与溃疡愈合质量密切相关. 近年来, 国内外相关研究在逐渐的增多, 主要以动物为对象的实验研究, 并取得了一定的进展, 这将为飞行员的胃肠防护和溃疡病的治疗提供理论依据和新的观点.

■同行评议者
郑鹏远, 教授, 主任医师, 博士生导师, 副院长, 郑州大学第二附属医院消化科

■研发前沿
消化性溃疡是消化系统常见疾病, 本病病程长, 在加速度暴露的特殊条件下复发率高, 极易并发出血、穿孔. 研究认为加速度作用将导致胃溃疡愈合延迟, 相关因素如胃黏膜血流, 生长因子, 胃肠激素, 氧自由基及细胞增殖等是目前研究的热点, 但与消化性溃疡相关的各基因是否相互影响及飞行员溃疡病的高复发率仍待解决, 因此此项研究方兴未艾.

给临床工作者以新的启示. 如考虑利用以生长因子或信号传导通路中酶、信使等为靶点开发新的药物, 在基因水平加强胃肠防护, 开展多基因的协同研究等探讨新的有效防护措施并应用于临床治疗, 以提高QOUH, 为飞行员飞行安全保驾护航.

赵锟, 杨春敏, 陈英, 李静, 唐合兰. 正加速度对大鼠实验性胃溃疡愈合质量影响的研究进展. 世界华人消化杂志 2014; 22(10): 1359-1364 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1359.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i10.1359

0 引言

高空飞行时飞行员暴露于活动空间局限、低气压及正加速度(+Gz)负荷等特殊环境中, 合并超强度的工作负荷和心理压力, 会诱发身体发生不同程度的病理损伤. 美国、日本等曾有关于飞行员疾病谱的报道[1,2], 超载负荷对飞行员的损伤已成为威胁飞行安全的一个重要因素, 为此, 各国非常重视. 据资料统计, 在航空航天医学中, 消化系统、骨骼系统及心脑血管系统疾病位居飞行员住院原因的前3位[3], 且有文献报道[4], 消化系统疾病占飞行员内科疾病的6.6%, 其中消化性溃疡在空降兵人员的检出率高达30.6%, 两年半复发率高达56%. 消化性溃疡是消化系统常见疾病, 本病病程长、复发率高, 在加速度暴露的特殊条件下极易并发出血、穿孔, 对飞行员的工作安全造成威胁. 近年来, 国内外相关研究在逐渐的增多, 其中多数是以动物为对象进行的实验研究, 并取得了一定的进展, 这将为飞行员的胃肠防护和溃疡病的治疗提供理论依据和新的观点, 本文就国内外的相关研究综述如下.

1 动物模型

研究加速度对QOUH的影响定离不开溃疡模型的建立, 一个理想而稳定的实验模型也是后期实验成功的关键.

1.1 大鼠实验性胃溃疡模型 迄今为止, 大鼠胃溃疡模型的建立方法已有多种, 如: 冰乙酸性、水浸应激性、幽门结扎性、水杨酸性、乙醇性、利血平性等[5]. 但近年来大多数学者利用如下方法制备模型.

1.1.1 慢性胃溃疡模型制备: 目前常用的造模方法是Okabe[6]方法(即乙酸烧灼致胃溃疡模型的方法), 乙酸致胃溃疡模型成模于1969年, 此后, 因其在病理特征和愈合机制方面与人类溃疡高度相似而被广泛应用[7], 具体为: 大鼠造模前24 h禁食不禁水, 麻醉后腹部剃毛、消毒, 于剑突下沿腹正中线打开腹腔, 手术切口长约2 cm, 暴露出胃, 将内径约5 mm, 长约30 mm的硅胶管紧贴在胃前壁浆膜面胃小弯角切迹下方约5 mm处(避开血管), 向管内注入100%的乙酸0.1 mL, 1 min后迅速吸去残存的乙酸, 用生理盐水冲洗受乙酸侵蚀的胃壁, 将大网膜缝在乙酸涂抹处表面, 缝合腹壁. Naito等[8]、Takenchi等[9]通过黏膜下注射乙酸制造了大鼠胃溃疡模型.

近年来, 许多相关实验根据不同实验条件调整为常用的3种方法, 一种是在大鼠胃窦前壁浆膜面, 用直径5-6 mm的玻璃管垂直压定后, 玻璃管内滴入0.1 mL的冰乙酸, 保留1 min后, 吸出乙酸, 生理盐水冲洗后缝合. 一种是用直径5 mm的滤纸片浸渍冰乙酸贴敷到大鼠胃窦前壁的浆膜面30 s 2次, 生理盐水冲洗后缝合. 还有一种就是在大鼠胃窦部浆膜下近肌层处注射冰乙酸[10].

1.1.2 急性胃溃疡模型制备: 国外Robert等[11]用750 mL/L乙醇1 mL灌胃的方法制备胃溃疡模型, 国内李莉等[12]亦用乙醇诱导的方法制备急性胃溃疡模型, 目前认为此方法较其他胃溃疡模型制备方法简单, 不用手术, 溃疡发生率高. 并且乙醇引起的胃黏膜急性损伤机制明确. 也有学者[13]采用束缚水浸应激法制作的应激性溃疡模型: 将动物装入鼠筒, 头部向上垂直浸于恒温水箱, 水位至大鼠剑突部位, 保持水温22 ℃±0.5 ℃, 浸泡8 h.

1.2 加速度处理模型 近年来, 国外如英国、日本、朝鲜及国内学者多数利用离心机模拟加速度暴露进行相关实验研究[14-17]. 离心机是在地面条件下模拟飞行中持续加速度的设备, 有附带的计算机进行程序控制, 可以模拟出不同加速度值、增长率和作用时间, 目前也有不同长度转臂的离心机如1、2 m等, 可以根据实验需要适当选择. 用特制的固定装置承载大鼠, 俯面固定于离心机转臂远端, 大鼠头朝向离心机轴心方向, 每只大鼠专用1个固定盒, 保证加速度作用的方向.

2 胃溃疡愈合质量的评价指标

国外学者Augsten等[18]于1991年在夏威夷国际会议上首次提出QOUH的概念, 指出溃疡之愈合不仅需黏膜上层的修复, 还需黏膜下组织的修复与重建. 评价QOUH不仅要强调溃疡局部再生组织结构成熟度, 更要重视其功能成熟度及

防御能力[包括胃黏膜血流量、胃黏膜前列腺素(postaglandings, PGs)、表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)及其受体以及多种细胞因子表达][19].

2.1 黏膜损伤和再生程度的评价

2.1.1 溃疡损伤指数和溃疡面积: 溃疡损伤指数计分参考GUTH[20]标准: 正常胃黏膜为0分, 点状损伤计1分, 病损<1 mm计2分, 1-2 mm计3分, 2-3 mm计4分, 依次类推, 损伤宽度>2 mm, 损伤指数计分加倍. 即得到大鼠黏膜损伤指数. 范勤等[21]采用上述计分方法研究+Gz暴露对大鼠胃黏膜损伤的影响.

溃疡面积的测定: 由贲门注射10%甲醛溶液10 mL, 30 min后, 沿胃大弯剪开胃体, 用游标卡尺(精确度0.02 mm)测量通过溃疡中心的最大横径和最大纵径, 分别记为d1和d2, 根据公式S = π×(d1/2)×(d2/2), π取3.14, 计算溃疡面积[22].

2.1.2 内镜下再生黏膜成熟度的评价: Takemoto等[23]对溃疡的分期标准是: 以白苔存在时为再生期(R期), 白苔消失后为瘢痕期(S). R0期溃疡边缘无再生绒毛; R1期溃疡边缘可见少量再生绒毛; R2期溃疡边缘可见粗大颗粒状再生绒毛. Sa期溃疡瘢痕中央部分凹陷; Sb期瘢痕中央凹陷消失, 再生绒毛呈粗大颗粒状; Sc期瘢痕中央凹陷消失, 再生绒毛呈细颗粒状, 瘢痕部黏膜平坦, 接近正常黏膜形态.

2.2 再生黏膜组织成熟度的评价 目前多采用组织定向石蜡包埋, HE染色方法, 光镜下观察再生黏膜的组织学情况. (1)上皮组织: 用再生黏膜的厚度, 腺体的高度和数量、排列状况、囊状扩张程度及腺细胞的形态、分化程度衡量; (2)肉芽组织: 用成纤维细胞的数量、新生血管的数量、分布构象及黏膜肌层的再生状况、炎性细胞浸润程度来衡量[19]. 根据pan[24]分级标准, 再生黏膜成熟类型按优、良、差分级. 优: 绒毛或上皮完整, 腺体数量多、结构形成较好, 毛细血管较多, 炎性细胞浸润少; 良: 绒毛矮小、粗糙或上皮完整性较差, 腺体数量较少, 结构紊乱, 毛细血管较少, 中度炎性细胞浸润; 差: 仅有几个新生上皮细胞, 上皮完整性极差, 绒毛和腺体结构无或少, 毛细血管网少, 大量炎性细胞浸润. 葛喜方等[25]利用该指标评价了不同药物治疗消化性溃疡的疗效.

2.3 再生黏膜功能成熟度的评价 通过黏膜血流测定, 糖蛋白含量测定及糖构成分析, 各种相关激素(如前列腺素、胃泌素、生长抑素)、生长因子及腺苷的定量分析, 检测再生上皮细胞分泌黏液的功能及受体表达状况评价[19]. 近几年来, 关于再生黏膜功能成熟度评价的研究相对比较系统全面, 但正加速度暴露对QOUH影响的研究较少, 其机制还未明确, 本课题组成员将计划从信号转导和基因分子水平进行更深入的研究.

3 加速度对QOUH影响的相关因素

影响QOUH的因素至今仍未阐明, 主要与攻击因子和保护因子两方面有关, +Gz暴露使机体产生剧烈的应激反应和血液动力学改变, 目前的研究[26]认为加速度作用将导致胃溃疡愈合延迟, 加重胃黏膜的损伤. 主要涉及到胃的运动、分泌、血流、生长因子、胃肠激素、氧自由基及细胞增殖与凋亡等多种因素, 对其中主要的几项影响因素综述如下.

3.1 胃黏膜血流量(gastric mucosal blood flow, GMBF) GMBF可为黏膜细胞提供氧、营养物质及胃肠肽类激素等维持其正常功能, 还可及时有效地清除细胞代谢产物和过量的H^+逆弥散, 以维护局部微环境的相对稳定[27]. 胃黏膜血流与QOUH密切相关, Wang等[28]研究阿司匹林对QOUH影响时应用激光多谱勒血流仪检测胃黏膜血流的变化, 结果表明阿司匹林组胃黏膜血流显著降低, 溃疡愈合延迟. Yeomans等[29]认为非甾体类抗炎药抑制肉芽组织中微血管形成, 造成溃疡愈合延迟. 在+Gz暴露情况下, 首先, 由于惯性力作用, 血液发生移位, 机体通过自主神经调节作用减少胃肠道血供而优先满足大脑的需要. 其次, 应激状态下交感神经与迷走神经兴奋, 前者导致黏膜血管收缩、痉挛; 后者则使黏膜下动静脉短路开放[30]; 同时, Keynan等[31]认为高空飞行期间加速度和缺氧可导致血管壁的损伤, 诱发静脉血栓, 从而导致微循环障碍. 以上变化均致使胃黏膜缺血、缺氧, 能量供应不足, 加重黏膜上皮细胞损伤, 从而影响QOUH.

3.2 胃肠激素 胃泌素(gastrin, GAS)主要是由胃窦和小肠上部黏膜的G细胞分泌, 生长抑素(somatostatin, SS)分布广泛, 在消化系统中, 主要由D细胞分泌. GAS和SS是胃酸和胃肠激素分泌的主要调节激素, 并且具有营养因子的效应. 另外, GAS和SS也相互调节, SS可抑制GAS分泌, 而GAS即可通过D细胞上的GAS受体直接刺激SS分泌, 也可通过刺激胃酸分泌间接刺激SS释放. 目前发现GAS和SS与胃溃疡的发病有密切的关系[32].

钟学军等[33]报道5 Gz值组、+10 Gz值组及

■相关报道

目前关于持续加速度对溃疡愈合质量的影响的研究较少, 本课题组前期实验对加速度条件下胃肠激素含量的变化进行研究, 但目前国内尚未基因水平和信号传导的相关报道.

■创新盘点
本文比较系统、全面的对+Gz对大鼠实验性QOUH影响的研究进展进行综述,重点总结了对溃疡愈合质量的评价、+Gz对溃疡愈合质量影响的相关因素,并把动物实验与飞行员溃疡病的实际应用相结合提供新的思路.

重复暴露组胃窦、十二指肠黏膜组织SS含量较对照组显著升高, 同时+10 Gz值组、重复暴露组胃肠黏膜损伤加重; Li等[34]报道复杂特技飞行时, 飞行后即刻、6 h血清胃泌素明显升高, 与飞行前比较有显著差异. 研究结果提示GSA和SS含量的变化可能是飞行人员胃肠功能性疾病和十二指肠球部溃疡发病率较高的一个重要原因.

巴西学者报道[35]从牛蒡根中提取的倍半萜内酯可显著增加血清中的SS而降低GAS从而提高QOUH. 周学俭等[36]的研究显示养胃颗粒各治疗组的血清GAS、SS含量均较模型组升高(P<0.01), 认为养胃颗粒能够明显促进大鼠血清GAS、SS的分泌, 增强胃黏膜的防御机能.

总之, 从损伤、防御及治疗各方面都表明GAS、SS和QOUH密切相关, 可通过调节这两种激素的含量来影响胃黏膜的功能.

3.3 生长因子 在胃溃疡愈合过程中, 多种生长因子及其受体是高度表达的, 如EGF、转化生长因子-α(transforming growth factor-α, TGF-α)、成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor, FGF)、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)等[19]. 他们在上皮细胞增殖、移行, 纤维结缔组织修复以及新生血管的形成中发挥着重要的作用.

在众多生长因子中, 目前研究最多、最受重视的仍是EGF及EGFR. EGF主要由唾液腺和十二指肠Brunner腺产生, 已有研究表明他可以抑制胃酸分泌, 促进溃疡愈合[37]. 本课题组前期实验结果提示[21]+Gz暴露使胃液EGF表达减少可能是胃黏膜损伤、溃疡愈合延迟的重要机制之一. 国外也有类似的报道[38], 应激性胃溃疡患者胃液EGF含量较正常明显降低, 当溃疡愈合时, 其胃液EGF含量亦明显增高; 日本学者[39]通过建立兔胃溃疡模型的研究亦证实EGF可以促进溃疡愈合EGF与胃溃疡愈合、黏膜组织修复密切相关.

其次, TGF-α[40]是EGF家族中另一参与胃黏膜损伤后修复的主要调节器. 国外学者[41]曾建立大鼠胃溃疡模型, 测定胃溃疡周围黏膜TGF-α的表达量, TGF-α随溃疡面的愈合而不断增加. 国内亦有消化性溃疡患者血清和胃液中TGF-α的含量明显降低的报道[42]. 总之, TGF-α在胃肠道中可参与调节黏膜上皮的更新和黏膜损伤的修复, 是维持黏膜完整性的重要介质, 被称为“黏膜完整肽”[19]. 因此, 可考虑使用外源性生长因子促进溃疡愈合.

3.4 花生四烯酸代谢产物前列腺素等 PGs是花生四烯酸的主要代谢产物, 具有保护胃黏膜及抗炎作用, 并可通过刺激细胞的增殖、血管生成、细胞外基质的重建而加速溃疡的愈合和提高QOUH[19]. 笔者近期的实验结果[26]显示随着+Gz值增加, 胃黏膜中PGE2含量降低, 相应组的组织结果提示再生上皮变薄, 腺体高度下降, 腺体囊状扩张加重; 而康复新液组PGE2含量高于同G量处理组, 且黏膜修复较好. Qi等[43]证实, 瑞巴派特与奥美拉唑合用比单用能更有效地增强PGE2表达, 从而提高乙酸性大鼠QOUH. Chai等[44]证明景茂愈溃胶囊可通过提高组织PGE2的含量, 作为保护性因子, 加快溃疡愈合速度, 提高组织修复能力, 保证QOUH. 这些研究提示无论是+Gz损伤还是药物的保护均可以通过调节PGE2含量而影响QOUH.

3.5 炎症介质和自由基的损害作用 消化性溃疡本身是一种严重的炎症反应, 加速度暴露对机体不仅造成机械性损伤, 还是一种应急刺激, 将导致炎症因子增加, 使机体发生级联炎症反应, 从而降低QOUH. 美国学者[45]研究显示免疫反应炎症因子影响大鼠胃溃疡的愈合; 李燕玉等[46]研究证实高+Gz重复暴露后大鼠血清中肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)和白介素-1β(interleukin-1β, IL-1β)增加, 而黄芪组与对照组相比则明显降低, 认为黄芪通过减少细胞炎症因子水平而发挥保护作用.

除此之外, 当胃黏膜发生炎症或溃疡时, 自由基的生成能力超过其清除能力, 使之在黏膜局部蓄集, 对慢性胃、十二指肠溃疡有致病作用[47]. 本课题组研究结果[48]显示+Gz暴露可加重胃黏膜损伤, 通过检测胃黏膜组织中丙二醛(malondialdehyde, MDA)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)的水平变化, 发现氧自由基可能是其损伤的重要机制之一. Naito等[8]通过黏膜下注射乙酸制造大鼠胃溃疡模型, 然后给予氧自由基清除剂治疗, 结果显示清除氧自由基或抑制黄嘌呤氧化酶作用能提高QOUH. 所以关于溃疡的抗炎和清除自由基的治疗将给临床工作者以新的启示.

4 实际应用

消化性溃疡是多因素综合作用导致的身心疾病[49]. 飞行员暴露于高+Gz、低氧等特殊环境中, 使溃疡病成为他们的高发病, 航天航空医学界对此病也更加的重视. 目前, QOUH的评价指标更全面、更系统, 这有利于临床工作者对溃疡

的严重程度和愈合修复情况做出更准确的判断; 同时对影响QOUH相关因素的研究也必将推动临床防治方面的进步, 如应用基因工程开发出生长因子类药物, 或以生长因子为新的药物靶点, 运用现代医学技术开发出具有调节激素水平功效的药物等.

因为飞行员工作环境和工作压力的特殊性, 在开发新型药物治疗的同时, 应对飞行员进行宣传和教育, 缓解工作时高紧张状态, 以提高QOUH, 减少溃疡复发. 同时, 针对飞行员溃疡病的高发性, 预防也固然重要, 目前认为适应性训练可提高机体自身免疫力和应激抵抗能力[50], 但相关研究较少, 其标准的训练方法和具体机制仍是一个热议的话题.

5 结论

+Gz暴露从多方面影响QOUH, 对飞行安全造成威胁. 目前随着各国航天航空医学界对本病的重视, 在基础和临床方面都取得了突破性的进展, 但目前的相关研究多数以动物实验为主, 已被证实的理论应用于飞行员还需进一步研究保证, 而且消化性溃疡相关的各基因是否相互影响及飞行员溃疡病的高复发率仍待解决, 因此此项研究方兴未艾, 将更加广泛和深入的从分子生物学角度解释+Gz的损伤机制, 开展多基因的协同研究, 探讨新的有效防护措施并应用于临床治疗, 以提高QOUH, 为飞行员飞行安全保驾护航.

6 参考文献

1 McCrary BF, Van Syoc DL. Permanent flying disqualifications of USAF pilots and navigators (1995-1999). *Aviat Space Environ Med* 2002; 73: 1117-1121 [PMID: 12433238]
2 Nakanishi K, Ohrui N, Nakata Y, Hanada R, Kobayashi M, Ohashi K. Long-term disability among aviators in Japan Air Self-Defense Force: analysis of 260 cases. *Aviat Space Environ Med* 2003; 74: 966-969 [PMID: 14503675]
3 刘军莲, 高建义, 李勇枝, 盖宇清, 王力元, 任红茹, 郭辉, 潘燕燕. 飞行员疾病谱研究进展. 航天医学与医学工程 2011; 24: 151-156
4 伍早安. 空降兵消化道溃疡胃镜检查与临床分析. 中华航空航天医学杂志 2005; 16: 58-59
5 王凌娟, 张雯. 胃溃疡及实验性胃溃疡模型. 中国烧伤创疡杂志 2001; 2: 122-124
6 Okabe S, Pfeiffer CJ. Chronicity of acetic acid ulcer in the rat stomach. *Am J Dig Dis* 1972; 17: 619-629 [PMID: 5032686 DOI: 10.1007/BF02231748]
7 才丽平, 蒋宁, 曲怡, 林庶茹, 韩荣春, 王浩, 郑洪新. 胃黏膜表面局部投予乙酸制备大鼠胃溃疡模型的方法. 解剖科学进展 2011; 17: 8-11, 15
8 Naito Y, Yoshikawa T, Matsuyama K, Yagi N, Arai M, Nakamura Y, Nishimura S, Yoshida N, Kondo M. Effects of oxygen radical scavengers on the quality of gastric ulcer healing in rats. *J Clin Gastroenterol* 1995; 21 Suppl 1: S82-S86 [PMID: 8774996]
9 Takeuchi K, Kato S, Takehara K, Asada Y, Yasuiro T. Role of nitric oxide in mucosal blood flow response and the healing of HCl-induced lesions in the rat stomach. *Digestion* 1997; 58: 19-27 [PMID: 9018006 DOI: 10.1159/000201419]
10 王英. 冰乙酸性大鼠胃溃疡模型制作方法比较. 实用诊断与治疗杂志 2007; 21: 505-506
11 Robert A, Nezamis JE, Lancaster C, Hanchar AJ. Cytoprotection by prostaglandins in rats. Prevention of gastric necrosis produced by alcohol, HCl, NaOH, hypertonic NaCl, and thermal injury. *Gastroenterology* 1979; 77: 433-443 [PMID: 456839]
12 李莉, 龚晓娟, 杨以阜, 陈昶洲, 张正利. 5个制酸类中药对乙醇大鼠胃溃疡模型溃疡指数、NO的影响. 湖北中医杂志 2012; 34: 3-5
13 项迎春, 傅旭春, 单海丽, 白海波, 扈荣. 姜百胃炎片对大鼠水浸应激胃溃疡模型的作用. 海峡药学 2013; 25: 17-18
14 Smith C, Goswami N, Robinson R, von der Wiesche M, Schneider S. The relationship between brain cortical activity and brain oxygenation in the prefrontal cortex during hypergravity exposure. *J Appl Physiol* (1985) 2013; 114: 905-910 [PMID: 23372141 DOI: 10.1152/japplphysiol.01426]
15 Kim HS, Kim YW. Expression of phosphorylated extracellular signal-regulated kinase in rat kidneys exposed to high +Gz. *Bosn J Basic Med Sci* 2012; 12: 269-272 [PMID: 23198944]
16 Iwasaki K, Ogawa Y, Aoki K, Yanagida R. Cerebral circulation during mild +Gz hypergravity by short-arm human centrifuge. *J Appl Physiol* (1985) 2012; 112: 266-271 [PMID: 22052869 DOI: 10.1152/japplphysiol.01232.2011]
17 赵洪礼, 吴战军, 孙跃, 谢艳娜. 高Gz值暴露对胃黏膜损伤的防治性研究. 实用医药杂志 2010; 27: 245-247, 250
18 Augsten K, Tonew E. [In vitro evaluation of antiviral inhibitors by means of a turbidity method (author's transl)]. *Acta Histochem* 1975; 53: 97-102 [PMID: 171906 DOI: 10.1097/00004836-199112001-00007]
19 柳越冬, 王娜, 陶弘武. 溃疡愈合质量的研究进展. 中华中医药刊 2011; 29: 1484-1486
20 Guth PH, Aures D, Paulsen G. Topical aspirin plus HCl gastric lesions in the rat. Cytoprotective effect of prostaglandin, cimetidine, and probanthine. *Gastroenterology* 1979; 76: 88-93 [PMID: 361495]
21 范勤, 陈英, 杨春敏, 杜斌, 韩全利. Gz暴露对大鼠胃黏膜损伤及胃液表皮生长因子含量的影响. 胃肠病学和肝病学杂志 2013; 22: 228-231
22 丁慧波, 刘晓伟, 陈欣, 陈窕圆, 肖卫平, 董秋安, 徐丽. 维胃方对实验性大鼠胃溃疡血清NO和NOS的影响. 四川中医 2007; 25: 15-17
23 Takemoto T, Sasaki N, Tada M, Yanai H, Okita K. Evaluation of peptic ulcer healing with a highly magnifying endoscope: potential prognostic and therapeutic implications. *J Clin Gastroenterol* 1991; 13 Suppl 1: S125-S128 [PMID: 1940187 DOI: 10.1097/00004836-199112001-00020]
24 Pan S, Liao CH. The histological maturity of regenerating mucosa of healed duodenal ulcer and ulcer recurrence after treatment with H2-antagonist. *Am J Gastroenterol* 1990; 85: 949-952 [PMID: 1973870 DOI: 10.1053/gast.2001.20916]
25 葛喜方, 亢峰. 达喜四联方案治疗消化性溃疡疗效观

■应用要点

动物实验的研究将为飞行员胃肠疾病的防护提供理论依据, QOUH的评价指标有利于临床工作者对溃疡的严重程度和愈合修复情况做出更准确的判断; 同时对影响QOUH相关因素的研究也必将推动临床防治方面的进步, 如应用基因工程开发出生长因子类药物, 或以生长因子为新的药物靶点, 运用现代医学技术开发出具有调节激素水平功效的药物等.

■同行评价

本文对正加速度对大鼠实验性胃溃疡愈合质量影响的研究进展进行综述, 选题贴近临床及基础, 具有一定的理论意义.

察. 中国误诊学杂志 2007; 7: 3994- 3995
26 陈璐, 陈英, 杨春敏, 范勤, 韩全利, 唐合兰, 李静. 持续正加速度对实验性大鼠胃溃疡愈合质量的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21: 1841-1846
27 Sato N, Kawano S, Tsuji S, Ogihara T, Yamada S. Gastric blood flow in ulcer diseases. *Scand J Gastroenterol Suppl* 1995; 208: 14-20 [PMID: 7777796]
28 Wang GZ, Huang GP, Yin GL, Zhou G, Guo CJ, Xie CG, Jia BB, Wang JF. Aspirin can elicit the recurrence of gastric ulcer induced with acetic acid in rats. *Cell Physiol Biochem* 2007; 20: 205-212 [PMID: 17595529 DOI: 10.3109/00365529509107756]
29 Yeomans ND, Garas G, Hawkey CJ. The nonsteroidal anti-inflammatory drugs controversy. *Gastroenterol Clin North Am* 2000; 29: 791-805 [PMID: 11190064 DOI: 10.1016/S0889-8553(05)70147-3]
30 Jiménez D, Martin MJ, Pozo D, Alarcón C, Esteban J, Bruseghini L, Esteras A, Motilva V. Mechanisms involved in protection afforded by L-arginine in ibuprofen-induced gastric damage: role of nitric oxide and prostaglandins. *Dig Dis Sci* 2002; 47: 44-53 [PMID: 11837731]
31 Keynan Y, Bitterman N, Bitterman H. Hypoxia-reoxygenation contributes to increased frequency of venous thromboembolism in air travellers. *Med Hypotheses* 2006; 66: 165-168 [PMID: 16229962 DOI: 10.1016/j.mehy.2005.05.048]
32 孙凤蓬, 宋于刚, 谭汉荣. 胃溃疡大鼠胃泌素、生长抑素和GD细胞的变化. 世界华人消化杂志 2004; 12: 363-366
33 钟学军, 吴战军, 孙延平, 许刚, 徐奎浩, 田广庆. Gz值暴露后大鼠胃十二指肠黏膜及生长抑素含量的变化. 航天医学与医学工程 2005; 18: 148-150
34 Li M, Ma G, Qin S, Xu L, Zhang X. Effects of complex aerobatics on serum insulin, cortiso, langiotensin Ⅱ and gastrin in pilots. *Space Medicine& Medical Engineering* 1995; 8: 187-190
35 de Almeida AB, Luiz-Ferreira A, Cola M, Di Pietro Magri L, Batista LM, de Paiva JA, Trigo JR, Souza-Brito AR. Anti-ulcerogenic mechanisms of the sesquiterpene lactone onopordopicrin-enriched fraction from Arctium lappa L. (Asteraceae): role of somatostatin, gastrin, and endogenous sulfhydryls and nitric oxide. *J Med Food* 2012; 15: 378-383 [PMID: 22191571 DOI: 10.1089/jmf.2011.0025]
36 周学俭, 王香花. 养胃颗粒对慢性萎缩性胃炎大鼠胃泌素、生长抑素和前列腺素E2的影响. 浙江中医杂志 2013; 48: 363-364
37 Szabo S, Vincze A. Growth factors in ulcer healing: lessons from recent studies. *J Physiol Paris* 2000; 94: 77-81 [PMID: 10791686 DOI: 10.1016/S0928-4257(00)00146-7]
38 Okabe S, Amagase K. An overview of acetic acid ulcer models--the history and state of the art of peptic ulcer research. *Biol Pharm Bull* 2005; 28: 1321-1341 [PMID: 16079471 DOI: 10.1248/bpb.28.1321]
39 Fujisawa K, Miyamoto Y, Nagayama M. Basic fibroblast growth factor and epidermal growth factor reverse impaired ulcer healing of the rabbit oral mucosa. *J Oral Pathol Med* 2003; 32: 358-366 [PMID: 12787043 DOI: 10.1034/j.1600-0714.2003.t01-1-00111.x]
40 贺建华. 生长因子在消化性溃疡愈合中的作用. 国外医学•消化分册 2003; 23: 12-15
41 Konturek PC, Brzozowski T, Konturek SJ, Ernst H, Drozdowicz D, Pajdo R, Hahn EG. Expression of epidermal growth factor and transforming growth factor alpha during ulcer healing. Time sequence study. *Scand J Gastroenterol* 1997; 32: 6-15 [PMID: 9018760 DOI: 10.3109/00365529709025056]
42 胡义亭, 甄承恩, 邢国章, 张曼利, 张建生, 王鼎鑫, 卢亚敏. 消化性溃疡患者转化生长因子α、表皮生长因子和前列腺素E2的关系. 世界华人消化杂志 2002; 10: 43-37
43 Qi Z, Jie L, Haixia C, Xiaoying Z. Effect of rebamipide on quality of peptic ulcer healing in rat. *Dig Dis Sci* 2009; 54: 1876-1883 [PMID: 19082723 DOI: 10.1007/s10620-008-0577-3]
44 Chai J, Norng M, Tarnawski AS, Chow J. A critical role of serum response factor in myofibroblast differentiation during experimental oesophageal ulcer healing in rats. *Gut* 2007; 56: 621-630 [PMID: 17068115 DOI: 10.1136/gut.2006.106674]
45 李红艳, 王道坤, 段永强, 李琼. 景民愈溃胶囊对大鼠胃溃疡愈合质量及PGE2、EGF的影响. 中医临床研究 2013; 5: 4-7
46 李燕玉, 徐丽梅, 张波, 刘又宁. Gz重复暴露后大鼠TNF-α和IL-1β水平及肺组织mRNA表达变化. 军医进修学院学报 2006; 27: 218-219
47 张洪霞. 溃疡愈合质量及复发的研究进展. 中国民康医学 2007; 19: 305-306
48 邵颖铗, 杨春敏, 李静, 陈英, 范勤, 唐合兰, 贾敏, 王建昌, 辛益妹. 正加速度暴露下急性胃黏膜损伤胃组织中MDA、SOD水平的变化. 世界华人消化杂志 2013; 21: 1733-1739
49 楚瑞阁, 郑林华, 谢斌, 张小萍. 情志影响消化性溃疡愈合质量的研究进展. 北京中医药 2008; 27: 147-148
50 李莉萍, 刘丽, 于立身, 罗超权. 离心机训练对大鼠不同组织mRNA表达的影响. 航天医学与医学工程 2004; 17: 184-188

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年4月8日; 22(10): 1365-1372
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

文献综述 REVIEW

胃癌前病变及早期胃癌诊治的进展

张春霞, 董 杰

张春霞, 董杰, 内蒙古林业总医院消化内科 内蒙古自治区牙克石市 022150
张春霞, 主治医师, 主要从事消化系统疾病的临床研究与内镜的诊治.
作者贡献分布: 本文由张春霞完成; 董杰收集资料.
通讯作者: 张春霞, 主治医师, 022150, 内蒙古自治区牙克石市林城路81号, 内蒙古林业总医院消化内科. zcx1978@163.com
电话: 0470-7231352
收稿日期: 2013-12-18 修回日期: 2014-01-28
接受日期: 2014-02-19 在线出版日期: 2014-04-08

Progress in diagnosis and treatment of precancerous lesions and early gastric cancer

Chun-Xia Zhang, Jie Dong

Chun-Xia Zhang, Jie Dong, Department of Gastroenterology, Inner Mongolia Forestry General Hospital, Yakeshi 022150, Inner Mongolia Autonomous Region, China
Correspondence to: Chun-Xia Zhang, Attending Physician, Department of Gastroenterology, Inner Mongolia Forestry General Hospital, 81 Lincheng Road, Yakeshi 022150, Inner Mongolia Autonomous Region, China. zcx1978@163.com
Received: 2013-12-18 Revised: 2014-01-28
Accepted: 2014-02-19 Published online: 2014-04-08

Abstract
Gastric cancer is the fourth most prevalent cancer worldwide and the second cause of cancer-related death. The 5-year survival rate for early gastric cancer after treatment is 84%-99%. Early detection and treatment of precancerous lesions are pivotal to improved patient survival. The development of various endoscopic (*e.g.*, endoscopic ultrasound, narrowband imaging, magnifying endoscopy and chromoendoscopy), imaging and laboratory technologies has significantly improved the rate of diagnosis of early cancer and precancerous lesions. In addition, endoscopic techniques (*e.g.*, endoscopic submucosal dissection) and minimally invasive surgery (*e.g.*, laparoscopy) make the therapy of early cancer and precancerous lesions better and less invasive, reduce the incidence of postoperative complications, and improve the quality of life of patients after surgery.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Early gastric cancer; Precancerous lesions; Diagnosis; Treatment

Zhang CX, Dong J. Progress in diagnosis and treatment of precancerous lesions and early gastric cancer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(10): 1365-1372 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1365.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i10.1365

摘要
胃癌居肿瘤第4位, 相关死因的第2位. 早期胃癌治疗后5年生存率达84%-99%. 对癌前病变及早癌早发现、早治疗是提高患者生存率的关键. 现各种特色内镜(如超声内镜、窄带成像技术、放大内镜、色素内镜等的出现)及影像学、实验室技术的更新使得早癌及癌前病变的诊断率明显提高. 并且内镜技术(例内镜黏膜下剥离术等)及微创外科(腹腔镜等)等使得早癌及癌前病变的治疗疗效更好、创伤更小, 能减少术后并发症的发生, 能改善患者术后生活质量.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 早期胃癌; 癌前病变; 诊断与治疗

核心提示: 在胃肿瘤的癌前阶段及早癌进行早期发现, 早期治疗, 降低并发症发生率, 减少死亡率, 内镜、内镜与腹腔镜联合、自然腔道内镜外科技术是其治疗发展方向.

张春霞, 董杰. 胃癌前病变及早期胃癌诊治的进展. 世界华人消化杂志 2014; 22(10): 1365-1372 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1365.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i10.1365

0 引言
早期胃癌半数以上无特征性表现[1], 能手术治疗的进展期胃癌5年生存率仅为约30%-40%, 而早期胃癌治疗后5年生存率达84%-99%[2]. 日本早期

■背景资料
随着各种特色内镜技术、影像学及实验室等技术的更新发展, 使得早期胃癌及癌前病变的诊断率明显提高, 并且内镜黏膜下剥离术等内镜技术及微创外科(腹腔镜等)等使得早癌及癌前病变的治疗疗效更好、创伤更小, 能减少术后并发症的发生, 故提高早期胃癌及癌前病变的诊断率及选择合适的且创伤最小的治疗方法是目前热点.

■同行评议者
程英升, 教授, 上海交通大学附属第六人民医院放射科

■相关报道
李延青等对共聚焦激光显微内镜等内镜技术, 周平红等对内镜黏膜下剥离术等内镜治疗技术进行了报道, 总结了一系列的经验与体会.

胃癌诊断的比例已达到全部胃癌的50%以上[3], 而我国早期胃癌诊断率仅为5%-15%[4,5]. 著名的Correa序列提出肠型胃癌经过慢性萎缩-肠上皮化生-上皮内瘤变-胃癌的演变过程, 故对癌前病变给予监控、早期干预和早期胃癌的早发现、早诊断、早治疗是提高生存率的关键. 现就胃癌前病变、早期胃癌的诊断、治疗予以综述.

1 内镜诊断进展

1.1 放大内镜 1967年日本学者开始应用放大内镜, 随着电子、光学技术的不断发展进步, 放大内镜得到进一步推广, 放大倍率提高至170倍. 具有高像素和高分辨率的特点, 利于观察细微结构, 从而提高黏膜早期微小病变及早癌的诊断率. Tajiri等[6]报道用放大内镜和普通内镜观察232例病变, 放大内镜与普通内镜诊断早期胃癌的准确率分别为91.7%和66.7%. 可观察消化系黏膜微小病变, 指导活检, 但对消化系病变的诊断, 尚无统一标准, 存在一定主观性, 胃肠道蠕动等妨碍了放大内镜的观察.

1.2 色素内镜 又称染色内镜, 是用特殊染色剂喷洒于病变或可疑病变处, 结合放大电子内镜, 观察黏膜的隐窝、腺管开口的形态、黏膜下血管的分布, 从而指导活检提高癌前病变和胃癌的检出率. 常用于诊断胃部疾患的染色剂有靛胭脂、美蓝和刚果红、醋酸. 放大素色内镜有助于确定肠上皮化生和和不典型增生[7,8]; 美兰为可吸收染料, 原理为染色法, 发生肠化、异型增生及早癌的胃黏膜, 吸收亚甲蓝后染为蓝色, DNA的含量越高染色就越深[9]. 在韩国的一项研究中, 色素内镜(使用靛胭脂醋酸)与传统的白光内镜对可疑肿瘤病变的识别率分别为89.8%与68.5%, 而在未分化型病变的检测色素内镜与白光内镜的准确度分别为70%与62.8%[10]. 缺点是检查时间长, 色素有时难以黏附在黏膜上, 染色剂对胃肠黏膜的刺激, 增加医疗费用等不足.

1.3 窄带成像技术 窄带成像技术(narrow band imaging, NBI)日本Olympus公司研发的一种新型内镜成像技术. NBI下黏膜的形态与毛细血管的图像更加清晰, 引导活检从而提高癌前病变及早癌的诊断率. NBI常与放大内镜一起使用提高病变的检查率(narrow band imaging system with magnifying endoscopy, NBI-ME). 报道显示NBI下显示淡兰色嵴样结构对肠上皮化生有一定的诊断价值, 阳性率为80%-100%[11,12]. Baptista等[13]进行了一项多中心前瞻性随机对照试验, 对胃镜检查中发现直径<1 cm的未确诊的可疑病变患者随机分组到白光内镜组(n = 176)和NBI放大内镜组(M)(n = 177), 接受白光内镜的患者也接受了M-NBI检查, 40例胃癌患者被确诊, M-NBI组的准确性、敏感性、特异性分别为90.4%、60%、94.3%, 白光内镜组的准确性、敏感性、特异性分别为64.8%、40%、67.9%, 白光内镜+M-NBI组的准确性、敏感性、特异性分别为96.6%、95%、96.8%. 另一项由Nakayoshi等[14]报道, 对165例凹陷型早期胃癌行M+NBI观察, 将微血管形态分为3型, Ⅰ型为细微网状, Ⅱ型为螺旋状, Ⅲ型为不规则型, 109例分化型腺癌中72例为细微网状血管, 56例未分化腺癌中48例为螺旋状, NBI可以判断胃黏膜细微病变, 同时可根据血管网形态初步判断分化程度. 甚至可起到染色内镜相同的效果. 操作简单, 现逐渐应用于临床.

1.4 超声内镜 是将超声探头和内镜有机地结合起来的一种新型内镜成像技术, 在内镜检查的同时对异常病变进行实时超声扫描, 来获得肿瘤及胃壁各层、周围脏器、淋巴结等的超声图像. 超声内镜为早期胃癌的确诊和INM分期及选择最佳的治疗方式提供依据. 有报道示超声内镜对侵犯黏膜下层胃癌的诊断敏感性为18.2%-100%, 中值87.8%, 特异性为34.7%-100%, 中值80.2%[15]. 超声内镜在预测早期胃癌浸润深度上被Okada等[16]证明是一种可靠的方法, 在判断直径不超过3 cm的分化型腺癌浸润深度中准确率为87.8%(259/295); 在判断直径超过3 cm分化型腺癌浸润深度上准确率为43.5%; 判断直径不超过2 cm的未分化腺癌中准确率为75%. 超声内镜能弥补普通胃镜不能观察黏膜下层的缺点, 最大的优势在于对胃癌进行术前分期, 准确的临床分期有助于合理的临床决策及预测预后, 尤其为ECG 行内镜下切除提供依据.

1.5 共聚焦内镜 共聚焦内镜(confocal endoscopic, CLE)是在内镜头端加上一个极小的激光共聚焦显微镜, 可放大1000倍, 在胃镜检查的同时可进行表层下细胞及亚细胞水平的组织学诊断, 从而指导活检诊断疾病. 使用CLE时常使用荧光对比剂. 有研究显示共聚焦内镜对癌症和炎症的诊断具有84%-90%的灵敏度和95.0%-99.4%的特异性[10]. 我国的一项关于共聚焦内镜与普通白光内镜诊断非癌症病变和癌症、高级别上皮内瘤变的研究显示, CLE诊断的敏感性为88.9%, 特异性为99.3%, 阳性率99.5%; 而普通白光内镜敏

感性为72.2%, 特异性为95.1%, 阳性率98.6%[17]. 此法虽对癌前病变及早癌的诊断有较高特异性, 但此法费时、费用高, 限制了其广泛应用.

1.6 荧光内镜 荧光内镜是一种新型内镜技术. 利用激光诱导组织自体荧光或外源性光敏剂来测定荧光光谱的差异性来判断组织性质, 后者较少应用. 不注射外源性光敏剂的称激光诱发固有荧光内镜(laser-induced fluorescence endoscopy inherent, LIFE), Kobayashi等[18]对52例胃疾病患者进行检查, 对早期胃癌的诊断率达94%. 自体荧光技术与反射成像技术相结合(auto fluorescence imaging, AFI)亦可提高早期胃癌的诊断, Otani等[19]对67例非溃疡型胃癌患者进行检查发现侵犯至胃壁各层的自体荧光指数不同, 表明AFI有助于判断肿瘤浸润深度. 但有研究显示荧光内镜与色素内镜技术相比无明显优势, 且难以鉴别腺瘤和早癌.

1.7 内镜智能分光比色技术 内镜智能分光比色技术(fuji intelligent chromo endoscopy, FICE)胃镜图像经计算机处理、产生特定波长的分光图像, 利用电子分光技术, 据病变不同设定波长, 选定不同的分光图像, 再将分光图像还原为FICE图像. Mouri等[20]应用智能分光比色技术对44例早期胃癌(分化型27例, 未分化型17例)患者进行检查, 发现波长530 nm时早癌和正常黏膜的光谱放射系数差异最大, 说明波长530 nm时FICE下早期胃癌病灶显示得最清楚, 且FICE在显示肿瘤边界上较普通内镜具有明显的优势. 但价格昂贵, 且技术要求较高, 在国内难以普及.

2 其他

2.1 肿瘤标志物 肿瘤标志物作为胃癌的辅助诊断手段, 检测简便, 易于被各类患者接受, 得到了广泛的应用. 临床常用的有CEA、CA199、CA724和CA50, 但缺乏高特异性及高敏感性. 近年, 血清胃蛋白酶原检测受到关注, 筛查癌前病变及胃癌. 胃蛋白酶原(pepsinogen, PG)胃蛋白酶的前体, 人体内表达两种同工酶: PGⅠ和PGⅡ, 文献推荐以PGⅠ≤70 ng /mL和PGⅠ/PGⅡ≤3定义为阳性, 预测萎缩性胃炎的敏感性93%, 特异性88%, 检测胃癌的敏感性84.6%, 特异性67.2%[21].

2.2 基因诊断 要真正做到肿瘤的早期诊断, 必须从肿瘤发展的早期阶段即基因水平的变化入手, 基因诊断可在细胞癌变前实现. 相关癌基因变异的检测, 如: *ras*、*c-myc*、*c-met*、*p16*、*p53*; 这些基因参与肿瘤的发病, 但不具有高度特异性. 现仍未发现胃癌特异性基因, 需进一步研究.

2.3 免疫组织化学 用免疫组织化学技术检测细胞核DNA的含量、非整倍体的定量分析, 利用DNA非整倍体型作为早期胃癌的标志. 并可测知癌前病变不典型增生程度.

2.4 影像学检查

2.4.1 X线消化系造影: 钡餐造影是初筛胃癌的常用方法, 优点是技术简便、痛苦小、容易被接受, 尤其是不能耐受胃镜检查的老年、心肺功能差的患者及不愿行胃镜检查患者的首选. 对进展期胃癌检出率高. 现多采用胃X线气钡双重造影, 能显示胃黏膜的细微结构, 可发现EGC, 甚至可以判断浸润深度, 是一种好的诊断方法. 缺点是不能取病理.

2.4.2 多层螺旋CT: 多层螺旋CT及其增强扫描成像速度快, 层数多, 不受肠胀气影响, 对转移及浸润的诊断有帮助, 还可采用后处理、重建技术诊断疾病. 因此被广泛用于胃癌的术前分期, 已成为临床普遍采用的分期方法. 有研究显示其对T分期总体准确率90.9%, 对N分期的准确率达70%-80%[22].

2.4.3 核磁: 核磁检查速度慢, 受胃肠蠕动及呼吸影响, 限制了临床应用, 随着扫描速度的加快, 技术的不断进步, MRI也逐渐用于胃癌的诊断及判断术前分期.

2.4.4 正电子发射断层与计算机断层扫描显像(positron emission tomography and computed tomography, PET/CT): 但CT、核磁等检查对区域淋巴结转移的检测及准确判定仍存在局限性, PET-CT对远处转移判定准确率较高, 对胃癌的术前诊断及分期, 术后监测有重要的参考价值. 2008年NCCN胃癌实践指南中已将PET-CT列为胃癌患者术前的常规检查. 但对早期胃癌的诊断价值有限.

3 早期胃癌、癌前病变的治疗进展

3.1 根除幽门螺杆菌 最近的一项荟萃分析结果显示, 在慢性胃炎及不伴上皮化生的萎缩性胃炎中根除幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)1-2年内萎缩性胃炎可明显改善胃的组织学[23]. 另一项研究表明: 萎缩性胃炎可能出现逆转的概率取决于萎缩的程度和位置[24]. 根除*H. pylori*对癌前病变的逆转问题上是有争议的, 多个分析显示在根除*H. pylori*后对肠上皮化生等癌前病变无明显改善[24,25]. 而有些研究证实抗*H.*

同行评议
本文反映胃癌前病变和早期胃癌的诊断和治疗进展, 条理清晰, 概括全面, 具有重要的临床指导意义和参考价值.

*pylori*治疗能改善癌前病变, 例如在一个随机试验经过6年的随访, De Vries等[26]研究表明在有癌前病变的患者, 有效的抗*H. pylori*治疗和日常的补充抗氧化剂饮食可能会干扰癌前病变的进程, 大多是改善包括肠上皮在内的癌前病变的逆转, 治疗的效果同时取决于肠上皮化生的范围和*H. pylori*定植的程度. 较多的研究倾向于根除*H. pylori*多的倾向于可预防胃癌的发生. 一项研究根除*H. pylori*治疗的患者与持续的*H. pylori*感染患者相比较, 根除者可显著降低胃癌的发病率. 然而相同的队列, 在随访14年中, 一些*H. pylori*阴性的患者仍可患胃癌, 这表明*H. pylori*感染治愈后癌症仍可发展. 但根除*H. pylori*感染仍被推荐, 因为根治后可减少异时癌的发生率[27]. 在以前胃癌曾接受过胃切除术和内镜切除术的患者中, 根除*H. pylori*感染后可降低新肿瘤的患病率和减轻肠化的严重程度. 在一项多中心随机对照试验, 272例患者被随机分配到根除幽门螺杆菌组和未根除*H. pylori*组, 经过3年的随访, 在非根除组出现24例异时病变, 而在根治组出现9例, 研究表明至少在短时间内(3年)根除*H. pylori*是有益的[28].

3.2 内镜治疗 Shimada等[29]报道了黏膜内癌的淋巴结转移率为2.5%, 侵及黏膜下的淋巴结转移率为20.2%, 这些结果与Gotoda报道的黏膜内癌的淋巴结转移率2.2%, 侵及黏膜下的转移率为17.9%相近. 基于早期胃癌的低淋巴结转移风险, 内镜治疗以创伤小、并发症少成为癌前病变及早期胃癌的主要治疗方法. 内镜下切除不伴淋巴结转移的早期胃癌已经得到新版NCCN胃癌指南的推荐. 内镜下治疗的主要方法有内镜下黏膜切除(endoscopic mucosal resection, EMR)和内镜下黏膜剥离术(endoscopic submucosal dissection, ESD).

3.2.1 EMR: 1984年日本学者多田正弘等首次报道了用EMR治疗早期胃癌. EMR是镜下行黏膜切除, 达到治疗黏膜病变的目的. 主要有透明帽法、橡皮圈套扎法、双管道内镜法、剥离活检法、黏膜分片切除法等方法. EMR适合切除较小的平坦型病变, 尤其适合侧向发育型肿瘤的切除. 据日本2004年胃癌学会编写的EMR治疗标准, EMR适应症: 高分化型, 无血管、淋巴转移, 癌肿局限于黏膜层; 肿瘤直径<2 cm; 病变局部不合并溃疡的早癌[30]. EMR易于操作, 并且所需手术时间短, 在治疗早期胃癌中发挥了重要作用. Park等[31]对12项早期胃癌文献行Meta分析显示, EMR治疗整块切除率为43%, 治愈性切除率59%, 复发率5.03%, 术中出血率为7.73%, 术后出血率为3.97%, 穿孔的发生率为1.03%. 对于直径>2 cm的病变由于EMR本身的限制, 需分片切除(endoscopic endoscopic piecemeal mucosal resection, EPMR)导致切除不完全, 不能提供精准的病理评估, 且易发生病变的残留, 导致病变局部复发, 最近的1项报道显示复发率达2%-35%[32].

3.2.2 ESD: 1999年日本Gotoda等首先报道了直径>2.0 cm的早癌进行剥离成功, 即ESD. ESD的适应症为[33]: (1)早期胃癌的扩大适应症: 肿瘤直径≤2 cm, 无合并存在溃疡的未分化型黏膜内癌; 不论病灶大小, 无合并存在溃疡的分化型黏膜内癌; 肿瘤直径≤3 cm, 合并存在溃疡的分化型黏膜内癌; 肿瘤直径≤3 cm, 无合并溃疡的分化型黏膜下层癌; (2)癌前病变直径<2 cm的病灶采用EMR, 直径>2 cm的病灶推荐ESD治疗; (3)良性肿瘤, 如胃息肉、胃间质瘤、异位胰腺、脂肪瘤等, 包括部分来源于固有肌层的肿瘤; (4)对于年老体弱、有手术禁忌症或疑有淋巴结转移的黏膜下癌拒绝手术者, 可视为相对适应症; (5)EMR术后残留或复发病变. ESD的优势: 能切除较大的病变; 获得高的整块切除率, 能提供完整的病理资料, 局部的复发率低; 可解决EMR的复发和残留问题. ESD在老年患者中可行且安全, 与国外报道的文献一致[34]. 但手术时间长, 穿孔及出血发生率较高. 文献报道的ESD整块切除率81%-97%, 组织学治愈性切除率为73.6%-94.7%, 复发率为0-7.7%[13,35]. 出血发生率为7%-38%, ESD迟发性出血的发生率0.6%-15.6%, 76%的迟发性出血发生在术后24 h内[35,36]. 穿孔的发生率为1.2%-9.7%[35]. 合并溃疡的≤2 cm未分化型黏膜内癌已写入扩大适应症中, 在技术上是可行的, 而对未分化型癌的疗效是否像分化型癌还不十分明确, 研究显示对于分化癌整块切除率达95%-99%, 而对未分化癌治愈性切除率为45%-89%, 未分化癌的3年、5年的总死亡率为分别为1.9%、3.9%, 3年及5年的无病生存率均为96.7%, 对于未分化癌的治疗还需大样本的积累[37-39].

3.3 早期胃癌的腹腔镜治疗

3.3.1 腹腔镜下胃楔形切除术: 此法主要用于肿瘤位于胃大弯或前壁, 内镜下精确定位下应用超声刀做楔形胃局部切除, 并腹腔镜下间断缝合. 与传统的开腹手术相比腹腔镜胃切除术有

肠道功能恢复快, 住院时间短等优势.

3.3.2 腹腔镜辅助胃癌根治术: 腹腔镜技术自1991年被用于治疗胃癌, 即能行胃大切术又能完成对第1、2站淋巴结的清扫. 其适应症与开腹手术相同. Lee等[40]对比了106例早期胃癌患者腹腔镜辅助下胃远端根治术及105例早期胃癌患者采用传统开放式远端胃大部切除术的长期疗效, 2组的5年存活率无统计学意义, 分别为95.9%和94.9%. 优点是创伤小.

3.3.3 前哨淋巴结导航外科: 胃镜、腹腔镜与前哨淋巴结导航技术相结合是治疗早期胃癌的新方法[41]. 在前哨淋巴结导航下对淋巴结进行活检来确定淋巴结有无转移, 无转移行ESD治疗, 可避免过度治疗, 有转移行腹腔镜辅助胃癌根治术. 这是近年来治疗早期胃癌的另一突破, 术中微转移检测方法的准确性及检测的方便性的提高是目前期待进一步解决的, 相信前哨淋巴结导航技术在不久广泛用于临床, 指导治疗.

3.3.4 腹腔镜和内镜双镜联合技术(combined laparoscopic endoscopic resections, CLER): 此法可以用来治疗内镜切除困难的息肉、早期胃肿瘤. EMR及ESD有其局限性, CLER可获得与外科手术相近的治疗效果. 其方法包括腹腔镜辅助下ESD(适合黏膜内和黏膜下癌)、腹腔镜下胃肿瘤根治术(可疑淋巴结转移的早癌)、内镜辅助下腹腔镜胃部分切除(适合无淋巴转移的胃早期肿瘤)[42,43]. 本法同时使用软镜与硬镜从胃肠道腔内与腔外同时操作, 准确定位、准确切除, 降低了并发症并提高了手术的成功率. CLER技术将得到更广泛的应用, ESD适应症在不断扩大, ESD技术将有更广阔的空间. 有文献报道146例患者行CLER治疗, 术中、术后并发症发生率分别为1%、3%, 复发率0.9%, 另有文献报道腹腔镜联合ESD进行胃癌的全层切除[44,45]. 对年老体弱合并基础疾病、不能耐受手术且病变超出黏膜下层患者, 利用腹腔镜及内镜ESD全层切除肿瘤, 术中经创面进行前哨淋巴结染色及活检, 切除可能转移的淋巴结. CLER手术安全有效, 术中可结合防黏膜技术, 尽快恢复胃肠功能.

3.4 早癌的外科手术治疗

3.4.1 缩小手术: 包括限制性胃切除(保留功能的胃局部、段切除术和保留幽门及迷走神经的胃部分切除术)和改良淋巴结清扫术. 胃局部、段切除术适合无淋巴结转移的早癌; 保留幽门及迷走神经的胃部切除术与传统远端胃大切比较存活率无统计学意义[46], 保留幽门和迷走神经的可预防倾倒综合征及降低胆结石的发生.

3.4.2 标准根治术: 是切除全胃2/3以上, 淋巴结清除范围为D2的清除术, 标准根治术一直作为早期胃癌的标准术式, 并取得了良好效果. 部分早癌具表浅扩散、多灶性生长的特点, 早癌周围常伴有肠上皮化生、不典型增生等, 故切除范围不宜过小. 部分早期胃癌有淋巴结转移, 黏膜内癌的转移大多限于第一站淋巴结; 黏膜下层癌还可向第二站淋巴结转移; 少数病例可以发生跳跃或转移. 因此淋巴结清扫应包括第二站. 早期胃癌好发于胃窦部, 切除远端胃的2/3, 胃癌根治I式(R术)应视为早期胃癌模式手术. 但对于早期胃癌, 手术创伤较大.

3.5 经自然腔道内镜外科手术 经自然腔道内镜外科手(natural orifice transluminal endoscopic surgery, NOTES)概念为1994年Wilk(威尔克)教授首次提出NOTES的概念, 指软式内镜经自然腔道(胃、结肠或阴道等)的切口实施胸、腹、盆腔操作的微创手术, NOTES是一项内镜技术的突破性应用, 目前仍为探索阶段, 现阶段多为腹腔镜辅助下NOTES. 如今, NOTES技术被建议用作ESD手术意外穿孔时不借助外科手术的治疗方法及前哨淋巴结活检的治疗. 已有报道NOTES技术辅助胃大部切除术, 但由于技术的复杂性及其限制, 较腹腔镜而言, NOTES技术暂无显著的优势相信在不久的将来随着器械及技术的更新和完善, NOTES可以广泛应用于临床, 其优势会更加显著.

3.6 达芬奇机器人手术 在最近的一份报道中, Kim等[47]比较了同一时期的16个达芬奇机器人手术、11个腹腔镜与12个开放胃切除术, 结果显示3种术式在清扫淋巴结方面无统计学意义, 机器人手术短期疗效是有前景的, 更少的出血量及更短的住院时间, 但只是小型的回顾性研究, 无长期生存率及成本效益的研究, 仍需大样本的试验.

3.7 基因治疗 将外源性基因导入肿瘤细胞, 包括细胞毒基因治疗、免疫治疗等[48]. 目前仍为实验阶段, 相信不久的将来能在基因治疗上获得治疗胃癌的突破.

3.8 放、化疗 早期胃癌患者术后是否行放、化疗治疗仍有争议. Onodera等[49]报道对淋巴结转移的早期胃癌患者术后行辅助化疗. 当早癌患

者年龄>60岁、肿瘤>3 cm、多发性肿瘤、N2淋巴结转移患者易复发, 故术后需辅助放、化疗.

4 结论

早期胃癌及癌前病变的诊断及治疗方法日新月异, 随着影像学、各种特色内镜诊断技术的不断提高, 做到癌前病变的早期干预、胃癌的早期诊断、术前准确分期、采取合理的、最佳的、创伤最小的治疗方法, 以获得最大的手术效果, 最大限度的延长患者无病生存期、改善患者生存质量, 推迟肿瘤进展时间为主要目标临床实践理念. 伴随我国经济和社会的快速发展, 癌前病变的预防治疗、早期胃癌的规范化治疗将更加完善, 将为我国肿瘤患者带来福音.

5 参考文献

1 Suzuki H, Gotoda T, Sasako M, Saito D. Detection of early gastric cancer: misunderstanding the role of mass screening. *Gastric Cancer* 2006; 9: 315-319 [PMID: 17235635 DOI: 10.1007/s10120-006-0399-y]

2 Uedo N, Iishi H, Tatsuta M, Ishihara R, Higashino K, Takeuchi Y, Imanaka K, Yamada T, Yamamoto S, Yamamoto S, Tsukuma H, Ishiguro S. Longterm outcomes after endoscopic mucosal resection for early gastric cancer. *Gastric Cancer* 2006; 9: 88-92 [PMID: 16767363 DOI: 10.1007/s10120-005-0357-0]

3 叶任高. 内科学. 第5版. 北京: 人民卫生出版社, 2001: 411

4 易智君. 胃镜与外科病理对胃癌诊断对比分析. 医学信息 2010; 23: 642-643

5 吴云林, 吴巍, 蔚青, 郭滟, 黄玮, 江凤翔, 史琲, 朱正纲, 徐雷鸣, 刘海林, 郭美, 诸惠民, 宣蓓, 王虹, 谢军, 杨蒲芳, 吕礁, 叶书春, 张才芳, 姚国泰, 范建华. 上海不同等级10个医疗机构早期胃癌的筛选结果比较. 中华消化内镜杂志 2007; 24: 1 9-22

6 Tajiri H, Ohtsu A, Boku N, Muto M, Chin K, Matsumoto S, Yoshida S. Routine endoscopy using electronic endoscopes for gastric cancer diagnosis: retrospective study of inconsistencies between endoscopic and biopsy diagnoses. *Cancer Detect Prev* 2001; 25: 166-173 [PMID: 11341352]

7 Mouzyka S, Fedoseeva A. Chromoendoscopy with hematoxylin in the classification of gastric lesions. *Gastric Cancer* 2008; 11: 15-21; discussion 21-22 [PMID: 18373173 DOI: 10.1007/s10120-007-0445-4]

8 Tanaka K, Toyoda H, Kadowaki S, Hamada Y, Kosaka R, Matsuzaki S, Shiraishi T, Imoto I, Takei Y. Surface pattern classification by enhanced-magnification endoscopy for identifying early gastric cancers. *Gastrointest Endosc* 2008; 67: 430-437 [PMID: 18294504 DOI: 10.1016/j.gie.2007.10.042]

9 Kiesslich R, Neurath MF. Magnifying chromoendoscopy for the detection of premalignant gastrointestinal lesions. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2006; 20: 59-78 [PMID: 16473801 DOI: 10.1016/j.bpg.2005.09.006]

10 Retana A, Silverstein T, Wassef W. An update in endoscopic management of gastric cancer. *Curr Opin Gastroenterol* 2011; 27: 576-582 [PMID: 21946028 DOI: 10.1097/MOG.0b013e32834b9e5e]

11 Kreĭmer VD, Tiurin VP, Kogan EA, Purundzhan AL. [Efficiency of new NBI technology for endoscopic examination of patients with chronic gastritis]. *Klin Med* (Mosk) 2008; 86: 43-47 [PMID: 19227309]

12 Bansal A, Ulusarac O, Mathur S, Sharma P. Correlation between narrow band imaging and nonneoplastic gastric pathology: a pilot feasibility trial. *Gastrointest Endosc* 2008; 67: 210-216 [PMID: 18226682 DOI: 10.1016/j.gie.2007.06.009]

13 Baptista V, Singh A, Wassef W. Early gastric cancer: an update on endoscopic management. *Curr Opin Gastroenterol* 2012; 28: 629-635 [PMID: 22954691 DOI: 10.1097/MOG.0b013e328358e5b5]

14 Nakayoshi T, Tajiri H, Matsuda K, Kaise M, Ikegami M, Sasaki H. Magnifying endoscopy combined with narrow band imaging system for early gastric cancer: correlation of vascular pattern with histopathology (including video). *Endoscopy* 2004; 36: 1080-1084 [PMID: 15578298 DOI: 10.1055/s-2004-825961]

15 Kwee RM, Kwee TC. The accuracy of endoscopic ultrasonography in differentiating mucosal from deeper gastric cancer. *Am J Gastroenterol* 2008; 103: 1801-1809 [PMID: 18564110 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2008.01923.x]

16 Okada K, Fujisaki J, Kasuga A, Omae M, Yoshimoto K, Hirasawa T, Ishiyama A, Yamamoto Y, Tsuchida T, Hoshino E, Igarashi M, Takahashi H. Endoscopic ultrasonography is valuable for identifying early gastric cancers meeting expanded-indication criteria for endoscopic submucosal dissection. *Surg Endosc* 2011; 25: 841-848 [PMID: 20734082 DOI: 10.1007/s00464-010-1279-4]

17 Li WB, Zuo XL, Li CQ, Zuo F, Gu XM, Yu T, Chu CL, Zhang TG, Li YQ. Diagnostic value of confocal laser endomicroscopy for gastric superficial cancerous lesions. *Gut* 2011; 60: 299-306 [PMID: 21193460 DOI: 10.1136/gut.2010.223586]

18 Kobayashi M, Tajiri H, Seike E, Shitaya M, Tounou S, Mine M, Oba K. Detection of early gastric cancer by a real-time autofluorescence imaging system. *Cancer Lett* 2001; 165: 155-159 [PMID: 11275364 DOI: 10.1016/S0304-3835(01)00405-0]

19 Otani A, Amano Y, Koshino K, Takahashi Y, Mishima Y, Imaoka H, Moriyama I, Ishimura N, Ishihara S, Kinoshita Y. Is autofluorescence imaging endoscopy useful for determining the depth of invasion in gastric cancer? *Digestion* 2010; 81: 96-103 [PMID: 20068309 DOI: 10.1159/000252767]

20 Mouri R, Yoshida S, Tanaka S, Oka S, Yoshihara M, Chayama K. Evaluation and validation of computed virtual chromoendoscopy in early gastric cancer. *Gastrointest Endosc* 2009; 69: 1052-1058 [PMID: 19152892 DOI: 10.1016/j.gie.2008.08.032]

21 Miki K. Gastric cancer screening by combined assay for serum anti-Helicobacter pylori IgG antibody and serum pepsinogen levels - "ABC method". *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci* 2011; 87: 405-414 [PMID: 21785258 DOI: 10.2183/pjab.87.405]

22 Makino T, Fujiwara Y, Takiguchi S, Tsuboyama T, Kim T, Nushijima Y, Yamasaki M, Miyata H, Nakajima K, Mori M, Doki Y. Preoperative T staging of gastric cancer by multi-detector row computed tomography. *Surgery* 2011; 149: 672-679 [PMID: 21310453 DOI: 10.1016/j.surg.2010.12.003]

23 Pimanov SI, Makarenko EV, Voropaeva AV, Mat-

veenko ME, Voropaev EV. Helicobacter pylori eradication improves gastric histology and decreases serum gastrin, pepsinogen I and pepsinogen II levels in patients with duodenal ulcer. *J Gastroenterol Hepatol* 2008; 23: 1666-1671 [PMID: 17559360 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2007.04983.x]
24 De Vries AC, Kuipers EJ. Review article: Helicobacter pylori eradication for the prevention of gastric cancer. *Aliment Pharmacol Ther* 2007; 26 Suppl 2: 25-35 [PMID: 18081646 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2007.03475.x]
25 Rokkas T, Pistiolas D, Sechopoulos P, Robotis I, Margantinis G. The long-term impact of Helicobacter pylori eradication on gastric histology: a systematic review and meta-analysis. *Helicobacter* 2007; 12 Suppl 2: 32-38 [PMID: 17991174 DOI: 10.1111/j.1523-5378.2007.00563.x]
26 De Vries AC, Kuipers EJ. Review article: Helicobacter pylori eradication for the prevention of gastric cancer. *Aliment Pharmacol Ther* 2007; 26 Suppl 2: 25-35 [PMID: 18081646 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2007.03475.x]
27 Dinis-Ribeiro M, Areia M, de Vries AC, Marcos-Pinto R, Monteiro-Soares M, O'Connor A, Pereira C, Pimentel-Nunes P, Correia R, Ensari A, Dumonceau JM, Machado JC, Macedo G, Malfertheiner P, Matysiak-Budnik T, Megraud F, Miki K, O'Morain C, Peek RM, Ponchon T, Ristimaki A, Rembacken B, Carneiro F, Kuipers EJ. Management of precancerous conditions and lesions in the stomach (MAPS): guideline from the European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE), European Helicobacter Study Group (EHSG), European Society of Pathology (ESP), and the Sociedade Portuguesa de Endoscopia Digestiva (SPED). *Endoscopy* 2012; 44: 74-94 [PMID: 22198778 DOI: 10.1055/s-0031-1291491]
28 Shin DW, Yun YH, Choi IJ, Koh E, Park SM. Cost-effectiveness of eradication of Helicobacter pylori in gastric cancer survivors after endoscopic resection of early gastric cancer. *Helicobacter* 2009; 14: 536-544 [PMID: 19889071 DOI: 10.1111/j.1523-5378.2009.00721.x]
29 Shimada Y. JGCA (The Japan Gastric Cancer Association). Gastric cancer treatment guidelines. *Jpn J Clin Oncol* 2004; 34: 58 [PMID: 15061149]
30 Wang J, Yu JC, Kang WM, Ma ZQ. Treatment strategy for early gastric cancer. *Surg Oncol* 2012; 21: 119-123 [PMID: 21256735 DOI: 10.1016/j.suronc.2010.12.004]
31 Park YM, Cho E, Kang HY, Kim JM. The effectiveness and safety of endoscopic submucosal dissection compared with endoscopic mucosal resection for early gastric cancer: a systematic review and metaanalysis. *Surg Endosc* 2011; 25: 2666-2677 [PMID: 21424201 DOI: 10.1007/s00464-011-1627-z]
32 Horiki N, Omata F, Uemura M, Suzuki S, Ishii N, Fukuda K, Fujita Y, Ninomiya K, Tano S, Katurahara M, Tanaka K, Gabazza EC, Takei Y. Risk for local recurrence of early gastric cancer treated with piecemeal endoscopic mucosal resection during a 10-year follow-up period. *Surg Endosc* 2012; 26: 72-78 [PMID: 21792719 DOI: 10.1007/s00464-011-1830-y]
33 姚礼庆, 钟芸诗, 时强. 早期胃癌行内镜黏膜下剥离术指征及评价. 中国实用外科杂志 2011; 31: 656-659
34 Tokioka S, Umegaki E, Murano M, Takeuchi N, Takeuchi T, Kawakami K, Yoda Y, Kojima Y, Higuchi K. Utility and problems of endoscopic submucosal dissection for early gastric cancer in elderly patients. *J Gastroenterol Hepatol* 2012; 27 Suppl 3: 63-69 [PMID: 22486874 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2012.07075.x]
35 Cho KB, Jeon WJ, Kim JJ. Worldwide experiences of endoscopic submucosal dissection: not just Eastern acrobatics. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 2611-2617 [PMID: 21677828 DOI: 10.3748/wjg.v17.i21.2611]
36 Jeon SW, Jung MK, Cho CM, Tak WY, Kweon YO, Kim SK, Choi YH. Predictors of immediate bleeding during endoscopic submucosal dissection in gastric lesions. *Surg Endosc* 2009; 23: 1974-1979 [PMID: 18553202 DOI: 10.1007/s00464-008-9988-7]
37 Okada K, Fujisaki J, Yoshida T, Ishikawa H, Suganuma T, Kasuga A, Omae M, Kubota M, Ishiyama A, Hirasawa T, Chino A, Inamori M, Yamamoto Y, Yamamoto N, Tsuchida T, Tamegai Y, Nakajima A, Hoshino E, Igarashi M. Long-term outcomes of endoscopic submucosal dissection for undifferentiated-type early gastric cancer. *Endoscopy* 2012; 44: 122-127 [PMID: 22271022 DOI: 10.1055/s-0031-1291486]
38 Kamada K, Tomatsuri N, Yoshida N. Endoscopic submucosal dissection for undifferentiated early gastric cancer as the expanded indication lesion. *Digestion* 2012; 85: 111-115 [PMID: 22269290 DOI: 10.1159/000334681]
39 Park J, Choi KD, Kim MY, Lee JH, Song HJ, Lee GH, Jung HY, Kim JH. Is endoscopic resection an acceptable treatment for undifferentiated EGC? *Hepatogastroenterology* 2012; 59: 607-611 [PMID: 21940373]
40 Lee JH, Yom CK, Han HS. Comparison of long-term outcomes of laparoscopy-assisted and open distal gastrectomy for early gastric cancer. *Surg Endosc* 2009; 23: 1759-1763 [PMID: 19057958 DOI: 10.1007/s00464-008-0198-0]
41 Lee SE, Lee JH, Ryu KW, Cho SJ, Lee JY, Kim CG, Choi IJ, Kook MC, Nam BH, Park SR, Lee JS, Kim YW. Sentinel node mapping and skip metastases in patients with early gastric cancer. *Ann Surg Oncol* 2009; 16: 603-608 [PMID: 19127361 DOI: 10.1245/s10434-008-0283-6]
42 徐琳, 王峰. 腹腔镜和内镜双镜联合技术在胃肠道病变中的应用现状. 中华消化内镜杂志 2012; 2: 55-57
43 朱正纲. 提高早期胃癌手术疗效的新观念. 中华胃肠外科杂志 2010; 13: 85-87
44 Wilhelm D, von Delius S, Weber L, Meining A, Schneider A, Friess H, Schmid RM, Frimberger E, Feussner H. Combined laparoscopic-endoscopic resections of colorectal polyps: 10-year experience and follow-up. *Surg Endosc* 2009; 23: 688-693 [PMID: 19169747 DOI: 10.1007/s00464-008-0282-5]
45 Inoue H, Ikeda H, Hosoya T, Yoshida A, Onimaru M, Suzuki M, Kudo SE. Endoscopic mucosal resection, endoscopic submucosal dissection, and beyond: full-layer resection for gastric cancer with nonexposure technique (CLEAN-NET). *Surg Oncol Clin N Am* 2012; 21: 129-140 [PMID: 22098836 DOI: 10.1016/j.soc.2011.09.012]
46 李江波. 胃癌的外科治疗进展. 中国医学工程 2011; 19: 141-143
47 Kim MC, Heo GU, Jung GJ. Robotic gastrectomy for gastric cancer: surgical techniques and clinical merits. *Surg Endosc* 2010; 24: 610-615 [PMID: 19688399 DOI: 10.1007/s00464-009-0618-9]
48 Zhang C, Liu ZK. Gene therapy for gastric cancer:

a review. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 2390-2394 [PMID: 14606062]
49 Onodera H, Tokunaga A, Yoshiyuki T, Kiyama T, Kato S, Matsukura N, Masuda G, Tajiri T. Surgical outcome of 483 patients with early gastric cancer: prognosis, postoperative morbidity and mortality, and gastric remnant cancer. *Hepatogastroenterology* 2004; 51: 82-85 [PMID: 15011835]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版)

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

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

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

世界华人消化杂志 2014年4月8日; 22(10): 1373-1377
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

文献综述 REVIEW

CD4$^+$CD25$^+$调节性T细胞与不同HBV感染状态的研究进展

吕 红, 潘宗琴, 胡世芸, 邱隆敏

吕红, 潘宗琴, 胡世芸, 邱隆敏, 遵义医学院附属医院感染科 贵州省遵义市 563000
吕红, 在读研究生, 主要从事慢性乙型肝炎免疫学发病机制的研究.
贵州省优秀科技教育人才省长专项基金资助项目, No. 黔省专合字(2008)111号
贵州省社会发展公关基金资助项目, No. 黔科合SY[2010]3049号
作者贡献分布: 本综述由吕红完成; 邱隆敏负责审校; 潘宗琴与胡世芸共同协助发表.
通讯作者: 邱隆敏, 教授, 563000, 贵州省遵义市大连路145号, 遵义医学院附属医院感染科. qiulm128@163.com
电话: 0852-8609805
收稿日期: 2013-12-30 修回日期: 2014-01-30
接受日期: 2014-02-18 在线出版日期: 2014-04-08

CD4$^+$CD25$^+$ regulatory T cells and different states of HBV infection

Hong Lv, Zong-Qin Pan, Shi-Yun Hu, Long-Min Qiu

Hong Lv, Zong-Qin Pan, Shi-Yun Hu, Long-Min Qiu, Department of Infectious Diseases, Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, Zunyi 563003, Guizhou Province, China
Supported by: the Program for New Century Excellent Talents in University, No. (2008)111; the Social Development Foundation of Guizhou Province, No. SY[2010]3049
Correspondence to: Long-Min Qiu, Professor, Department of Infectious Diseases, Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, 145 Dalian Road, Zunyi 563000, Guizhou Province, China. qiulm128@163.com
Received: 2013-12-30 Revised: 2014-01-30
Accepted: 2014-02-18 Published online: 2014-04-08

Abstract

CD4$^+$CD25$^+$ regulatory T cells are a recently discovered subset of CD4$^+$ T cell population that mediates immune suppression. Recent studies suggested that regulatory T cells are closely associated with the prognosis of different states of HBV infection. Here we review the types, mechanisms of action and immunophenotypes of CD4$^+$CD25$^+$ regulatory T cells, as well as their relationship with different states of HBV infection.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Hepatitis B virus; T-lymphocytes; Regulatory; Immune tolerance

Lv H, Pan ZQ, Hu SY, Qiu LM. CD4$^+$CD25$^+$ regulatory T cells and different states of HBV infection. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(10): 1373-1377 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1373.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i10.1373

摘要

CD4$^+$CD25$^+$调节性T细胞是近年来发现的一类具有免疫负向调节功能的CD4$^+$T细胞亚群. 近年来研究表明CD4$^+$CD25$^+$调节性T细胞与不同乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染状态的发生及发展密切相关. 本文就CD4$^+$CD25$^+$调节性T细胞的分类、作用机制、免疫表型及其与不同HBV感染状态的研究进行综述.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 乙型肝炎病毒; T淋巴细胞; 调节性; 免疫耐受

核心提示: 近年来研究表明CD4$^+$CD25$^+$调节性T细胞(T regulatory cells, CD4$^+$CD25$^+$Tregs)与不同乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染状态的发生及发展密切相关. 目前相关研究主要集中在CD4$^+$CD25$^+$Tregs频率与不同HBV感染状态的关系: 在HBV携带者中较高水平的Tregs维持机体对HBV的免疫耐受; 在慢性乙型肝炎患者中高水平的Tregs抑制HBV特异性T细胞的活化与增殖参与HBV感染的慢性化病程; 在急性乙型肝炎中Tregs通过双向调节作用在病程不同时期发挥保护作用.

吕红, 潘宗琴, 胡世芸, 邱隆敏. CD4$^+$CD25$^+$调节性T细胞与不同HBV感染状态的研究进展. 世界华人消化杂志 2014; 22(10): 1373-1377 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1373.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i10.1373

0 引言

人体感染乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)后预后及转归不同, 影响其预后及转归的因素复杂多样, 其中宿主免疫功能为影响病程发生发展的重要因素[1,2]. CD4$^+$CD25$^+$调节性T细胞(T regulatory cells, CD4$^+$CD25$^+$Tregs)是近年来

■背景资料
CD4$^+$CD25$^+$调节性T细胞是近年来发现的一类具有免疫负向调节功能的T细胞亚群. 近年来研究表明CD4$^+$CD25$^+$调节性T细胞与不同乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染状态的发生及发展密切相关.

■同行评议者
庄林, 主任医师, 昆明市第三人民医院肝病科

■研发前沿
近年来研究表明, $CD4^+CD25^+$调节性T细胞与乙型肝炎病毒感染后免疫耐受、发病及转归密切相关.

发现的一类通过抑制自身反应性T细胞的功能发挥免疫负向调节功能(维持自身免疫耐受及抑制自身免疫反应)的特殊T细胞亚群[3,4]. 目前研究证实Treg细胞与感染[5,6]、肿瘤免疫[7,8]、移植免疫[9,10]、自身免疫性疾病[11,12]等疾病发生与发展密切相关. 在感染方面, Treg细胞可抑制多种病原体感染引起的过度或慢性免疫激活[13]. 越来越多的证据表明: 在HBV感染的急性及慢性阶段, Treg细胞在抑制抗病毒T细胞的反应中均起到重要作用[14,15]. 病毒特异性诱导Treg细胞生成可引起两种截然不同的结果: 一方面, 他在抑制过度免疫病理损伤中起重要作用; 另一方面, 他可抑制抗病毒细胞免疫导致机体内HBV持续存在[16-18]. 本文就$CD4^+CD25^+$Tregs及其与不同HBV感染状态关系的研究进行综述.

1 $CD4^+CD25^+$Treg细胞概述

1.1 Tregs分类及作用机制 1995年, Sakaguchi[19]首次描述了一种细胞表面高表达IL-2α链(CD25)的$CD4^+$T细胞亚群, 在小鼠模型中他的缺失可导致自身免疫性疾病并增强机体对外来抗原的应答. 随后在人体内相似的细胞也被识别[20]. 根据来源、特异性及效应机制不同, 可将其分为在天然调节性T细胞(nTreg)和适应性调节T细胞(aTreg或iTreg)两类[21]. 天然调节性T细胞是在胸腺内经自然选择分化生成的, 除$CD4^+CD25^+$Tregs外, 还包括来自固有免疫系统的细胞, 如自然杀伤T细胞[22]; 而获得性Tregs可能来源于成熟的典型T细胞或在适当条件下[转化生长因子-β(transforming growth factor-β, TGF-β)与持续暴露于低剂量的抗原等]由自然产生的Treg细胞在胸腺外诱导产生的, 主要包括诱导$CD4^+CD25^+$Tregs、Tr1(产生IL-10的$CD4^+$T细胞)、Th3(产生TGF-β的$CD4^+$T细胞)、$CD8^+$Tregs、$CD3^+CD4^-CD8^-$(双阴性T细胞)/γδT细胞等多种亚型[23].

$CD4^+CD25^+$Tregs既可以在胸腺内分化生成, 也可适当条件下在胸腺外诱导产生, 他主要以一种“主动”方式[24,25]经T细胞抗原受体(T cell-independent antigen receptors, TCR)介导的信号刺激活化后通过与细胞直接接触而抑制$CD4^+$T细胞和$CD8^+$T细胞的活性与增殖[26,27], 发挥免疫自稳作用, 保持免疫耐受与免疫反应的平衡[28].

1.2 $CD4^+CD25^+$Treg细胞免疫标志 尽管$CD4^+CD25^+$Tregs的功能在小鼠中已得到较好了解, 但在人类中由于缺乏一种特异性识别这些细胞的标记其识别及功能尚存在争议. 在大部分研究中, Tregs通过其表面标记CD25被识别, CD25在未受抗原刺激的天然调节性T细胞中能较稳定地高表达, 但在适应性调节T细胞及其他T细胞中他的表达却不稳定. 事实上, 在人类中CD25并非一种独特的细胞标志, 他也可表达于在受抗原激活的效应性T细胞表面. 其他天然调节性T细胞的表面标志还有细胞毒性T淋巴细胞相关抗原(cytotoxic T lymphocyte-associated antigen-4, CTLA-4)[29,30]、糖皮质激素诱导的肿瘤坏死因子(glucocorticoid-induced tumor necrosis factor receptor, GITR)[31]等.

叉头翼螺旋转录因子(Foxp3)被认为是典型天然调节性T细胞最理想的细胞标志[32,33]. 在小鼠中这种胞内标记仅表达于具有调节功能的T细胞中, 然而在人类中Foxp3不仅表达于T细胞亚群, 他还表达于非T细胞(如肿瘤细胞[34])中. 近来研究发现, 无论在天然性调节性T细胞还是在适应性调节T细胞中CD127(IL-7受体α链)的表达水平均较低, 将其与Foxp3结合能更准确地识别及分离$CD4^+$ Treg细胞[35,36].

2 $CD4^+CD25^+$Tregs与不同HBV感染状态关系

2.1 $CD4^+CD25^+$Tregs与HBV携带者 $CD4^+CD25^+$-Tregs通过抑制自身反应性T细胞的功能来维持免疫耐受及免疫平衡. HBV携带状态与感染HBV后机体对病毒持续的免疫耐受有关[37]. 目前有关$CD4^+CD25^+$Tregs与HBV携带者的研究主要为HBV携带者中其频率的变化. Yang等[38]通过检测CHB患者、HBV携带者及正常对照外周血$CD4^+CD25^+Foxp3^+$Tregs频率及Foxp3 mRNA表达量, 并测定血清HBV DNA载量, 结果显示HBV携带者及CHB患者外周血中Tregs频率及Foxp3 mRNA表达量均高于正常对照, 且与HBV DNA载量呈正相关. 潘宗琴等[39]通过对符合纳入标准的24篇有关$CD4^+CD25^+$Tregs频率与HBV携带者相关研究进行Meta分析, 结果显示HBV携带者外周血Tregs频率显著高于正常对照. 由上述可见人体感染HBV后高水平的$CD4^+CD25^+$Tregs参与维持机体对病毒的免疫耐受, 并且Tregs频率随着病毒复制活跃程度增加而升高. 因此下调体内$CD4^+CD25^+$Tregs水平在激活HBV特异性细胞免疫应答, 打破HBV免疫耐受、清除HBV DNA中将具有重要意义.

2.2 $CD4^+CD25^+$Tregs与慢性乙型肝炎 $CD4^+CD25^+$Tregs具有免疫抑制功能, 在HBV感染中其数

量增高可能参与病程慢性化. Franzese等[40]一项关于CD4+CD25+Tregs对HBV特异性CD8+T细胞影响的体外实验证明CD4+CD25+Tregs通过接触抑制或细胞因子途径, 抑制HBV特异性CD8+T细胞的功能与增殖, 导致机体清除HBV的免疫功能低下而导致病毒持续感染. HBV感染时的年龄与慢性化相关, 在围产期和婴幼儿时期感染HBV者中容易发展成慢性感染[41]. Shrivastava等[18]最近一项关于新生儿的研究也证实了CD4+CD25+Tregs通过抑制HBV特异性CD8+T细胞功能, 导致HBV感染慢性化.

目前相关研究主要涉及CHB患者中Tregs频率的变化及其与HBV DNA载量及临床指标等相关性的研究. Stoop等[42]对50例CHB患者、9例恢复期患者及23例正常人外周血CD4+CD25+Tregs频率进行检测, 结果显示CHB患者外周血中CD4+CD25+Tregs的频率显著高于健康对照及恢复期患者, 且与HBV DNA载量成正相关. Yang等[43]采用流式细胞术测定44例CHB患者、21例HBV携带者、14例HBV感染治愈者及16例健康对照者外周血及肝组织中CD4+CD25+Foxp3+频率及并用荧光定量PCR技术检测Foxp3+表达量, 结果显示无论在外周血还是在肝组织中CD4+CD25+Foxp3+频率及Foxp3+表达量在CHB患者及HBV携带者中均高于HBV感染治愈者及健康对照, 且在CHB患者中CD4+CD25+Foxp3+频率与HBV DNA载量呈正相关. 同时Aalaei-Andabili等[44]对近年来12篇CD4+CD25+Tregs与HBV感染相关国内外研究进行Meta分析, 结果显示: CHB患者中Tregs频率高于AHB患者及健康对照; HBV DNA>10^7拷贝/mL的CHB患者Tregs频率高于较低者; Tregs频率增高将减弱抗病毒治疗效果; 其结论认为Treg细胞为影响HBV感染预后的重要因素. 以上研究均显示CD4+CD25+Tregs细胞频率在CHB患者中显著升高且与HBV DNA载量呈正相关, 其机制可能为机体感染HBV后通过上调Tregs抑制病毒特异性T细胞反应, 减轻肝细胞免疫损害, 且HBV DNA载量越高上调Tregs幅度越大, 经反复的病毒活跃及清除, Tregs水平被上调至较高水平.

2.3 CD4+CD25+Tregs与急性乙型肝炎 急性乙型肝炎患者免疫状态完全不同于慢性HBV感染者. HBV特异性CD8+T细胞免疫反应在病毒清除及肝脏病理过程中起到最基础的作用[45,46]. 在急性乙型肝炎患者中其表现为强烈的、多克隆的、针对HBV多个表位的可最终清除病毒的CTL应答; 而在慢性HBV感染者中则表现为HBV特异性CTL的缺乏[47,48]. CD4+CD25+Tregs可通过接触抑制的方式抑制CD8+T细胞的活性与增殖, 在急性自限性乙型肝炎中CD4+CD25+Tregs的双向调节可能发挥重要作用.

Qin等[49]将急性自限性乙型肝炎的病程分为急性期、恢复期、治愈期3个阶段, 利用荧光定量PCR技术检测3个阶段下通过免疫磁珠分选相应外周血中CD4+T细胞中Foxp3 mRNA表达量, 其结论认为急性乙型肝炎患者急性期外周血Tregs频率及免疫抑制功能较低, 在恢复期升高, 而治愈期又降至正常. 福军亮等[50]对8例急性乙型肝炎患者恢复期及急性期Tregs频率进行测定, 结果显示Tregs频率在恢复期明显高于急性期. 我们推测在急性乙型肝炎急性期机体下调Treg数量有利于病毒特异性T细胞清除病毒, 而在恢复期由于清除病毒过程中对肝细胞造成的免疫病理损, 机体上调Treg数量以抑制炎症反应而起到保护作用, 提示Tregs具有双向调节作用.

3 结论

大量研究表明: CD4+CD25+Treg调节性T细胞在维持免疫耐受及介导免疫炎症损失中具有重要作用. 机体感染HBV后其预后及转归不同: 在HBV携带者中较高水平的Tregs维持机体对HBV的免疫耐受; 在慢性乙型肝炎患者中高水平的Tregs抑制HBV特异性T细胞的活化与增殖参与HBV感染的慢性化病程; 在急性乙型肝炎中Tregs通过双向调节作用在病程不同时期发挥保护作用. 尽管目前相关研究取得较大进步, 但目前该领域研究尚存在许多值得深思的问题: (1)目前研究主要集中CD4+CD25+Tregs相关的基础研究, 能否通过动态检测不同HBV状态下CD4+CD25+Tregs频率变化来判断临床转归和预后以及早提供临床干预? 可否CD4+CD25+Treg作为乙肝免疫治疗的靶点? (2)目前研究对Treg细胞免疫表型未统一, 应用流式细胞术检测Treg细胞时由于(以$CD127^{low}$、$CD25^{high}$、Foxp3+标记等)不一致等因素造成研究结论有差异, 以致不能为临床应用提供可靠依据.

4 参考文献

1 Larrubia JR, Lokhande MU, García-Garzón S, Miquel J, Subirá D, Sanz-de-Villalobos E. Role of T cell death in maintaining immune tolerance during persistent viral hepatitis. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 1877-1889 [PMID: 23569333 DOI: 10.3748/wjg.v19.i12.1877]

■相关报道
Aalaei-Andabili等对近年来12篇CD4+CD25+Tregs与HBV感染相关国内外研究进行Meta分析, 其结论认为Treg细胞为影响HBV感染预后的重要因素.

■创新盘点

本文对$CD4^+CD25^+$ Tregs与不同HBV感染状态相关研究进行了总结, 并指出目前相关研究存在的不足及其尚不能为临床应用提供可靠的依据.

2 Hui CK, Lau GK. Immune system and hepatitis B virus infection. *J Clin Virol* 2005; 34 Suppl 1: S44-S48 [PMID: 16461223]

3 Sakaguchi S. Naturally arising Foxp3-expressing CD25+CD4+ regulatory T cells in immunological tolerance to self and non-self. *Nat Immunol* 2005; 6: 345-352 [PMID: 15785760 DOI: 10.1038/ni1178]

4 Daniele N, Scerpa MC, Landi F, Caniglia M, Miele MJ, Locatelli F, Isacchi G, Zinno F. T(reg) cells: collection, processing, storage and clinical use. *Pathol Res Pract* 2011; 207: 209-215 [PMID: 21397410 DOI: 10.1016/j.prp.2011.02.003]

5 Belkaid Y, Rouse BT. Natural regulatory T cells in infectious disease. *Nat Immunol* 2005; 6: 353-360 [PMID: 15785761 DOI: 10.1038/ni1181]

6 Kühlhorn F, Rath M, Schmoeckel K, Cziupka K, Nguyen HH, Hildebrandt P, Hünig T, Sparwasser T, Huehn J, Pötschke C, Bröker BM. Foxp3+ regulatory T cells are required for recovery from severe sepsis. *PLoS One* 2013; 8: e65109 [PMID: 23724126 DOI: 10.1371/journal.pone.0065109]

7 Whiteside TL. Regulatory T cell subsets in human cancer: are they regulating for or against tumor progression? *Cancer Immunol Immunother* 2014; 63: 67-72 [PMID: 24213679 DOI: 10.1007/s00262-013-1490-y]

8 Adeegbe DO, Nishikawa H. Natural and induced T regulatory cells in cancer. *Front Immunol* 2013; 4: 190 [PMID: 23874336 DOI: 10.3389/fimmu.2013.00190]

9 Burrell BE, Nakayama Y, Xu J, Brinkman CC, Bromberg JS. Regulatory T cell induction, migration, and function in transplantation. *J Immunol* 2012; 189: 4705-4711 [PMID: 23125426 DOI: 10.4049/jimmunol.1202027]

10 Spoerl S, Li XC. Regulatory T cells and the quest for transplant tolerance. *Discov Med* 2011; 11: 25-34 [PMID: 21276408]

11 Oo YH, Adams DH. Regulatory T cells and autoimmune hepatitis: defective cells or a hostile environment? *J Hepatol* 2012; 57: 6-8 [PMID: 22522382 DOI: 10.1016/j.jhep.2012.04.005]

12 Jiang S, Lechler RI. CD4+CD25+ regulatory T-cell therapy for allergy, autoimmune disease and transplant rejection. *Inflamm Allergy Drug Targets* 2006; 5: 239-242 [PMID: 17168794 DOI: 10.2174/187152806779010981]

13 Belkaid Y. Regulatory T cells and infection: a dangerous necessity. *Nat Rev Immunol* 2007; 7: 875-888 [PMID: 17948021 DOI: 10.1038/nri2189]

14 Xue-Song L, Cheng-Zhong L, Ying Z, Mo-Bin W. Changes of Treg and Th17 cells balance in the development of acute and chronic hepatitis B virus infection. *BMC Gastroenterol* 2012; 12: 43 [PMID: 22548790 DOI: 10.1186/1471-230X-12-43]

15 Nan XP, Zhang Y, Yu HT, Sun RL, Peng MJ, Li Y, Su WJ, Lian JQ, Wang JP, Bai XF. Inhibition of viral replication downregulates CD4(+)CD25(high) regulatory T cells and programmed death-ligand 1 in chronic hepatitis B. *Viral Immunol* 2012; 25: 21-28 [PMID: 22233255 DOI: 10.1089/vim.2011.0049]

16 Mills KH. Regulatory T cells: friend or foe in immunity to infection? *Nat Rev Immunol* 2004; 4: 841-855 [PMID: 15516964 DOI: 10.1038/nri1485]

17 Veiga-Parga T, Sehrawat S, Rouse BT. Role of regulatory T cells during virus infection. *Immunol Rev* 2013; 255: 182-196 [PMID: 23947355 DOI: 10.1111/imr.12085]

18 Shrivastava S, TrehanPati N, Patra S, Kottilil S, Pande C, Trivedi SS, Sarin SK. Increased regulatory T cells and impaired functions of circulating CD8 T lymphocytes is associated with viral persistence in Hepatitis B virus-positive newborns. *J Viral Hepat* 2013; 20: 582-591 [PMID: 23808997 DOI: 10.1111/jvh.12078]

19 Sakaguchi S, Sakaguchi N, Asano M, Itoh M, Toda M. Pillars article: immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor α-chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases. J. Immunol. 1995. *J Immunol* 2011; 186: 3808-3821 [PMID: 21422251]

20 Baecher-Allan C, Viglietta V, Hafler DA. Human CD4+CD25+ regulatory T cells. *Semin Immunol* 2004; 16: 89-98 [PMID: 15036232]

21 Ohkura N, Kitagawa Y, Sakaguchi S. Development and maintenance of regulatory T cells. *Immunity* 2013; 38: 414-423 [PMID: 23521883 DOI: 10.1016/j.immuni.2013.03.002]

22 Nowak M, Stein-Streilein J. Invariant NKT cells and tolerance. *Int Rev Immunol* 2007; 26: 95-119 [PMID: 17454266 DOI: 10.1080/08830180601070195]

23 Shevach EM. From vanilla to 28 flavors: multiple varieties of T regulatory cells. *Immunity* 2006; 25: 195-201 [PMID: 16920638 DOI: 10.1016/j.immuni.2006.08.003]

24 Maloy KJ, Salaun L, Cahill R, Dougan G, Saunders NJ, Powrie F. CD4+CD25+ T(R) cells suppress innate immune pathology through cytokine-dependent mechanisms. *J Exp Med* 2003; 197: 111-119 [PMID: 12515818 DOI: 10.1084/jem.20021345]

25 Belkaid Y, Piccirillo CA, Mendez S, Shevach EM, Sacks DL. CD4+CD25+ regulatory T cells control Leishmania major persistence and immunity. *Nature* 2002; 420: 502-507 [PMID: 12466842 DOI: 10.1038/nature01152]

26 Ohkura N, Sakaguchi S. Regulatory T cells: roles of T cell receptor for their development and function. *Semin Immunopathol* 2010; 32: 95-106 [PMID: 20179931 DOI: 10.1007/s00281-010-0200-5]

27 Martínez-Sosa P, Mendoza L. The regulatory network that controls the differentiation of T lymphocytes. *Biosystems* 2013; 113: 96-103 [PMID: 23743337 DOI: 10.1016/j.biosystems]

28 Papatriantafyllou M. Regulatory T cells: Keeping the numbers steady. *Nat Rev Immunol* 2013; 13: 618-619 [PMID: 23887242 DOI: 10.1038/nri3514]

29 Takahashi T, Tagami T, Yamazaki S, Uede T, Shimizu J, Sakaguchi N, Mak TW, Sakaguchi S. Immunologic self-tolerance maintained by CD25(+)CD4(+) regulatory T cells constitutively expressing cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4. *J Exp Med* 2000; 192: 303-310 [PMID: 10899917 DOI: 10.1084/jem.192.2.303]

30 Barnes MJ, Griseri T, Johnson AM, Young W, Powrie F, Izcue A. CTLA-4 promotes Foxp3 induction and regulatory T cell accumulation in the intestinal lamina propria. *Mucosal Immunol* 2013; 6: 324-334 [PMID: 22910217 DOI: 10.1038/mi.2012.75]

31 McHugh RS, Whitters MJ, Piccirillo CA, Young DA, Shevach EM, Collins M, Byrne MC. CD4(+)CD25(+) immunoregulatory T cells: gene expression analysis reveals a functional role for the glucocorticoid-induced TNF receptor. *Immunity* 2002; 16: 311-323 [PMID: 11869690 DOI: 10.1016/

S1074-7613(02)00280-7]
32 Fontenot JD, Gavin MA, Rudensky AY. Foxp3 programs the development and function of CD4+CD25+ regulatory T cells. *Nat Immunol* 2003; 4: 330-336 [PMID: 12612578 DOI: 10.1038/ni904]
33 Campbell DJ, Ziegler SF. FOXP3 modifies the phenotypic and functional properties of regulatory T cells. *Nat Rev Immunol* 2007; 7: 305-310 [PMID: 17380159 DOI: 10.1038/nri2061]
34 Ebert LM, Tan BS, Browning J, Svobodova S, Russell SE, Kirkpatrick N, Gedye C, Moss D, Ng SP, MacGregor D, Davis ID, Cebon J, Chen W. The regulatory T cell-associated transcription factor FoxP3 is expressed by tumor cells. *Cancer Res* 2008; 68: 3001-3009 [PMID: 18413770 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-07-5664]
35 Hartigan-O'Connor DJ, Poon C, Sinclair E, McCune JM. Human CD4+ regulatory T cells express lower levels of the IL-7 receptor alpha chain (CD127), allowing consistent identification and sorting of live cells. *J Immunol Methods* 2007; 319: 41-52 [PMID: 17173927]
36 Liu W, Putnam AL, Xu-Yu Z, Szot GL, Lee MR, Zhu S, Gottlieb PA, Kapranov P, Gingeras TR, Fazekas de St Groth B, Clayberger C, Soper DM, Ziegler SF, Bluestone JA. CD127 expression inversely correlates with FoxP3 and suppressive function of human CD4+ T reg cells. *J Exp Med* 2006; 203: 1701-1711 [PMID: 16818678 DOI: 10.1084/jem.20060772]
37 Vildózola Gonzales H, Salinas JL. [Natural history of chronic hepatitis B virus infection]. *Rev Gastroenterol Peru* 2009; 29: 147-157 [PMID: 19609330]
38 Yang GL, Xu LM, Yao HY, Wang HS, Jiang XL, Li W, Wang M, Zhou BP. [Association between CD4+CD25+Foxp3+ regulatory T cells and serum transforming growth factor beta 1 in patients with chronic hepatitis B]. *Zhonghua Ganzangbing Zazhi* 2009; 17: 831-834 [PMID: 19958642]
39 潘宗琴, 吕红, 胡世芸, 陈宇, 庄勤建, 徐林, 姚新生, 肖政, 邱隆敏. 外周血CD4 CD25 Treg细胞与HBV携带者的相关性的Meta分析. 世界华人消化杂志 2013; 21: 3124-3131
40 Franzese O, Kennedy PT, Gehring AJ, Gotto J, Williams R, Maini MK, Bertoletti A. Modulation of the CD8+-T-cell response by CD4+ CD25+ regulatory T cells in patients with hepatitis B virus infection. *J Virol* 2005; 79: 3322-3328 [PMID: 15731226 DOI: 10.1128/JVI.79.6.3322-3328.2005]
41 Lai CL, Ratziu V, Yuen MF, Poynard T. Viral hepatitis B. *Lancet* 2003; 362: 2089-2094 [PMID: 14697813 DOI: 10.1016/S0140-6736(03)15108-2]
42 Stoop JN, van der Molen RG, Baan CC, van der Laan LJ, Kuipers EJ, Kusters JG, Janssen HL. Regulatory T cells contribute to the impaired immune response in patients with chronic hepatitis B virus infection. *Hepatology* 2005; 41: 771-778 [PMID: 15791617 DOI: 10.1002/hep.20649]
43 Yang G, Liu A, Xie Q, Guo TB, Wan B, Zhou B, Zhang JZ. Association of CD4+CD25+Foxp3+ regulatory T cells with chronic activity and viral clearance in patients with hepatitis B. *Int Immunol* 2007; 19: 133-140 [PMID: 17182968 DOI: 10.1093/intimm/dxl130]
44 Aalaei-Andabili SH, Alavian SM. Regulatory T cells are the most important determinant factor of hepatitis B infection prognosis: a systematic review and meta-analysis. *Vaccine* 2012; 30: 5595-5602 [PMID: 22781305 DOI: 10.1016/j.vaccine.2012.06.063]
45 Carotenuto P, Artsen A, Osterhaus AD, Pontesilli O. Reciprocal changes of naïve and effector/memory CD8+ T lymphocytes in chronic hepatitis B virus infection. *Viral Immunol* 2011; 24: 27-33 [PMID: 21319976 DOI: 10.1089/vim.2010.0067]
46 Thimme R, Wieland S, Steiger C, Ghrayeb J, Reimann KA, Purcell RH, Chisari FV. CD8(+) T cells mediate viral clearance and disease pathogenesis during acute hepatitis B virus infection. *J Virol* 2003; 77: 68-76 [PMID: 12477811 DOI: 10.1128/JVI.77.1.68-76.2003]
47 Guidotti LG, Chisari FV. Immunobiology and pathogenesis of viral hepatitis. *Annu Rev Pathol* 2006; 1: 23-61 [PMID: 18039107 DOI: 10.1146/annurev.pathol.1.110304.100230]
48 Yousfi N, Hattaf K, Tridane A. Modeling the adaptive immune response in HBV infection. *J Math Biol* 2011; 63: 933-957 [PMID: 21234570 DOI: 10.1007/s00285-010-0397-x]
49 Qin CX, Gao HW, Zhang Y, Gao L, Jia F, Zou YH, Yang XQ, Cuo XQ. [The frequency and function of FoxP3+ regulatory T cell in patients with acute hepatitis B]. *Xibao Yu Fenzi Mianyixue Zazhi* 2009; 25: 1029-1031 [PMID: 20104679]
50 福军亮, 徐东平, 赵平, 陈黎明, 张晖, 周春保, 姚金霞, 荣义辉, 王福生. 急慢性乙型肝炎患者外周血调节性T细胞鉴定与临床意义分析. 中华医学杂志 2006; 86: 1522-1525

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

■同行评价

本文总结了近年来有关$CD4^+CD25^+$ Tregs与不同HBV感染状态关系研究进展, 并指出目前相关研究存在一定缺陷, 条理清楚, 有一定的应用价值.

世界华人消化杂志 2014年4月8日; 22(10): 1378-1383
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

文献综述 REVIEW

非酒精性脂肪肝病治疗的研究进展

王晓青, 琚 坚, 胡敏敏, 高 璠, 闫福媛

■背景资料
非酒精性脂肪肝和代谢综合症密切相关, 随着人们生活水平的提高、饮食结构的改变以及生活节奏的加快, 人群中非酒精性脂肪肝的发病率也逐渐上升, 然而对这种疾病的治疗, 目前仍然没有安全、有效的措施, 此文努力搜集最新的资料以期给此病的治疗提供一些借鉴.

王晓青, 琚坚, 胡敏敏, 高璠, 闫福媛, 昆明医科大学第二附属医院特需病房科 云南省昆明市 650101
王晓青, 主要从事消化系统疾病的研究.
作者贡献分布: 琚坚进行课题设计并负责审校; 王晓青负责查找文献并写文章; 胡敏敏查找部分文献; 闫福媛与高璠负责查找部分文献.
通讯作者: 琚坚, 主任医师, 650101, 昆明市无华区滇缅大道麻园1号, 昆明医科大学第二附属医院特需病房科.
jujianyn@163.com
电话: 0871-65351281-2171
收稿日期: 2013-12-18 修回日期: 2014-02-11
接受日期: 2014-02-18 在线出版日期: 2014-04-08

Progress in treatment of non-alcoholic fatty liver disease

Xiao-Qing Wang, Jian Ju, Min-Min Hu, Fan Gao, Fu-Yuan Yan

Xiao-Qing Wang, Jian Ju, Min-Min Hu, Fan Gao, Fu-Yuan Yan, Department of Gastroenterology for VIP, the Second Hospital Affiliated to Kunming Medical University, Kunming 650101, Yunnan Province, China
Correspondence to: Jian Ju, Chief Physician, Department of Gastroenterology for VIP, the Second Hospital Affiliated to Kunming Medical University, 1 Mayuan, Yunnan Burma Road, Wuhua District, Kunming 650101, Yunnan Province, China. jujianyn@163.com
Received: 2013-12-18 Revised: 2014-02-11
Accepted: 2014-02-18 Published online: 2014-04-08

Abstract
The improvement of people's living standard, the accelerated pace of life and the decreased amount of exercise have significantly increased the prevalence of metabolic syndrome and fatty liver disease. In particular, some obese children have been diagnosed with non-alcoholic fatty liver disease. This should arouse our enough attention. This article reviews the progress in the treatment of non-alcoholic fatty liver disease.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Fatty liver; Non-alcoholic; Treatments

Wang XQ, Ju J, Hu MM, Gao F, Yan FY. Progress in treatment of non-alcoholic fatty liver disease. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(10): 1378-1383 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1378.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i10.1378

■同行评议者
陈国凤, 主任医师, 中国人民解放军第302医院感染七科

摘要
随着人们生活水平的提高、生活节奏的加快以及运动量的减少, 人群中代谢综合症的忧患越来越突出, 随之而来的是脂肪肝的患病率越来越高, 尤其有些肥胖儿童也被诊断为此病, 这应该引起我们足够的重视. 本文就近几年来对其治疗措施加以综述.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 脂肪肝; 非酒精性; 治疗进展

核心提示: 非酒精性脂肪肝是一种和遗传-环境-代谢有关的疾病, 与代谢综合症有密切的关系, 胰岛素抵抗是其发病的关键环节, 治疗上尚没有安全、确定疗效的药物, 应注重预防, 治疗上以生活方式干预为主, 药物为辅, 并且中医中药在此种疾病的治疗有巨大的潜力.

王晓青, 琚坚, 胡敏敏, 高璠, 闫福媛. 非酒精性脂肪肝病治疗的研究进展. 世界华人消化杂志 2014; 22(10): 1378-1383
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1378.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i10.1378

0 引言
非酒精性脂肪肝(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)是一种和遗传-环境-代谢有关的疾病, 胰岛素抵抗是其发病的关键环节, 可以认为是代谢综合征在肝脏组织的病理表现[1,2], NAFLD的特征是沉积在肝脏的脂肪占肝脏的质量大于5%-10%[3], 肥胖、高体质量指数(body mass index, BMI)或腹型肥胖、血脂紊乱(高甘油三酯和低高密度脂蛋白)、2型糖尿病、高血压是其明确的危险因素, 与酒精、药物、遗传代谢性疾病无关的一种肝脏疾病, 但可以增加心脑血管的发病率[4]. 值得注意的是NAFLD患者如果伴有肝纤维化有肝细胞癌的风险[5]. 在亚洲, 平均15%-30%的成年人患有NAFLD, 其中50%的患者伴有糖尿病或代谢综合征[6]. 目前的主要治疗措施主要是针对患者的高血压、糖尿病、高血脂等代谢综合征[7]. 本文针对其发病机制以及危

险因素综述相关的治疗方法, 对其前沿研究的分子机制的治疗, 由于尚未肯定有效或其安全性尚待考察, 本文将不提及.

1 生活方式的干预

对NAFLD患者来说, 生活方式的干预措施是最基本的一线治疗方式[8], 通过饮食、运动等生活方式干预, 可以减轻体质量、减少肝脏脂肪量、改善血糖控制、增加胰岛素的敏感性, 有数据表明对肝脏组织也有改善[9]. 尽管临床上在用各种各样的药物治疗NAFLD, 但效果都不是很理想[10], 因此对于这种病应该着重于预防. 简单而有效的就是通过运动与饮食进行干预, 另外, 还要注意生活方式对这种疾病的影响. 由于受现代社会的影响, 人们的生活方式普遍是一种高压、快节奏的生活方式, 显然这样的生活方式有利于这种疾病的滋生, 然而彻底改变这种生活方式是不可能的, 因此应注重饮食的调节与适当的身体锻炼. 应根据患者的基本情况采取个体化的治疗措施.

1.1 饮食的调节 平衡饮食, 饮食结构上应注意减少食盐、甜食、肥肉以及饱和脂肪酸和反式脂肪酸的摄入, 增加对单不饱和脂肪酸、水果、蔬菜、粗粮、膳食纤维、鱼类的摄入. 这样的饮食不仅对脂蛋白的水平、内皮细胞的功能、胰岛素的抵抗、代谢综合症以及抗氧化的能力都是有积极的影响, 而且可以减少心血管疾病患者的死亡率[11]. 如果对动物脂肪的摄入过多, 高脂饮食, 尤其动物类脂肪, 会导致血脂增高, 增加脂肪在肝脏沉积的机会. 合理摄取碳水化合物, 碳水化合物是人体能量的主要供体, 然而过多摄取, 多余的碳水化合物会转化为脂肪, 增加肝脏的负担, 增加脂肪肝的机会. 一项研究表明过度的高碳水化合物饮食会使肝脏脂肪成比例的增加[12]. 增加膳食蛋白的摄入, 研究表明, 高蛋白饮食能阻止NAFLD的发生, 是通过加强脂质分泌到极低密度脂蛋白颗粒里面以及对摄取的卡路里的低效利用[13]. 大量随机对照实验表明, 增加鱼油的补充对于肝脏是有益处的[14]. 增加食物中膳食纤维的含量, 一项研究发现非酒精性脂肪肝的发病机制还与肠道的功能有关, 如肠液的渗透、肠道内的微生物群、肠道食物等[15]. 膳食纤维可以增强肠道的运动功能, 有利于肠道菌群的平衡, 维持肠液的正常渗透. 对于NAFLD患者饮酒问题, 不推荐大量饮酒, 大量饮酒会加重肝脏负担, 使病情恶化, 然而少量饮酒有文献表明是有益的, 然而确切疗效尚不明确[16].

1.2 身体的锻炼 锻炼方式以有氧运动为主, 以游泳为例, 最新一项研究发现, 游泳锻炼可以减轻高脂饮食联合不良生活方式小鼠的病态效应[17]. 有氧运动可以很好的消耗热量, 减轻身体质量, 而且相对安全、有效[18]. 每次锻炼的时间不应太短, 时间太短达不到消耗脂肪、减轻体质量、预防脂肪肝的目的, 以超过30 min为益. 生活节奏应放慢, 坚持锻炼, 如果有可能应每天锻炼, 使锻炼成为一种习惯, 这样才能起到预防的目的, 目的是使体质量适当持续的降低[19]. 只有适当的、渐进的使体质量减轻10%才能改善肝酶的水平、减轻肝脏脂肪的沉积[20]. 通过饮食的调节和规律的体育锻炼, 可以减轻体质量, 减少内脏脂肪的含量, 还能减轻胰岛素的抵抗, 增强体内胰岛素的敏感性. 对于体质量的减轻必须达到一定程度才有治疗目的, 需要一定的量化指标. 目前学界普遍认为, 体质量每周最少应减轻1.6 kg, 对肥胖儿童来说每周应减轻0.5 kg, 或者每天步行3000 m, 每次耗时30 min, 每周5次, 这样才能限制治病的发展[21]. 2012年美国指南也指出, NAFLD患者的体质量至少下降3%-5%, 对肝细胞的脂肪变才能有改善, 体质量下降10%以下对肝脏的炎症坏死程度才能有改善[22]. 对于饮食的控制, 有学者认为, 饮食的热量应控制在4186.8-6280.2 kJ, 其中碳水化合物所占的比例为50%-60%. 蛋白质应占10%-20%, 脂肪不应超过30%[23]. 虽然有资料表明适量饮酒对NAFLD患者有好处, 但在实际生活中很难定量, 因此中国指南不建议有NAFLD的患者饮酒. 还应戒烟, 停止有肝损害的药物食物.

2 胰岛素增敏剂

胰岛素抵抗和NAFLD有很大的联系, 参与其发生发展的全过程, 胰岛素抵抗导致的脂质代谢异常造成脂肪肝病的第一次打击, 提高胰岛素的敏感性可改善血脂的水平[24]. 合并糖尿病的患者血糖很难得到控制, 提高全身胰岛素的敏感性, 不仅可预防2型糖尿病的发生, 而且能够更好地控制已有糖尿病患者的血糖[25].

2.1 噻唑烷二酮类药物 罗格列酮和吡格列酮是在治疗NAFLD方面具有代表性的两种药. 其作用机制是增加胰岛素的敏感性, 减轻胰岛素的抵抗, 增加葡萄糖的利用率, 减少游离脂肪酸, 抑制肿瘤坏死因子α(tumor necrosis factor-α,

■研发前沿

对于非酒精性脂肪肝的治疗, 目前尚无金标准, 此文对比、综合各家之言, 努力从众多的治疗措施中提炼出比较安全有效的措施, 此文也对这种疾病的一些新的认识也作了综述, 以及有针对性的措施. 比如, 文中提到的肠道微环境、雌激素对此病发生发展的影响, 及针对这些因素所做的一些措施, 其中还提及一些新药应用.

■相关报道
沈峰在2012年发表在《中国实用内科杂志》中关于对2012年美国非酒精性脂肪肝病诊疗指南的解读, 综合对比了中国指南、意大利指南, 对非酒精性脂肪肝的治疗进行了深刻剖析, 具有一定实用价值.

TNF-α)的活性, 减少TNF-α的释放, 并且可以将肝脏内的脂肪转移到皮下[26]. 罗格列酮虽然能够改善患者的肝脏功能和病理改变, 但由于其有增加患者体质量, 对肝脏的不良反应大, 增加心脑血管发生的风险等不良反应, 限制了其在治疗方面的应用. 有研究证明, 非糖尿病非酒精性脂肪肝病患者, 服用吡格列酮, 可改善肝脏脂肪的沉积, 增加糖和游离脂肪酸对胰岛素的敏感性, 显著降低肝细胞炎症、损伤及纤维化的程度. 大部分患者肝功能可恢复正常[27]. 但长期服用该药的安全性有待证实, 有引发膀胱癌的风险. 王璐等[28]运用循证的方法治疗一例NAFLD患者, 在生活干预的同时用吡格列酮进行治疗, 随访6 mo后, 患者食欲不振、肝区胀痛的症状明显得到改善, B超检查肝脏脂肪沉积较前减轻.

2.2 二甲双胍 国外的一些随机对照实验证实, 应用二甲双胍, 胰岛素对肝组织的敏感性, 转氨酶的降低, 还是肝组织方面来说都没有显著的改善. 综合考虑, 不建议用二甲双胍对有NAFLD的成人治疗[29].

2.3 利拉利汀 近期国外一项研究表明, 利拉利汀治疗能够降低肝脏表达PTP1B、SOCS3、SREBP1c、SCD-1和FAS, 并且对心脏、肝脏以及肌肉等组织的不良影响比较小, 长期治疗能够降低饮食导致的NAFLD大鼠肝脏的脂肪含量, 增加胰岛素的敏感性[30].

3 相关代谢综合症的处理

代谢综合症的组分本身就是NAFLD的危险因素, 并且可引起其他严重的并发症, 如心脑血管病, 这往往也是患者死亡的重要原因. 因此, 针对代谢综合症的治疗是有必要的.

3.1 调节血脂的药 NAFLD和血清甘油三脂升高关系非常密切[31]. 调血脂以他汀类和贝特类降脂药为主, 苏致珑所做的一项实验表明, 辛伐他汀可以降低NAFLD患者甘油三酯、胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇水平的作用, 但同时其对肝脏也有不良反应[32]. 另一项研究是通过辛伐他汀和非诺贝特联合用药, 观察得到, 对患NAFLD的大鼠血清脂肪甘油三酯脂酶活性增高, 而TNF-α水平降低, 并且对大鼠高血脂肾损害也有一定的治疗作用[33]. 因此, 调脂药的运用要慎重, 经饮食和运动调节血脂仍很高的患者, 考虑到并发症的可能性, 可以考虑用他汀类药物, 或者联合贝特类, 或许能产生更好地效果.

3.2 降压药的应用 考虑到NAFLD患者高血压是其危险因素, 并且增加心脑血管等并发症的发病率, 对合并高血压的患者应积极干预, 对NAFLD患者来说, 比较安全的降压药为血管紧张素受体拮抗剂, 如氯沙坦等. 最近的一项研究, 饮食诱导的脂肪肝大鼠在硝苯地平组能够显著改善大鼠的脂肪纤维化程度, 研究者认为伴有高血压的代谢综合症患者, 服用硝苯地平, 除降压外还可以阻止NAFLD的发展[34].

3.3 降糖药的应用 2型糖尿病不仅是NAFLDF的一个危险因素, 而且NAFLD患者也有引发糖尿病的倾向[35]. 利拉鲁肽是一种人胰高糖素样肽-1(glucagon-like peptide-1, GLP-1)类似物, 用于治疗糖尿病, 2011-10-09正式在中国上市. 实验证明利拉鲁肽降低血糖的同时, 也可以使体质量减轻, 这是显著降低NAFLD患者肝酶的主要因素, 26 wk的疗程, 每天1.8 g的剂量是安全的, 患者有很好的耐受, 对伴有2型糖尿病的患者能提高肝酶水平, 但是其降低肝脏损伤的直接作用机制还不清楚[36].

4 护肝、抗氧化药

氧化应激认为是NAFLD患者肝细胞损伤机制和疾病进展的第二次打击. 因此抗氧化药有可能阻断这一环节, 对疾病的发展进行影响. 护肝药针对患者的具体情况应用.

4.1 维生素E 国外大量研究表明, 维生素E能够改善肝细胞的脂肪变、炎症, 肝细胞的气球样变以及脂肪性肝炎, 并且能够降低转氨酶, 但对肝纤维化没有益处[29]. 对于服用这种药物的安全性, 最近发表的一个随机对照实验表明, 以400 IU/d的量服用有增加前列腺癌的风险[37]. 因此对于维生素E的实用应该谨慎, 并且应该掌握适应症. 因为维生素E能增加血糖, 所以糖尿患者慎用. 经活检证实为NAFLD患者可以用. 对于有肝纤维化或不明原因纤维化者不推荐使用[29].

4.2 肝保护剂

4.2.1 还原型谷胱甘肽: 谷胱甘肽在肝脏解毒方面发挥着重要的作用, 在慢性脂肪变疾病中, 由于肝脏组织中的谷胱甘肽会减少, 导致肝脏解毒能力的下降, 用上还原型谷胱甘肽会对肝脏起到一定的保护作用.

4.2.2 多烯磷脂酰胆碱: 多烯磷脂酰胆碱含有磷脂和胆碱的成份, 磷脂是细胞膜和亚细胞膜的基本组成部分, 在细胞的再生中发挥重要的作用. 非酒精性脂肪肝患者肝细胞受氧化应激的损伤, 导致细胞膜结构的破坏, 用此类药可

以到受损的肝细胞起到一定的修复作用. 王凤俊所做的临床实验表明, 多稀磷脂酰胆碱对于NAFLD患者可有效改善肝功能, 降低血脂, 减少肝脏纤维化, 无不良反应[38]. 赵红霞等[39]的临床随机对照实验也表明, 多稀磷脂酰胆碱联合生活方式的治疗比单用生活方式干预效果好.

4.2.3 水飞蓟宾: 具有保护肝细胞的功能, 是通过维持肝细胞膜的稳态、保护肝细胞内酶的系统、提高肝脏解毒能力、改善肝功能, 调节肝脏脂肪的代谢, 阻止或减轻肝脏内脂质的浸润和沉积. 研究证明, 水飞蓟宾降低肝酶, 改善肝功有良好的效果[27].

4.2.4 熊去氧胆酸: 最近各项研究表明, 熊去氧胆酸对非酒精性脂肪肝没有效, 美国指南不再推荐用此药治疗NAFLD[29].

5 中医中药的治疗

传统中药对于肝酶的恢复以及血脂的控制, 与西药相比有较好的疗效, 对于正常的血流也没有太大的影响, 与罗格列酮降糖作用也没有太大的差异[40]. 随着中医对此病的深入研究, 发现许多对治疗有效的中药单味药和中药复方药, 通过大量药理实验研究和临床诊疗的观察, 中医药在防止此病方面有良好的优势, 弥补西医疗效单一、存在不同不良反应的缺点[41]. 西药联合中药治疗, 比单用西药效果显著. 岳豪祥[42]的一项研究表明, 水飞蓟宾联合柴胡舒肝丸治疗NAFLD比单用水飞蓟宾效果更显著, 患者的TNF-α降低明显. 何国强[43]做的一项临床实验也证明, 对于NAFLD患者采用中西医结合的方法比西医常规治疗组, 疗效更加显著, 明显改善患者的预后质量.

6 益生素的作用

肠肝循环在肝脏疾病的发病机制中发挥着关键性的作用, 尽管肠道内的微环境以及益生素对肝组织的治疗作用仍然有争议, 还需要进一步的调查研究, 肠道微生物群的恢复对于NAFLD患者来说是一个合理的靶点[44]. 在多个动物实验中, 研究者发现益生元或益生菌制剂可以改善NAFLD动物的肝脏组织学表现, 降低转氨酶水平, 改善胰岛素抵抗[45]. 国外有报道称尽管可测量的人体特征和心血管的危险因素不改变的情况下, 应用益生菌治疗后, 转氨酶的水平仍然有显著的提高[46].

7 性激素的作用

已经有研究表明雌激素是非酒精性脂肪肝的一种保护因素, 性激素的减少与腹部脂肪增加有关, 外国学者通过实验证明对于健康男人其体内的雌二醇是对抗NAFLD的一种保护因素[47]. 然而是否雌激素用于临床对NAFLD患者进行预防或治疗尚无定论, 有待进一步大样本的研究.

8 OSAS对NAFLD的影响

阻塞性呼吸睡眠综合征(obstructive sleep apnoea syndrome, OSAS)可增加NAFLD患病的风险, 并且能加重NAFLD的病情, 对于伴有OSAS的NAFLD患者针对OSAS采取相应的措施对NAFLD患者的病情是有益的[48].

9 终末期的治疗

NAFLD终末期患者如果发生肝功能衰竭、肝硬化失代偿以及并发肝细胞癌, 无其他手术禁忌症, 应该考虑肝移植. 目前还没有证据说明肝移植手术的体质量指数的上限, 但存在代谢综合症的患者, 术前术后都应该采取相应的措施进行干预, 减轻体质量, 调节血糖和血脂等, 意大利指南指出, 手术前存在的一些危险因素, 术后会加重, 因此术后的对应措施也很必要.

10 结论

当前的治疗综合了生活方式的干预和有潜在疗效的药物的治疗, 但是与肝脏相关的结果的改善仍然缺乏高水平数据的支持[49]. 随着对NAFLD研究的不断进展, 治疗也将会越来越完善, 对于有代谢综合征等高危因素者应尽早重视, 加强相应的生活干预可达到很好的结果. 不能忽视中医在NAFLD治疗方面的潜力, 可以弥补当前西药对这种疾病治疗的不足, 发挥中医不良反应少、疗效好的优势[50].

■创新盘点

此文章与其他相关的、或类似文章、报道的不同点在于引用大量新近的国外的研究结果, 重视对于系统评价及Meta-分析结果的总结与分析.

11 参考文献

1 Alisi A, Nobili V. Non-alcoholic fatty liver disease in children now: lifestyle changes and pharmacologic treatments. *Nutrition* 2012; 28: 722-726 [PMID: 22464551 DOI: 10.1016/j.nut.2011.11.017]

2 Page J. Nonalcoholic fatty liver disease: the hepatic metabolic syndrome. *J Am Acad Nurse Pract* 2012; 24: 345-351 [PMID: 22672485 DOI: 10.1111/j.1745-7599.2012.00716.x]

3 Pardina E, Peinado-Onsurbe J. [Adolescence, obesity, and the role of lipoprotein lipases in the non-alcoholic fatty liver disease]. *Endocrinol Nutr* 2012; 59: 343-345 [PMID: 22658542 DOI: 10.1016/

■**应用要点**

此文章不仅重视所引用文章的新颖性, 而且注重所引用文章的权威性, 精心对比、分析不同文章的治疗措施, 选择可信度高的治疗, 具有一定的临床应用价值, 综述的一些前沿东西, 对于未来的指导研究也是一种参考.

j.endonu.2012.03.009]

4 王军, 魏艳玲, 范丽玲, 肖潇, 颜綦先, 李娅, 陈东风. 非酒精性脂肪肝病与心血管疾病的相关性分析员. 实用肝脏病杂志 2013; 16: 499-502

5 White DL, Kanwal F, El-Serag HB. Association between nonalcoholic fatty liver disease and risk for hepatocellular cancer, based on systematic review. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2012; 10: 1342-1359.e2 [PMID: 23041539 DOI: 10.1016/j.cgh.2012.10.001]

6 Wong VW. Nonalcoholic fatty liver disease in Asia: a story of growth. *J Gastroenterol Hepatol* 2013; 28: 18-23 [PMID: 23094755 DOI: 10.1111/jgh.12011]

7 Jadeja RN, Thounaojam MC, Singh TB, Devkar RV, Ramachandran A. Traditional uses, phytochemistry and pharmacology of Clerodendron glandulosum Coleb--a review. *Asian Pac J Trop Med* 2012; 5: 1-6 [PMID: 22182635 DOI: 10.1016/S1995-7645(11)60236-8]

8 Corrado RL, Torres DM, Harrison SA. Review of treatment options for nonalcoholic fatty liver disease. *Med Clin North Am* 2014; 98: 55-72 [PMID: 24266914 DOI: 10.1016/j.mcna.2013.09.001]

9 Thoma C, Day CP, Trenell MI. Lifestyle interventions for the treatment of non-alcoholic fatty liver disease in adults: a systematic review. *J Hepatol* 2012; 56: 255-266 [PMID: 21723839]

10 Gossard AA, Lindor KD. Current therapies for nonalcoholic fatty liver disease. *Drugs Today* (Barc) 2011; 47: 915-922 [PMID: 22348916 DOI: 10.1358/dot.2011.47.12.1688530]

11 Abenavoli L, Milic N. Dietary intervention in non-alcoholic fatty liver disease. *J Acad Nutr Diet* 2013; 113: 211 [PMID: 23351623 DOI: 10.1016/j.jand.2012.11.019]

12 Sevastianova K, Santos A, Kotronen A, Hakkarainen A, Makkonen J, Silander K, Peltonen M, Romeo S, Lundbom J, Lundbom N, Olkkonen VM, Gylling H, Fielding BA, Rissanen A, Yki-Järvinen H. Effect of short-term carbohydrate overfeeding and long-term weight loss on liver fat in overweight humans. *Am J Clin Nutr* 2012; 96: 727-734 [PMID: 22952180 DOI: 10.3945/ajcn.112.038695]

13 Schwarz J, Tomé D, Baars A, Hooiveld GJ, Müller M. Dietary protein affects gene expression and prevents lipid accumulation in the liver in mice. *PLoS One* 2012; 7: e47303 [PMID: 23110065 DOI: 10.1371/journal.pone.0047303]

14 Parker HM, Johnson NA, Burdon CA, Cohn JS, O'Connor HT, George J. Omega-3 supplementation and non-alcoholic fatty liver disease: a systematic review and meta-analysis. *J Hepatol* 2012; 56: 944-951 [PMID: 22023985 DOI: 10.1016/j.jhep.2011.08.018]

15 Abenavoli L, Milic N, De Lorenzo A, Luzza F. A pathogenetic link between non-alcoholic fatty liver disease and celiac disease. *Endocrine* 2013; 43: 65-67 [PMID: 22740094 DOI: 10.1007/s12020-012-9731-y]

16 汤勃, 陈玉琪, 王宇明. 2012版美国非酒精性脂肪性肝病诊断与治疗指南简介. 肝脏 2012; 17: 649-651

17 Schultz A, Mendonca LS, Aguila MB, Mandarim-de-Lacerda CA. Swimming training beneficial effects in a mice model of nonalcoholic fatty liver disease. *Exp Toxicol Pathol* 2012; 64: 273-282 [PMID: 20869214 DOI: 10.1016/j.etp.2010.08.019]

18 Keating SE, Hackett DA, George J, Johnson NA. Exercise and non-alcoholic fatty liver disease: a systematic review and meta-analysis. *J Hepatol* 2012; 57: 157-166 [PMID: 22414768 DOI: 10.1016/j.jhep.2012.02.023]

19 Beaton MD. Current treatment options for nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis. *Can J Gastroenterol* 2012; 26: 353-357 [PMID: 22720278]

20 Lebovics E, Rubin J. Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): why you should care, when you should worry, what you should do. *Diabetes Metab Res Rev* 2011; 27: 419-424 [PMID: 21425426 DOI: 10.1002/dmrr.1198]

21 庞关义. 非酒精性脂肪肝病的临床研究进展. 河北医学 2013; 19: 1572-1574

22 沈峰, 范建高. 2012年美国非酒精性脂肪性肝病诊疗指南解读. 中国实用内科杂志 2012; 32: 676-679

23 王艳兵, 万文原. 运动与非酒精性脂肪肝的关系. 河北北方学院学报 2011; 27: 115-118

24 谭彦芳. 非酒精性脂肪肝病药物治疗进展. 实用肝脏病杂志 2013; 16: 378-381

25 Byrne CD. Dorothy Hodgkin Lecture 2012: non-alcoholic fatty liver disease, insulin resistance and ectopic fat: a new problem in diabetes management. *Diabet Med* 2012; 29: 1098-1107 [PMID: 22672330 DOI: 10.1111/j.1464-5491.2012.03732.x]

26 罗欣. 非酒精性脂肪肝病发病机理及诊治进展. 现代临床医学 2013; 39: 323-325

27 Hajiaghamohammadi AA, Ziaee A, Oveisi S, Masroor H. Effects of metformin, pioglitazone, and silymarin treatment on non-alcoholic Fatty liver disease: a randomized controlled pilot study. *Hepat Mon* 2012; 12: e6099 [PMID: 23087748 DOI: 10.5812/hepatmon.6099]

28 王璐, 董卫国, 吕晓光, 季梦遥. 非酒精性脂肪肝病患者的循证治疗. 中国全科医学 2013; 16: 3529-3533

29 Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Diehl AM, Brunt EM, Cusi K, Charlton M, Sanyal AJ. The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: practice guideline by the American Gastroenterological Association, American Association for the Study of Liver Diseases, and American College of Gastroenterology. *Gastroenterology* 2012; 142: 1592-1609 [PMID: 22656328 DOI: 10.1053/j.gastro.2012.04.001]

30 Kern M, Klöting N, Niessen HG, Thomas L, Stiller D, Mark M, Klein T, Blüher M. Linagliptin improves insulin sensitivity and hepatic steatosis in diet-induced obesity. *PLoS One* 2012; 7: e38744 [PMID: 22761701 DOI: 10.1371/journal.pone.0038744]

31 Ogawa Y, Imajo K, Yoneda M, Nakajima A. [Pathophysiology of NAsh/NAFLD associated with high levels of serum triglycerides]. *Nihon Rinsho* 2013; 71: 1623-1629 [PMID: 24205725]

32 苏致珑. 辛伐他汀在非酒精性脂肪肝患者高血脂症中的效用. 中国实用医学 2012; 7: 197-198

33 何微, 喻陆, 高德禄, 张世俊. 辛伐他汀和非诺贝特对非酒精性脂肪肝大鼠血清ATGL酶活性和TNF-a水平的影响. 解放军医学院学报 2013; 34: 279-281

34 Nakagami H, Shimamura M, Miyake T, Shimosato T, Minobe N, Moritani T, Kiomy Osako M, Nakagami F, Koriyama H, Kyutoku M, Shimizu H, Katsuya T, Morishita R. Nifedipine prevents hepatic fibrosis in a non-alcoholic steatohepatitis model induced by an L-methionine-and choline-deficient diet. *Mol Med Rep* 2012; 5: 37-40 [PMID: 21946918 DOI: 10.3892/mmr.2011.594]

35 Park SK, Seo MH, Shin HC, Ryoo JH. Clinical availability of nonalcoholic fatty liver disease as an early predictor of type 2 diabetes mellitus in Korean men: 5-year prospective cohort study. *Hepatology* 2013; 57: 1378-1383 [PMID: 23213066 DOI: 10.1002/

hep.26183]
36 Armstrong MJ, Houlihan DD, Rowe IA, Clausen WH, Elbrønd B, Gough SC, Tomlinson JW, Newsome PN. Safety and efficacy of liraglutide in patients with type 2 diabetes and elevated liver enzymes: individual patient data meta-analysis of the LEAD program. *Aliment Pharmacol Ther* 2013; 37: 234-242 [PMID: 23163663 DOI: 10.1111/apt.12149]
37 Klein EA, Thompson IM, Tangen CM, Crowley JJ, Lucia MS, Goodman PJ, Minasian LM, Ford LG, Parnes HL, Gaziano JM, Karp DD, Lieber MM, Walther PJ, Klotz L, Parsons JK, Chin JL, Darke AK, Lippman SM, Goodman GE, Meyskens FL, Baker LH. Vitamin E and the risk of prostate cancer: the Selenium and Vitamin E Cancer Prevention Trial (SELECT). *JAMA* 2011; 306: 1549-1556 [PMID: 21990298 DOI: 10.1001/jama.2011.1437]
38 王凤俊. 多烯磷脂酰胆碱治疗非酒精性脂肪性肝病的疗效观察. 肝脏 2012; 17: 365-366
39 赵红霞, 赵鑫, 史晓静. 多烯磷脂酰胆碱联合生活方式干预治疗非酒精性脂肪肝病的观察家. 中国医药指南 2012; 10: 543-544
40 Shi KQ, Fan YC, Liu WY, Li LF, Chen YP, Zheng MH. Traditional Chinese medicines benefit to non-alcoholic fatty liver disease: a systematic review and meta-analysis. *Mol Biol Rep* 2012; 39: 9715-9722 [PMID: 22718512 DOI: 10.1007/s11033-012-1836-0]
41 隋晓丹, 邓厚波, 刘铁军. 中医药防治非酒精性脂肪肝病的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21: 1708-1713
42 岳豪祥. 水飞蓟宾联合柴胡舒肝丸治疗非酒精性脂肪性肝病的临床观察. 中医中药 2013; 20: 113-114
43 何国强. 中西医结合治疗非酒精性脂肪肝临床疗效观察. 中国实用医药 2012; 7: 160-161
44 Kirpich IA, McClain CJ. Probiotics in the treatment of the liver diseases. *J Am Coll Nutr* 2012; 31: 14-23 [PMID: 22661622]
45 戴鑫, 吕宗舜. 肠道屏障功能在非酒精性脂肪性肝病发病机制中的作用. 世界华人消化杂志 2012; 20: 656-661
46 Vajro P, Veropalumbo C, D'Aniello R, Mandato C. Probiotics in the treatment of non alcoholic fatty liver disease: further evidence in obese children. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2013; 23: e9-10 [PMID: 23177179 DOI: 10.1016/j.numecd.2012.10.006]
47 Tian GX, Sun Y, Pang CJ, Tan AH, Gao Y, Zhang HY, Yang XB, Li ZX, Mo ZN. Oestradiol is a protective factor for non-alcoholic fatty liver disease in healthy men. *Obes Rev* 2012; 13: 381-387 [PMID: 22239319 DOI: 10.1111/j.1467-789X.2011.00978.x]
48 Musso G, Cassader M, Olivetti C, Rosina F, Carbone G, Gambino R. Association of obstructive sleep apnoea with the presence and severity of non-alcoholic fatty liver disease. A systematic review and meta-analysis. *Obes Rev* 2013; 14: 417-431 [PMID: 23387384 DOI: 10.1111/obr.12020]
49 Mahady SE, George J. Management of nonalcoholic steatohepatitis: an evidence-based approach. *Clin Liver Dis* 2012; 16: 631-645 [PMID: 22824485 DOI: 10.1016/j.cld.2012.05.003]
50 常成, 沈佳, 耿昌海. 非酒精性脂肪肝病中医药治疗进展. 中国中医急症 2013; 22: 2079-2081

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

■同行评价

非酒精性脂肪肝的发病率随着生活水平的提高而上升, 并且当前没有确切疗效的药物的治疗, 对此选题具有重要的临床意义. 此文章语言流畅、引用较新的文献、内容具有重要的临床价值.

世界华人消化杂志 2014年4月8日; 22(10): 1384-1390
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

研究快报 RAPID COMMUNICATION

健脾活血方对大鼠胃癌前病变模型CD44V6、MLH1、MSH2表达的影响

封 慧, 叶 柏, 朱萱萱, 严 晶, 周 杰

■背景资料
随着分子生物学技术的发展, 人们对癌细胞研究侧重点发生了改变, 由对癌细胞自身变化特性的研究, 转移到对癌细胞如何产生方面的研究, 即癌前病变的研究, 这是现代学者研究癌症的一大特色.

封慧, 严晶, 周杰, 南京中医药大学 江苏省南京市 210029
叶柏, 朱萱萱, 江苏省中医院 江苏省南京市 210029
封慧, 南京中医药大学2011级硕士研究生, 主要从事中医内科学的临床与实验研究.
江苏省中医药管理局基金资助项目, No. JD11039
作者贡献分布: 此课题由叶柏与封慧设计; 研究过程由封慧完成; 技术指导、试剂及仪器由朱萱萱、周杰及严晶提供; 数据分析与论文写作由封慧完成.
通讯作者: 叶柏, 主任医师, 硕士研究生导师, 210029, 江苏省南京市汉中路155号, 江苏省中医院脾胃病科. yeb1961@163.com
收稿日期: 2013-11-21 修回日期: 2014-01-17
接受日期: 2014-02-18 在线出版日期: 2014-04-08

Effect of Jianpi Huoxue decoction on CD44V6, MLH1 and MSH2 expression in precancerous lesions of gastric cancer in rats

Hui Feng, Bai Ye, Xuan-Xuan Zhu, Jing Yan, Jie Zhou

Hui Feng, Jing Yan, Jie Zhou, Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China
Bai Ye, Xuan-Xuan Zhu, Jiangsu Province TCM Hospital, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China
Supported by: Foundation of Pharmaceutical Administration of Jiangsu Province, No. JD11039
Correspondence to: Bai Ye, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Jiangsu Province TCM Hospital, 155 Hanzhong Road, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China. yeb1961@163.com
Received: 2013-11-21 Revised: 2014-01-17
Accepted: 2014-02-18 Published online: 2014-04-08

Abstract

AIM: To investigate the effects of Jianpi Huoxue decoction on CD44V6, mutL homolog 1 (MLH1) and mutS homologue 2 (MSH2) expression in precancerous lesions of gastric cancer (PLGC) in rats.

METHODS: PLGC was induced in rats with N-methyl-N-nitro N-nitrosoguanidine (MNNG) together with 0.3 g/L ranitidine, 400 mL/L alcohol and irregular diet. Forty model rats were randomly and equally divided into a model control group (0.9% normal saline, NS), a Weifuchun group (0.86 g/kg), and high-, medium- and low-dose Jianpi Huoxue decoction groups (32, 16, and 8 g/kg). Untreated normal rats comprised the normal control group. Each group was given corresponding medicine (10 mL/kg) once a day for 10 weeks. All of the rats were sacrificed at the end of the experiment. The expression of CD44V6, MLH1 and MSH2 was detected by rapid immunohistochemistry.

RESULTS: In comparison with the normal control group, CD44V6 expression was significantly increased in the model control group (5.12 ± 1.96 *vs* 0.25 ± 0.46, $P < 0.01$). In comparison with the model group, CD44V6 expression was significantly decreased in the high- and medium-dose Jianpi Huoxue decoction groups (2.25 ± 0.71, 3.25 ± 0.31 *vs* 5.12 ± 1.96, $P < 0.01$ or < 0.05), although there was no significant difference between the low-dose Jianpi Huoxue decoction group and the model group ($P > 0.05$). In comparison with the Weifuchun group, CD44V6 expression was decreased in the high-dose Jianpi Huoxue decoction group (2.25 ± 0.71 *vs* 4.62 ± 1.19, $P < 0.01$), but there were no significant differences between the Weifuchun group, the medium- and low-dose Jianpi Huoxue decoction groups ($P > 0.05$ for both). In comparison with the normal group, MLH1 and MSH2 expression was significantly decreased in the model group (3.75 ± 1.04 *vs* 8.00 ± 0.926, 3.62 ± 1.69 *vs* 7.25 ± 2.12, $P < 0.01$ for both). In comparison with the model group, MLH1 and MSH2 expression was significantly increased in the high-, medium- and low-dose Jianpi Huoxue decoction groups (6.50 ± 0.93, 5.25 ± 1.49, 5.12 ± 1.25 *vs* 3.75 ± 1.04; 6.62 ± 2.13, 6.00 ± 1.51, 5.50 ± 1.41 *vs* 3.62 ± 1.69, $P < 0.01$ or < 0.05 for all). In comparison with the Weifuchun group, MLH1 expression was increased in the high-dose Jianpi Huoxue decoction group (6.50 ± 0.93 *vs* 4.88 ± 1.25, $P < 0.05$), but there were no significant differences between the Weifuchun group, the medium- and low-dose Jianpi Huoxue decoction groups ($P > 0.05$ for both). As for MSH2 expression, there were no significant differences between the Weifuchun group and all Jianpi Huoxue decoction groups ($P > 0.05$ for all).

■同行评议者
牛英才, 研究员, 齐齐哈尔医学院医药科学研究所

CONCLUSION: The therapeutic effect of Jianpi Huoxue decoction for PLGC in rats is associated with decreasing CD44V6 expression and increasing MLH1 and MSH2 expression in gastric mucosa.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Jianpi Huoxue decoction; Precancerous lesions of gastric cancer; CD44V6; MutL homolog 1; Mut-s homologue 2

Feng H, Ye B, Zhu XX, Yan J, Zhou J. Effect of Jianpi Huoxue decoction on CD44V6, MLH1 and MSH2 expression in precancerous lesions of gastric cancer in rats. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(10): 1384-1390 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1384.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i10.1384

摘要

目的: 通过观察健脾活血方对胃癌前病变大鼠胃黏膜组织中*CD44V6*、*MLH1*及*MSH2*表达的影响, 探讨健脾活血方对其干预的作用机制.

方法: 除正常组外, 其他大鼠采用以N-甲基-N-硝基-N-亚硝基胍(N-methyl-N-nitro N-nitrosoguanidine, MNNG)为主同时配合0.3 g/L雷尼替丁、400 mL/L乙醇及饥饱失常的多因素造模法建立胃癌前病变动物模型. 将造模成功的40只大鼠随机分为模型组(0.9%氯化钠溶液)、胃复春组(0.86 g/kg)、健脾活血方高、中、低剂量组(32、16、8 g/kg), 每组8只, 每组每天给予等量(10 mL/kg)的不同药物灌胃一次, 连续10 wk. 实验末处死大鼠, 给予相应处理后, 快速免疫组织化学检测CD44V6、MLH1及MSH2表达情况.

结果: 模型组CD44V6表达与正常组相比明显升高(5.12±1.96 *vs* 0.25±0.46, *P*<0.01); 健脾活血方高、中剂量组CD44V6表达与模型组相比均明显降低(2.25±0.71, 3.25±0.31 *vs* 5.12±1.96, *P*<0.01或*P*<0.05), 低剂量组CD44V6表达与模型组比较差异无统计学意义(*P*>0.05); 健脾活血方高剂量组CD44V6表达与胃复春组相比明显降低(2.25±0.71 *vs* 4.62±1.19, *P*<0.01), 中、低剂量组CD44V6表达与胃复春组比较差异无统计学意义(*P*>0.05). 模型组MLH1、MSH2表达与正常组相比均明显降低(3.75±1.04 *vs* 8.00±0.926; 3.62±1.69 *vs* 7.25±2.12, *P*<0.01); 健脾活血方高、中、低剂量组MLH1、MSH2表达与模型组相比均明显升高(6.50±0.93, 5.25±1.49, 5.12±1.25 *vs* 3.75±1.04; 6.62±2.13, 6.00±1.51, 5.50±1.41 *vs* 3.62±1.69, *P*<0.01或*P*<0.05); 健脾活血方高剂量组MLH1表达与胃复春组相比明显升高(6.50±0.93 *vs* 4.88±1.25, *P*<0.05), 中、低剂量组MLH1及高、中、低剂量组MSH2表达与胃复春组比较差异无统计学意义(*P*>0.05).

结论: 健脾活血方可通过降低CD44V6表达, 上调MLH1、MSH2表达, 减少细胞的非正常侵袭和转移, 增强基因的错配修复功能, 减少细胞的异常增殖和分化, 发挥对大鼠胃癌前病变的治疗作用.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 健脾活血方; 胃癌前病变; CD44V6; MLH1; MSH2

核心提示: 本研究显示健脾活血方各组能不同程度地降低CD44V6的表达, 提高错配修复基因*MLH1*、*MSH2*的表达. 提示健脾活血方可能通过降低CD44V6的表达, 提高MLH1、MSH2的表达, 减少细胞的非正常侵袭和转移, 同时增强基因的错配修复功能, 减少基因的突变, 诱导病态细胞尽早凋亡, 达到治疗或逆转胃癌前病变的作用.

封慧, 叶柏, 朱萱萱, 严晶, 周杰. 健脾活血方对大鼠胃癌前病变模型CD44V6、MLH1、MSH2表达的影响. 世界华人消化杂志 2014; 22(10): 1384-1390 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1384.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i10.1384

0 引言

胃癌前病变(precancerous lesions of gastric cancer, PLGC)是指更容易发生癌变的组织病理变化[1], 包括肠上皮化生和异型增生, 常在慢性萎缩性胃炎基础上伴随发生. 正常胃黏膜上皮细胞向癌细胞转化是一个多基因、多因素、多阶段的过程, 受多种相关因子的调控, 其中细胞黏附分子CD44、错配修复基因*MLH1*及*MSH2*的异常表达在此过程中有着举足轻重的作用[2-7].

目前西医对PLGC的治疗较为棘手, 而传统中医从整体入手, 辨证施治, 在逆转胃黏膜萎缩以及肠上皮化生和异型增生方面有着独特的优越性. 健脾活血方是江苏省中医院脾胃病科叶柏教授根据多年临床实践总结的经验方, 在临床上治疗PLGC取得了较好的疗效, 作者通过动物实验, 观察该方对PLGC大鼠胃黏膜*CD44V6*、*MLH1*、*MSH2*基因表达的影响, 以进一步从分子生物学的角度探讨其可能作用机制.

■研发前沿
PLGC的一直是消化科和肿瘤科的研究热点. 临床研究表明, 中医药对PLGC有一定逆转作用, 但PLGC阶段存在哪些基因调控异常和中医药通过哪些途径来治疗PLGC尚有待进一步深入研究.

■相关报道
蒋时红等选取临床上治疗PLGC的3种常用的中医治法, 针对诱导细胞凋亡方面进行比较研究, 发现在临症运用益气健脾法、养阴荣络法治疗本病时, 可根据病情加用活血化瘀类中药, 在诱导细胞凋亡方面具有一定的优势, 有可能获得更好的疗效.

1 材料和方法

1.1 材料 清洁级SD大鼠60只, 雌雄各半, 体质量100-120 g, 由南通大学动物中心提供, 合格证号: SCXK(苏)2008-0010. 室温(22 ℃±2 ℃), 湿度55%-65%, 光照适度, 通风洁净良好. 全价营养颗粒饲料: 由江苏省协同医药生物技术有限公司提供, 批号: 110610. N-甲基-N-硝基-N-亚硝基胍(N-methyl-N-nitro N-nitrosoguanidine, MNNG)(东京仁成工业株式会社制造, 批号: GNGMH); 雷尼替丁(杭州赛诺菲圣德拉堡民生制药有限公司生产, 批号: 156701); 乙醇(用蒸馏水稀释成400 mL/L的浓度); 胃复春片(每片0.359 g, 杭州胡庆余堂药业有限公司, 批号: 110469), 健脾活血方(方药组成: 黄芪、炒白术、炒白芍、炒苡仁、广陈皮、法半夏、麦冬、莪术、仙鹤草、蛇舌草、炒谷芽、炒麦芽, 购自南京中医药大学第一附属医院中药房, 江阴天江药业有限公司生产), CD44V6抗体(美国NeoMarkers, 批号: MS-1092-so), MLH1抗体(福州迈新生物公司提供, 批号: MAB-0642), MSH2抗体(福州迈新生物公司提供, 批号: MAB-0291), 即用型快速免疫组织化学Max Vision™试剂盒(福州迈新生物公司提供, 批号: KIT-5030), 二氨乙基联苯胺(diaminobenzidine, DAB)显色试剂等(福州迈新生物公司提供). TP 1020自动脱水机(德国LEICA公司提供), RM2235型石蜡切片机(德国LEICA公司提供), CS-Ⅵ型摊片烤片机(湖北孝感宏业医用仪器有限公司提供), Tissue-Tek TEL组织包埋中心(日本SAKURA公司提供), LEICA DM 1000光学显微镜(德国Leica公司提供), 隔水式电热恒温培养箱(上海市跃进医疗器械一厂提供), 微波炉(TCL有限公司提供), MiniSee图像采集系统.

1.2 方法

1.2.1 造模: 60只大鼠适应性喂养1 wk后, 随机分为2组: 正常组和造模组. 正常组10只, 余下50只, 采用MNNG综合造模法[8,9]造模, 具体方法如下: 正常组: 仅以生理盐水同等条件下灌胃, 造模大鼠每天给予150 mg/L的MNNG溶液自由饮用, 含0.03%雷尼替丁的170 mg/L的MNNG溶液按10 mL/kg每天灌胃1次(即用即配), 400 mL/L的乙醇按10 mL/kg每周灌胃2次, 连续12 wk; 其中第5周开始结合饥饱失常(逢单禁食, 逢双饱食). 造模12 wk后随机抽取正常组大鼠2只、造模组大鼠6只杀检, 观察组织病理学变化(以HE染色光学显微镜下观察的结果为主), 确认模型是否成功. 造模过程中共死亡4 只.

1.2.2 分组与给药: 造模成功后, 将造模组剩余40只大鼠随机分为5组, 分别为: 模型组8只、健脾活血方高、中、低剂量组(32、16、8 g/kg)各8只、胃复春对照组(0.86 g/kg)8只. 正常组和模型组: 等量的0.9%生理盐水. 每组每天给予相应的药物灌胃1次. 上述治疗10 wk. 实验第22周末处死大鼠, 剖腹取胃, 沿胃大弯剪开, 生理盐水冲洗, 肉眼观察, 平铺于硬纸板上, 于胃窦部剪取组织1块. 用40 g/L的中性甲醛固定胃组织, 石蜡包埋待检. 采用快速免疫组织化学方法检测CD44V6、MLH1、MSH2表达情况.

1.2.3 免疫组织化学检测CD44V6、MLH1、MSH2的表达: 采用快速免疫组织化学方法, 即用型快速免疫组织化学MaxVision™试剂盒是根据多聚合酶技术把多分子量过氧化物酶与抗鼠或/和抗兔IgG分子结合在聚合物上形成多聚物分子. 在实验过程中加空白对照(以PBS代替各种一抗)以监测抗体特性. 主要染色过程如下: (1)石蜡切片脱蜡水化, 微波中档抗原修复10 min. 自然冷却, 用PBS液(0.01 mol/L pH 7.4)冲洗3次×2 min; (2)正常山羊血清封闭, 室温孵育10 min. 倾去血清, 勿洗, 滴加抗体, 37 ℃孵育1 h; (3)PBS冲洗, 2 min×3次; (4)滴加即用型快速免疫组织化学MaxVision™二抗, 37 ℃或室温孵育10-15 min; (5)PBS冲洗, 2 min×3次; (6)滴加新鲜配制的DAB显色3-5 min, 显微镜下观察; (7)自来水充分冲洗, 苏木素复染, 自来水冲洗返蓝; (8)梯度酒精脱水、二甲苯透明, 中性树胶封片. 免疫组织化学标记结果: 各种蛋白阳性细胞以胞核或胞浆呈棕黄色为主. 阴性不着色.

大鼠的阳性细胞计数采用半定量法判断, 即根据每张切片的腺体和上皮阳性细胞面积及阳性细胞着色强度进行分级评分, 每个视野所见阳性细胞数的面积分0、1、2、3、4级. 0级为阴性, 计0分; 1级为阳性细胞占1%-25%, 计1分; 2级为阳性细胞占26%-50%, 计2分; 3级为阳性细胞占51%-75%计3分; 4级为阳性细胞占76%-100%, 计4分. 着色程度计分标准为: 无着色计0分; 浅黄色计1分; 棕黄色计2分; 棕褐色计3分. 根据两者乘积积分进行统计分析.

统计学处理 采用SPSS19.0软件进行统计学分析. 所有数据用mean±SD表示, 各组CD44V6、MLH1、MSH2表达情况的比较采用单因素方差分析及t检验. 以$P<0.05$为差异有统计学意义.

表 1 健脾活血方治疗胃癌前病变大鼠CD44V6、MLH1、MSH2的变化 (mean ± SD)

分组	剂量(g/mL)	CD44V6	MLH1	MSH2
正常组	–	0.25 ± 0.46	8.00 ± 0.926	7.25 ± 2.12
模型组	–	5.12 ± 1.96[b]	3.75 ± 1.04[b]	3.62 ± 1.69[b]
胃复春组	0.086	4.62 ± 1.19	4.88 ± 1.25	5.75 ± 1.28[a]
健脾活血方高剂量组	3.200	2.25 ± 0.71[df]	6.50 ± 0.93[de]	6.62 ± 2.13[d]
健脾活血方中剂量组	1.600	3.25 ± 0.31[a]	5.25 ± 1.49[a]	6.00 ± 1.51[a]
健脾活血方低剂量组	0.800	3.38 ± 1.30	5.12 ± 1.25[e]	5.50 ± 1.41[a]

[a]P<0.05, [d]P<0.01 *vs* 模型组; [b]P<0.01 *vs* 正常组; [e]P<0.05, [f]P<0.01 *vs* 胃复春组.

■应用要点
本次通过动物实验对健脾活血方进行分子机制的研究, 为健脾活血方治疗PLGC提供了有力的理论依据, 发展了中医药理论, 同时可以指导临床用药, 让中医药理论来源于临床, 回归于临床.

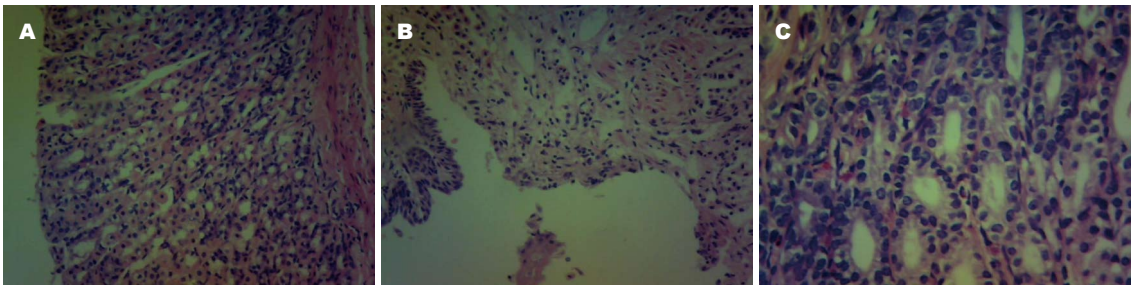


图 1 胃黏膜中HE染色病理变化. A: 正常组(×10); B: 造模组(×10); C: 造模组(×20).

2 结果

2.1 造模后胃黏膜HE染色病理学变化 正常组胃黏膜结构层次完整, 胃黏膜上皮呈单层柱状上皮, 细胞排列紧密, 未见明显炎细胞浸润. 造模组大鼠胃黏膜组织固有层炎细胞浸润, 间质充血, 部分腺体萎缩, 胃窦部腺体紊乱, 伴有不同程度的异型增生, 偶可见杯状细胞, 核深染, 局部黏膜糜烂(图1).

2.2 胃黏膜中CD44V6的表达 CD44V6蛋白在正常胃黏膜几乎不表达. 模型组CD44V6蛋白表达明显高于正常组, 主要定位于细胞胞浆, 两组比较差异有统计学意义(P<0.01); 健脾活血方高、中剂量组CD44V6蛋白表达与模型组相比明显降低, 差异有统计学意义(高剂量组P<0.01, 中剂量组P<0.05), 健脾活血方低剂量组、胃复春组CD44V6蛋白表达与模型组相比无明显差异(P>0.05); 健脾活血方高剂量组CD44V6蛋白表达与胃复春组相比明显降低, 差异有统计学意义(P<0.01), 中、低剂量组CD44V6蛋白表达与胃复春组相比无明显差异(P>0.05)(表1, 图2).

2.3 胃黏膜中MLH1的表达 MLH1蛋白表达几乎出现于所有正常胃黏膜, 主要定位于细胞胞浆. 模型组MLH1蛋白表达与正常组相比明显降低, 差异有统计学意义(P<0.01); 健脾活血方高、中、低剂量组MLH1蛋白表达与模型组相比均明显升高, 差异有统计学意义(高剂量组P<0.01, 中、低剂量组P<0.05), 胃复春组MLH1蛋白表达与模型组相比无明显差异(P>0.05); 健脾活血方高剂量组MLH1蛋白表达与胃复春组相比明显升高, 差异有统计学意义(P<0.05), 中、低剂量组MLH1蛋白表达与胃复春组相比无明显差异(P>0.05)(表1, 图3).

2.4 胃黏膜中MSH2的表达 MSH2蛋白在大鼠正常胃黏膜中表达明显, 主要定位于细胞核, 部分细胞同时出现胞浆染色. 模型组MSH2表达与正常组相比明显降低, 差异有统计学意义(P<0.01); 健脾活血方高、中、低剂量组及胃复春组MSH2蛋白表达与模型组相比均明显升高, 差异有统计学意义(高剂量组P<0.01, 中、低剂量组、胃复春组P<0.05); 健脾活血方高、中、低剂量组MSH2蛋白表达与胃复春组相比无明显差异(P>0.05)(表1, 图4).

3 讨论

PLGC是胃黏膜从正常细胞向癌细胞转化过程中的一个重要阶段, 其意义在于有恶变及正常逆转的双向可能性. 目前, 由慢性胃炎→胃黏膜萎缩→肠上皮化生→异型增生→胃癌的发展模式已被业内广泛认同. 由于并非所有的PLGC都能发展成胃癌, 有的可能在其过程中停止, 甚至

■同行评价
实验设计合理, 本文从细胞黏附分子和错配修复基因的角度探讨了健脾活血方对大鼠PLGC模型的作用机制, 对于进一步揭示中医药治疗PLGC的效果及分子机制做出了有益的探索, 具有一定的临床指导意义与科学探索价值.

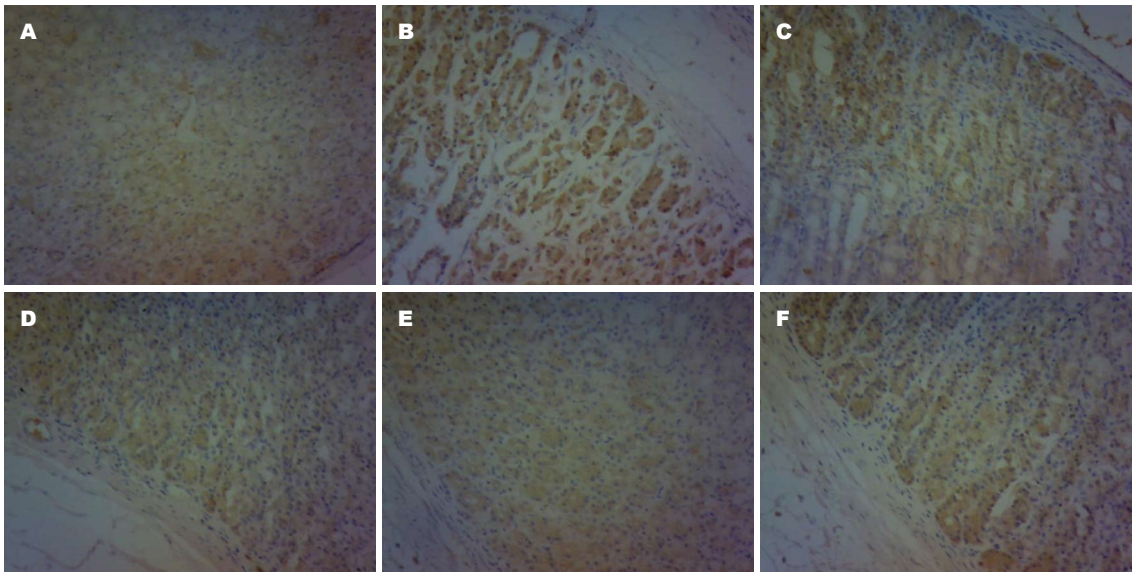


图 2 6组大鼠CD44V6免疫组织化学结果(×10). A: 正常组; B: 模型组; C: 胃复春组; D: 健脾活血方高剂量组; E: 健脾活血方中剂量组; F: 健脾活血方低剂量组.

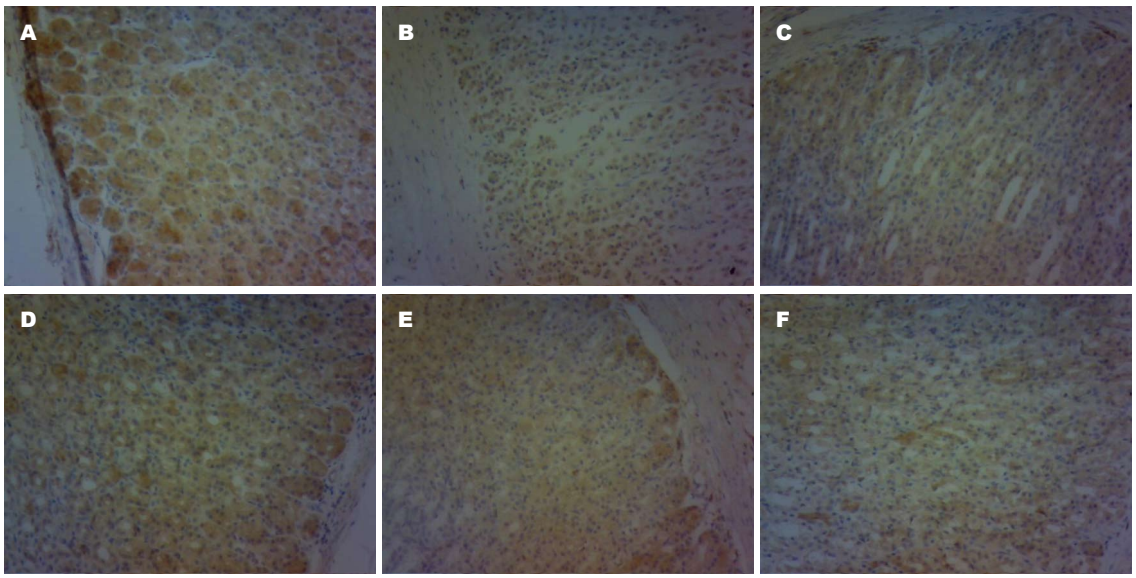


图 3 6组大鼠MLH1免疫组织化学结果(×10). A: 正常组; B: 模型组; C: 胃复春组; D: 健脾活血方高剂量组; E: 健脾活血方中剂量组; F: 健脾活血方低剂量组.

逆转或消失, 所以积极有效地治疗PLGC将成为胃癌治疗及预防的一个突破口, 这与中医未病先防、既病防变的“治未病”思想不谋而合.

越来越多的研究表明PLGC的发生发展与细胞黏附能力的丧失及错配修复基因的功能缺陷有着密切的关系. 正常细胞黏附力的丧失是人类癌症发展过程中的一个重要现象, 他可以让癌症细胞向周围浸润或者离开最初产生的地方, 到达其他部位, 如淋巴结、肝、肺等处. CD44[10]是一种与细胞附着力相关的细胞黏附分子, 由10个组成型外显子和10个变异型外显子组成. 含不同变异体外显子编码序列的CD44称为CD44拼接变异体, 即CD44V. 与正常上皮组织相比, 人类肿瘤组织普遍存在CD44V的表达紊乱, 尤其是CD44V6, 该基因的活化或过度表达可加速胃黏膜癌变并使癌细胞获得侵袭性的能力[11]. 人类的DNA错配修复系统(mismatch repair, MMR)是人体细胞中修复DNA碱基错配的安全保障体系, 他不仅能特异性识别和修复DNA复制过程中出现的碱基错配, 增强DNA复制忠实性、维持基因组稳定性和降低自发性突变, 还能通过诱导DNA损伤细胞的凋亡来预防癌变的

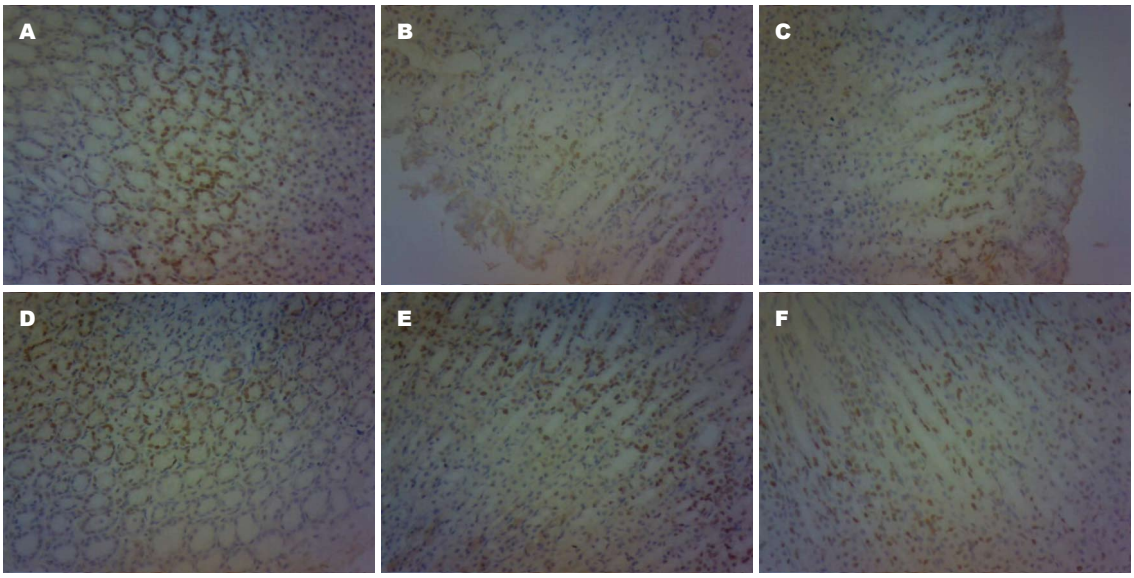


图 4　6组大鼠MSH2免疫组织化学结果(×10). A: 正常组; B: 模型组; C: 胃复春组; D: 健脾活血方高剂量组; E: 健脾活血方中剂量组; F: 健脾活血方低剂量组.

发生. 当错配修复基因发生突变或缺失导致错配修复功能降低时, DNA复制时出现的错配得不到及时纠正, 使基因组中的突变增多[12], 细胞发生恶变的危险性随之升高[13,14]. 目前发现的人类MMR系统包含有9个错配修复基因, 其中具有*hMLH1*和/或*hMSH2*突变或缺失的人群更易患胃肠道恶性肿瘤[15,16]. *hMLH1*基因是1994年Bronner等[17]在研究遗传性非息肉性结直肠癌的过程中发现的, 位于人类染色体的3p21-23, 编码一种由756个氨基酸残基组成的蛋白质. *hMSH2*是第一个被分离的人类错配修复基因, 该基因位于人类第2号染色体2p21-22[18]. 其编码的909个氨基酸残基的蛋白质是正常基因编码损伤DNA修复必需的蛋白质. 从*MMR*基因与肿瘤发生的关系来看, 多数研究认为[19-21]在胃癌发生早期即存在hMLH1和hMSH2表达的下调或缺失, 是胃癌发生发展过程中的早期分子事件, 并且在胃癌发展过程中持续作用. 本研究显示, 模型组大鼠胃黏膜CD44V6蛋白表达较正常组相比有明显升高(P<0.01), MLH1、MSH2蛋白表达较正常组相比均有所下降(P<0.01). 说明大鼠在胃癌前病变阶段存在CD44V6的表达上调及MLH1、MSH2的表达下调, 这可能是MNNG等诱发大鼠胃癌前病变的重要原因之一.

中医无PLGC病名, 根据其临床表现, 可把本病列入“胃脘痛”、“痞满”、“嘈杂”等范畴. 禀赋不足, 后天失调, 或饥饱失常, 劳倦过度, 久病正虚等, 均能引起脾气虚弱, 运化失职, 失于和降, 中土不荣, 导致PLGC发生. 《脾胃论》谓: “脾胃不足, 皆为血病. 气虚不足以推血, 则血必有瘀.”江苏省中医院叶柏教授认为本病的病机主要是脾胃虚弱、气阴不足、胃络瘀阻, 治疗本病关键在于健运脾胃、益气养阴、疏肝理气、活血化瘀. 健脾活血方便由此法而立. 该方用药轻灵, 益气不伤阴, 化瘀不伤正, 行而不峻, 化而兼养. 本研究显示健脾活血方各组能不同程度地降低CD44V6的表达, 提高MLH1、MSH2的表达, 以高剂量为优. 提示健脾活血方可能通过降低CD44V6的表达, 提高MLH1、MSH2的表达, 增强细胞的黏附能力, 减少细胞的非正常侵袭和转移, 同时增强基因的错配修复功能, 减少基因的突变, 抑制细胞的异常增殖和分化, 诱导病态细胞尽早凋亡, 达到治疗或逆转PLGC的作用.

4　参考文献

1 Gutierrez-Gonzalez L, Graham TA, Rodriguez-Justo M, Leedham SJ, Novelli MR, Gay LJ, Ventayol-Garcia T, Green A, Mitchell I, Stoker DL, Preston SL, Bamba S, Yamada E, Kishi Y, Harrison R, Jankowski JA, Wright NA, McDonald SA. The clonal origins of dysplasia from intestinal metaplasia in the human stomach. *Gastroenterology* 2011; 140: 1251-1260. e1-e6 [PMID: 21223968 DOI: 10.1053/j.gastro.2010.12.051]

2 何雪云, 何晓燕. 胃癌中CD44v6和PTEN表达及意义. 肿瘤学杂志 2010; 16: 767-769

3 张占学, 宋伟庆, 韩彩丽, 闫庆辉, 周保军, 张国建. 胃癌中hMLH1、hMSH2和增殖细胞核抗原表达的研究. 河北医科大学学报 2005; 26: 206-208

4 张伟. 组织芯片检测胃癌及癌前病变中错配修复基

因MSH2的表达及意义. 临床消化病杂志 2013; 25: 198-200
5 姚永华, 李崇敏, 初喆, 刘国辉. 胃癌组织错配修复基因hMLH1的表达. 江苏医药 2012; 38: 99-100
6 Zahary MN, Kaur G, Abu Hassan MR, Singh H, Naik VR, Ankathil R. Germline mutation analysis of MLH1 and MSH2 in Malaysian Lynch syndrome patients. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 814-820 [PMID: 22371642 DOI: 10.3748/wjg.v18.i8.814]
7 Kaur G, Masoud A, Raihan N, Radzi M, Khamizar W, Kam LS. Mismatch repair genes expression defects & amp; association with clinicopathological characteristics in colorectal carcinoma. *Indian J Med Res* 2011; 134: 186-192 [PMID: 21911971]
8 朱萱萱, 沈洪, 张忠华, 邱邵娟, 郑凯. 益气和胃胶囊对MNNG致胃癌前病变大鼠的实验研究. 中医药学刊 2005; 23: 2194-2195
9 谢晶日, 王业莉, 张扬, 李贺薇. 复合造模法建立大鼠胃癌前病变模型的实验研究. 新中医 2013; 45: 139-141
10 王守练, 姜波健. 胃癌细胞表面标志CD44表达生物学意义的研究进展. 中华肿瘤防治杂志 2012; 19: 1911-1914
11 王军, 张勇, 任芳, 张凤春. 干细胞标志物CD44与胃癌临床病理特征的相关性研究. 现代肿瘤医学 2013; 21: 585-588
12 Ling XL, Fang DC, Wang RQ, Yang SM, Fang L. Mitochondrial microsatellite instability in gastric cancer and its precancerous lesions. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 800-803 [PMID: 15040020]
13 Stoffel E, Mukherjee B, Raymond VM, Tayob N, Kastrinos F, Sparr J, Wang F, Bandipalliam P, Syngal S, Gruber SB. Calculation of risk of colorectal and endometrial cancer among patients with Lynch syndrome. *Gastroenterology* 2009; 137: 1621-1627 [PMID: 19622357 DOI: 10.1053/j.gastro.2009.07.039]
14 Corso G, Velho S, Paredes J, Pedrazzani C, Martins D, Milanezi F, Pascale V, Vindigni C, Pinheiro H, Leite M, Marrelli D, Sousa S, Carneiro F, Oliveira C, Roviello F, Seruca R. Oncogenic mutations in gastric cancer with microsatellite instability. *Eur J Cancer* 2011; 47: 443-451 [PMID: 20937558 DOI: 10.1016/j.ejca.2010.09.008]
15 Goecke T, Schulmann K, Engel C, Holinski-Feder E, Pagenstecher C, Schackert HK, Kloor M, Kunstmann E, Vogelsang H, Keller G, Dietmaier W, Mangold E, Friedrichs N, Propping P, Krüger S, Gebert J, Schmiegel W, Rueschoff J, Loeffler M, Moeslein G. Genotype-phenotype comparison of German MLH1 and MSH2 mutation carriers clinically affected with Lynch syndrome: a report by the German HNPCC Consortium. *J Clin Oncol* 2006; 24: 4285-4292 [PMID: 16908935 DOI: 10.1200/JCO.2005.03.7333]
16 李建华, 吕申, 石先哲, 刘敏, 王彦. hMLH1和hMSH2基因在胃癌易感人群中的突变. 世界华人消化杂志 2010; 18: 1121-1126
17 Bronner CE, Baker SM, Morrison PT, Warren G, Smith LG, Lescoe MK, Kane M, Earabino C, Lipford J, Lindblom A. Mutation in the DNA mismatch repair gene homologue hMLH1 is associated with hereditary non-polyposis colon cancer. *Nature* 1994; 368: 258-261 [PMID: 8145827 DOI: 10.1038/368258a0]
18 于静, 赵峰, 梁丽萍, 石雪迎. hMLH-1和hMSH-2蛋白在新疆汉族散发性大肠癌中的表达及意义. 世界华人消化杂志 2012; 20: 3218-3224
19 Yao Y, Tao H, Kim JJ, Burkhead B, Carloni E, Gasbarrini A, Sepulveda AR. Alterations of DNA mismatch repair proteins and microsatellite instability levels in gastric cancer cell lines. *Lab Invest* 2004; 84: 915-922 [PMID: 15133479 DOI: 10.1038/labinvest.3700117]
20 郭成, 车向明, 刘青光. hMSH2, hMLH1的表达与胃癌临床病理与预后的关系. 广东医学 2008; 29: 82-84
21 Takeda Y, Yashima K, Hayashi A, Sasaki S, Kawaguchi K, Harada K, Murawaki Y, Ito H. Expression of AID, P53, and Mlh1 proteins in endoscopically resected differentiated-type early gastric cancer. *World J Gastrointest Oncol* 2012; 4: 131-137 [PMID: 22737274 DOI: 10.4251/wjgo.v4.i6.131]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年4月8日; 22(10): 1391-1395
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

研究快报 RAPID COMMUNICATION

曲古菌素A作用胃癌细胞SGC-7901后GDF-15的表达及其在胃腺癌组织中的表达

李云龙, 崔 武, 李晓林, 王 浩, 田 瑜, 曹志刚, 佟柏峰, 邹小明

李云龙, 崔武, 李晓林, 王浩, 田瑜, 曹志刚, 佟柏峰, 邹小明, 哈尔滨医科大学附属二院普外科 黑龙江省哈尔滨市 150080
李云龙, 副教授, 主要从事胃癌的基础与临床研究.
教育部高等学校博士学科点专项科研基金联合资助项目, No. 20102307120014
哈尔滨市科技创新人才研究专项基金资助项目, No. 2009RFQX016
作者贡献分布: 此课题李云龙与邹小明设计; 研究过程由崔武、李晓林、王浩及田瑜操作完成; 研究新试剂及分析工具由李云龙提供; 数据分析由曹志刚与佟柏峰完成; 本论文写作由李云龙与崔武完成.
通讯作者: 李云龙, 副教授, 150080, 黑龙江省哈尔滨市南岗区学府路246号, 哈尔滨医科大学附属二院普外科.
hydeyll.student@sina.com
电话: 0451-86605726
收稿日期: 2014-01-22 修回日期: 2014-02-24
接受日期: 2014-03-08 在线出版日期: 2014-04-08

Expression of GDF-15 in trichostatin A-treated gastric cancer SGC-7901 cells and in gastric adenocarcinoma tissues

Yun-Long Li, Wu Cui, Xiao-Lin Li, Hao Wang, Yu Tian, Zhi-Gang Cao, Bai-Feng Tong, Xiao-Ming Zou

Yun-Long Li, Wu Cui, Xiao-Lin Li, Hao Wang, Yu Tian, Zhi-Gang Cao, Bai-Feng Tong, Xiao-Ming Zou, Department of General Surgery, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150080, Heilongjiang Province, China
Supported by: Specialized Research Fund for the Doctoral Program of Higher Education of Ministry of Education, No. 20102307120014; Harbin Technological Innovation Talent Research Special Fund, No. 2009RFQX016
Correspondence to: Yun-Long Li, Associate Professor, Department of General Surgery, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, 246 Xuefu Road, Nangang District, Harbin 150080, Heilongjiang Province, China. hydeyll.student@sina.com
Received: 2014-01-22 Revised: 2014-02-24
Accepted: 2014-03-08 Published online: 2014-04-08

Abstract

AIM: To examine the expression of growth differentiation factor-15 (GDF-15) in gastric cancer SGC-7901 cells treated with TSA and in gastric carcinoma tissues.

METHODS: *GDF-15* gene expression in gastric cancer cell line SGC-7901 after TSA treatment was detected by real-time PCR, and GDF-15 protein expression in gastric cancer and tumor-adjacent normal tissues was detected by immunohistochemistry.

RESULTS: *GDF-15* gene expression was significantly down-regulated in gastric cancer cell line SGC-7901 treated with 75 ng/mL TSA for 48 h ($P < 0.05$). Immunohistochemistry analysis demonstrated that GDF-15 protein expression in gastric adenocarcinoma was significantly higher than that in tumor-adjacent gastric tissue ($P < 0.05$).

CONCLUSION: Down-regulation of *GDF-15* gene expression may play a role in TSA-induced apoptosis of SGC-7901 cells. GDF-15 protein expression is increased in gastric carcinoma.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Growth differentiation factor-15; Gastric cancer; Trichostatin A; SGC-7901

Li YL, Cui W, Li XL, Wang H, Tian Y, Cao ZG, Tong BF, Zou XM. Expression of GDF-15 in trichostatin A-treated gastric cancer SGC-7901 cells and in gastric adenocarcinoma tissues. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(10): 1391-1395
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1391.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i10.1391

摘要

目的: 研究生长分化因子-15(growth differentiation factor-15, *GDF-15*)基因在曲古菌素A(trichostatin A, TSA)作用胃癌细胞系SGC-7901后及胃腺癌组织中的表达.

方法: 采用Real-time PCR检测胃癌细胞系SGC-7901经过TSA干预后*GDF-15*基因表达的变化, 免疫组织化学检测*GDF-15*基因在胃癌及癌旁正常组织中的表达.

结果: *GDF-15*基因在胃癌细胞系SGC-7901经75 ng/mL TSA作用48 h后, 表达下调, 差异具

■背景资料
中国胃癌患者的病死率居于各种恶性肿瘤之首, 相关研究尤为重要. 生长分化因子-15(growth differentiation factor-15, GDF-15)是转化生长因子-β(transforming growth factor-β, TGF-β)超家族成员之一, 可导致肿瘤的发生, 也可抑制肿瘤的发生. 研究胃癌与GDF-15的关系, 有利于提高对胃癌机制的认识.

■同行评议者
高泽立, 副教授, 上海交大医学院九院周浦分院

■研发前沿
曲古菌素A可促进胃癌细胞的凋亡，也可导致胃癌细胞基因表达的变化，关于曲古菌素A作用后胃癌细胞*GDF-15*基因表达的研究国内外未见报道，GDF-15与胃癌关系的研究也是热点之一.

有显著性(P<0.05)，免疫组织化学显示胃腺癌组织中*GDF-15*基因表达明显高于周围正常胃组织(P<0.05).

结论：*GDF-15*基因表达下降可能在TSA促胃癌细胞系SGC-7901凋亡中发挥作用. *GDF-15*基因在胃腺癌组织中表达增高.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词：生长分化因子-15；胃癌；曲古菌素A；SGC-7901

核心提示：生长分化因子-15(growth differentiation factor-15, GDF-15)在肿瘤进程中发挥双向作用. 早期GDF-15抑制肿瘤生长和诱导凋亡；晚期促进细胞增殖、迁移、侵袭和转移. GDF-15在进展期胃癌中表达增高，故*GDF-15*基因表达下降可能在曲古菌素A(trichostatin A)促胃癌细胞系SGC-7901凋亡中发挥作用.

李云龙，崔武，李晓林，王浩，田瑜，曹志刚，佟柏峰，邹小明. 曲古菌素A作用胃癌细胞SGC-7901后GDF-15的表达及其在胃腺癌组织中的表达. 世界华人消化杂志 2014; 22(10): 1391-1395
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1391.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i10.1391

0 引言

生长分化因子-15(growth differentiation factor-15, GDF-15)又称前列腺衍生因子(prostate-derived factor, PDF)、非甾体抗炎药激活基因-l(non-steroidal anti-inflammatory drug-activated gene 1, *NAG-1*)、巨噬细胞抑制因子-1(macrophageinhibitory cytokine-1, MIC-1)，在不同的细胞类型、疾病阶段和肿瘤微环境中发挥抑制和促进癌症进程的双重作用[1-7]. 癌症早期阶段，GDF-15发挥抑制作用，抑制肿瘤生长和诱导凋亡；但在晚期，GDF-15则促进细胞增殖、迁移、侵袭和远处转移. Lee等[8]的研究显示胃癌细胞系中GDF-15过表达可增加细胞的侵袭能力. 我们在研究中发现一定剂量曲古菌素A(trichostatin A, TSA)作用胃癌细胞系SGC-7901后可导致SGC-7901细胞凋亡[9]，进一步分析显示TSA作用胃癌细胞系SGC-7901后能诱导SGC-7901细胞部分基因表达的改变. 为此，我们应用Real-time PCR检测TSA作用胃癌细胞系SGC-7901后*GDF-15*基因的表达，并对进展期胃癌组织中GDF-15的表达进行检测，以初步分析*GDF-15*基因在胃癌疾病进程中的作用.

1 材料和方法

1.1 材料 胃癌细胞系SGC-7901由黑龙江省肿瘤防治研究所惠赠. TSA(分子式$C_{17}H_{22}N_2O_3$，相对分子质量302.4，纯度98%，Sigma公司)，RPMI 1640培养基(Gibco公司)，胎牛血清(四季青公司)，TRIzol(Invitrogen公司)，ExScript™ RT-PCR试剂盒、Premix Ex Taq™试剂盒(TaKaRa公司)，Mx4000荧光定量PCR仪(Stratagene公司)，兔抗人GDF-15多克隆抗体(Abcam公司)，SP试剂盒及AEC显色剂(福州迈新生物技术有限公司)等.

1.2 方法

1.2.1 细胞培养：SGC-7901细胞接种于含10%胎牛血清的RPMI 1640培养液中，常规细胞培养，取对数生长期细胞进行实验. 实验分2组：对照组给予全RPMI 1640培养液，实验组给予含TSA(终浓度75 ng/mL)[9]的RPMI 1640全培养液，于37 ℃、5%CO_2培养箱中继续培养48 h后实验.

1.2.2 *GDF-15*基因Real-time PCR检测：(1)细胞总RNA的提取：根据Invitrogen公司的TRIzol操作说明书进行. 紫外分析测定所抽提RNA的浓度；(2)逆转录获得cDNA：根据TaKaRa公司的ExScript™ RT-PCR试剂盒操作说明书进行. 得到的产物置于-80 ℃保存备用；(3)Real-time PCR检测：引物设计及Real-time PCR检测委托上海吉凯基因化学有限公司进行. 引物序列如下：GDF-15正向：5'-GTTGCGGAAACGCTACGA-3'；GDF-15反向：5'-AACAGAGCCCGGTGAAGG-3'. GAPDH正向：5'-TGACTTCAACAGCGACACCCA-3'；GAPDH反向：5'-CACCCTGTTGCTGTAGCCAAA-3'. 产物片段分别为210、121 bp. PCR反应条件：设定程序为两步法Real-time. PCR预变性95 ℃ 15 s；之后每一步变性95 ℃ 5 s；退火延伸60 ℃ 30 s；共进行45个循环. 每次在延伸阶段读取吸光值，收集数据进行Real-time分析. 制作熔解曲线：PCR结束后，95 ℃变性1 min，然后冷却至55 ℃，使DNA双链充分结合. 从55 ℃开始到95 ℃，每一步增加0.5 ℃，保持4 s，同时读取吸光值.

1.2.3 免疫组织化学：40例进展期胃腺癌与40例其癌旁5 cm正常胃组织标本为2012-2013年我科手术切除标本，按SP免疫组织化学染色步骤进行操作，用已知表达抗体的组织作阳性对照，PBS缓冲液代替一抗作为阴性对照，具体步骤按说明书进行. GDF-15阳性染色主要定位于细胞质中，光镜下双盲法计数阳性细胞. 阳性细胞为

表 1 *GDF-15*基因定量结果

样本	GAPDH Ct值	GDF-15 Ct值	ΔCt	-ΔΔCt	$2^{-\Delta\Delta Ct}$
对照组	14.68	22.78	8.10	0.075	1.053
对照组	14.69	22.94	8.25	−0.075	0.949
实验组	14.50	23.93	9.43	−1.255	0.419
实验组	14.56	24.21	9.65	−1.475	0.360

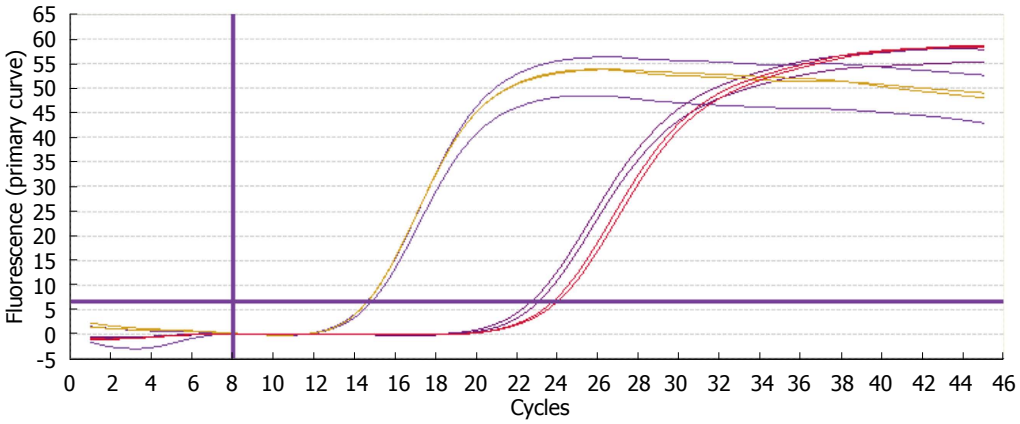


图 1 *GDF-15*基因PCR扩增曲线.

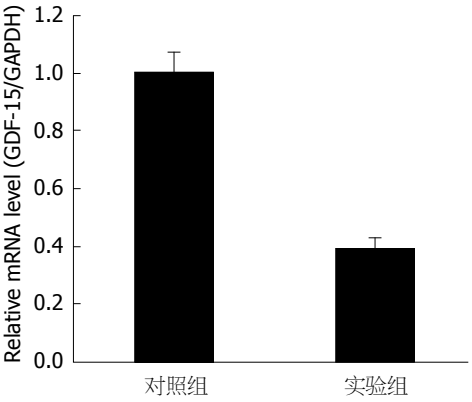


图 2 *GDF-15*基因结果统计图.

胞浆出现棕黄色颗粒. 于上、下、左、右、中各随机选择至少5个高倍视野(×400), 计数不少于1000个细胞, 并统计阳性细胞数[10].

统计学处理 Real-time PCR数值分析采用$2^{-\Delta\Delta Ct}$分析法, 仪器软件Stratagene公司自动分析给出表达比值(expression ratio = $2^{-\Delta\Delta Ct}$), 使用SPSS13.0统计分析软件进行ANVOVA方差分析, $P<0.05$为差异有统计学意义. 免疫组织化学数据处理采用SPSS13.0统计分析软件, 应用χ^2检验对GDF-15在胃腺癌、正常胃组织中的表达结果进行分析, $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 *GDF-15*基因Real-time PCR 一定剂量TSA作用SGC-7901细胞48 h后*GDF-15*基因表达下降, 对照组$2^{-\Delta\Delta Ct}$均值为1.001, 标准偏差为0.07355248, 实验组$2^{-\Delta\Delta Ct}$均值为0.389, 标准偏差为0.04190327, P值为0.01947725, $P<0.05$, 二者表达差异具有显著性(表1, 图1-3).

2.2 *GDF-15*基因在胃腺癌及癌旁正常组织中的表达 *GDF-15*基因在胃腺癌组织中表达增强, 癌旁正常组织中表达较弱(图4), 40例胃腺癌标本, 阳性表达31例, 阳性表达率为77.5%, 40例癌旁正常组织阳性表达10例, 阳性表达率为25%, 二者表达差异具有显著性意义($P = 0.002$, $P<0.05$).

3 讨论

GDF-15是Baek等[11]于1997发现的转化生长因子-β(transforming growth factor-β, TGF-β)超家族的成员, GDF-15在不同肿瘤中表达不一致. Liu等[12]的研究表明GDF-15能在体外减少肿瘤细胞间的黏附, 在细胞癌变的不同阶段上调, 这与贺飞等[13]与曹征等[14]的研究相似, 提示GDF-15在细胞癌变过程中起到重要作用. 然而, 在化生的支气管鳞状上皮癌或者肺癌中GDF-15蛋白则不表达, 而在正常的气管支气管上皮中表达[15]; 也有

■相关报道
GDF-15在多种肿瘤中发挥作用, 在黑素瘤, 结肠癌, 胰腺癌, 前列腺癌, 乳腺癌, 头颈鳞癌中均可见表达水平增高的报道. 但在胃癌研究中GDF-15研究较少, 目前将胃癌细胞系SGC-7901与临床胃癌病例结合研究GDF-15未见报道.

■创新盘点

本文首次采用Real-time方法检测了曲古菌素A作用胃癌细胞系SGC-7901后*GDF-15*基因的表达情况, 并与临床进展期胃腺癌患者中GDF-15表达研究相结合, 创新意识强.

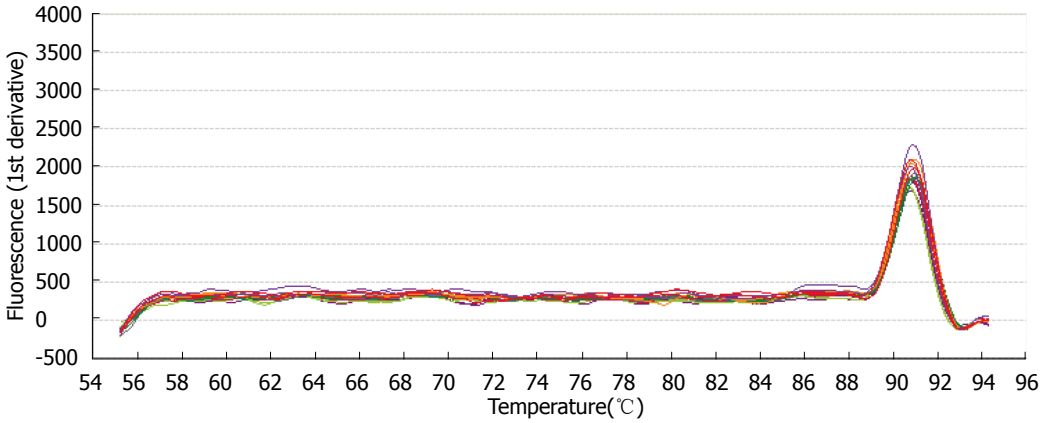


图 3 *GDF-15*基因扩增产物熔解曲线.

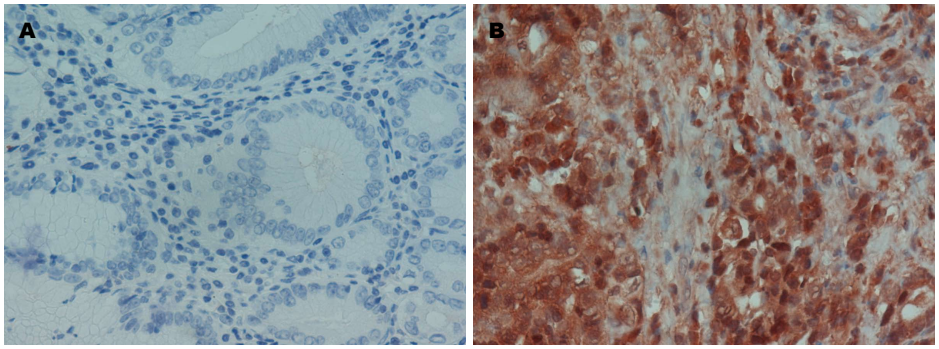


图 4 GDF-15表达(×400). A: 阴性; B: 阳性.

研究表明在肿瘤中GDF-15可以促进细胞凋亡, 抑制细胞生长, 说明他在某些情况下具有抑制肿瘤的作用[16]. GDF-15在各种肿瘤中表达与相应正常组织相比, 是升高还是降低, 目前各家研究意见不一, 至今没有得到很好的解释.

已有研究表明, 一定浓度TSA作用SGC-7901细胞后, 可诱导SGC-7901细胞凋亡[9], 为了研究*GDF-15*基因是否在一定浓度TSA作用SGC-7901细胞后表达发生变化, 我们采用Real-time PCR方法检测了TSA作用SGC-7901细胞前后GDF-15因子表达, 实验发现, 胃腺癌细胞系SGC-7901经一定剂量TSA作用后, GDF-15因子表达明显下调, 这提示*GDF-15*基因的变化在SGC-7901细胞凋亡的过程中可能发挥一定作用. TSA作用SGC-7901后, 可能通过抑制GDF-15因子的表达, 在一定程度上抑制了GDF-15因子的促癌作用, 使SGC-7901细胞发生凋亡. 随后我们研究了GDF-15因子在临床病例中的表达, 选取我科手术治疗的40例进展期胃腺癌病例标本进行了GDF-15因子的免疫组织化学检测, 结果表明*GDF-15*基因在胃腺癌组织中的表达明显高于癌旁正常胃组织, 这进一步提示我们*GDF-15*基因在胃腺癌的发生发展中可能发挥作用. 一般认为GDF-15的促癌作用可能与以下3个机制相关: (1)抑制连环蛋白*catenin δ1*基因的表达[12]; (2)通过ERK1/2通路上调UPA系统增强癌细胞的侵袭性[8,17]; (3)诱导ErbB2受体酪氨酸激酶在人体癌细胞中过度表达[5]. *GDF-15*基因是否通过以上三个途径的功能受到抑制, 发挥诱导SGC-7901细胞凋亡还值得进一步研究.

实验表明, *GDF-15*基因在进展期胃癌组织中表达增强, 在胃癌细胞SGC-7901经一定浓度TSA作用后表达受到抑制, 可能促进了SGC-7901细胞凋亡, 但其具体机制还未明确, 仍待研究, 以进一步揭示胃癌的发生发展.

4 参考文献

1 Zhang L, Yang X, Pan HY, Zhou XJ, Li J, Chen WT, Zhong LP, Zhang ZY. Expression of growth differentiation factor 15 is positively correlated with histopathological malignant grade and in vitro cell proliferation in oral squamous cell carcinoma. *Oral Oncol* 2009; 45: 627-632 [PMID: 18805046 DOI: 10.1016/j.oraloncology.2008.07.017]

2 Baek SJ, Kim KS, Nixon JB, Wilson LC, Eling TE. Cyclooxygenase inhibitors regulate the expression of a TGF-beta superfamily member that has pro-

apoptotic and antitumorigenic activities. *Mol Pharmacol* 2001; 59: 901-908 [PMID: 11259636]
3 Albertoni M, Shaw PH, Nozaki M, Godard S, Tenan M, Hamou MF, Fairlie DW, Breit SN, Paralkar VM, de Tribolet N, Van Meir EG, Hegi ME. Anoxia induces macrophage inhibitory cytokine-1 (MIC-1) in glioblastoma cells independently of p53 and HIF-1. *Oncogene* 2002; 21: 4212-4219 [PMID: 12082608]
4 Johnen H, Lin S, Kuffner T, Brown DA, Tsai VW, Bauskin AR, Wu L, Pankhurst G, Jiang L, Junankar S, Hunter M, Fairlie WD, Lee NJ, Enriquez RF, Baldock PA, Corey E, Apple FS, Murakami MM, Lin EJ, Wang C, During MJ, Sainsbury A, Herzog H, Breit SN. Tumor-induced anorexia and weight loss are mediated by the TGF-beta superfamily cytokine MIC-1. *Nat Med* 2007; 13: 1333-1340 [PMID: 17982462]
5 Kim KK, Lee JJ, Yang Y, You KH, Lee JH. Macrophage inhibitory cytokine-1 activates AKT and ERK-1/2 via the transactivation of ErbB2 in human breast and gastric cancer cells. *Carcinogenesis* 2008; 29: 704-712 [PMID: 18258606 DOI: 10.1093/carcin/bgn031]
6 Boyle GM, Pedley J, Martyn AC, Banducci KJ, Strutton GM, Brown DA, Breit SN, Parsons PG. Macrophage inhibitory cytokine-1 is overexpressed in malignant melanoma and is associated with tumorigenicity. *J Invest Dermatol* 2009; 129: 383-391 [PMID: 18754039 DOI: 10.1038/jid.2008.270]
7 Senapati S, Rachagani S, Chaudhary K, Johansson SL, Singh RK, Batra SK. Overexpression of macrophage inhibitory cytokine-1 induces metastasis of human prostate cancer cells through the FAK-RhoA signaling pathway. *Oncogene* 2010; 29: 1293-1302 [PMID: 19946339 DOI: 10.1038/onc.2009.420]
8 Lee DH, Yang Y, Lee SJ, Kim KY, Koo TH, Shin SM, Song KS, Lee YH, Kim YJ, Lee JJ, Choi I, Lee JH. Macrophage inhibitory cytokine-1 induces the invasiveness of gastric cancer cells by up-regulating the urokinase-type plasminogen activator system. *Cancer Res* 2003; 63: 4648-4655 [PMID: 12907645]
9 Zou XM, Li YL, Wang H, Cui W, Li XL, Fu SB, Jiang HC. Gastric cancer cell lines induced by trichostatin A. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 4810-4815 [PMID: 18720545]
10 甘浪舸, 蒿艳蓉, 阮林, 李祥攀. 凋亡及凋亡相关蛋白Bax在局部晚期宫颈癌同步放化疗中的表达. 中国肿瘤临床 2007; 34: 575-578
11 Baek SJ, Kim JS, Moore SM, Lee SH, Martinez J, Eling TE. Cyclooxygenase inhibitors induce the expression of the tumor suppressor gene EGR-1, which results in the up-regulation of NAG-1, an antitumorigenic protein. *Mol Pharmacol* 2005; 67: 356-364 [PMID: 15509713]
12 Liu T, Bauskin AR, Zaunders J, Brown DA, Pankhurst S, Russell PJ, Breit SN. Macrophage inhibitory cytokine 1 reduces cell adhesion and induces apoptosis in prostate cancer cells. *Cancer Res* 2003; 63: 5034-5040 [PMID: 12941831]
13 贺飞, 刘宇琼, 李惠翔. MIC-1和uPA在食管鳞癌中蛋白表达的相关性及其临床病理意义. 世界华人消化杂志 2010; 18: 2762-2767
14 曹征, 曲蕴慧, 杜英. 巨噬细胞抑制因子-1及尿激酶型纤容酶原激活剂在胃癌组织中的表达及临床病理意义. 世界华人消化杂志 2011; 19: 138-142
15 Newman D, Sakaue M, Koo JS, Kim KS, Baek SJ, Eling T, Jetten AM. Differential regulation of nonsteroidal anti-inflammatory drug-activated gene in normal human tracheobronchial epithelial and lung carcinoma cells by retinoids. *Mol Pharmacol* 2003; 63: 557-564 [PMID: 12606762]
16 Koopmann J, Buckhaults P, Brown DA, Zahurak ML, Sato N, Fukushima N, Sokoll LJ, Chan DW, Yeo CJ, Hruban RH, Breit SN, Kinzler KW, Vogelstein B, Goggins M. Serum macrophage inhibitory cytokine 1 as a marker of pancreatic and other periampullary cancers. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 2386-2392 [PMID: 15073115]
17 Brown DA, Bauskin AR, Fairlie WD, Smith MD, Liu T, Xu N, Breit SN. Antibody-based approach to high-volume genotyping for MIC-1 polymorphism. *Biotechniques* 2002; 33: 118-120, 122, 124 passim [PMID: 12139236]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

■同行评价

本文选题紧扣当前消化系肿瘤防治研究热点, 实验设计合理, 实验数据结果可靠, 统计方法得当. 参考文献较新, 值得广大临床及基础研究者阅读.

世界华人消化杂志 2014年4月8日; 22(10): 1396-1401
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

研究快报 RAPID COMMUNICATION

参杖颗粒含药血清对HSC增殖及α–SMA表达的抑制效应

段妍君, 殷妮娜, 高清华, 万 莹, 马维平, 张昌文, 吕文亮

■背景资料
肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)是肝纤维化时细胞外基质合成的主要细胞, HSC持续激活是肝纤维化发生发展过程中的关键环节. 研究报道, 活血化瘀类中药复方具有较好的抗肝纤维化作用, 机制与抑制HSC的活化增殖有关.

段妍君, 殷妮娜, 高清华, 湖北中医药大学基础医学院 湖北省武汉市 430065
万莹, 武汉市第一医院 湖北省武汉市 430022
马维平, 张昌文, 吕文亮, 湖北中医药高等专科学校中医药系 湖北省荆州市 434020
段妍君, 副教授, 主要从事中医临床基础的相关研究.
湖北省卫生厅中西医结合重点基金资助项目, No. 2010Z-Y07
作者贡献分布: 本课题由吕文亮、马维平及段妍君共同设计; 研究过程由段妍君、殷妮娜及高清华完成; 数据分析由张昌文与万莹完成; 论文撰写由段妍君与殷妮娜完成.
通讯作者: 吕文亮, 教授, 湖北中医药大学博士生导师, 434020, 湖北省荆州市荆州区学苑路87号, 湖北中医药高等专科学校中医药系. lvwenliang66@126.com
电话: 0716-8023501
收稿日期: 2014-01-18 修回日期: 2014-02-25
接受日期: 2014-03-12 在线出版日期: 2014-04-08

Shenzhang granules inhibit cell proliferation and reduce α-SMA expression in hepatic stellate cells

Yan-Jun Duan, Ni-Na Yin, Qing-Hua Gao, Ying Wan, Wei-Ping Ma, Chang-Wen Zhang, Wen-Liang Lv

Yan-Jun Duan, Ni-Na Yin, Qing-Hua Gao, College of Basic Medical Sciences, Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430065, Hubei Province, China
Ying Wan, Wuhan No.1 Hospital, Wuhan 430022, Hubei Province, China
Wei-Ping Ma, Chang-Wen Zhang, Wen-Liang Lv, Department of Traditional Chinese Medicine, Hubei College of Chinese Medicine, Jingzhou 434020, Hubei Province, China
Supported by: the 2010 Project of Combining Traditional Chinese and Western Medicine, Health Department of Hubei Province, No. 2010Z-Y07
Correspondence to: Wen-Liang Lv, Professor, Department of Traditional Chinese Medicine, Hubei College of Chinese Medicine, 87 Xueyuan Road, Jingzhou District, Jingzhou 434020, Hubei Province, China. lvwenliang66@126.com
Received: 2014-01-18 Revised: 2014-02-25
Accepted: 2014-03-12 Published online: 2014-04-08

Abstract

AIM: To assess the effects of different concentrations of Shenzhang granules on cell proliferation and the expression of alpha smooth muscle actin (α-SMA) in hepatic stellate cells (HSCs).

METHODS: After HSCs were cultured with different concentrations of serum containing Shenzhang granules, α-SMA mRNA and protein expression was detected by RT-PCR and Western blot, respectively, cell cycle progression was assessed using flow cytometry, and cell migration was assessed using cell scratch assay.

RESULTS: After treatment with serum containing Shenzhang granules, the expression of α-SMA mRNA and protein was significantly reduced, cell cycle was arrested in G_2 phase, and cell proliferation and migration were inhibited.

CONCLUSION: Treatment with Shenzhang granules can reduce α-SMA expression and inhibit cell proliferation in HSCs.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Hepatic stellate cells; α-smooth muscle-actin; Shenzhang granules; Proliferation; Migration

Duan YJ, Yin NN, Gao QH, Wan Y, Ma WP, Zhang CW, Lv WL. Shenzhang granules inhibit cell proliferation and reduce α-SMA expression in hepatic stellate cells. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(10): 1396-1401 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1396.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i10.1396

摘要

目的: 研究参杖颗粒对α-平滑肌肌动蛋白(alpha smooth muscle actin, α-SMA)表达的影响, 探讨该方影响肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)迁移和增殖的调节机制.

方法: 将HSC分别培养于不同浓度的参杖颗粒含药血清中, 采用Western blot测定α-SMA的表达量; RT-PCR检测α-SMA mRNA表达量; 流式细胞仪检测不同浓度的含药血清对HSC周期的影响; 细胞划痕实验检测不同浓度的含药血清对HSC迁移的影响.

结果: Western blot实验结果显示10倍浓度的参杖颗粒含药血清对HSC的α-SMA的表达有明显减少; 同时RT-PCR结果显示α-SMA的mRNA水平在10倍浓度血清处理的HSC中最低; 细胞周期检测结果显示细胞明显被阻滞

■同行评议者
赵铁建, 教授, 广西中医药大学基础医学院人体机能学系

于G_2期, 以10倍浓度组抑制增殖效果最明显; 划痕实验显示10倍浓度血清处理的HSC迁移能力明显被抑制.

结论: 参杖颗粒对HSC的α-SMA的表达有明显抑制作用, 并明显阻止HSC的迁移和增殖.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 肝星状细胞; α-平滑肌肌动蛋白; 参杖颗粒; 增殖; 迁移

核心提示: 参杖颗粒含药血清中剂量组对肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)活化具有最好的抑制效应, 对HSC增殖、迁移及α-平滑肌肌动蛋白(alpha smooth muscle actin)表达的抑制是其抗纤维化作用的作用机制之一.

段妍君, 殷妮娜, 高清华, 万莹, 马维平, 张昌文, 吕文亮. 参杖颗粒含药血清对HSC增殖及α-SMA表达的抑制效应. 世界华人消化杂志 2014; 22(10): 1396-1401 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1396.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i10.1396

0 引言

肝纤维化是肝脏细胞外基质(extracellular matrix, ECM)异常生成和积累的结果[1]. 当肝脏受到各种损伤时, 肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)被活化并向肌纤维母细胞转化, 主要表现为细胞增殖、游动、收缩能力增强及细胞因子和ECM的大量合成, 并导致肝窦毛细血管化, HSC的活化增殖和收缩功能在此过程中起中心作用[2,3]. 当HSC转化为肌成纤维细胞时, 能特征性地表达α-平滑肌肌动蛋白(alpha smooth muscle actin, α-SMA), 使得肝脏内α-SMA含量增加[4]. 中药复方抗肝纤维化实验研究表明: 中药复方能抑制和减少HSC中α-SMA的表达, 从而抑制HSC的激活和肝纤维化[5]. 因此α-SMA的变化被看成HSC活化与否的标志, 成为肝纤维化的一个重要的评价指标[6].

1 材料和方法

1.1 材料 250-350 g ♂Wistar大鼠, 购自湖北中医药大学实验动物中心. 实验所用细胞及生物试剂均购自武汉科瑞生物技术有限公司, 包括: 大鼠HSC-T6, 编号: zxl006; α-SMA抗体(Santa Cruz, sc-324317); 高糖DMEM培养基(Hyclone); 胰蛋白酶(Sigma, 批号: HY27250); 胎牛血清(Gibco). 参杖颗粒由江阴天江药业有限公司生产, 处方: 丹参2 g(生产批号: 1207025)、虎杖1 g(生产批号: 1207073)、黄芪1.5 g(生产批号: 1209111)、鳖甲0.5 g(生产批号: 1206058)、苦参1 g(生产批号: 1207011).

1.2 方法

1.2.1 制备含药血清: 取体质量250-350 g的♂Wistar大鼠40只(清洁级), 分为4组(正常对照组A组、5倍浓度组B组、10倍浓度组C组、20倍浓度组D组). 正常饲养, 给药组连续7 d, 每日7:00 am定时灌胃一次(颗粒药物浓度为5.25 g/mL, 依据: 根据公式换算给予大鼠与人的等效剂量为0.525 g/100 g, 10倍浓度为5.25 g/100 g, 而大鼠灌胃剂量通常在1-2 mL/100 g), 剂量分别相当于65 kg体质量的成人每日每公斤用药量的5倍、10倍及20倍, 对照组按1 mL/100 g灌以生理盐水. 末次给药后2 h, 每只大鼠断头取血5-10 mL于无菌试管(不加抗凝剂), 室温静置2 h后, 1500 r/min离心10 min, 取上清液即为各浓度含药血清和对照血清, 微孔滤膜除菌后分装于1 mL冻存管, 标记后置于-80 ℃冰箱备用.

1.2.2 细胞培养: 将HSC-T6置于10%胎牛血清的高糖DMEM培养基中, 37 ℃, 5%CO_2条件下培养, 隔天换液, 当细胞融合度达80%时, 用0.25%胰蛋白酶消化, 以1∶3比例传代, 24 h后换液, 72 h再次传代, 所有实验用细胞均处于对数增长期.

1.2.3 细胞分组及处理: 将处于生长对数期的HSC细胞以5×10^5/mL密度接种于6孔板中, 将细胞进行相应分组及处理, 正常对照组(control): 正常培养基培养; 5倍含药血清组(5×group): 用5%胎牛血清稀释含药血清处理HSC 24 h后进行相应实验; 10倍含药血清组(10×group): 处理步骤同5倍含药血清组; 20倍含药血清组(20×group): 处理步骤同5倍含药血清组.

1.2.4 免疫荧光检测各组细胞: 各组细胞用预热的4%的多聚甲醛固定细胞30 min; 固定后, 用预热D-PBS清洗; 用0.1%Triton破膜3 min; 用预热D-PBS清洗; 10%山羊血清封闭30 min; 用预热D-PBS清洗细胞; 孵育一抗(α-SMA 1∶50), 室温2 h; 用预热D-PBS清洗细胞; 孵育二抗(anti-rabbit FITC, 1∶50), 室温1 h; 用预热D-PBS清洗细胞, 90%甘油封片; 观察摄片.

1.2.5 Western blot检测α-SMA的表达: 收集各组细胞, 加适量预冷150 mmol/L Lysis buffer(Cocktail)裂解液, 提取总蛋白. 按照30 μL体系、2×leamnli buffer制样, 按实验设计顺序加样, 电泳(95 V), 95 V转膜75 min. 取出PVDF膜, 做标记后, 用5%

■研发前沿
参杖颗粒是导师课题组治疗慢性肝病、肝纤维化的科研协定处方, 在前期研究中发现, 参杖颗粒不但能防治实验性大鼠肝纤维化, 还能改善肝脏微循环, 抑制HSC活化增殖, 促进HSC凋亡, 其具体作用机制尚待深入研究.

■相关报道
Lin等的研究认为: 大黄提取物能抑制HSC的迁移, 同时抑制转化生长因子β1、α-平滑肌肌动蛋白(alpha smooth muscle-actin, α-SMA)以及胶原的表达, 抑制效应与提取物的浓度呈浓度依耐性.

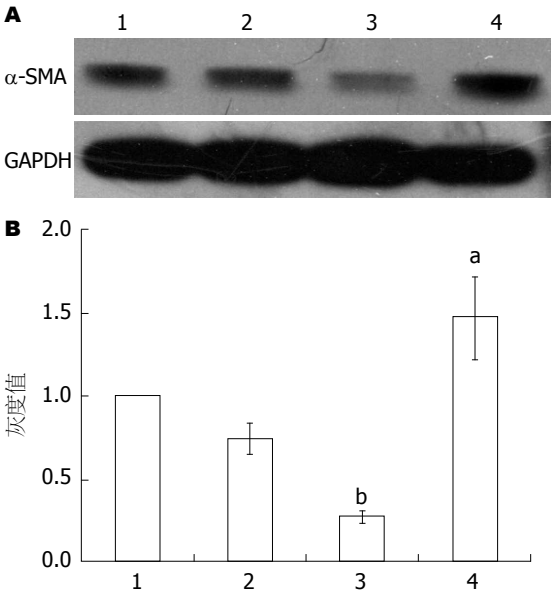


图 1 不同浓度的参杖颗粒含药血清对HSC中α-SMA的表达的影响差异. A: Western blot结果; B: 灰度值分析结果. 1: 正常对照组; 2: 5倍含药血清组; 3: 10倍含药血清组; 4: 20倍含药血清组. $^{a}P<0.05$, $^{b}P<0.01$ *vs* 1组. α-SMA: α-平滑肌肌动蛋白.

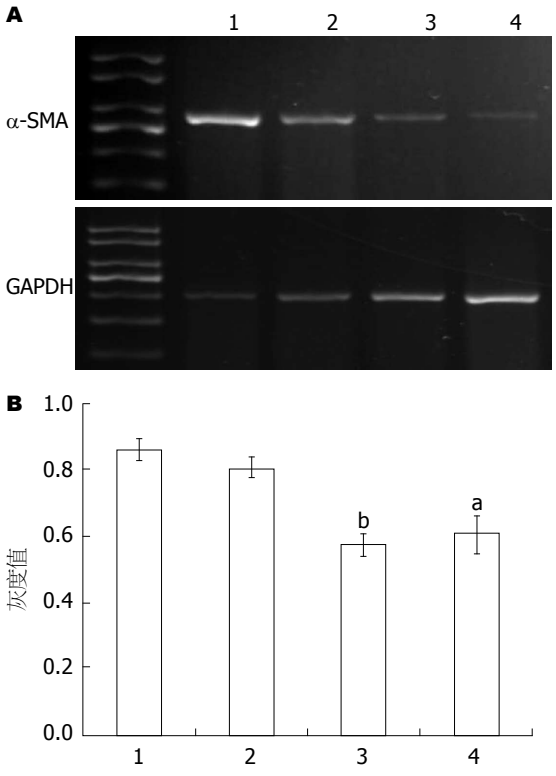


图 2 不同浓度的参杖颗粒含药血清对HSC中α-SMA mRNA表达的差异. A: RT-PCR检测结果; B: 各组α-SMA mRNA表达水平的分析结果. 1: 正常对照组; 2: 5倍含药血清组; 3: 10倍含药血清组; 4: 20倍含药血清组. $^{a}P<0.05$, $^{b}P<0.01$ *vs* 1组. α-SMA: α-平滑肌肌动蛋白.

脱脂牛奶封闭液封闭30 min. 倒掉封闭液后, 加入一抗兔抗小鼠多克隆抗体(α-SMA, 1∶1000), 摇床上4 ℃过夜, 用1×TBST洗膜, 加入用1×TBST稀释的二抗室温孵育1 h, ECL显影并用蛋白灰度值用Image J软件进行分析.

1.2.6 RT-PCR检测α-SMA mRNA的表达: 细胞培养达到80%-90%融合后, 弃去陈旧培养液, 用适量灭菌的预热PBS洗两次去除残余培养液, 按TRIzol试剂盒步骤说明进行操作提取总RNA并用核酸测仪测定总RNA含量和纯度; 取cDNA 5 μg, 利用逆转录试剂盒合成cDNA. 根据Genbank查找基因序列并设计引物, 以GAPDH为内参, α-SMA引物序列: F: 5'-TGGTATTGTGCTGGACTCTG-3'; R: 5'-CCATCAGGCAGTTCGTAG-3', 产物长度288 bp; GAPDH: F: 5'-TATCGGACGCCTGGTTAC-3', R: 5'-CTCGCTCCTGGAAGATGG-3', 产物长度203 bp. 反应条件: 95 ℃预变性, 5 min; 95 ℃变性, 30 s; 58 ℃退火, 30 s; 68 ℃延伸, 10 min; 4 ℃, 终止. PCR产物经浓度为2%的琼脂糖凝胶电泳, 用凝胶成像分析系统进行扫描拍照, 灰度值用Image J软件进行分析.

1.2.7 流式细胞术检测细胞周期: 根据细胞周期检测试剂盒说明的步骤, 同时设立阴性对照组, 并收集细胞10^{6}个; 用1 mL PBS重新悬浮细胞, 2000 r/min, 离心5 min, 小心移去上清液; 加入0.5 mL Solution Buffer轻轻悬浮细胞(自此步骤起, 操作中均不能剧烈振荡), 2000 r/min, 离心5 min, 小心移去上清液; 再加入0.5 mL Solution Buffer轻轻悬浮细胞, 2000 r/min, 离心5 min, 小心移去上清液; 加入250 μL Solution A, 轻轻悬浮细胞, 25 ℃孵育10 min; 溶液中加入200 μL Solution B, 轻轻悬浮细胞, 25 ℃孵育10 min; 最后加入200 μL Solution C, 轻轻悬浮细胞, 4 ℃避光10 min; 应用莱卡流式细胞仪检测并分析.

1.2.8 细胞划痕实验: 先用marker笔在6孔板背后, 用直尺比着, 均匀得划横线, 大约每隔0.5 cm一道, 横穿过孔, 每孔至少穿过5条线. 在孔中加入约5×10^{5}个细胞. 第2天用10 μL枪头比着直尺, 尽量垂至于背后的横线划痕, 枪头要垂直, 不能倾斜. 用预热的PBS洗细胞3次, 去处划下的细胞, 加入无血清培养基, 放入培养箱培养, 24 h后取样, 拍照.

统计学处理 实验数据以mean±SD表示, 采用SPSS13.0统计分析软件, 对组间数据进行单因素方差分析, 并进行两两比较, 若组间方差不齐则用非参数秩和检验, $P<0.05$为差异有统计学意义.

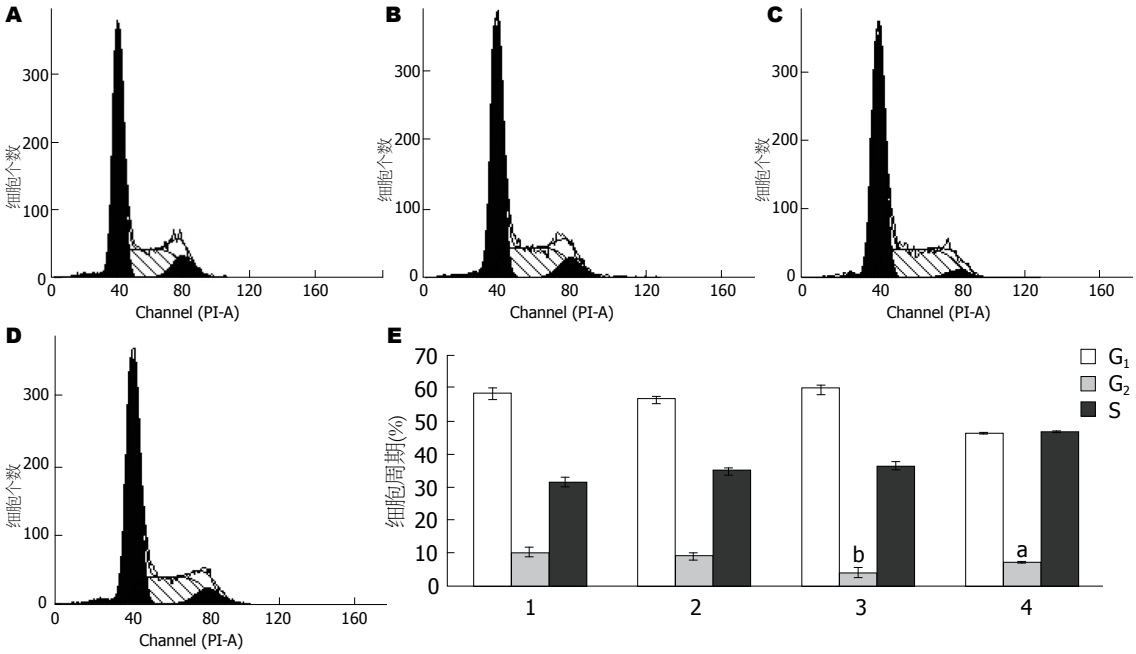


图 3 流式细胞术检测不同浓度的参杖颗粒含药血清对HSC细胞周期的影响差异. A: 正常对照组; B: 5倍含药血清组; C: 10倍含药血清组; D: 20倍含药血清组; E: 检测分析结果. $^aP<0.05$, $^bP<0.01$ *vs* 1组.

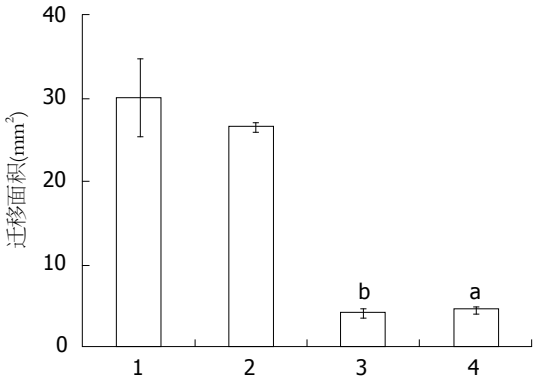


图 4 不同浓度的参杖颗粒含药血清对HSC的迁移面积的影响差异. 1: 正常对照组; 2: 5倍含药血清组; 3: 10倍含药血清组; 4: 20倍含药血清组. $^aP<0.05$, $^bP<0.01$ *vs* 1组.

2 结果

2.1 不同浓度参杖颗粒含药血清处理的HSC α-SMA的表达 如图1A所示, Western blot在43 kDa的位置上出现的阳性杂交带为α-SMA蛋白表达, 与正常对照组相比, 参杖颗粒血清处理各组对α-SMA蛋白表达均具有抑制效应; 其中20倍组具有明显差异($P<0.05$), 10倍组具有非常明显差异($P<0.01$)(图1B).

2.2 不同浓度参杖颗粒含药血清处理的HSC α-SMA mRNA的表达 如图2A所示, 各组在288 bp处出现了*α-SMA*基因的特异性条带, 203 bp处出现了内参照GAPDH的条带. 如图2B所示, 通过对电泳条带光密度扫描分析, 正常对照组有较强的*α-SMA*基因表达(86.34%±3.31%); 与正常对照组比较, 不同浓度参杖颗粒血清处理的HSC细胞中, *α-SMA*基因表达均有下调; 5倍、10倍、20倍血清处理组*α-SMA*基因表达分别为80.74%±2.76%、57.26%±3.21%、70.36%±2.32%, 其中20倍组具有明显差异($P<0.05$), 10倍组具有非常明显差异($P<0.01$).

2.3 不同浓度参杖颗粒含药血清处理的HSC周期的变化 如图3所示, 流式细胞仪检测细胞周期结果显示, 正常对照组HSC G_1期细胞比例为58.35%±1.28%, G_2期为10.16%±1.11%, S期为31.49%±1.25%; 参杖颗粒血清处理组24 h后, G_1期细胞数量增加, 而G_2期细胞显著减少, 细胞明显被阻滞于G_2期. 且以10倍组抑制效果最佳($P<0.01$); 20倍组作用次之($P<0.05$); 5倍组基本无抑制作用(图3E).

2.4 不同浓度参杖颗粒含药血清处理的HSC迁移情况 细胞划痕实验结果表明: 参杖颗粒血清处理的HSC细胞与正常对照细胞相比, 细胞的迁移面积均有减少, 其中10倍组迁移面积减少最显著($P<0.01$), 提示参杖颗粒血清处理后HSC细胞的迁移能力明显下降(图4).

3 讨论

参杖颗粒是导师课题组治疗慢性肝病、肝纤维化的科研协定处方. 依据温病“伏气学说”之

■创新盘点

参杖颗粒可以抑制HSC活化增殖的具体机制未见报道, 本实验运用参杖颗粒含药血清培养HSC, 观察HSC的增殖、迁移及α-SMA表达, 探索该方抗肝纤维化的机制.

■应用要点
探索参杖颗粒含药血清用于抑制HSC活化的适宜浓度, 探索参杖颗粒肝纤维化的机制, 为进一步研究打下基础.

“毒伏肝络”理论, 肝纤维化是“毒邪内伏肝络日久”之结果[7]. 参杖颗粒即以此而立法组方, 包括丹参、虎杖、黄芪、鳖甲、苦参, 功效健脾补肾, 清热化湿解毒、活血通络[8,9]. 黄芪的主要有效成分为皂苷、多糖、黄酮等, 而黄芪皂苷是黄芪中具有代表性的活性成分, 在临床以及实验研究中都证实有较明确的抗纤维化作用[10,11]. 丹参辛、苦、温, 具活血化淤、清热宁神作用, 其有效成分包括丹参酮、丹参素等, 现代药理研究显示丹参具有调节机体免疫功能、抗肿瘤、诱导肿瘤细胞凋亡、促进微循环、抑制微动脉收缩等作用[12]. 虎杖苦寒, 清热化湿解毒, 其有效成分为白藜芦醇、大黄素, 广泛用于抗病毒, 抗肿瘤及慢性肝病的治疗中[13]. 鳖甲辛咸, 滋阴软坚散结, 多家报道其在抑制肝纤维增生, 改善肝功能方面有治疗作用[14]. 本课题组在前期研究中发现, 参杖颗粒不但能防治实验性大鼠肝纤维化, 还能改善肝脏微循环, 抑制HSC活化增殖, 促进HSC凋亡, 抑制HSC细胞内外的胶原生成率及TGF-β1 mRNA的表达[15].

HSC在肝纤维化过程中发挥了关键性作用, 在致病因子刺激下, HSC被激活, 转化为肌纤维样细胞, 并高表达α-SMA, 继而使肝脏ECM生成增加而降解减少, 最终导致肝脏胶原沉积与纤维化[16]. 随着肝纤维化细胞分子生物学机制的进一步明确, 以HSC为靶标的治疗措施逐渐成为抗肝纤维化的重要途径, 如抑制HSC活化和增殖, 调节基质合成和降解等[17]. 因此α-SMA的表达已被认为是HSC激活的显著特征之一, 成为肝纤维化的一个重要的评价指标.

本实验结果表明, 在参杖颗粒中剂量组作用24 h后, HSC细胞中α-SMA mRNA水平明显降低($P<0.01$). 这说明该药可明显抑制HSC *α-SMA*基因和α-SMA蛋白的表达, 提示参杖颗粒抗肝纤维化的机制可能与其抑制HSC的活化有关: 一方面, 直接抑制HSC的增殖, 减少HSC细胞数量, 进而减少细胞外基质的形成; 另一方面, 通过抑制HSC的活化, 包括降低α-SMA的分泌量及表达水平、抑制活化HSC收缩迁移, 从而降低肝脏的纤维化程度. 因此, 根据以上结果, 说明α-SMA抗肝纤维化作用机制之一是从mRNA水平和蛋白水平抑制α-SMA表达, 抑制HSC增殖和迁移, 从而发挥抗肝纤维化作用.

4 参考文献

1 Diao Y, Zhao XF, Lin JS, Wang QZ, Xu RA. Protection of the liver against CCl4-induced injury by intramuscular electrotransfer of a kallistatin-encoding plasmid. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 111-117 [PMID: 21218091 DOI: 10.3748/wjg.v17.i1.111]
2 Sato M, Suzuki S, Senoo H. Hepatic stellate cells: unique characteristics in cell biology and phenotype. *Cell Struct Funct* 2003; 28: 105-112 [PMID: 12808230 DOI: 10.1247/csf.28.105]
3 Friedman SL. Hepatic stellate cells: protean, multifunctional, and enigmatic cells of the liver. *Physiol Rev* 2008; 88: 125-172 [PMID: 18195085 DOI: 10.1152/physrev.00013.2007]
4 De Minicis S, Seki E, Uchinami H, Kluwe J, Zhang Y, Brenner DA, Schwabe RF. Gene expression profiles during hepatic stellate cell activation in culture and in vivo. *Gastroenterology* 2007; 132: 1937-1946 [PMID: 17484886 DOI: 10.1053/j.gastro.2007.02.033]
5 杨鹤梅, 李素婷, 梅立新, 马春虎. 黄芩茎叶总黄酮对纤维化大鼠肝脏星形细胞活化的影响. 中国中医基础医学杂志 2006; 12: 42-44
6 Failli P, DeFRANCO RM, Caligiuri A, Gentilini A, Romanelli RG, Marra F, Batignani G, Guerra CT, Laffi G, Gentilini P, Pinzani M. Nitrovasodilators inhibit platelet-derived growth factor-induced proliferation and migration of activated human hepatic stellate cells. *Gastroenterology* 2000; 119: 479-492 [PMID: 10930383 DOI: 10.1053/gast.2000.9354]
7 陈超. 吴门医派络病学说在慢性肝病中的应用. 上海中医药杂志 2010; 44: 31-32
8 Chor SY, Hui AY, To KF, Chan KK, Go YY, Chan HL, Leung WK, Sung JJ. Anti-proliferative and pro-apoptotic effects of herbal medicine on hepatic stellate cell. *J Ethnopharmacol* 2005; 100: 180-186 [PMID: 15950418 DOI: 10.1016/j.jep.2005.02.036]
9 Luk JM, Wang X, Liu P, Wong KF, Chan KL, Tong Y, Hui CK, Lau GK, Fan ST. Traditional Chinese herbal medicines for treatment of liver fibrosis and cancer: from laboratory discovery to clinical evaluation. *Liver Int* 2007; 27: 879-890 [PMID: 17696925 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2007.01527.x]
10 Stickel F, Schuppan D. Herbal medicine in the treatment of liver diseases. *Dig Liver Dis* 2007; 39: 293-304 [PMID: 17331820 DOI: 10.1016/j.dld.2006.11.004]
11 Lin YL, Wu CF, Huang YT. Effects of rhubarb on migration of rat hepatic stellate cells. *J Gastroenterol Hepatol* 2009; 24: 453-461 [PMID: 19175832 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2008.05573.x]
12 刘兆凤, 胡金芳, 马洁, 刘静, 王晶晶, 申秀萍. 丹参滴丸对CCl4诱导的大鼠肝纤维化的影响及其作用机制. 中草药 2012; 43: 1991-1996
13 兰天, 勾红菊, 吴腾, 吴平香, 王丽京. 虎杖苷抑制肝星状细胞活化研究. 亚太传统医药 2013; 9: 39-40
14 高建蓉, 陶君, 张赤志, 刘焱文, 邵志华, 蔡卫民, 许汉林, 吴和珍, 陈进文, 胡祖良, 姚航平, 何再安, 张洪球, 邓志凤. 鳖甲防治肝纤维化实验研究. 中华中医药学刊 2008; 26: 2462-2471
15 吕文亮, 周燕萍, 刘林. 中药参杖颗粒抑制PDGF诱导的肝星状细胞MEK-1、c-fos表达. 中国中西医结合脾胃杂志 2005; 12: 347-350
16 Parekkadan B, van Poll D, Megeed Z, Kobayashi N, Tilles AW, Berthiaume F, Yarmush ML. Immunomodulation of activated hepatic stellate cells by mesenchymal stem cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2007; 363: 247-252 [PMID: 17869217 DOI: 10.1016/j.bbrc.2007.05.150]
17 Yang C, Zeisberg M, Mosterman B, Sudhakar A, Yerramalla U, Holthaus K, Xu L, Eng F, Afdhal N, Kal-

luri R. Liver fibrosis: insights into migration of hepatic stellate cells in response to extracellular matrix and growth factors. *Gastroenterology* 2003; 124: 147-159 [PMID: 12512039 DOI: 10.1053/gast.2003.50012]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

■同行评价
本文创新性较好, 对于治疗肝纤维化具有一定的临床应用价值.

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

• 消息 •

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

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

世界华人消化杂志 2014年4月8日; 22(10): 1402-1408
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

研究快报 RAPID COMMUNICATION

大鼠胆管梗阻后肝脏纤维化相关细胞因子的变化

孙 珅, 张 辰, 秦鸣放, 邹富胜, 刘大全, 李东华, 元海成

■背景资料
细胞因子在梗阻性黄疸导致肝纤维化过程中的机制是肝脏疾病实验研究的重要内容, 尤其是急性肝脏损伤后的肝细胞及其内环境的变化以及促进过阻碍这些变化过程的细胞因子的变化.

孙珅, 天津医科大学 天津市 300070
孙珅, 张辰, 秦鸣放, 邹富胜, 元海成, 天津市南开医院第三外科 天津市 300100
刘大全, 李东华, 天津市急腹症研究所 天津市 300100
孙珅, 住院医师, 主要从事中西医结合临床外科学、内镜腹腔镜治疗急腹症、减重与代谢病外科的研究.
国家自然科学基金资助项目, No. 81000156
作者贡献分布: 此课题由孙珅、张辰及邹富胜设计, 秦鸣放进行指导; 研究过程由孙珅、张辰、刘大全及元海成负责操作完成; 研究所用试剂与分析工具由李东华提供; 数据分析由孙珅与张辰完成; 本论文写作由孙珅完成.
通讯作者: 秦鸣放, 教授, 300100, 天津市南开区三纬路122号, 天津市南开医院第三外科. qins88@sina.com
收稿日期: 2012-12-04 修回日期: 2013-11-29
接受日期: 2014-01-15 在线出版日期: 2014-04-08

Changes in expression of hepatic fibrosis related cell factors in rats with bile duct obstruction

Shen Sun, Chen Zhang, Ming-Fang Qin, Fu-Sheng Zou, Da-Quan Liu, Dong-Hua Li, Hai-Cheng Yuan

Shen Sun, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China
Shen Sun, Chen Zhang, Ming-Fang Qin, Fu-Sheng Zou, Hai-Cheng Yuan, the Third Department of Surgery, Tianjin Nankai Hospital, Tianjin 300100, China
Da-Quan Liu, Dong-Hua Li, Tianjin Institute of Acute Abdomen, Tianjin 300100, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81000156
Correspondence to: Ming-Fang Qin, Professor, the Third Department of Surgery, Tianjin Nankai Hospital, 122 Sanwei Raod, Tianjin 300100, China. qins88@sina.com
Received: 2012-12-04 Revised: 2013-11-29
Accepted: 2014-01-15 Published online: 2014-04-08

Abstract

AIM: To explore the roles of cytokines related to the pathological process of biliary obstruction and hepatic fibrosis.

METHODS: Rats were divided into two groups: an experimental group and a control group. The experimental group underwent ligation of the common bile duct to induce bile duct obstruction (BDO), and the control group received laparotomy only without ligation. Rats were sacrificed after the operation. Expression of genes of interest was detected by PCR.

RESULTS: Expression of COL-Ⅰ and transforming growth factor-β (TGF-β1) changed significantly from day 1, and that of HGF showed a significant change from day 3. In the BDL group, expression of COL-Ⅰ and TGF-β1 showed no significant differences during the period from day 3 to day 7, and that of HGF showed no significant differences during the periods from day 1 to day 3 and from day 7 to day 21, while statistically significant differences were observed in other periods. These findings suggest that expression of COL-Ⅰ and TGF-β1 increased fastest from days 1 to 3, and that of HGF increased fastest from days 3 to 7.

CONCLUSION: The findings of the present study suggest that the period before day 3 is a stage of rapid fibrosis, the period between days 3 and 7 is a stage of slow fibrosis, and the period after day 7 is a stage of continuous progression of fibrosis.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Bile duct obstruction; Liver fibrosis; Transforming growth factor-β1; HGF; COL-Ⅰ

Sun S, Zhang C, Qin MF, Zou FS, Liu DQ, Li DH, Yuan HC. Changes in expression of hepatic fibrosis related cell factors in rats with bile duct obstruction. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(10): 1402-1408 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1402.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i10.1402

摘要

目的: 通过结扎大鼠胆总管, 模拟胆管梗阻病理状态, 运用PCR技术, 探讨这一病理过程相关细胞因子在胆管梗阻肝脏纤维化过程中发挥的作用.

方法: 实验组实施近肝门端胆总管单线结扎; 对照组实施假手术, 开腹游离胆总管但不结扎. 术后不同时间处死大鼠, 取肝组织通过PCR检测各目的基因表达情况.

结果: 两组间转化生长因子-β(transforming growth factor-β, TGF-β1)、COL-Ⅰ的表达差

■同行评议者
姚鹏, 副教授, 北京军区总医院全军肝病中心

异从第1天开始有统计学意义, BDL组与对照组中HGF的表达差异从第3天开始有统计学意义. 对BDL不同天数组间的表达研究发现COL-Ⅰ、TGF-β1在3-7 d无统计学意义, HGF在1-3、7-21 d无统计学意义, 而其他相邻各组间均有统计学意义, COL-Ⅰ、TGF-β1指标1-3 d增长趋势最明显, HGF指标3-7 d增长趋势最明显.

结论: 肝纤维化过程中的3-7 d是纤维化过程的特殊时期, 第3天之前以促纤维化过程为主要表现; 第3天开始出现抗纤维化表现, 促纤维化趋势减弱, 纤维化速度减慢; 第7天之后为持续的肝脏纤维化进程.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 胆管梗阻; 肝纤维化; 转化生长因子β1; 肝细胞生长因子; Ⅰ型胶原蛋白

核心提示: HGF在3-7 d出现较明显的增长, 同时在这一时期, 转化生长因子β(transforming growth factor β)、COL-Ⅰ的表达的增长趋势也受到了抑制, 增长趋势降低, 肝纤维化过程中第3天之前以促纤维化过程为主要表现; 第3天开始出现抗纤维化表现, 促纤维化趋势减弱, 纤维化速度减慢; 第7天之后为持续的肝脏纤维化进程. 在3-7 d的时间段内, 机体的抗纤维化及肝再生等保护机制开始发挥作用, 代偿性的抑制肝损伤及纤维化.

孙珅, 张辰, 秦鸣放, 邹富胜, 刘大全, 李东华, 元海成. 大鼠胆管梗阻后肝脏纤维化相关细胞因子的变化. 世界华人消化杂志 2014; 22(10): 1402-1408 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1402.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i10.1402

0 引言

在肝胆外科临床中, 胆管梗阻、胆汁淤积是常见的病理环境, 较长时间梗阻, 可诱发永久性肝损害, 甚至发展成肝纤维化及肝硬化, 是临床治疗的难题, 相关发病机制基础研究有现实意义. 有研究证明多种组织器官的纤维化进程中伴随着胚胎发育相关基因及多种细胞因子的重新激活. 其中COLⅠ为胶原蛋白组成部分; 转化生长因子-β(transforming growth factor-β, TGF-β1)为炎症相关因子, 各种原因导致的炎症中TGF-β1都参与其中[1]; HGF对肝纤维化有保护作用, 静脉给予rhHGF对于因素所致的肝纤维化或肝硬化均有良好的治疗作用, 减少肝脏中胶原的沉积[2]. 这些为研究肝脏损伤的保护、治疗及肝纤维化的形成机制提供了最新途径. 所以我们将通过实验探讨几种细胞因子在肝脏纤维化中的变化和意义.

■研发前沿
研究的热点在于梗阻后细胞因子的变化及其与纤维化过程的关系, 目前缺乏急性肝损伤后细胞因子随时间变化的规律的观察, 缺乏实验数据比较细胞因子变化规律与肝纤维化的关系.

1 材料和方法

1.1 材料 11-13周龄♂Wistar大鼠60只. 体质量250-300 g, 由中国医学科学院放射医学研究所实验动物中心(SCXK津2005-0001)提供. 标准条件下喂养, 并保持手术前至少7 d的12 h白-黑周期的环境条件. 经检疫合格, 无疾病者入选.

1.2 方法

1.2.1 实验动物分组: ♂Wistar大鼠60只. 采用随机数字表方法分成实验组和对照组. 实验组和对照组每个时间点成功造模5只. 造模不成功的实验动物剔除补做. 术后第1、2、3、7、14、21天, 6个时间点实验组和对照组各处死5只动物.

1.2.2 动物模型建立: 术前禁食15 h, 不禁水, 称量大鼠质量, 以100 mL/L的水合氯醛30 mL/g *ip*麻醉大鼠, 麻醉完全后, 将大鼠固定于手术台上, 剑突下上腹部备皮, 碘伏消毒. 实验组动物脐上腹正中切口2.0-2.5 cm入腹, 拇食指轻牵拉十二指肠, 暴露胆总管, 在肝右叶下缘与胆总管交点处(肝右叶及乳头叶胆管汇入胆总管位置最低, 保证在所有肝叶胆管汇入点下方), 分离胆总管、以6-0丝线单线结扎胆总管. 实验对照组动物只剖腹, 游离胆总管不结扎. 所有动物腹腔滴入0.2 mL左氧氟沙星注射液, 关闭腹膜及皮肤层.

1.2.3 取材: 对大鼠肝脏左叶切取 1.0 cm×0.5 cm×0.5 cm大小肝组织, 于-80 ℃低温保存.

1.2.4 内参及目的基因引物设计: Pubmed网站的基因库中, 查询大鼠种属相关基因的完整序列, 利用Premier 5.0软件设计引物.

1.2.5 RT-PCR: (1)提取总RNA: 采用吸附柱法进行总RNA提取, 按照试剂盒说明书操作, RNA提取在超净台上进行, 以防外源性RNA酶污染. 所用器材经高压灭菌, 操作过程中经常更换手套, 使用无RNase的塑料制品和枪头避免交叉污染. 提取RNA在紫外分光光度计测定$A_{260/280}$, 二者比值1.8-2.1证实RNA纯度良好, 低于1.8者重新提取RNA. 利用1%的普通琼脂糖凝胶电泳, 检测总RNA完整性; (2)逆转录反应: 在冰浴的无RNase的离心管中加入如下反应成分: 2 μL总RNA, 2 μL Oligo(dT)16, 9.5 μL RNase free ddH_2O. 70 ℃保存5 min后迅速在冰上冷却2 min, 间断离心收集反应液后加入以下组分: 4 μL 5×M-MLV

■创新盘点

本文描述了多种细胞因子随梗阻时间的变化规律, 主要阐述了急性肝损伤导致的肝脏纤维化的病理过程, 以往文章缺乏急性肝损伤观察的数据, 我们通过不同方式的对比找到细胞因子与时间的关系等.

表 1 RT-PCR扩增各基因引物序列及产物大小

名称	引物序列	扩增产物(bp)	退火温度(℃)
COL-I	F 5'-TACAGCACGCTTGTGGATG-3'	190	57
	R 5'-TTGGGATGGAGGGAGTTTA-3'		
TGF-β1	F 5'-ATGGTGGACCGCAACAAC-3'	329	55
	R 5'-TGAGCACTGAAGCGAAAGC-3'		
HGF	F 5'-TCATTGGTAAAGGAGGCA-3'	221	58
	R 5'-GTCACAGACTTCGTAGCG-3'		
β-actin	F 5'-GTAAAGACCTCTATGCCAACA-3'	227	57
	R 5'-GGACTCATCGTACTCCTGCT-3'		

表 2 BDL组和对照组基因COL-Ⅰ的表达水平 (mean ± SD, n = 5)

天数(d)	COL-Ⅰ		*t*值	*P*值
	BDL组	对照组		
1	0.3816 ± 0.0240	0.1305 ± 0.0039	15.693	<0.05
2	0.5030 ± 0.0689	0.1662 ± 0.0626	4.712	<0.05
3	0.9335 ± 0.1277	0.1628 ± 0.0414	15.448	<0.05
7	0.7592 ± 0.0116	0.1907 ± 0.0491	16.365	<0.05
14	0.9476 ± 0.0104	0.1272 ± 0.0098	77.248	<0.05
21	1.3700 ± 0.0834	0.1798 ± 0.0708	17.204	<0.05

表中数值为目的基因与内参照β-actin的灰度比值.

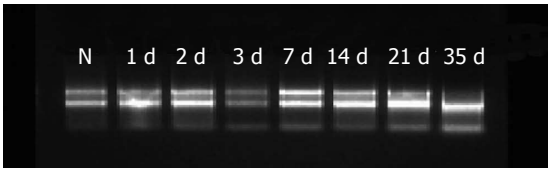


图 1 总RNA凝胶电泳.

Buffer, 1 μL dNTPs, 0.5 μL RNasin, 1 μL M-MLV. 42 ℃温浴60 min. 95 ℃加热5 min终止反应, 置冰上进行后续实验或-20 ℃保存; (3)PCR反应: 按一下各组分配制25 μL PCR反应体系: 2.5 μL 10×PCR Bffuer, 2 μL $MgCl_2$, 0.5 μL dNTPs, 1 μL上游引物, 1 μL下游引物, 1 mL RT反应产物, 0.3 μL Taq Polymerase, 16.7 μL ddH_2O. 将反应体系放入PCR仪中进行扩增反应, 反应条件: 94 ℃ 4 min; 进入扩增循环: 94 ℃ 1 min, 退火(温度如表1)1 min, 73 ℃延伸1 min, 30个循环; 最后72 ℃延伸10 min; (4)RT-PCR扩增产物相对定量分析: 取10 μL PCR产物, 加入10 μL loading buffer, 进行2%琼脂糖凝胶电泳, 紫外灯下检测特异性条带; 用紫外扫描仪扫描, 通过计算条带面积获得积分光密度值(I*A*). 以目的条带I*A*值与内参照β-actin条带I*A*值的比值来表示mRNA的相对表达强度.

1.2.6 HE染色观察梗阻后肝组织变化: 常规石蜡切片, HE染色. IDA-2000高清晰度数码显微图象分析系统采集图像.

统计学处理 光密度比值为计量资料, 符合正态分布. 以mean±SD表示. 所有数据应用SPSS17.0 for Windows软件进行统计分析, P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 总RNA纯度 经紫外分光光度计检测RNA $A_{260/280}$为1.9-2.0, 则证明提取的总RNA纯度良好.

2.2 总RNA完整性 总RNA凝胶电泳如图1所示, 最大rRNA亮度为次大rRNA亮度的2倍左右, 证明总RNA完整性良好.

2.3 内参照 内参照β-actin在各体系中扩增结果基本一致, 证实PCR反应真实地反映了目的基因的表达.

2.4 目的基因表达情况 在对照组和BDL组大鼠肝脏中均能检测出目的基因的表达. 实验组TGF-β1及COL-Ⅰ目的条带增加趋势明显, 对照组则未见明显变化趋势. 统计分析显示两组

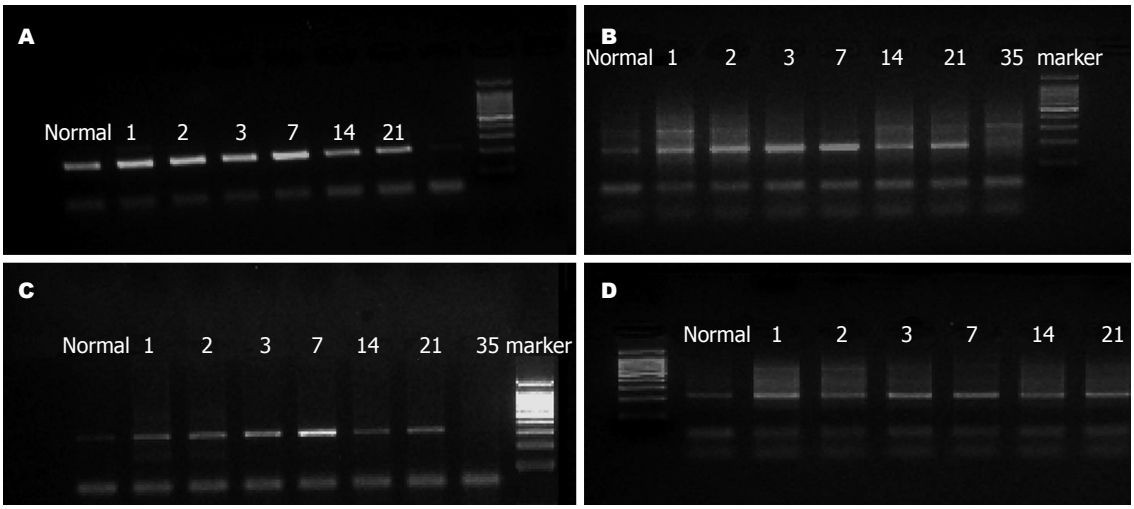


图 2 各目的基因PCR产物凝胶电泳结果. A: β-actin; B: COL-I; C: TGF-β1; D: HGF.

表 3 BDL组和对照组基因转化生长因子-β1的表达水平 (mean ± SD, n = 5)

天数(d)	转化生长因子-β1		t值	P值
	BDL组	对照组		
1	0.2477 ± 0.0439	0.1441 ± 0.0355	5.494	<0.05
2	0.3645 ± 0.0167	0.1468 ± 0.0417	6.710	<0.05
3	0.5722 ± 0.0530	0.1203 ± 0.0033	15.142	<0.05
7	0.4825 ± 0.0985	0.1287 ± 0.0075	6.407	<0.05
14	0.7805 ± 0.0549	0.1231 ± 0.0050	20.768	<0.05
21	0.9848 ± 0.0787	0.1212 ± 0.0051	19.042	<0.05

表中数值为目的基因与内参照β-actin的灰度比值.

表 4 BDL组和对照组基因HGF的表达水平 (mean ± SD, n = 5)

天数(d)	HGF		t值	P值
	BDL组	对照组		
1	0.2518 ± 0.0245	0.2019 ± 0.0387	1.562	>0.05
2	0.2741 ± 0.0071	0.2602 ± 0.0546	0.422	>0.05
3	0.3233 ± 0.0396	0.1739 ± 0.0768	3.122	<0.05
7	0.8454 ± 0.0252	0.1329 ± 0.0339	85.547	<0.05
14	0.7475 ± 0.2443	0.1146 ± 0.0455	3.974	<0.05
21	0.6568 ± 0.0675	0.1246 ± 0.1022	5.808	<0.05

表中数值为目的基因与内参照β-actin的灰度比值.

TGF-β1、COL-Ⅰ的表达差异从第1天开始有统计学意义, BDL组与对照组中HGF的表达差异从第3天开始有统计学意义(表2-4, 图2).

2.5 BDL组不同时间目的基因表达变化 对BDL组的不同天数间的表达进行观察, COL-Ⅰ、TGF-β1指标1-3 d增长趋势明显, 在3-7 d出现下降趋势, HGF指标3-7 d增长趋势明显, 而在7 d后有下降趋势.

2.6 HE染色结果 术后1 d见少量嗜中性粒细胞和淋巴细胞浸润; 术后第2天少许新增生胆管及无管腔的小胆管, 少量嗜中性粒细胞和淋巴细胞浸润, 个别动物偶见坏死; 术后第3天新增生的细小胆管和无管腔的小胆管, 嗜中性粒细胞和淋巴细胞浸润较术后第2天明显增加, 肝细胞轻

■同行评价
文章通过结扎大鼠胆总管, 模拟胆管梗阻病理状态, 运用PCR技术, 探讨相关细胞因子在胆管梗阻肝脏纤维化过程中发挥的作用. 文章有一定的科学性及新颖性.

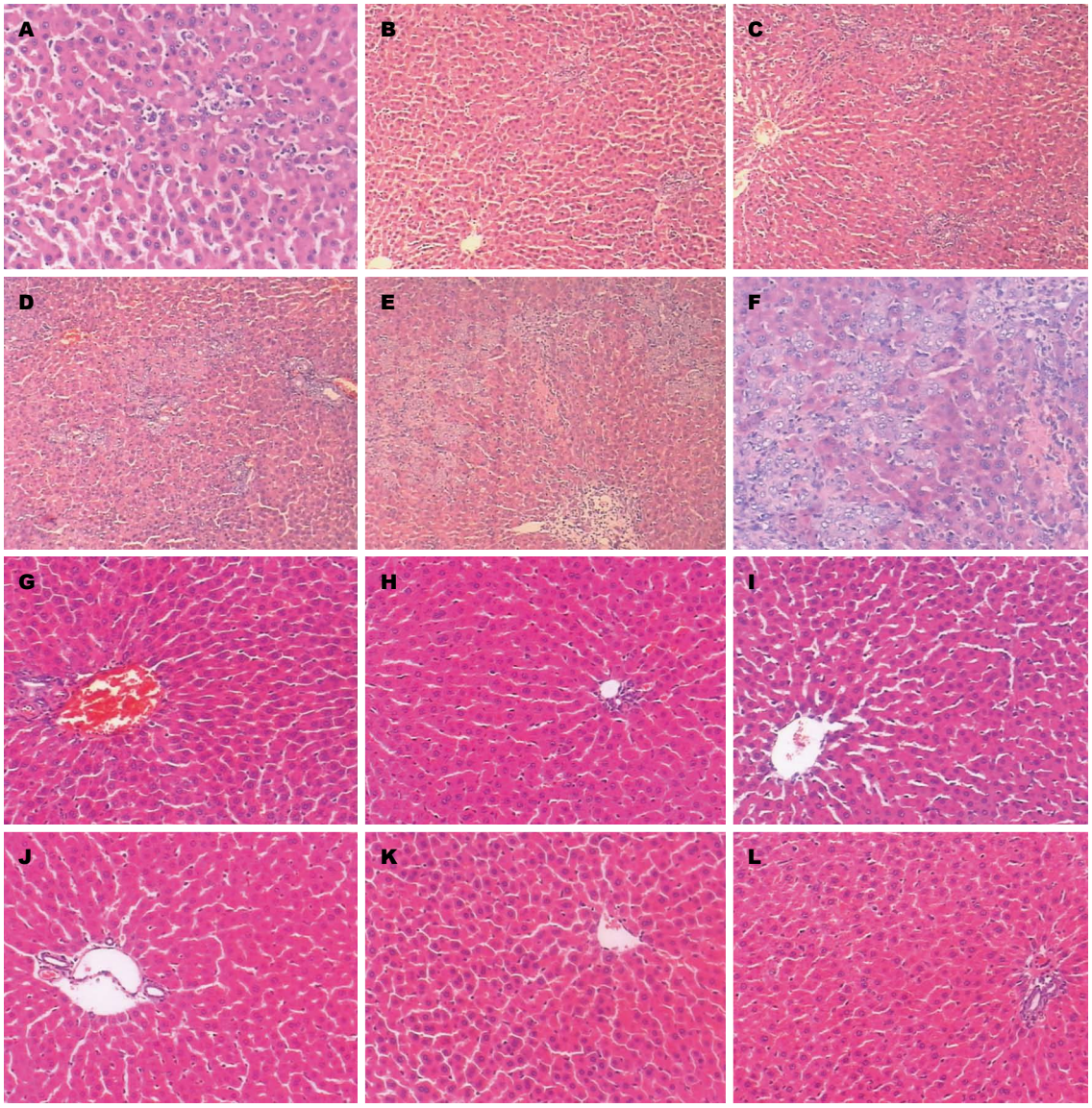


图 3 免疫组织化学染色结果(×100). A: 第1天实验组; B: 第2天实验组; C: 第3天实验组; D: 第7天实验组; E: 第14天实验组; F: 第21天实验组; G: 第1天对照组; H: 第2天对照组; I: 第3天对照组; J: 第7天对照组; K: 第14天对照组; L: 第21天对照组.

度变性, 可见灶状和片状坏死, 肝组织汇管区可见胆管增生和纤维组织细胞增生, 偶见胆管扩张; 术后第7天肝细胞出现变性坏死发生率增加及程度加重, 重者见片状出血和坏死, 肝组织门区可见胆管增生和纤维细胞增生; 术后14 d小叶结构受到破坏, 可见肝细胞空泡变性及坏死; 术后21 d小叶结构破坏更加严重, 大量肝细胞坏死. 随时间进展肝脏损伤、纤维化程度逐渐加重. 对照组中未见大量炎性细胞浸润、肝细胞大量变性、坏死等(图3).

3 讨论

在阻塞性黄疸时, 大鼠肝脏中存在细胞凋亡、坏死情况, 与肝脏病理变化密切相关[3]. 引起肝细胞凋亡的因素很多, 包括胆红素可直接介导肝细胞凋亡的直接机制, 以及多种生物分子参与的间接机制, 其中体外培养的肝组织中加入TGF-β1可诱导肝细胞的大量凋亡, 充分证实了其诱导肝细胞凋亡作用[4]. 在肝脏受损后, 直接和间接的损伤机制开始发挥作用, 因此解除胆管梗阻是治疗胆管梗阻、胆汁淤积相关疾病的关键的第一步, 而对于间接的损伤因素, 正是我们要观察的TGF-β1指标. TGF-β是一类具有激素样活性的多肽分子, 可通过自分泌或旁分泌的方式产生, 广泛参与人体的各种病理生理过程. 研究发现, TGF-β能刺激巨噬细胞分泌细胞因子, 进而刺激成纤维细胞增生和诱导新生血管的形成: TGF-β还可直接刺激成纤维细胞合成大量的

胶原(尤其是Ⅰ型胶原)、纤黏连蛋白和基质黏多糖蛋白, 并抑制细胞外基质的降解, 从而在创伤瘢痕愈合、细胞外基质形成、免疫调节等方面发挥着至关重要的作用[5]. TGF-β的这些活性作用在TGF-β1表现得最为明显[6]. 在实验中我们看到在模型建立的初期(1-3 d)该指标增长明显, 在胆管梗阻的早期就有该生物分子的参与, 而通过组织学的观察, 我们知道这一时期恰好是肝脏受损的较剧烈时期, 再次印证了TGF-β1参与了肝细胞的凋亡及坏死, 以及促进纤维化的发展.

胆管梗阻如不能得到缓解, 在一定时间后则会导致肝脏萎缩、肝细胞减少、纤维组织增生, 发生肝纤维化, 最终导致肝硬化. 纤维化的主要特征为细胞外基质成分的过度生成及沉积, 其中成肌纤维细胞(myofibroblast)的激活是纤维化过程中细胞外基质沉积的关键步骤, 体外实验[7]发现, TGF-β1处理肝细胞24 h后, Ⅰ型前胶原mRNA水平增加13倍. 这一过程中COL-Ⅰ代表了生成胶原纤维的多少, 并且研究表明TGF-β1与胶原蛋白具有相互促进调节作用. 通过我们的实验结果也证明了这一点. 另外有实验报道[8]α-SMA在相关动物模型中14-21 d时表达出现明显增速, 而我们的实验中COL-Ⅰ在1-3 d内出现显著增长, 因而COL-Ⅰ做为纤维化的早期指标可能较α-SMA更为敏感.

在肝脏纤维化的过程中, 存在对抗肝脏纤维化的趋势, 细胞因子HGF在对抗肝脏纤维化的过程中发挥作用[9]. HGF由肝Kuffer细胞、血窦内皮细胞、储脂细胞产生, 而肝实质细胞并不产生[10]. 几种因子可以调节HGF的产生. 白介素-1能增加HGF的基因表达[11]. 相反, TGF-β1和糖皮质激素均抑制HGF从成纤维细胞中释放[12]. Tsunashima等[13]的实验表明, HGF对肝纤维化有保护作用, 可改善肝功能, 降低血清胶原蛋白代谢产物含量, 减少肝脏中胶原的沉积, 抑制肝细胞凋亡, 发挥逆转肝纤维化的作用. HGF是目前已知的对成熟肝细胞最强烈的增殖刺激因子和促有丝分裂原[14]. 表皮生长因子、胰岛素以及TGF-α对HGF有协同刺激肝细胞增殖的作用[15].

在本实验中, HGF在3-7 d出现较明显的增长, 同时在这一时期, TGF-β1、COL-Ⅰ的表达的增长趋势也受到了抑制, 增长趋势降低, 我们可以由此推论肝纤维化过程中第3天之前以促纤维化过程为主要表现; 第3天开始出现抗纤维化表现, 促纤维化趋势减弱, 纤维化速度减慢; 第7天之后为持续的肝脏纤维化进程. 在3-7 d的时间段内, 机体的抗纤维化及肝再生等保护机制开始发挥作用, 代偿性的抑制肝损伤及纤维化, 此时如果解除胆管梗阻仍有可能使肝脏纤维化的病理过程得到逆转. 在肝脏损伤-纤维化-修复再生这一过程中, 存在类似于负反馈机制的过程, 若能及时解除胆管的梗阻, 肝细胞仍能得到修复、再生, 否则, 当“负反馈机制”失代偿后, 肝损伤、纤维化将无法逆转. 当然是否存在类似负反馈的机制, 我们如何利用抗纤维化的机制, 使得肝脏的不可逆性纤维化来的更迟些等问题仍有待进一步的研究.

4 参考文献

1 Yang N, Mahato RI. GFAP promoter-driven RNA interference on TGF-β1 to treat liver fibrosis. *Pharm Res* 2011; 28: 752-761 [PMID: 21347569 DOI: 10.1007/s11095-011-0384-y]

2 Ishikawa H, Jo JI, Tabata Y. Liver Anti-Fibrosis Therapy with Mesenchymal Stem Cells Secreting Hepatocyte Growth Factor. *J Biomater Sci Polym Ed* 2011 Dec 14. *[Epub ahead of print]* [PMID: 22182291]

3 Iwaisako K, Brenner DA, Kisseleva T. What's new in liver fibrosis? The origin of myofibroblasts in liver fibrosis. *J Gastroenterol Hepatol* 2012; 27 Suppl 2: 65-68 [PMID: 22320919 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2011.07002.x]

4 Cong M, Iwaisako K, Jiang C, Kisseleva T. Cell signals influencing hepatic fibrosis. *Int J Hepatol* 2012; 2012: 158547 [PMID: 22973518 DOI: 10.1155/2012/158547]

5 Tang LX, He RH, Yang G, Tan JJ, Zhou L, Meng XM, Huang XR, Lan HY. Asiatic acid inhibits liver fibrosis by blocking TGF-beta/Smad signaling in vivo and in vitro. *PLoS One* 2012; 7: e31350 [PMID: 22363627 DOI: 10.1371/journal.pone.0031350]

6 Chávez E, Segovia J, Shibayama M, Tsutsumi V, Vergara P, Castro-Sánchez L, Salazar EP, Moreno MG, Muriel P. Antifibrotic and fibrolytic properties of celecoxib in liver damage induced by carbon tetrachloride in the rat. *Liver Int* 2010; 30: 969-978 [PMID: 20524983 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2010.02256]

7 田卫斌, 王胜春, 李晓伟, 胡咏武, 赵辉平. 大鼠肝纤维化形成过程中 TGFβ1/ERK信号通路与Ⅰ、Ⅲ、Ⅳ型胶原表达变化. 胃肠病学和肝病学杂志 2010; 19: 414-419

8 Rahimi RA, Leof EB. TGF-beta signaling: a tale of two responses. *J Cell Biochem* 2007; 102: 593-608 [PMID: 17729308]

9 Xia JL, Dai C, Michalopoulos GK, Liu Y. Hepatocyte growth factor attenuates liver fibrosis induced by bile duct ligation. *Am J Pathol* 2006; 168: 1500-1512 [PMID: 16651617]

10 Jia C. Advances in the regulation of liver regeneration. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2011; 5: 105-121 [PMID: 21309676 DOI: 10.1586/egh.10.87]

11 Chau GY, Lui WY, Chi CW, Chau YP, Li AF, Kao

HL, Wu CW. Significance of serum hepatocyte growth factor levels in patients with hepatocellular carcinoma undergoing hepatic resection. *Eur J Surg Oncol* 2008; 34: 333-338 [PMID: 17218078]

12 Jozefczuk J, Drews K, Adjaye J. Preparation of mouse embryonic fibroblast cells suitable for culturing human embryonic and induced pluripotent stem cells. *J Vis Exp* 2012; (64): 3854[PMID: 22760161 DOI: 10.3791/3854]

13 Tsunashima Y, Kondo A, Matsuda T, Togari A. Hydrocortisone inhibits cellular proliferation by downregulating hepatocyte growth factor synthesis in human osteoblasts. *Biol Pharm Bull* 2011; 34: 700-703 [PMID: 21532160]

14 Whittaker S, Marais R, Zhu AX. The role of signaling pathways in the development and treatment of hepatocellular carcinoma. *Oncogene* 2010; 29: 4989-5005 [PMID: 20639898 DOI: 10.1038/onc.2010.236]

15 de Andrade JA, Thannickal VJ. Innovative approaches to the therapy of fibrosis. *Curr Opin Rheumatol* 2009; 21: 649-655 [PMID: 19667993 DOI: 10.1097/BOR.0b013e328330da9b]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com
世界华人消化杂志 2014年4月8日; 22(10): 1409-1416
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

研究快报 RAPID COMMUNICATION

苦参素逆转人肝癌细胞株HepG2/ADM多药耐药的作用

王 炜, 黄赞松, 周喜汉, 覃月秋

王炜, 桂林医学院 广西壮族自治区桂林市 541000
黄赞松, 周喜汉, 覃月秋, 右江民族医学院消化疾病研究所 右江民族医学院附属医院消化内科 广西壮族自治区百色市 533000
王炜, 在读硕士, 主要从事中药抗消化系肿瘤多药耐药的研究.
广西自然科学基金资助项目, No. 桂科自0542119
广西医疗卫生重点科研基金资助项目, No. 桂卫重200887
广西中医药管理局基金资助项目, No. 桂卫中gzzc0955
作者贡献分布: 此课题由王炜与黄赞松设计; 研究过程由王炜、周喜汉及覃月秋操作完成; 数据分析由王炜与覃月秋完成; 本论文写作由王炜完成; 黄赞松负责本课题的理论指导.
通讯作者: 黄赞松, 教授, 主任医师, 533000, 广西壮族自治区百色市城乡路98号, 右江民族医学院消化疾病研究所, 右江民族医学院附属医院消化内科. huangzansong@hotmail.com
电话: 0776-2825103
收稿日期: 2013-12-12 修回日期: 2014-01-28
接受日期: 2014-02-18 在线出版日期: 2014-04-08

Oxymatrine reverses multidrug resistance of human hepatocellular carcinoma HepG2/ADM cells

Wei Wang, Zan-Song Huang, Xi-Han Zhou, Yue-Qiu Qin

Wei Wang, Guilin Medical University, Guilin 541000, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China
Zan-Song Huang, Xi-Han Zhou, Yue-Qiu Qin, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Youjiang Medical College for Nationalities, Baise 533000, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China
Supported by: the Natural Science Foundation of Guangxi Zhuang Autonomous Region, No. 0542119; the Medical Major Scientific Research Foundation of Guangxi Zhuang Autonomous Region, No. 200887; the Foundation of Administration of Traditional Chinese Medicine in Guangxi Zhuang Autonomous Region, No. gzzc0955
Correspondence to: Zan-Song Huang, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Youjiang Medical College for Nationalities, 98 Chengxiang Road, Baise 533000, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. huangzansong@hotmail.com
Received: 2013-12-12 Revised: 2014-01-28
Accepted: 2014-02-18 Published online: 2014-04-08

Abstract

AIM: To investigate whether oxymatrine (OM) reverses the multidrug resistance of hepatocellular carcinoma cell line HepG2/adriamycin (ADM) *in vitro* and to explore the potential mechanisms involved.

METHODS: MTT assay was used to test the sensitivity of HepG2 cells, HepG2/ADM cells and oxymatrine-treated HepG2/ADM cells to chemotherapeutics and oxymatrine. Flow cytometry was used to detect the apoptosis and the protein levels of p-glycoprotein (P-gp) in HepG2 cells, HepG2/ADM cells and oxymatrine-treated HepG2/ADM cells. Real-time fluorescence quantitative PCR was used to determine the expression of multidrug resistance related gene ATP-binding cassette, sub-family B member 1 (ABCB1) in HepG2/ADM cells and oxymatrine-treated HepG2/ADM cells.

RESULTS: Oxymatrine at concentrations lower than 0.5 mg/mL had no apparent cytotoxic effects on HepG2/ADM cells. HepG2/ADM cells showed cross-resistance to ADM, cisplatin (CDDP), and 5-fluorouracil (5-FU), and the resistance indexes were 27.52, 5.50 and 4.39, respectively. Oxymatrine could partly reverse the resistance of HepG2/ADM cells to ADM, CDDP and 5-FU by 3.68, 2.82 and 2.03 times, respectively. After addition of oxymatrine for 24, 48 and 72 h, the rates of early apoptosis of HepG2/ADM cells were increased gradually compared with the control group (1.77% ± 0.25% *vs* 0.50% ± 0.10%, 2.53% ± 0.15% *vs* 0.63% ± 0.06%, 3.83% ± 0.42% *vs* 0.66% ± 0.06%, $P < 0.05$ for all). Oxymatrine down-regulated the expression levels of multidrug resistance-related genes ABCB1 and P-gp compared with the control group (21.50% ± 1.08% *vs* 40.83% ± 0.35%, $P < 0.01$).

CONCLUSION: Oxymatrine can reverse multidrug resistance of HepG2/ADM cells *in vitro* possibly *via* mechanisms related to down-regulation of ABCB1 and P-gp and promotion of cell apoptosis.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Oxymatrine; Multi-drug resistance; Hepatocellular carcinoma; Reverse

Wang W, Huang ZS, Zhou XH, Qin YQ. Oxymatrine reverses multidrug resistance of human hepatocellular carcinoma HepG2/ADM cells. Shijie Huaren Xiaohua

■背景资料
化疗在肝癌的非手术治疗中占有重要的地位, 然而由于肿瘤多药耐药(multidrug resistance, MDR)的存在, 导致目前肝癌临床化疗效果普遍不佳. 中药因其低毒高效和多阶段性作用的优势已在肿瘤多药耐药逆转方法的研究中逐步受到重视.

■同行评议者
徐泱, 副主任医师, 上海复旦大学附属中山医院

Zazhi 2014; 22(10): 1409-1416 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1409.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i10.1409

摘要

目的: 探讨苦参素(oxymatrine, OM)体外逆转人肝癌耐药细胞株多药耐药的作用及其机制.

方法: MTT法检测耐药细胞株HepG2/阿霉素(adriamycin, ADM)多药耐药性及苦参素干预前后耐药细胞药敏性的变化; 流式细胞术检测苦参素对耐药细胞细胞凋亡及细胞膜表面P糖蛋白(P-glycoprotein, P-gp)表达的影响; 实时荧光定量PCR法检测苦参素作用前后耐药细胞内三磷酸腺苷结合运转蛋白B1(ATP-binding cassette, sub-family B member 1, ABCB1)基因的表达的变化.

结果: 当苦参素浓度为0.5 mg/mL时对HepG2及HepG2/ADM 2种细胞株的生长抑制率均<10%, 无明显毒性作用. HepG2/ADM细胞株对ADM、顺铂(cisplatin, CDDP)、5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-FU)3种化疗药物表现出不同程度的耐药性, 其耐药指数分别为27.52、5.50、4.39. 无细胞毒性的0.5 mg/mL浓度的苦参素能够部分逆转HepG2/ADM对上述3种化疗药物的耐药性, 其逆转倍数分别为3.68、2.82、2.03倍. 苦参素作用HepG2/ADM细胞24、48、72 h后, 各组细胞早期细胞凋亡率较各阴性对照组均有所提高且随OM作用时间的延长而逐渐增加(1.77%±0.25% *vs* 0.50%±0.10%, 2.53%±0.15% *vs* 0.63%±0.06%, 3.83%±0.42% *vs* 0.66%±0.06%, $P<0.05$). 苦参素作用48 h后与阴性对照组比较HepG2/ADM耐药细胞株*ABCB1*基因表达下调, 其比率为0.49倍; 耐药细胞株细胞膜表面P-gp的表达下调(21.50%±1.08% *vs* 40.83%±0.35%, $P<0.01$).

结论: 苦参素能够在体外逆转人肝癌耐药细胞株HepG2/ADM的多药耐药性, 其作用机制可能与其提高耐药细胞早期细胞凋亡率, 下调耐药相关基因*ABCB1*及其蛋白表达产物P-gp的表达有关.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 苦参素; 多药耐药; 肝癌; 逆转

核心提示: 苦参素能够在体外部分逆转人肝癌耐药细胞株HepG2/阿霉素(adriamycin)的多药耐药, 相关分子机制可能与其抑制三磷酸腺苷结合运转蛋白B1(ATP-binding cassette, sub-family B member 1)基因的表达, 降低了细胞膜表面P糖蛋白(P-glycoprotein, P-gp)的表达含量, 导致P-gp的转运功能下降, 减少肿瘤细胞对化疗药物的外排和促进肝癌耐药细胞的早期凋亡相关.

王炜, 黄赞松, 周喜汉, 覃月秋. 苦参素逆转人肝癌细胞株HepG2/ADM多药耐药的作用. 世界华人消化杂志 2014; 22(10): 1409-1416 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1409.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i10.1409

■研发前沿
苦参素(oxymatrine, OM)即氧化苦参碱, 是一种从豆科槐属植物苦参、广豆根中提取的生物碱. 近年来有研究表明苦参素具有抗肝癌作用, 且对正常肝细胞无明显破坏作用, 但关于其否具有逆转肝癌MDR的研究少见.

0 引言

原发性肝癌是我国最常见的恶性肿瘤之一, 其年发病率及死亡率在我国所有恶性肿瘤中仅次于肺癌居第2位[1]. 全球每年平均约有69万例死于肝癌, 而我国约占其中的50%[2]. 原发性肝癌起病隐匿, 早期缺乏典型症状和特有体征, 致使其诊断困难. 尽管肝癌肿瘤标志物甲胎蛋白的检测及影像学的发展使许多亚临床肝癌或小肝癌得以检出, 但仍有约80%的患者在肝癌检出时已属于中晚期且合并肝硬化, 而丧失手术机会[3]. 对这些患者常需采用包括手术在内的综合治疗, 其中化疗特别是局部灌注占有重要地位, 然而由于肿瘤多药耐药(multidrug resistance, MDR)的存在, 导致目前肝癌临床化疗效果普遍不佳. 中药因其低毒高效和多阶段性作用的优势已在肿瘤MDR逆转方法的研究中逐步受到重视. 苦参素即氧化苦参碱, 是一种从我国传统中药材苦参、广豆根中提取的生物碱. 近年来有研究表明苦参素具有抗肝癌作用, 且对正常肝细胞无明显破坏. 本研究以人肝癌耐药细胞株HepG2/阿霉素(adriamycin, ADM)为研究对象, 选用苦参素体外逆转其耐药性, 观察药物作用效果并初步探讨其细胞及分子生物学机制.

1 材料和方法

1.1 材料 人肝癌耐药细胞株HepG2/ADM(广州吉妮欧生物科技有限公司)、人肝癌细胞株HepG2细胞株(中科院上海细胞库)、苦参素(oxymatrine, OM)(江苏正大天晴药业股份有限公司)、ADM(深圳万乐药业有限公司)、MTT(Amresco公司)、5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-FU)(旭东海普药业有限公司)、顺铂(cisplatin, CDDP)(山东罗欣药业股份有限公司)、Annexin V-FITC细胞凋亡检测试剂盒(南京凯基生物科技有限公司)、逆转录试剂盒(Thermo公司)、荧光定量PCR试

剂盒(天根生化科技有限公司)、鼠抗人P-gp抗体(Abcam公司).

1.2 方法

1.2.1 MTT法检测OM对HepG2及HepG2/ADM细胞株的抑制作用: 分别取处于对数生长期的HepG2及HepG2/ADM细胞, 按细胞传代方法制备细胞悬液, 同时予细胞计数, 通过调整细胞浓度, 使其浓度为5×10^{4}个/mL. 将混匀的细胞悬液接种于96孔细胞培养板, 100 μL/孔. 设OM组、阴性对照组和空白对照组. OM组设5个药物梯度, 每组设5个复孔. 于饱和湿度、37 ℃、5%CO_2的细胞培养箱中培养. 待细胞贴壁后(培养4 h后), 小心吸取旧培养基, 然后分别向OM组加入预先配制好的含OM培养液(浓度分别为0.5、1.0、2.0、4.0、8.0 mg/mL), 200 μL/孔; 向阴性对照组和空白对照组加入新培养液200 μL/孔. 继续于培养箱中培养44 h后, 分别向3组细胞中各加入5 mg/mL MTT 20 μL/孔, 继续孵育4 h. 取出培养板, 吸取上清液, 加入DMSO, 150 μL/孔, 后置于恒温振荡箱中震荡, 37 ℃、100 r/min, 振荡10 min. 通过全自动酶标仪于490 nm波长处测定吸光度(*A*)值, 用复孔平均*A*值进行比较, 计算OM对HepG2及HepG2/ADM细胞株分别作用48 h后的抑制率(inhibition rate, IR). 计算公式: IR(%) = [1-(实验组*A*值-空白组*A*值)/(阴性对照组*A*值-空白组*A*值)]×100%. 利用SPSS16.0软件计算OM的50%抑制浓度(50% inhibiting concentration, IC_{50}). 实验不同日重复3次. 以对细胞生长抑制率≤10%的药物浓度为非细胞毒性浓度.

1.2.2 MTT法检测耐药细胞株HepG2/ADM的多药耐药性及OM干预后HepG2/ADM药敏性的变化: 根据上述实验结果, 选取无细胞毒性作用的0.5 mg/mL OM作用于HepG2/ADM细胞48 h, 制备HepG2/ADM+OM组细胞. 将实验细胞分为HepG2、HepG2/ADM及HepG2/ADM+OM 3组, 每组均设有阴性对照组和空白对照组. 分别取处于对数生长期的3组细胞, 按细胞传代方法制备细胞悬液, 同时予细胞计数, 通过调整细胞浓度, 使其浓度为5×10^4/mL. 将各组混匀的细胞悬液接种于96孔细胞培养板, 100 μL/孔. 待细胞贴壁后(培养4 h后), 加入试验药物: ADM、CDDP、5-FU. 参照各药临床用量的血峰浓度, 设置5个试验浓度, 每个浓度均设5个复孔. 继续培养44 h后, 分别向3组细胞中加入5 mg/mL MTT 20 μL/孔, 继续孵育4 h. 吸取上清液, 然后加入DMSO, 150 μL/孔, 后置于恒温振荡箱中震荡, 37 ℃、100 r/min, 振荡10 min. 在全自动酶标仪上于490 nm波长处测定*A*值. 利用SPSS16.0软件计算3种化疗药物的IC_{50}、耐药指数(resistance index, RI) = 耐药细胞IC_{50}/亲本细胞IC_{50}及逆转倍数 = 耐药细胞IC_{50}/OM作用后耐药细胞IC_{50}. MTT试验在不同日重复3次.

1.2.3 通过流式细胞仪检测OM对耐药细胞细胞凋亡的影响: 取HepG2/ADM细胞及0.5 mg/mL OM分别作用24、48、72 h的HepG2/ADM细胞, 使用不含EDTA的胰酶消化细胞, 制成单细胞悬液, 用PBS液洗涤细胞2次(800 r/min离心5 min), 计数后调整细胞悬液浓度, 收集1×10^5-5×10^{5}个细胞. 实验分为24、48、72 h组, 每组均设有阴性对照. 各组分别加入500 μL的Binding Buffer悬浮细胞, 之后依次加入5 μL Annexin V-FITC、5 μL Propidium Iodide充分混匀. 在室温下避光、反应5-15 min, 1 h内通过流式细胞仪的检测各组细胞不同时期的细胞凋亡率, 记录其早期细胞凋亡率. 激发波长Ex = 488 nm; 发射波长Em = 525 nm, 用BD FACSDiva Software进行参数获取和数据分析. 实验在不同日, 重复3次.

1.2.4 实时荧光定量PCR检测OM作用前后耐药细胞内耐药相关基因三磷酸腺苷结合运转蛋白B1(ATP-binding cassette, sub-family B member 1, ABCB1)的表达: 取处于对数生长期的HepG2/ADM细胞及0.5 mg/mL的OM作用48 h的HepG2/ADM细胞, 倒掉培养液, 用PBS液清洗3次. 用1000 μL TRIzol提取总RNA, 紫外分光光度计测定RNA纯度($A_{260/280}$ = 1.8-2.0)并定量, 取1 μg总RNA, 1 μL oligo(dT)18 primer按RT-PCR试剂盒说明书构建20 μL反应体系进行逆转录, 反应合成第一链cDNA. 接下来通过Real-time PCR检测相关目的基因*ABCB1*及内参基因*B2M*的表达. 目的基因*ABCB1*上游引物: 5'-TCTGGAGCACTGAAAGATAAG-3', 下游引物: 5'-ACCTGCAAACTCTGAGCATACATA-3'; 内参基因*B2M*上游引物: 5'-AGTATGCCTGCCGTGTGAAC-3', 下游引物: 5'-TTCATCCAATCCAAATGCGGC-3'. 按荧光定量PCR试剂盒说明书构建25 μL反应体系, 用荧光定量PCR仪检测相关目的基因的表达情况. 阴性对照组与OM实验组分管同机进行PCR反应, 实验不同日重复3次. 最后用琼脂糖凝胶电泳实验验证PCR扩增产物.

■相关报道

有研究报道苦参碱在一定程度上可以逆转人膀胱癌多药耐药细胞株T24/阿霉素(adriamycin, ADM)、人乳腺癌多药耐药细胞株MCF-7/ADM、鼻咽癌耐药细胞HONE1/DDP的MDR.

■创新盘点
本研究探讨OM体外逆转人肝癌细胞HepG2/ADM多药耐药性的作用效果及其与细胞凋亡、细胞耐药相关基因及蛋白的关系.

表 1 苦参素对HepG2及HepG2/ADM细胞株的抑制作用

苦参素 (mg/mL)	抑制率(%)	
	HepG2	HepG2/ADM
0.5	7.38 ± 0.79	6.92 ± 0.46
1.0	17.75 ± 3.10	13.69 ± 1.77
2.0	33.37 ± 1.88	24.20 ± 3.01
4.0	52.00 ± 2.80	39.02 ± 2.94
8.0	66.55 ± 2.36	62.20 ± 3.62

ADM: 阿霉素.

1.2.5 流式细胞仪检测OM作用前后耐药细胞内耐药相关蛋白P-gp的表达: 取HepG2、HepG2/ADM及0.5 mg/mL的OM作用48 h的HepG2/ADM细胞, 将实验细胞分为HepG2、HepG2/ADM及HepG2/ADM+OM 3组. 用含10%胎牛血清的冰冷PBS液洗涤细胞3次(800 r/min离心5 min), 用上述冰PBS把细胞悬液调整至1×10^5-5×10^{5}个/mL浓度. 取90 μL细胞悬液, 加入10 μL鼠抗人P-gp抗体, 轻柔吹打混匀, 在4 ℃环境中孵育至少30 min. 用上述冰PBS液洗涤细胞3次, 以除去未与蛋白结合的游离抗体. 之后用500 μL冰PBS液重悬细胞, 实验过程中细胞一直避光放于冰上. 在1 h内通过流式细胞仪进行检测, 激发波长Ex = 488 nm; 发射波长Em = 525 nm. 以检测到的P-gp荧光强度反应细胞内P-gp含量, 用BD FACSDiva Software进行参数获取和数据分析. 实验在不同日, 重复3次.

统计学处理 采用SPSS16.0软件进行统计分析, 数据以mean±SD表示, 两样本均数比较采用独立样本*t*检验, 多组均数间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA)、两两比较采用SNK法, $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 OM对HepG2及HepG2/ADM细胞株的抑制作用 不同浓度的OM(0.5、1、2、4、8 mg/mL)作用HepG2及HepG2/ADM细胞株48 h后, 对HepG2及HepG2/ADM细胞株的具体抑制率如表1. 当OM浓度为0.5 mg/mL时对HepG2及HepG2/ADM细胞株的生长抑制率均<10%, 无明显毒性作用, 因而选用0.5 mg/mL作为OM逆转肝癌细胞耐药的安全实验剂量. 使用SPSS16.0软件对数据进行统计分析, OM对HepG2及HepG2/ADM细胞株的IC_{50}分别为3.96 mg/mL±0.33 mg/mL、5.86 mg/mL±0.27 mg/mL, $P<0.05$.

2.2 耐药细胞株HepG2/ADM多药耐药性及OM干预后耐药细胞药敏性的变化 与HepG2细胞相比较, HepG2/ADM对ADM、CDDP、5-FU 3种化疗药物表现出不同程度的耐药性, 其耐药指数分别为27.52、5.50、4.39. 0.5 mg/mL OM作用HepG2/ADM细胞48 h后, 3种化疗药物对HepG2/ADM的IC_{50}均有一定程度的降低, 其耐药性的逆转倍数分别为3.68、2.82、2.03倍(表2).

2.3 OM对耐药细胞细胞凋亡的影响 以二维散点图记录HepG2/ADM细胞凋亡, 以阴性对照设定正常界限, FITC为横坐标, PI为纵坐标, 早期凋亡细胞位于右下象限(Q4, FITC$^+$、PI$^-$). 0.5 mg/mL OM作用HepG2/ADM细胞24、48、72 h后, 各组细胞早期细胞凋亡率较各阴性对照组均有所提高且随OM作用时间的延长而逐渐增加. 各组早期细胞凋亡率分别为1.77%±0.25%、2.53%±0.15%、3.83%±0.42%, 各实验组与各阴性对照组相比较, 实验组各组间相比, 差异较均有统计学差异($P<0.05$, 表3, 图1).

2.4 OM作用前后耐药细胞内耐药相关基因*ABCB1*的表达 以阴性对照组作为校准, 因目的序列与内参序列扩增效率相近, 可采用$2^{-\Delta\Delta Ct}$法分析阴性对照组与OM实验组耐药相关基因*ABCB1*的表达. ΔCt(校准样品) = Ct(目的基因)-Ct(内参基因); ΔCt(实验样品)= Ct(目的基因)-Ct(内参基因), $2^{-\Delta\Delta Ct} = 2^{-[\Delta Ct(实验样品)-\Delta Ct(校准样品)]}$. 将检测到的各组Ct值代入上述公式, 与阴性对照组相比OM实验组ABCB1的表达为阴性对照组的0.49倍, 经OM作用后耐药相关基因*ABCB1*的表达明显降低. 目的基因*ABCB1*及内参基因*B2M*熔解曲线峰图仅见单一峰, 无杂峰. 琼脂糖凝胶电泳验证目的基因*ABCB1*及内参基因*B2M* PCR扩增产物均见单一清晰条带, 无杂带和拖尾现象. 均表明产物特异性好, 无非特异性扩增和引物二聚体(表4).

2.5 OM作用前后耐药细胞内耐药相关蛋白P-gp的表达 以流式细胞仪检测到的P-gp荧光强度反应细胞膜表面的P-gp含量, 横坐标为荧光强度, 纵坐标为细胞出现频率, 阴性对照设定正常荧光边界, P2区代表P-gp阳性表达. 结果显示HepG2组细胞P-gp含量明显低于HepG2/ADM组细胞, HepG2/ADM+OM组细胞(0.5 mg/mL OM作用48 h后), 细胞膜表面P-gp的表达率与HepG2/ADM组相比, 有一定程度的降低, 但仍高于HepG2组(21.50%±1.08% *vs* 40.83%±0.35%, 21.50%±1.08% *vs* 10.36%±0.60%,

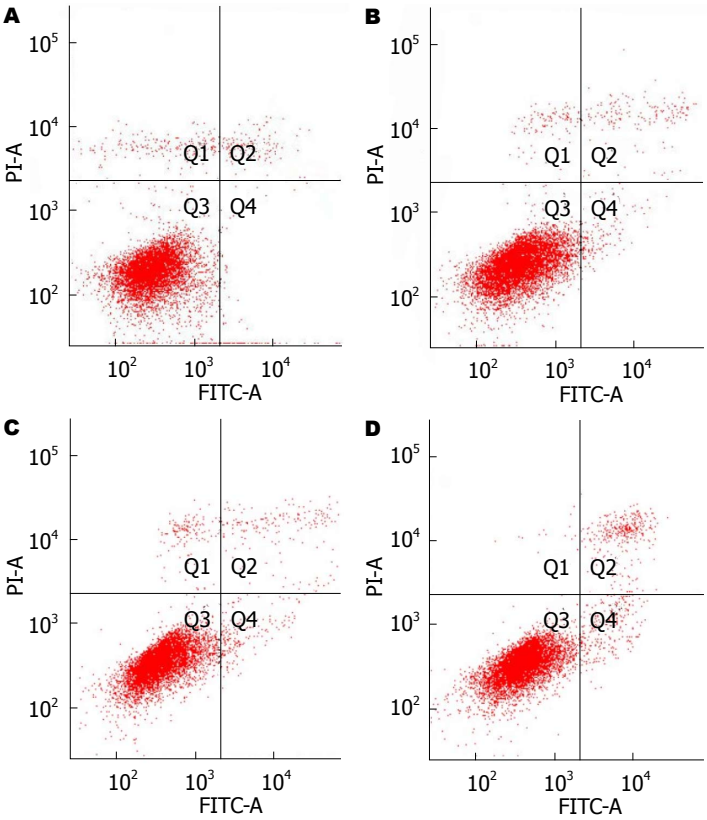


图 1 流式细胞术仪测苦参素对HepG2/ADM细胞凋亡的影响. A: 阴性对照组(Q4 0.6%); B: 24 h组(Q4 1.8%); C: 48 h组(Q4 2.7%); D: 72 h组(Q4 3.5%). ADM: 阿霉素.

■应用要点

本研究探讨OM体外逆转人肝细胞癌MDR的作用及其分子生物学机制, 为提高临床肝癌化疗效果及中药MDR逆转剂的开发和应用提供新思路.

表 2 HepG2、HepG2/ADM、HepG2/ADM+OM 3组细胞的药物敏感性

分组	IC_{50}(μg/mL)		
	ADM	CDDP	5-FU
HepG2	0.42 ± 0.06	3.29 ± 0.44	7.94 ± 1.59
HepG2/ADM	11.56 ± 0.51[bd]	18.08 ± 1.19[bd]	34.83 ± 2.63[bd]
HepG2/ADM+OM	3.14 ± 0.25	6.41 ± 0.99	17.17 ± 2.18

[b]*P*<0.01 *vs* HepG2; [d]*P*<0.01 *vs* HepG2/ADM+OM. ADM: 阿霉素; OM: 苦参素; CDDP: 顺铂; 5-FU: 5-氟尿嘧啶; IC_{50}: 50%抑制浓度.

P<0.01, 表5, 图2).

3 讨论

肿瘤耐药性是目前影响肿瘤临床化疗效果的主要原因, 肿瘤细胞耐药类型较多, 可分为先天性耐药和获得性耐药2类, 根据耐药谱的不同, 又可分为原药耐药和多药耐药. 肿瘤MDR是指肿瘤细胞对一种抗肿瘤药物产生耐药性, 同时又对其他结构和作用机制完全不同的抗肿瘤药物也产生交叉耐药性的现象[4-6]. 肿瘤多药耐药形成机制异常复杂, 与膜转运蛋白、酶、细胞凋亡、器官微环境等多种因素密切相关, 是多基因、多步骤综合作用的结果[7]. 肿瘤MDR已涉及临床多种常用的抗癌药物, 是目前肿瘤临床化疗失败的主要原因之一. 肿瘤细胞的MDR现象是肿瘤治疗中最常见和最棘手的问题, 因而应用MDR逆转剂是克服肿瘤临床耐药、提高肿瘤化疗有效性的一种潜在的重要手段. 针对天然耐药和获得性耐药2种不同耐药类型以及临床复杂的耐药机制, 寻找结构独特、活性强、选择性好而不良反应小的多药耐药逆转剂, 是临床逆转MDR的重要途径之一, 也一直是国内外众多肿瘤学者的研究目标[8]. 中药具有低毒、多靶点、多阶段性作用特点, 可以针对肿瘤多药耐药的多种机制进行有效的逆转[9]. 因而在具有抗癌作用的中草药成分中, 筛选低毒高效的MDR逆转剂具有重要的研究价值和开发前景.

肝癌是我国最常见的恶性肿瘤之一. 临床资料显示, 约60%以上的肝癌(含早期肝癌)确诊时已发生临床或显微镜下转移, 约90%的患者被诊

■同行评价

该研究证明了OM能够在体外逆转人肝癌细胞株HepG2/ADM的多药耐药性, 并初步探讨了其作用机制可能与其提高耐药细胞凋亡率, 下调耐药相关基因及蛋白表达有关. 有一定理论价值, 对临床应用也有一定的指导作用.

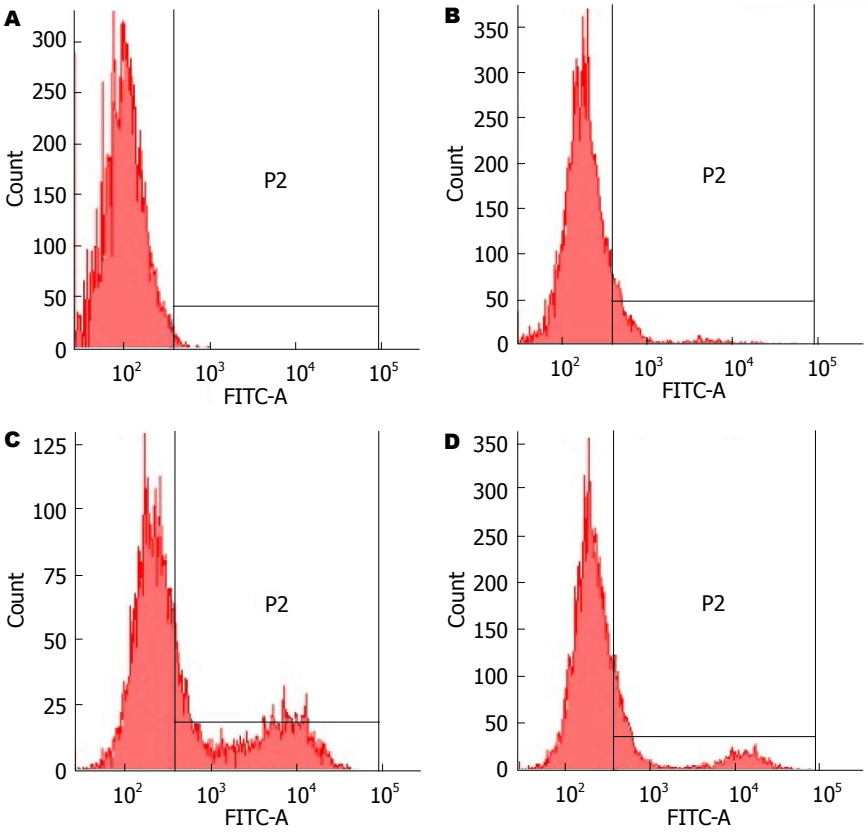


图 2 流式细胞仪检测细胞膜表面P-gp的表达. A: 空白对照组(1.1%); B: HepG2组(10.3%); C: HepG2/ADM组(40.8%); D: HepG2/ADM+OM组(20.3%). ADM: 阿霉素; OM: 苦参素.

表 3 苦参素作用不同时间段HepG2/ADM早期细胞凋亡率(%)

分组	阴性对照组	实验组
24 h	0.50 ± 0.10	1.77 ± 0.25[a]
48 h	0.63 ± 0.06	2.53 ± 0.15[ac]
72 h	0.66 ± 0.06	3.83 ± 0.42[ace]

[a]*P*<0.05 *vs* 阴性对照组; [c]*P*<0.05 *vs* 24 h实验组; [e]*P*<0.05 *vs* 48 h实验组. ADM: 阿霉素.

表 4 *ABCB1*以内参基因为标准的相对定量Ct值

样品	Ct_{ABCB1}(目的基因)	Ct_{B2M}(内参基因)
阴性对照组	26.07 ± 0.048	15.80 ± 0.138
OM实验组	28.11 ± 0.314	16.81 ± 0.960

表 5 各组细胞膜表面的P-gp相对含量(%)

分组	P糖蛋白含量
HepG2	10.36 ± 0.60
HepG2/ADM	40.83 ± 0.35[bd]
HepG2/ADM+OM	21.50 ± 1.08[b]

[b]*P*<0.01 *vs* HepG2; [d]*P*<0.01 *vs* HepG2/ADM+OM. ADM: 阿霉素; OM: 苦参素.

断为肝癌时已为中晚期, 而丧失手术机会[10]. 药物化疗在临床肝癌的非手术治疗中占有重要的地位, 然而由于肿瘤MDR的存在, 导致目前肝癌临床化疗效果普遍不佳.

苦参素即氧化苦参碱, 是一种从豆科槐属植物苦参、广豆根中提取的四环喹嗪啶类生物碱. 据《本草纲目》中记载: 苦参, 苦、寒、无毒, 具有养肝胆气、除伏热肠、补中明目、祛风燥湿等功效. 目前, 国内对其研究多集中在抗乙型肝炎病毒、抗肝纤维化及提高肿瘤放化疗引发的白细胞低下等方面[11]. 近年来有研究表明OM具有抗肝癌作用, 且对正常肝细胞无明显破坏[12,13]. 韦星等[14,15]研究发现OM可以通过上调*bax*、*wtp53*基因和下调*c-myc*、*bcl-2*、*hTERT*基因的表达, 促进人肝癌SMMC-7721细胞凋亡, 降低端粒酶活性, 从而抑制肝癌细胞的增殖. 亦有相关实验证实, 苦参碱具有一定的逆转肿瘤MDR的功效[16]. 吴迪炯等[17]将苦参碱作用于急性早幼粒细胞白血病全反式维甲酸耐药细胞株NB4-R1, 研究最终发现苦参碱能够显著逆转NB4-R1细胞株的耐药性, 逆转机制可能与其增强耐药细胞的分化能力及提高细胞凋亡率相关. 孙付军等[18]建立小鼠S180肿瘤细胞多药耐药模型, 用苦参碱口服给药4 wk后, 通过流式细胞术

检测小鼠瘤体中多药耐药基因表达产物P170、肺耐药蛋白LRP的含量及拓扑异构酶Ⅱ的活性, 结果发现P170、LRP的表达率和TopoⅡ的活性较给药前均有一定程度的降低, 提示苦参碱逆转肿瘤MDR的作用.

本研究使用OM体外逆转人肝癌细胞株HepG2/ADM的多药耐药性, 观察药物作用效果并初步探讨其细胞及分子生物学机制. 通过MTT系列实验, 我们的实验发现HepG2/ADM细胞株对ADM、CDDP、5-FU 3种化疗药物表现出交叉耐药性, 无细胞毒性作用的OM作用耐药细胞株48 h后, 耐药细胞株对上述3种化疗药物的敏感性均有一定程度的增加. 之后通过相关细胞及分子生物学实验研究, 一方面发现OM作用后HepG2/ADM细胞内耐药相关蛋白P-gp及其相关基因*ABCB1*的表达量均有下调; 另一方面发现HepG2/ADM的早期细胞凋亡率有一定程度的提高且随OM作用时间的延长而逐渐增加. 相关研究表明P-gp是由多药耐药基因*ABCB1*编码的一种跨膜糖蛋白[19]. P-gp分子上含有2个跨膜结构域, 每个跨膜结构域上均有有一个ATP结合位点, 他可以和抗肿瘤药物及疏水亲脂性化合物结合, 通过ATP水解供能, 逆浓度梯度将药物泵出细胞外, 导致细胞内药物浓度降低[20]. 我们由此推测OM的使用抑制了*ABCB1*基因的表达, 降低了细胞膜表面P-gp的表达含量, 导致P-gp的转运功能下降, 减少肿瘤细胞对相关化疗药物的外排作用, 增加细胞内化疗药物浓度, 从而部分逆转了HepG2/ADM的多药耐药性. 我们的实验亦发现OM能部分增加HepG2/ADM细胞株早期细胞凋亡率, 大量相关实验研究发现通过诱导细胞凋亡杀伤肿瘤细胞是众多化疗药物发挥抗癌作用的共同机制, 肿瘤多药耐药的产生多与相应的凋亡调控基因及因子表达失控而引发的凋亡受抑相关[21]. 由此推测OM的使用, 提高了耐药细胞的细胞凋亡率, 从而协助了的相关化疗药物对肿瘤细胞凋亡的诱导作用, 最终降低了HepG2/ADM的多药耐药性. 有研究表明*bcl-2*、突变*p53*、*ras*、*c-fos*、*c-fun*、TNF等细胞凋亡途径上的有关基因和因子都参与了肿瘤MDR的形成[22]. 对于OM与细胞凋亡及肿瘤MDR的关系, 仍需做进一步深入研究. 本实验表明无细胞毒浓度(0.5 mg/mL)的OM能够在体外能部分逆转HepG2/ADM细胞株的多药耐药, 相关分子机制可能与其抑制*ABCB1*基因的表达, 降低了细胞膜表面P-gp的表达含量, 导致P-gp的转运功能下降, 减少肿瘤细胞对化疗药物的外排和增加肝癌耐药细胞的早期凋亡相关. 为提高临床肝癌化疗效果及中药MDR逆转剂的开发和应用提供新思路.

4 参考文献

1 陈建国. 中国肝癌发病趋势和一级预防. 临床肝胆病杂志 2012; 28: 256-260
2 Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 69-90 [PMID: 21296855 DOI: 10.3322/caac.20107]
3 黄赞松, 仇仪英, 周喜汉. 原发性肝癌现代医学治疗的研究进展. 医学综述 2012; 18: 4169-4172
4 Takara K, Sakaeda T, Okumura K. An update on overcoming MDR1-mediated multidrug resistance in cancer chemotherapy. *Curr Pharm Des* 2006; 12: 273-286 [PMID: 16454744 DOI: 10.2174/138161206775201965]
5 Beck WT. The cell biology of multiple drug resistance. *Biochem Pharmacol* 1987; 36: 2879-2887 [PMID: 2888464 DOI: 10.1016/0006-2952(87)90198-5]
6 Krishna R, Mayer LD. Multidrug resistance (MDR) in cancer. Mechanisms, reversal using modulators of MDR and the role of MDR modulators in influencing the pharmacokinetics of anticancer drugs. *Eur J Pharm Sci* 2000; 11: 265-283 [PMID: 11033070 DOI: 10.1016/S0928-0987(00)00114-7]
7 王炜, 黄赞松, 黄衍强, 周喜汉. 中药单体逆转肿瘤多药耐药的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21: 1623-1629
8 黎小妍, 张二红, 刘玉兴, 张平. 肿瘤多药耐药机制及其逆转方案的研究. 中国处方药 2012; 10: 24-27, 30
9 任思璇. 中药逆转肿瘤多药耐药的潜力. 中药与临床 2012; 3: 57-60
10 Chen JG, Zhang SW. Liver cancer epidemic in China: past, present and future. *Semin Cancer Biol* 2011; 21: 59-69 [PMID: 21144900 DOI: 10.1016/j.semcancer.2010.11.002]
11 黄赞松, 周喜汉. 苦参素药理和抗肿瘤作用研究. 医学综述 2009; 15: 1701-1704
12 向发良. 苦参素抗肝癌作用研究. 医学综述 2011; 17: 2992-2995
13 向发良, 黄赞松, 黄衍强, 周喜汉. 苦参素对人肝正常细胞L02影响的实验研究. 右江民族医学院学报 2013; 35: 6-8
14 韦星, 黄赞松, 黄岑汉, 周喜汉, 黄衍强, 邓志华. 苦参素注射液联合顺铂对人肝癌SMMC-7721细胞凋亡相关基因c-myc、bcl-2和bax表达的影响. 山东医药 2012; 52: 12-14
15 韦星, 黄赞松, 黄岑汉, 周喜汉, 黄衍强, 邓志华. 苦参素注射液与顺铂联合对人肝癌细胞SMMC-7721端粒酶活性及wtp53、hTERT mRNA表达的影响. 实用医学杂志 2012; 28: 1759-1761
16 王羚鄙, 于亲德, 李远彬, 徐平声, 赖小平. 苦参碱类生物碱逆转肿瘤多药耐药研究进展. 中南药学 2013; 11: 256-260
17 吴迪炯, 周郁鸿, 朱俊, 赵苇, 钟维君, 王珍, 钱欢, 李睿, 付珊, 孙洁. 苦参碱对急性早幼粒细胞白血病细胞维甲酸耐药的逆转作用研究. 中华血液学杂志 2011; 32: 313-316
18 孙付军, 王宁, 李贵海, 王学荣, 李晓晶, 尹格平. 苦参碱对获得性多药耐药小鼠S180肿瘤细胞基因表达产物P170、LRP及TOPOⅡ表达的影响. 中药材 2004;

27: 838-840
19 Haus-Cohen M, Assaraf YG, Binyamin L, Benhar I, Reiter Y. Disruption of P-glycoprotein anticancer drug efflux activity by a small recombinant single-chain Fv antibody fragment targeted to an extracellular epitope. *Int J Cancer* 2004; 109: 750-758 [PMID: 14999785 DOI: 10.1002/ijc.20037]
20 Goldstein LJ. Clinical reversal of drug resistance. *Curr Probl Cancer* 2005; 19: 65-124 [PMID: 7600845 DOI: 10.1016/S0147-0272(07)80004-3]
21 Kuball J, Hauptrock B, Malina V, Antunes E, Voss RH, Wolfl M, Strong R, Theobald M, Greenberg PD. Increasing functional avidity of TCR-redirected T cells by removing defined N-glycosylation sites in the TCR constant domain. *J Exp Med* 2009; 206: 463-475 [PMID: 19171765 DOI: 10.1084/jem.20082487]
22 孟晓燕, 方凡夫, 顾伟. 细胞凋亡与肝癌多药耐药的研究进展. 陕西肿瘤医学 2009; 7: 1354-1356

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年4月8日; 22(10): 1417-1422
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

研究快报 RAPID COMMUNICATION

改良胆胰转流术对GK大鼠血糖和血脂的影响

林春忠, 徐常国, 冯 苏, 张 斌, 翁山耕

林春忠, 徐常国, 冯苏, 张斌, 翁山耕, 福建医科大学附属第一医院肝胆胰外科 福建省福州市 350005
林春忠, 主治医师, 主要从事肝胆胰脾疾病与糖尿病的外科治疗.
国家自然科学基金资助项目, No. 81341024
福建省自然科学基金资助项目, No. 2010J01152
作者贡献分布: 本课题由翁山耕设计; 由张斌与翁山耕撰写; 研究过程由林春忠、冯苏、徐常国及张斌共同完成; 数据分析由林春忠与张斌完成; 本论文写作由林春忠与张斌完成.
通讯作者: 翁山耕, 教授, 350005, 福建省福州市茶中路20号, 福建医科大学附属第一医院肝胆胰外科. shangeng@sina.com
电话: 0591-87982087
收稿日期: 2014-01-17 修回日期: 2014-02-06
接受日期: 2014-02-19 在线出版日期: 2014-04-08

A new biliopancreatic diversion surgery decreases plasma glucose and lipids in Goto-Kakizaki rats

Chun-Zhong Lin, Chang-Guo Xu, Su Feng, Bin Zhang, Shan-Geng Weng

Chun-Zhong Lin, Chang-Guo Xu, Su Feng, Bin Zhang, Shan-Geng Weng, Department of Hepatopancreatobiliary Surgery, the First Affiliated Hospital of Fujian Medical University, Fuzhou 350005, Fujian Province, China
Supported by: the National Natural Science Foundation of China, No. 81341024; the Fujian Provincial Natural Science Foundation, No. 2010J01152
Correspondence to: Shan-Geng Weng, Professor, Department of Hepatopancreatobiliary Surgery, the First Affiliated Hospital of Fujian Medical University, 20 Chazhong Road, Fuzhou 350005, Fujian Province, China. shangeng@sina.com
Received: 2014-01-17 Revised: 2014-02-06
Accepted: 2014-02-19 Published online: 2014-04-08

Abstract

AIM: To observe the effects of a new biliopancreatic diversion (NBPD) surgery and duodenal-jejunal bypass (DJB) surgery on plasm glucose and lipids in Goto-Kakizaki (GK) rats and investigate the possibility of surgical treatment of diabetes.

METHODS: Thirty rats were randomly and equally divided into a sham operation group, a NBPD group or a DJB group. The NBPD group and the DJB group underwent NBPD and DJB, respectively, and the sham operation group underwent a sham operation. Body weight, random plasma glucose, OGTT and blood lipids were measured before and after surgery.

RESULTS: One week after surgery, random plasma glucose levels decreased from 17.088 mmol/L ± 3.708 mmol/L to 9.200 mmol/L ± 1.000 mmol/L in the NBPD group and from 17.180 mmol/L ± 3.383 mmol/L to 9.620 mmol/L ± 0.794 mmol/L in the DJB group, respectively, and both were significantly lower than those in the sham operation group. Four weeks postoperatively, fasting cholesterol decreased from 3.220 mmol/L ± 0.185 mmol/L to 3.100 mmol/L ± 0.424 mmol/L in the DJB group and from 3.100 mmol/L ± 0.424 mmol/L to 2.550 mmol/L ± 0.691 mmol/L in the NBPD group.

CONCLUSION: DJB and NBPD decrease plasma glucose and lipids in GK rats possibly via mechanisms associated with diversion of biliopancreatic juice that results in incomplete food digestion and absorption and improves lipid metabolism and plasma glucose.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Plasma glucose; Plasma lipids; Goto-Kakizaki rats; Biliopancreatic juice; Biliopancreatic diversion

Lin CZ, Xu CG, Feng S, Zhang B, Weng SG. A new biliopancreatic diversion surgery decreases plasma glucose and lipids in Goto-Kakizaki rats. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(10): 1417-1422 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1417.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i10.1417

摘要

目的: 观察改良胆胰转流术(new biliopancreatic diversion, NBPD)和十二指肠改道术(duodenal-jejunal bypass, DJB)对GK(Goto-Kakizaki)大鼠血糖、血脂等的影响, 探讨手术治疗2型糖尿病的可能机制.

方法: 将30只12周龄♂SPF级GK大鼠随机分为3组, 每组10只, 分别行假手术、NBPD、

■背景资料
2型糖尿病的发病机制尚不明确, 目前内科药物治疗尚无法治愈. 近年来外科手术治疗2型糖尿病的研究风靡全球, 但其机制争论颇多.

■同行评议者
陈积圣, 教授, 中山大学孙逸仙纪念医院肝胆外科

■研发前沿
在我们先前的研究中发现, 仅推迟食物与胆汁和胰液混合的时间及部位同样可以改善GK(Goto-Kakizaki)大鼠的糖耐量, 因此我们认为外科手术术后, 血糖降低的主要因素可能是胆胰液的转流.

DJB. 检测各组术前及术后体质量、随机血糖(random plasma glucose)、空腹血糖(fasting plasma glucose, FPG)、血脂及胰岛素水平.

结果: 术后1 wk, NBPD组、DJB组大鼠随机血糖分别从17.088 mmol/L±3.708 mmol/L、17.180 mmol/L±3.383 mmol/L降至9.200 mmol/L±1.000 mmol/L、9.620 mmol/L±0.794 mmol/L, 明显低于假手术组, 差异均有统计学意义(P<0.05); 术后4 wk, DJB组、NBPD组空腹胆固醇分别从3.220 mmol/L±0.185 mmol/L和3.200 mmol/L±0.278 mmol/L降至3.100 mmol/L±0.424 mmol/L和2.550 mmol/L±0.691 mmol/L, 差异有统计学意义.

结论: DJB和NBPD术式可以降低GK大鼠血糖、血脂, 其原因可能是术后胆胰液的转流造成食物尤其是脂类的消化吸收不完全, 改善了脂代谢, 进而降低血糖.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 血糖; 血脂; GK大鼠; 十二指肠改道术; 胆胰液

核心提示: 本文研究表明胆胰液的转流可能才是外科手术后血糖降低的关键. 其机制可能是胆胰液的转流造成食物尤其是脂类的消化吸收不完全, 改善了脂代谢, 降低了血糖.

林春忠, 徐常国, 冯苏, 张斌, 翁山耕. 改良胆胰转流术对GK大鼠血糖和血脂的影响. 世界华人消化杂志 2014; 22(10): 1417-1422
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1417.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i10.1417

0 引言

胃旁路手术(roux-en-Y gastric bypass, RYGB)可以治疗2型糖尿病, 这已经得到了国际糖尿病联盟、美国糖尿病协会的认可[1], 然而现有的研究结果并不能解释其机制.

在我们先前的研究中发现, 不减少胃容量, 不改变消化途径, 仅推迟食物与胆汁和胰液混合的时间及部位同样可以改善GK(Goto-Kakizaki)大鼠的糖耐量[2], 现在被大多数学者认可的肠道假说似乎不能完全的解释这一结果[3,4]. 因此我们认为外科手术术后, 血糖降低的主要因素可能是胆胰液的转流. 所以我们设计这一课题, 对GK大鼠行改良胆胰转流术(new biliopancreatic diversion, NBPD)及十二指肠改道术(duodenal-jejunal bypass, DJB), 观察手术前后大鼠血糖、血脂及胰岛素的变化, 探讨外科手术治疗2型糖尿病的可能机制.

1 材料和方法

1.1 材料 10周龄♂GK大鼠30只, 上海斯莱克实验动物有限公司提供, 实验动物证号[SCXK(沪)2007-0005]. 体质量290-320 g, 饲养于福建医科大学实验动物中心屏障系统. 大鼠胰岛素(insulin)ELISA试剂盒(美国Alpco公司). 大鼠肠抑胃肽(gastric inhibitory polypeptide, GIP)ELISA试剂盒(德国DRG公司), 大鼠胰高血糖样肽-1(glucagon-like peptide-1, GLP-1)ELISA试剂盒(德国DRG公司), 七氟醚(福建医科大学附属第一医院麻醉科提供).

1.2 方法

1.2.1 分组: 动物自由进水, 喂食5%脂肪饲料, 每天20-25 g. 2 wk后, 随机分为DJB手术组、NBPD手术组、假手术组, 每组10只.

1.2.2 手术: 各组大鼠均在12 wk龄时行手术, 术前1 d禁食, 不禁饮. 使用七氟醚吸入麻醉. DJB手术组, 于幽门下0.5 cm处切断十二指肠, 远端封闭; 在距Treitz韧带10 cm处切断空肠, 远端空肠与近端十二指肠做端端吻合, 近端空肠在距Treitz韧带以远20 cm处与空肠做端侧吻合[5]; NBPD手术组, 在胆肠汇合点处肠管的近端0.5 cm处横断十二指肠, 远端封闭; 胆肠汇合点远端0.5 cm处横断十二指肠, 将近端十二指肠与远端十二指肠吻合, 并将胆肠汇合点1 cm肠管与距Treitz韧带20 cm处肠管行端侧吻合[6]; 假手术组, 在幽门下0.5 cm处切断十二指肠后原位缝合.

1.2.3 体质量测量: 使用电子体质量测量仪, 测量术前1 wk及术后12 wk各组大鼠的体质量, 测量选择清晨空腹时.

1.2.4 空腹血糖测量: 使用罗氏活力型一键式微量血糖仪. 取大鼠尾静脉血, 测量术前1 wk及术后12 wk禁食12 h后清晨空腹血糖.

1.2.5 随机血糖测量: 使用罗氏活力型一键式微量血糖仪. 取大鼠尾静脉血, 测量术前1 wk及术后第1、12周非禁食状态下的血糖.

1.2.6 血脂检测: 分别于术前2 wk及术后4 wk大鼠禁食12 h后清晨空腹、术前1 wk及术后12 wk正常饮食状态下, 取眶静脉血, 生化管收集血液, 离心收集上清液, 送福建医科大学附属第一医院检验科检测血清甘油三酯、胆固醇、游离脂肪酸含量.

表 1 各组大鼠手术前后体质量及空腹血糖变化 (mean ± SD)

指标	DJB组		NBPD组		假手术组	
	术前1 wk	术后12 wk	术前1 wk	术后12 wk	术前1 wk	术后12 wk
体质量(g)	319.820 ± 12.508	326.375 ± 8.105	301.310 ± 22.097	366.356 ± 19.553[ac]	315.120 ± 13.064	373.371 ± 19.678[ac]
空腹血糖(mmol/L)	6.790 ± 0.693	6.842 ± 0.489	6.950 ± 0.474	6.400 ± 1.058	6.550 ± 0.481	6.550 ± 1.109

[a]*P*<0.05 *vs* 术前; [c]*P*<0.05 *vs* DJB组. NBPD: 改良胆胰转流术; DJB: 十二指肠改道术.

表 2 各组大鼠手术前后随机血糖值 (mean ± SD, mmol/L)

	术前1 wk	术后1 wk	术后12 wk
DJB组	17.088 ± 3.708	9.200 ± 1.000[ac]	11.763 ± 1.586[ac]
NBPD组	17.180 ± 3.383	9.620 ± 0.794[ac]	13.211 ± 2.312[ac]
假手术组	16.771 ± 1.660	14.471 ± 2.531	17.500 ± 1.860

[a]*P*<0.05 *vs* 术前; [c]*P*<0.05 *vs* 假手术组. NBPD: 改良胆胰转流术; DJB: 十二指肠改道术.

表 3 各组大鼠手术前后空腹血脂的变化 (mean ± SD)

指标	DJB组		NBPD组		假手术组	
	术前2wk	术后4wk	术前2wk	术后4wk	术前2wk	术后4wk
胆固醇(mmol/L)	3.220 ± 0.185	2.450 ± 0.424[ac]	3.200 ± 0.278	2.550 ± 0.691[ac]	3.415 ± 0.291	3.125 ± 0.267
甘油三酯(mmol/L)	0.660 ± 0.049	1.569 ± 0.612[ac]	0.737 ± 0.200	1.329 ± 0.716[ac]	0.792 ± 0.077	0.754 ± 0.236
游离脂肪酸(μEq/L)	630.000 ± 66.216	670.333 ± 129.421[c]	762.167 ± 214.440	697.667 ± 103.774[c]	627.052 ± 371.840	994.667 ± 257.817

[a]*P*<0.05 *vs* 术前; [c]*P*<0.05 *vs* 假手术组. NBPD: 改良胆胰转流术; DJB: 十二指肠改道术.

1.2.7 血浆胰岛素的测量: 术前2 wk及术后6 wk, 禁食12 h后, 眶静脉取血, 3000 r/min在4 ℃离心10 min, 分离后的血浆保存在-80 ℃冰箱中待测量. 测量使用大鼠胰岛素试剂盒.

1.2.8 血浆GIP、GLP-1的测量: 术前1 wk及术后10 wk, 非禁食状态下，眶静脉取血, 3000 r/min在4 ℃离心10 min, 分离后的血浆保存在-80 ℃冰箱中待测量. 测量使用大鼠GIP试剂盒及大鼠GLP-1试剂盒.

统计学处理 用SPSS17.0软件行统计学分析, 数据以mean±SD表示. *P*<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

术后12 wk, 各组大鼠无死亡.

2.1 体质量 术后12 wk, 假手术组、NBPD组大鼠体质量与术前相比, 均有增多, 且均高于DJB组; DJB组大鼠体质量与术前相比无明显增多(表1).

2.2 空腹血糖 术后12 wk, 3组大鼠空腹血糖与术前对比差别无统计学意义, 3组间相互比较差别无统计学意义(表1).

2.3 随机血糖 术后1 wk, DJB组和NBPD组大鼠的随机血糖明显低于假手术组, 差别有统计学意义. 术后12 wk, DJB组与NBPD组大鼠随机血糖仍低于假手术组, 差别有统计学意义. 假手术组手术前后随机血糖差别无统计学意义(表2).

2.4 空腹胆固醇 术后4 wk, DJB组与NBPD组大鼠空腹胆固醇与术前相比降低, 差别有统计学意义. 假手术组大鼠空腹胆固醇手术前后差别无统计学意义(表3).

2.5 空腹甘油三酯 术后4 wk, DJB组与NBPD组大鼠空腹甘油三酯与术前相比上升, 差别有统

■相关报道

胃旁路术治疗2型糖尿病已得到美国糖尿病协会的认可, Madeleine Speck的文章指出胃旁路术后血糖恢复的原因可能与GLP-1升高有关.

■创新盘点
分别对GK大鼠行不同的术式, 观察血糖、血脂、胃肠道激素等的变化情况, 探讨外科手术治疗2型糖尿病的可能机制.

表 4 各组大鼠手术前后餐后血脂的变化(mean ± SD)

指标	DJB组		NBPD组		假手术组	
	术前1 wk	术后12 wk	术前1 wk	术后12 wk	术前1 wk	术后12 wk
胆固醇(mmol/L)	2.960 ± 0.546	1.808 ± 0.274[ac]	3.045 ± 0.450	2.242 ± 0.249[ac]	3.077 ± 0.406	2.797 ± 0.199
甘油三酯(mmol/L)	1.335 ± 0.512	0.692 ± 0.151[ac]	1.268 ± 0.472	0.548 ± 0.105[ac]	1.412 ± 0.548	1.135 ± 0.594
游离脂肪酸(μEq/L)	221.000 ± 29.766	233.167 ± 70.652	224.500 ± 54.265	225.000 ± 72.807	253.833 ± 55.683	279.000 ± 92.326

[a]*P*<0.05 *vs* 术前; [c]*P*<0.05 *vs* 假手术组. NBPD: 改良胆胰转流术; DJB: 十二指肠改道术.

表 5 各组大鼠手术前后血浆胰岛素值 (mean ± SD, ng/mL)

分组	术前2 wk	术后6 wk
DJB组	0.372 ± 0.023	0.542 ± 0.055[c]
NBPD组	0.375 ± 0.023	0.476 ± 0.068[c]
假手术组	0.390 ± 0.050	0.724 ± 0.192[a]

[a]*P*<0.05 *vs* 术前; [c]*P*<0.05 *vs* 假手术组. NBPD: 改良胆胰转流术; DJB: 十二指肠改道术.

计学意义. 假手术组大鼠空腹甘油三酯手术前后差别无统计学意义(表3).

2.6 空腹游离脂肪酸 术后4 wk, DJB组与NBPD组大鼠血清游离脂肪酸与假手术组相比降低, 差别有统计学意义. 假手术组大鼠血清游离脂肪酸手术前后差别无统计学意义(表3).

2.7 餐后胆固醇 术后12 wk, DJB组与NBPD组大鼠餐后胆固醇为与假手术组相比降低, 差别有统计学意义; 假手术组大鼠餐后胆固醇手术前后差别无统计学意义(表4).

2.8 餐后甘油三酯 术后12 wk, DJB组与NBPD组餐后甘油三酯与假手术组相比降低, 差别有统计学意义; 假手术组大鼠手术前后餐后甘油三酯差别无统计学意义(表4).

2.9 餐后游离脂肪酸 术后12 wk, 3组大鼠餐后游离脂肪酸值术前相比, 差别无统计学意义(表4).

2.10 血浆胰岛素 术后6 wk, DJB组与NBPD组大鼠空腹血浆胰岛素低于假手术组, 差别有统计学意义; 假手术组大鼠空腹血清胰岛素与术前相比升高, 差别有统计学意义(表5).

2.11 随机GIP、GLP-1 术后10 wk, 假手术组大鼠随机GIP较术前相比, 差别无统计学意义; DJB手术组及NBPD组大鼠随机GIP较术前升高, 差别有统计学意义. 假手术组与DJB组大鼠GLP-1较术前相比降低, 差别有统计学意义; NBPD组大鼠GLP-1较术前相比, 差别亦无统计学意义(图1, 图2).

3 讨论

近年来, RYGB等减肥手术治疗2型糖尿病的效果已被大量临床及基础实验证实[4,7-11]. 然而对其机制目前尚无明确定论.

我们先前的实验已证实了仅转流胆胰液不改变消化系途径就能改善GK大鼠的糖耐量[2]. 本实验对GK大鼠检测的血糖值结果显示, 术后1 wk NBPD组及DJB组大鼠随机血糖明显降低, 同样证实了仅胆胰液的转流就能够改善GK大鼠的随机血糖.

2型糖尿病常常合并脂代谢异常, 脂代谢异常为糖尿病及其并发症的原发病理生理改变. DJB和NBPD术式都有胆胰液的转流, 胆胰液是重要的消化液, 这必然影响食物尤其是脂类的消化吸收, 术后脂代谢异常可能得到改善.

胆固醇的吸收主要来源于胆汁[12], 其消化吸收受胆胰液的影响较大. 本实验对胆固醇检测的数据显示, DJB组和NBPD组术后, 空腹及餐后血清胆固醇较术前降低, 并明显低于假手术组. 这可能是由于术后胆胰液的转流影响了餐后胆固醇的吸收, 长期的胆固醇吸收减少, 体内的胆固醇水平也相应地下降, 相应的空腹状态下胆固醇水平也下降.

游离脂肪酸(free fatty acid, FFA)是血脂中的重要成分, 他与2型糖尿病的发生发展密切相关, 有研究表明2型糖尿病患者的FFA再酯化减弱[13]. 由于FFA对胰岛细胞有毒害作用, 并会增加胰岛素抵抗, 因此降低FFA浓度被认为是治疗2型糖尿病的一个关键[14]. 空腹状态下, FFA由TG分解产生, 受胰岛素的调控参与供能, 而餐后供能主要是葡萄糖, FFA生成减少, 因此空腹FFA的影响

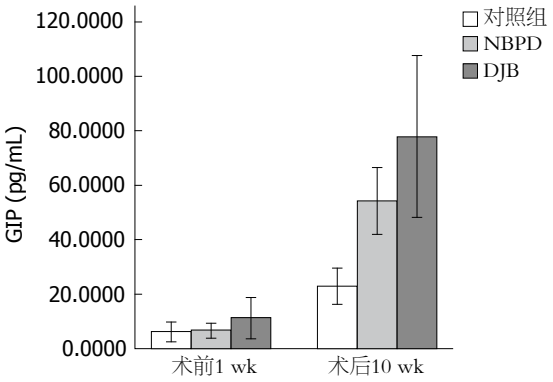


图 1 手术前后随机GIP变化图. GIP: 抑胃肽; NBPD: 改良胆胰转流术; DJB: 十二指肠改道术.

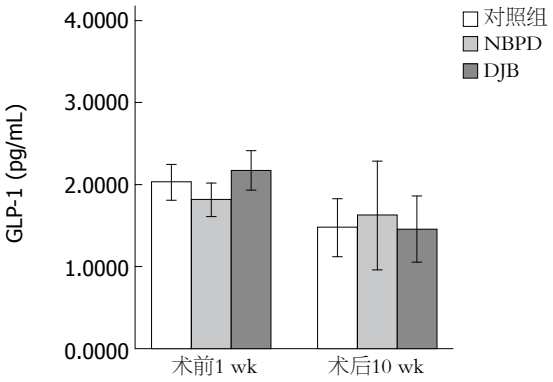


图 2 手术前后随机GLP-1变化图. NBPD: 改良胆胰转流术; DJB: 十二指肠改道术; GLP-1: 胰高血糖样肽-1.

■同行评价

本文在前期研究基础上, 设计改良胆胰转流术, 比较术前后血糖、血脂、胰岛素改变, 以探讨根治2型糖尿病的机制, 有重要参考意义.

更为突出[15]. 本实验结果显示, 术后4 wk, DJB组和NBPD组空腹FFA水平小于假手术组. 这可能与TG分解减少及FFA再酯化增加有关, 而TG的分解减少及FFA再酯化增加都与胰岛素敏感性增高有关.

TG餐后作为一种能源储备, 空腹时又被分解参与供能, 同样也是反映血脂的重要指标. 本实验结果显示, 术后6 wk起, DJB组和NBPD组餐后TG较术前降低, 并明显小于假手术组, 但两组之间无差异. 这可能是由于胆胰液与食物相作用的时间减少及肠道缩短, 引起TG消化产物(FFA+甘油三酯)吸收减少, 进而导致餐后TG合成储存就减少. 而DJB组在降低餐后TG方面并不优于NBPD组, 那么上段肠道的旷置可能不是降低餐后TG的主要因素, 而胆胰液的转流才是关键. 然而, 令人不解的是, 本实验结果中NPBD组及DJB组大鼠术后空腹TG水平明显高于假手术组, 且高于餐后TG水平. 对此我们推测可能是由于术后胰岛素敏感性增加, 空腹TG分解减少及FFA再酯化增加, 从而导致血中的TG水平升高.

总之, DJB组和NBPD组术后, 空腹FFA、餐后TG及胆固醇都降低, 脂代谢紊乱可能得到改善, 从而改善胰岛素抵抗, 增强胰岛素的敏感性. 胰岛素敏感性增强可以减少空腹状态下TG分解生成FFA, 降低的游FFA又可以减弱对胰岛细胞的损害, 从而改善胰岛素的敏感性, 形成一种良性的循环[16]. 胰岛素的敏感性的增强, 可以增强体内的糖利用, 进而可以降低血糖. 因此, RYGB等减肥术后, 胆胰液的转流可能才是血糖降低的关键. 其机制可能是胆胰液的转流造成食物尤其是脂类的消化吸收不完全, 改善了脂代谢, 降低了血糖.

此外, 本实验结果显示DJB组及NBPD组大鼠术后, 餐后GIP水平升高, DJB组大鼠餐后GLP-1水平降低, 这与Speck等[17]的研究不同. 目前多数学者都认为GIP能够促进胰岛素分泌, 但有研究表明这一功能在2型的患者身上减弱[18]. 而GIP能够抑制胃排空这一功能被多数人忽略, 有研究表明, 糖尿病大鼠的胃排空加快[19], GIP有抑制胃排空的作用, 餐后GIP水平升高导致GK大鼠术后胃排空减慢, 这可能造成餐后血糖的降低. GLP-1的分泌主要来源于食物对肠道的刺激[20], 由于胃排空的减慢, 食物进入末段回肠的时间延后, 可能导致餐后GLP-1的分泌减少.

4 参考文献

1 American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes--2010. *Diabetes Care* 2010; 33 Suppl 1: S11-S61 [PMID: 20042772 DOI: 10.2337/dc10-S011]
2 Weng SG, Zhang B, Feng S, Xu CG, Lin CZ. Effects of modified biliopancreatic diversion on glucose tolerance of GK rats. *Obes Surg* 2013; 23: 522-530 [PMID: 23207830 DOI: 10.1007/s11695-012-0830-x]
3 Mason EE. Ileal [correction of ilial] transposition and enteroglucagon/GLP-1 in obesity (and diabetic?) surgery. *Obes Surg* 1999; 9: 223-228 [PMID: 10484306 DOI: 10.1381/096089299765553070]
4 Patriti A, Aisa MC, Annetti C, Sidoni A, Galli F, Ferri I, Gullà N, Donini A. How the hindgut can cure type 2 diabetes. Ileal transposition improves glucose metabolism and beta-cell function in Goto-kakizaki rats through an enhanced Proglucagon gene expression and L-cell number. *Surgery* 2007; 142: 74-85 [PMID: 17630003 DOI: 10.1016/j.surg.2007.03.001]
5 Rubino F, Marescaux J. Effect of duodenal-jejunal exclusion in a non-obese animal model of type 2 diabetes: a new perspective for an old disease. *Ann Surg* 2004; 239: 1-11 [PMID: 14685093 DOI: 10.1097/01.sla.0000102989.54824.fc]
6 Weng SG. Modified biliopancreatic diversion for GK rats: a proposal for a simpler technique and

mechanism research. *Obes Surg* 2012; 22: 997-998 [PMID: 22477054 DOI: 10.1007/s11695-012-0638-8]
7 Buchwald H, Estok R, Fahrbach K, Banel D, Jensen MD, Pories WJ, Bantle JP, Sledge I. Weight and type 2 diabetes after bariatric surgery: systematic review and meta-analysis. *Am J Med* 2009; 122: 248-256.e5 [PMID: 19272486]
8 Pories WJ, Swanson MS, MacDonald KG, Long SB, Morris PG, Brown BM, Barakat HA, deRamon RA, Israel G, Dolezal JM. Who would have thought it? An operation proves to be the most effective therapy for adult-onset diabetes mellitus. *Ann Surg* 1995; 222: 339-350; discussion 350-352 [PMID: 7677463 DOI: 10.1097/00000658-199509000-00011]
9 Buchwald H, Oien DM. Metabolic/bariatric surgery Worldwide 2008. *Obes Surg* 2009; 19: 1605-1611 [PMID: 19885707 DOI: 10.1007/s11695-009-0014-5]
10 Buchwald H, Avidor Y, Braunwald E, Jensen MD, Pories W, Fahrbach K, Schoelles K. Bariatric surgery: a systematic review and meta-analysis. *JAMA* 2004; 292: 1724-1737 [PMID: 15479938 DOI: 10.1001/jama.292.14.1724]
11 Sjöström L, Lindroos AK, Peltonen M, Torgerson J, Bouchard C, Carlsson B, Dahlgren S, Larsson B, Narbro K, Sjöström CD, Sullivan M, Wedel H. Lifestyle, diabetes, and cardiovascular risk factors 10 years after bariatric surgery. *N Engl J Med* 2004; 351: 2683-2693 [PMID: 15616203 DOI: 10.1056/NEJMoa035622]
12 Pakarinen M, Miettinen TA, Lauronen J, Kuusanmäki P, Raivio P, Kivistö T, Halttunen J. Adaptation of cholesterol absorption after proximal resection of porcine small intestine. *J Lipid Res* 1996; 37: 1766-1775 [PMID: 8864961]
13 Taskinen MR, Bogardus C, Kennedy A, Howard BV. Multiple disturbances of free fatty acid metabolism in noninsulin-dependent diabetes. Effect of oral hypoglycemic therapy. *J Clin Invest* 1985; 76: 637-644 [PMID: 3897287 DOI: 10.1172/JCI112016]
14 Deng YT, Chang TW, Lee MS, Lin JK. Suppression of free fatty acid-induced insulin resistance by phytopolyphenols in C2C12 mouse skeletal muscle cells. *J Agric Food Chem* 2012; 60: 1059-1066 [PMID: 22191431 DOI: 10.1021/jf204496f]
15 Frayn KN. Non-esterified fatty acid metabolism and postprandial lipaemia. *Atherosclerosis* 1998; 141 Suppl 1: S41-S46 [PMID: 9888641 DOI: 10.1016/S0021-9150(98)00216-0]
16 Boden G. Does inhibition of β-cell proliferation by free fatty acid in mice explain the progressive failure of insulin secretion in type 2 diabetes? *Diabetes* 2012; 61: 560-561 [PMID: 22354929 DOI: 10.2337/db11-1613]
17 Speck M, Cho YM, Asadi A, Rubino F, Kieffer TJ. Duodenal-jejunal bypass protects GK rats from {beta}-cell loss and aggravation of hyperglycemia and increases enteroendocrine cells coexpressing GIP and GLP-1. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2011; 300: E923-E932 [PMID: 21304061 DOI: 10.1152/ajpendo.00422.2010]
18 Nauck MA, Heimesaat MM, Orskov C, Holst JJ, Ebert R, Creutzfeldt W. Preserved incretin activity of glucagon-like peptide 1 [7-36 amide] but not of synthetic human gastric inhibitory polypeptide in patients with type-2 diabetes mellitus. *J Clin Invest* 1993; 91: 301-307 [PMID: 8423228 DOI: 10.1172/JCI116186]
19 Young AA, Gedulin B, Vine W, Percy A, Rink TJ. Gastric emptying is accelerated in diabetic BB rats and is slowed by subcutaneous injections of amylin. *Diabetologia* 1995; 38: 642-648 [PMID: 7672483 DOI: 10.1007/BF00401833]
20 Brubaker PL. The glucagon-like peptides: pleiotropic regulators of nutrient homeostasis. *Ann N Y Acad Sci* 2006; 1070: 10-26 [PMID: 16888147 DOI: 10.1196/annals.1317.006]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年4月8日; 22(10): 1423-1430
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

研究快报 RAPID COMMUNICATION

5'–Aza–CdR对HT–29和LoVo结直肠癌细胞株中*CDX2*基因甲基化状态、mRNA表达及蛋白表达的影响

许春伟, 葛 畅, 王鲁平, 方 园, 张玉萍

许春伟, 葛畅, 王鲁平, 方园, 张玉萍, 中国人民解放军北京军区总医院病理科 北京市 100700
许春伟, 助理研究员, 主要从事胃肠道肿瘤的临床与基础研究.
首都卫生发展科研专项基金资助项目, No. 2011–5021–02
作者贡献分布: 主要实验、资料分析、统计及文章撰写由许春伟完成; 研究设计、文章修改及审阅由王鲁平完成; 资料分析、样本处理及生物信息学分析由葛畅、方园及张玉萍完成.
通讯作者: 王鲁平, 教授, 研究员, 主任医师, 博士生导师, 100700, 北京市东城区东四十条南门仓5号, 中国人民解放军北京军区总医院病理科. bzwlp@yahoo.com
收稿日期: 2014–01–27 修回日期: 2014–02–21
接受日期: 2014–02–28 在线出版日期: 2014–04–08

Effect of 5'-Aza-2' -deoxycytidine on methylation, mRNA and protein expression of *CDX2* gene in colorectal cancer HT-29 and LoVo cells

Chun-Wei Xu, Chang Ge, Lu-Ping Wang, Yuan Fang, Yu-Ping Zhang

Chun-Wei Xu, Chang Ge, Lu-Ping Wang, Yuan Fang, Yu-Ping Zhang, Department of Pathology, the Military General Hospital of Beijing PLA, Beijing 100700, China
Supported by: the Capital Health Development Research Fund, No. 2011-5021-02
Correspondence to: Lu-Ping Wang, Professor, Researcher, Chief Physician, Department of Pathology, the Military General Hospital of Beijing PLA, 5 Nanmencang, Dongsishitiao Street, Dongcheng District, Beijing 100700, China. bzwlp@yahoo.com
Received: 2014-01-27 Revised: 2014-02-21
Accepted: 2014-02-28 Published online: 2014-04-08

Abstract

AIM: To investigate the effect of 5′-Aza-2′-deoxycytidine (5′-Aza-CdR), a methylation inhibitor, on the methylation, mRNA and protein expression of the *CDX2* gene in colorectal ancer cell lines HT-29 and LoVo.

METHODS: HT-29 and LoVo cells were treated with different dosages of 5′-Aza-CdR. After treatment, *CDX2* gene methylation was determined by Methylight assay, and CDX2 mRNA and protein expression was detected by real-time PCR and Western blot, respectively.

RESULTS: Methylight assay showed that *CDX2* gene methylation was not reversed by 5′-Aza-CdR. The expression levels of CDX2 mRNA were increased in both HT-29 (1.000 ± 0.000, 0.973 ± 0.024, 1.014 ± 0.019 and 1.094 ± 0.020, respectively) and LoVo cells (1.000 ± 0.000, 0.966 ± 0.038, 1.050 ± 0.029 and 1.007 ± 0.019, respectively) cells treated with 5′-Aza-CdR for different durations. Western blot analysis indicated that 5′-Aza-CdR treatment could recover the CDX2 protein expression in both HT-29 (0.454 ± 0.049, 0.501 ± 0.041, 0.340 ± 0.050 and 0.531 ± 0.046, respectively) and LoVo (0.527 ± 0.037, 0.415 ± 0.037, 0.432 ± 0.040 and 0.626 ± 0.046, respectively) cells. The effect of 5′-Aza-CdR on CDX2 mRNA and protein expression was not dose- or time-dependent, but the expression levels of CDX2 mRNA and protein differed significantly in HT-29 (mRNA: $F = 25.146$, $P = 0.000$; protein: $F = 9.700$, $P = 0.005$) and LoVo cells (mRNA: $F = 5.470$, $P = 0.024$; protein: $F = 17.701$, $P = 0.001$).

CONCLUSION: CDX2 mRNA and protein expression is not affected by DNA methylation in HT-29 and LoVo cells.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: DNA methylation; 5′-Aza-2'-deoxycytidine; HT-29; LoVo; *CDX2* gene

Xu CW, Ge C, Wang LP, Fang Y, Zhang YP. Effect of 5′-Aza-2′-deoxycytidine on methylation, mRNA and protein expression of *CDX2* gene in colorectal cancer HT-29 and LoVo cells. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(10): 1423-1430 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1423.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i10.1423

摘要

目的: 探讨甲基化酶抑制剂5'-氮杂-2'-脱氧胞苷(5'-Aza-2'-deoxycytidine, 5'-Aza-CdR)对结直肠癌细胞株HT-29和LoVo中*CDX2*基因甲基化水平、mRNA及蛋白表达的影响.

■**背景资料**
*CDX2*基因的表达随结直肠癌的进展而下降, 尤其是在肿瘤广泛浸润至转移的过程中, 但*CDX2*基因在结直肠癌细胞株的甲基化情况目前尚缺乏系统研究. 本研究拟选用甲基化酶抑制剂5'-氮杂-2'-脱氧胞苷(5'-Aza-2'-deoxycytidine, 5'-Aza-CdR)检测其对结直肠癌细胞株HT-29和LoVo中*CDX2*基因甲基化水平及蛋白表达的影响并在DNA层面、mRNA层面和蛋白3个层面探讨了肿瘤发生发展过程中*CDX2*基因失活的甲基化机制及药物恢复*CDX2*基因表达的可能性, 结果表明结直肠癌细胞株HT-29和LoVo中*CDX2*基因mRNA和蛋白表达不受DNA甲基化的表观遗传修饰调控.

■**同行评议者**
李正荣, 副教授, 副主任医师,南昌大学附属第一医院胃肠外科(普六病区); 卢宁, 副主任医师, 兰州军区乌鲁木齐总医院肿瘤科

■研发前沿
国内王鲁平教授团队在结直肠锯齿状病变组织研究中发现组织中*CDX2*基因启动子中上游区域甲基化状态比较复杂，极少部分甲基化状态可能有诱导CDX2蛋白表达下调，在锯齿状通路的发生发展中影响作用也甚微；大部分甲基化可能随着年龄增加而逐渐增加.

方法: 用不同浓度5'-Aza-CdR处理结直肠癌细胞株HT-29和LoVo. 应用TaqMan探针为基础的实时定量PCR(Methylight)方法、SYBR Green PCR方法及蛋白印迹实验(Western blot)检测药物处理前后HT-29和LoVo细胞中*CDX2*基因的甲基化状态、mRNA和蛋白表达.

结果: Methylight检测HT-29和LoVo细胞中CDX2蛋白在药物作用异常甲基化未得到逆转; 实时荧光定量PCR和Western blot检测到0.5、1.0、1.5 μmol/L 5'-Aza-CdR处理后*CDX2*基因mRNA和蛋白重新表达, 实时荧光定量PCR检测对照组和不同浓度实验组在HT-29细胞株mRNA相对表达量分别为1.000±0.000、0.973±0.024、1.014±0.019和1.094±0.020; 在LoVo细胞株相对表达量分别为1.000±0.000、0.966±0.038、1.050±0.029和1.007±0.019. Western blot检测CDX2蛋白在对照组和不同浓度实验组中HT-29细胞株相对表达量分别为0.454±0.049、0.501±0.041、0.340±0.050和0.531±0.046; LoVo细胞株相对表达量分别为0.527±0.037、0.415±0.037、0.432±0.040和0.626±0.046. 以上作用无时间、剂量依赖性, 但*CDX2*基因mRNA在HT-29细胞株表达(F = 25.146, P = 0.000)和LoVo细胞株表达(F = 5.470, P = 0.024)具有统计学差异, CDX2蛋白表达在HT-29细胞株表达(F = 9.700, P = 0.005)和LoVo细胞株表达(F = 17.701, P = 0.001)亦具有统计学差异.

结论: 结直肠癌细胞株HT-29和LoVo中*CDX2*基因mRNA和蛋白表达不受中DNA甲基化的表观遗传修饰的调控.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: DNA甲基化; 5'-氮杂-2'-脱氧胞苷; HT-29; LoVo; *CDX2*基因

核心提示: 提示不同组织肿瘤中CDX2(caudal type homeobox transcription factor 2)表达有异质性, CDX2在CRC中与食管癌和胃癌中的沉默机制不同, 结直肠癌细胞株HT-29和LoVo中*CDX2*基因mRNA和蛋白表达不受中DNA甲基化的表观遗传修饰的调控.

许春伟, 葛畅, 王鲁平, 方园, 张玉萍. 5'-Aza-CdR对HT-29和LoVo结直肠癌细胞株中*CDX2*基因甲基化状态、mRNA表达及蛋白表达的影响. 世界华人消化杂志 2014; 22(10): 1423-1430
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1423.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i10.1423

0 引言

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)作为最常见恶性肿瘤之一, 其发病率仅位于肺癌和前列腺癌(女性为乳腺癌)之后, 居第3位, 而每年CRC病死率约占全部恶性肿瘤死亡总人数的8%, 在恶性肿瘤死因中居第4位[1]. CRC的发生与发展与癌基因和抑癌基因的缺失、扩增或突变有关. 有些基因在染色质水平上发生表型遗传修饰改变也会导致表达下调. 表型遗传修饰最多见的是CpG岛(CpG island)的甲基化改变. CDX2(caudal type homeobox transcription factor 2)是胃肠胚胎遗传通路中的一种特异性的核转录因子, 基因定位于人类染色体13q12-13, 全长22-23 kb, 由3个外显子和2个内含子构成, 与之对应的CDX2蛋白包含311个单氨基酸, 通过螺旋环-螺旋的方式结合于DNA的相应区域, 以转录因子的形式调节DNA的表达. *CDX2*基因对维持肠道细胞的正常发育、调节肠道细胞增殖、分化和凋亡起重要作用[2]. *CDX2*基因的表达随CRC的进展而下降, 尤其是在肿瘤广泛浸润至转移的过程中[3]. 研究表明CDX2表达下调并不是由于染色体的缺失或基因突变引起[4,5], CDX2表达可抑制CRC细胞的浸润和播散, 近年来被认为是肿瘤抑制基因[6,7]. 本实验通过研究5'-氮杂-2'-脱氧胞苷(5'-Aza-2'-deoxycytidine, 5'-Aza-CdR)对HT-29和LoVo细胞株作用后*CDX2*基因的DNA层面、mRNA层面和蛋白层面的改变进行初步探究, 探讨肿瘤发生发展过程中*CDX2*基因失活的甲基化机制及药物恢复*CDX2*基因表达的可能性, 以期寻找CRC的肿瘤标志物及新的治疗靶点.

1 材料和方法

1.1 材料 结直肠癌细胞株HT-29和LoVo(北大医学部107实验室); DNA提取试剂盒(德国QIAGEN公司); 核酸蛋白质浓度测量仪B-500(上海创萌生物科技有限公司), DNA甲基化修饰试剂盒及甲基化阳性/阴性对照(美国ZYMO公司); qPCR反应试剂ROX(TaKaRa公司); Mix(上海辉睿生物科技有限公司); Mx3000P定量PCR扩增仪(美国Stratagene公司); 引物由生工生物工程(上海)有限公司合成; 5'-Aza-CdR(美国Sigma公司), 以DMSO溶剂充分溶解后配制成0.1 μmol/L的母液, 分装后-80 ℃保存; CDX2和内参β-actin(英国Abcam公司), Western blot相关试剂

(北京索莱宝科技有限公司).

1.2 方法

1.2.1 细胞培养和干预: 结直肠癌细胞株HT-29和LoVo置于10%胎牛血清和100 μmol/mL青霉素、链霉素的RPMI 1640的培养基中常规培养, 胰酶消化传代. 取贴壁生长良好的细胞以RPMI 1640调整细胞密度至2×10^6/mL, 接种于六孔培养板. 干预的LoVo和HT-29细胞分别加入0.5、1.0、1.5 μmol/L 5'-Aza-CdR混合培养液, 每24 h更换新鲜培养基, 连续作用72 h; 以HT-29和LoVo分别加入等量DMSO溶剂培养作为对照.

1.2.2 Methylight: 取对数生长期的HT-29和LoVo细胞株, 胰酶消化后抽提DNA. 抽提DNA按DNA提取试剂盒(德国QIAGEN公司)说明提取上述两种细胞不同浓度梯度的细胞DNA, 用紫外分光光度仪(上海创萌生物科技有限公司)测DNA浓度, 以DNA浓度在25 ng/μL为最低浓度, 使用DNA修饰试剂盒进行亚硫酸氢盐修饰, 按照试剂盒说明书操作, *CDX2*基因甲基化引物按文献设计[8], 上游引物: 5'-AAACTACGCACTACTCTAAACGAAA-3'; 下游引物: 5'-GTAGTTATAGTTTGGCGGGGTTTG-3'; 探针: FAM 5'-CGACAACCTACGCCTAACCGACCTC-3' BHQ1, 内参*β-actin*基因甲基化引物按文献设计[9], 上游引物: 5'-TGGTCATCCAGGTTTAGTAACT-3', 下游引物: 5'-AACCAATAAACCTACTCCTCCCTTAA-3', 探针: FAM 5'-ACCACCACCCAACACACAATAACAAACACA-3' BHQ1. PCR反应总体系为20 μL, 2×Taq PCR Master Mix 10 μL; 修饰后的DNA模板2 μL; 上、下游引物各1 μL(10 pmol); 探针FAM 0.4 μL(10 pmol); ROX 0.3 μL. 反应条件: 94 ℃预变性5 min; 94 ℃ 30 s, 56 ℃ 45 s, 72 ℃ 45 s, 共50个循环; 72 ℃延伸5 min, 4 ℃冷却5 min. 经亚硫酸氢盐修饰的Human Methylated & Non-methylated DNA Set作为阳性、阴性对照, 水为空白对照.

1.2.3 实时荧光定量PCR分析结直肠癌细胞株HT-29和LoVo中*CDX2*基因mRNA的表达情况: 取对数生长期的HT-29和LoVo细胞, 胰酶消化后抽提细胞总RNA, 逆转录合成cDNA, 行实时荧光定量PCR. *CDX2*基因引物按文献设计[10], 上游引物: 5'-GAACCTGTGCGAGTGGATG-3', 下游引物: 5'-CGGATGGTGATGTAGCGAC-3'; 内参基因*GAPDH*上游引物: 5'-GGCTGCTTTTAACTCTGG-3', 下游引物: 5'-GGAGGGATCTCGCTCC-3'. 20 μL PCR反应体系含10 μL SYBR Premix Ex Taq™(2×)、上、下游引物(10 μmol/L)各0.4 μL、0.4 ROX Reference Dye(50×)、2.0 μL DNA模板、6.8 μL dH_2O. 反应条件为95 ℃预变性5 min; 95 ℃ 10 s, 55 ℃ 40 s, 72 ℃ 45 s, 共40个循环; 72 ℃延伸1 min, 70 ℃延伸30 s, 95 ℃延伸30 s. 实验重复3次, 取均值. 扩增完毕后分析熔解曲线, 采用$2^{-\Delta\Delta Ct}$法分析CDX2 mRNA表达. ΔΔCt = (Ct处理组目的基因-Ct处理组内参基因)-(Ct对照组目的基因-Ct对照组内参基因).

1.2.4 Western blot分析结直肠癌细胞株HT-29和LoVo中CDX2蛋白的表达情况: 取对数生长期的HT-29和LoVo细胞, 在上述两种细胞株各个浓度梯度的每管细胞中加入80 μL蛋白裂解和1 μL蛋白酶抑制剂PMSF液于冰上裂解30 min. 15000 r/min 37 ℃离心, 10 min后取上清液提取总蛋白, BCA法蛋白定量. 总蛋白100 ℃变性5 min后, 配置浓度为12%的SDS-PAGE凝胶, 进行蛋白质电泳, 蛋白电泳分离后经电转移槽转移至PVDF膜. BSA室温封闭2 h后, PVDF膜置于1∶500稀释的CDX2单克隆抗体稀释液中4 ℃冰箱内培养过夜, TBST洗膜3次, 每次10 min, 再置于1∶20000稀释的HRP标记的小鼠抗山羊IgG稀释液中37 ℃培养2 h, TBST洗膜4次, 每次10 min, 然后加入ECL发光液显影, 采集并分析处理图像. 凝胶成像系统摄像并分析各条带吸光度值, 以0.5 μmol/L 5'-Aza-CdR条带吸光度(*A*)值/β-actin条带*A*值为基准, 设置为1. 以目的基因条带*A*值/β-actin条带*A*值作为CDX2蛋白的相对表达强度. 实验重复3次, 取均值.

1.2.5 结果判断标准: Methylight结果判断标准[11]: 同时扩增目的基因(*CDX2*)和内参基因(*β-actin*), 根据标准曲线得到两者的原始拷贝数, 计算标准甲基化指数(normalized index of methylation, NIM)其定义为: NIM = [(CDX2 sample/CDX2 positive)/(β-actin sample/β-actin positive)]×100, 其中CDX2 sample指样本中甲基化*CDX2*基因的拷贝数, CDX2 positive指阳性对照中甲基化*CDX2*基因的拷贝数, β-actin sample和β-actin positive与上述相同. NIM≥4为甲基化, NIM<4为非甲基化.

统计学处理 所有数据采用SPSS19.0统计软件, 数据以mean±SD表示, 组间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA), 对照组与实验组比

■相关报道

自本世纪初, 国内王鲁平教授团队在结直肠锯齿状病变研究方面一直处于领先水平. 其团队率先描述了锯齿状病变形态学特点、免疫组化特征以及分子生物学改变, 并在国内外: (1)首先报告了锯齿状病变中*Runx3*基因rs2236851位点基因型检测及蛋白表达; (2)首次提出*CDX2*基因甲基化主要与年龄因素有关, 年龄越大, 甲基化频率越高, 其可能是一个年龄相关性甲基化基因.目前王鲁平教授团队在锯齿状病变研究方面发表中英文论文80余篇.

■创新盘点

首次选用一组与结直肠癌甲基化有关的基因，用于检测结直肠癌细胞株甲基化状况，从中筛选出结直肠癌细胞株相关甲基化基因，为结直肠癌的诊断及分子分型提供有力的生物标记物，为锯齿状甲基化癌变机制及靶向治疗提供理论依据. CDX2是胃肠胚胎遗传通路中一种新发现的特异性的核转录因子，是尾型同源框基因家族中的一员. 本研究发现结直肠癌细胞株HT-29和LoVo中*CDX2*基因mRNA和蛋白表达不受DNA甲基化的表观遗传修饰调控.

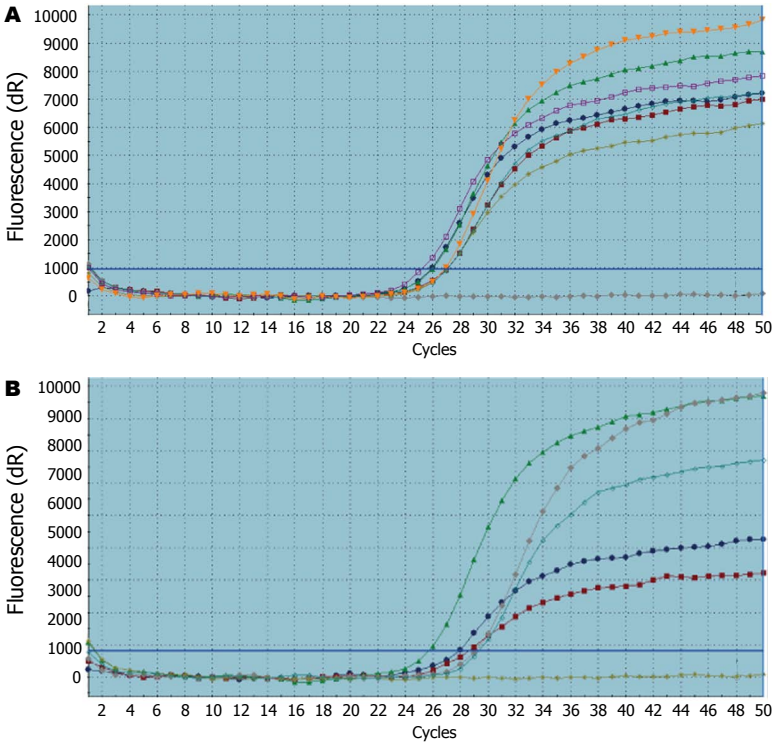


图 1 DNA甲基化扩增曲线图. A: DMSO对照组、0.5、1.0、1.5 μmol/L 5'-Aza-CdR实验组中HT-29细胞株*CDX2*基因DNA甲基化扩增曲线图; B: DMSO对照组、0.5、1.0、1.5 μmol/L 5'-Aza-CdR实验组中LoVo细胞株*CDX2*基因DNA甲基化扩增曲线图.

表 1 HT-29和LoVo细胞株中*CDX2*基因甲基化状况

5'-Aza-CdR浓度(μmol/L)	细胞株	
	HT-29	LoVo
0.0	甲基化	甲基化
0.5	甲基化	甲基化
1.0	甲基化	甲基化
1.5	甲基化	甲基化

5'-Aza-CdR: 5'-氮杂-2'-脱氧胞苷.

表 2 HT-29和LoVo细胞株中*CDX2*基因mRNA表达状况

5'-Aza-CdR浓度(μmol/L)	细胞株	
	HT-29	LoVo
0.0	1.000 ± 0.000	1.000 ± 0.000
0.5	0.973 ± 0.024	0.966 ± 0.038
1.0	1.014 ± 0.019	1.050 ± 0.029
1.5	1.094 ± 0.020[a]	1.007 ± 0.019
*F*值和*P*值	$F = 25.146$, $P = 0.000$	$F = 5.470$, $P = 0.024$

[a]$P<0.05$ *vs* 对照组. 5'-Aza-CdR: 5'-氮杂-2'-脱氧胞苷.

较采用配对*t*检验，检验水准$\alpha = 0.05$，并设定*P*值为双侧分布，$P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 结直肠癌细胞株HT-29和LoVo中*CDX2*基因甲基化状况 将阳性对照按10的倍数稀释成$1^{-1} \times 10^{-67}$个浓度梯度制作标准曲线(其拷贝数为10^3-10^9/mL). 各浓度梯度反应均做复孔. Methylight的线性范围为10^4-10^8拷贝/mL，R^2为0.942. 实时荧光定量PCR得出数据按Methylight结果判断标准，在DMSO对照组、0.5、1.0、1.5 μmol/L 5'-Aza-CdR实验组中HT-29和LoVo细胞株中*CDX2*基因甲基化状态分均为甲基化状态(表1，图1).

2.2 结直肠癌细胞株LoVo和HT-29中*CDX2*基因mRNA表达状况 实时荧光定量PCR得出的数据检验扩增效率(E)通过公式E = 2-1/斜率-1计算，*CDX2*基因mRNA为0.941，*GAPDH*基因mRNA为0.977，两个基因的扩增效率相差<5%，符合用$2^{-\Delta\Delta Ct}$法相对定量分析条件. 经$2^{-\Delta\Delta Ct}$法分析并以对照组、各不同浓度实验分组为横坐标，将测出相应的平均相对定量比值为纵坐标绘出柱状图后发现0.5、1.0、1.5 μmol/L 5'-Aza-CdR作用后，HT-29细胞株中*CDX2*基因的mRNA表达水平较对照组有统计学差异，但无时间、药物浓度依赖性($F = 25.146$, $P = 0.000$)，与对照组DMSO组比较1.5 μmol/L 5'-Aza-CdR实验组($t = 8.156$, $P = 0.015$)；LoVo细胞株中*CDX2*基因的mRNA表达水平较对照组有统计学差异，但无时间、药物浓度依赖性($F = 5.470$, $P = 0.024$)，组间比较各实验组与对照组均无统计学差异($P>0.05$)(表2，图

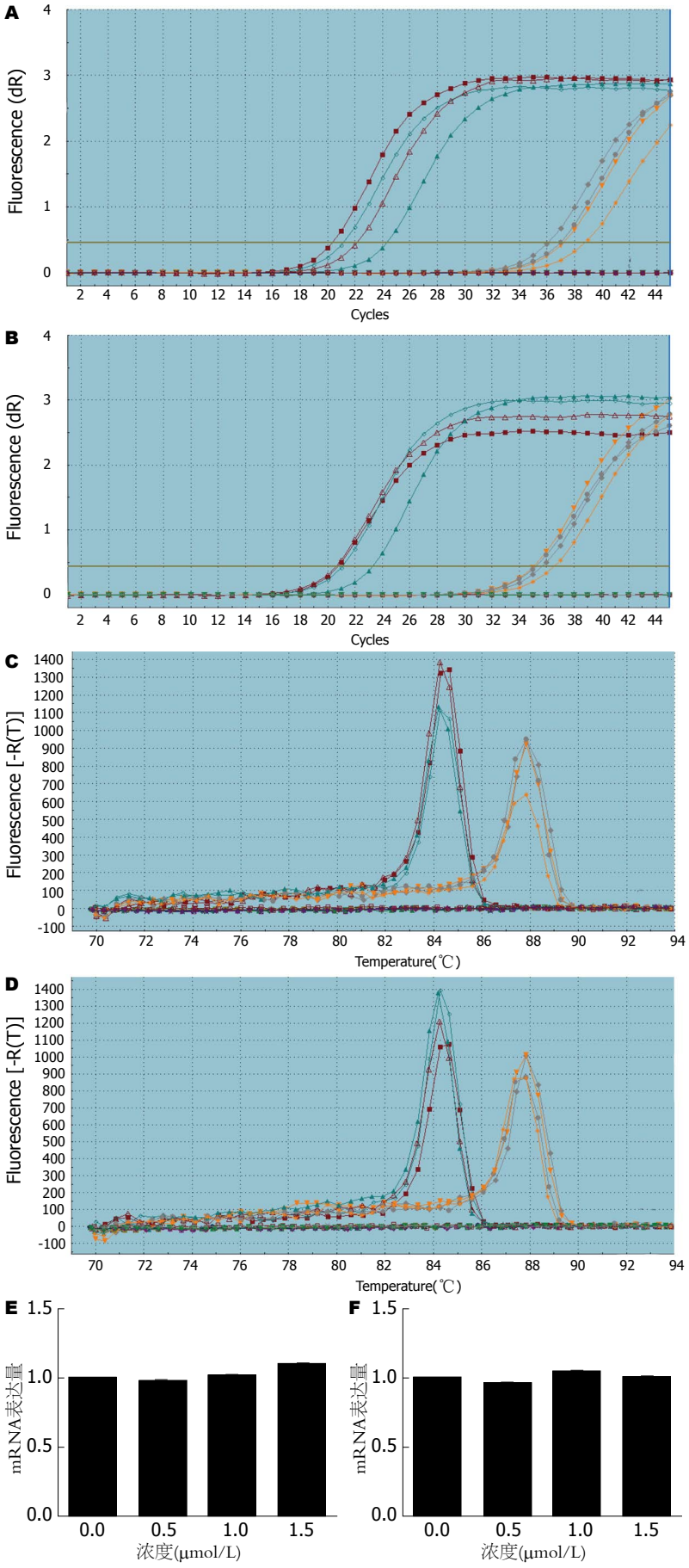


图 2 mRNA扩增曲线图. A: DMSO对照组、0.5、1.0、1.5 μmol/L 5'-Aza-CdR实验组中HT-29细胞株*CDX2*基因mRNA扩增曲线图; B: DMSO对照组、0.5、1.0、1.5 μmol/L 5'-Aza-CdR实验组中LoVo细胞株*CDX2*基因mRNA扩增曲线图; C: DMSO对照组、0.5、1.0、1.5 μmol/L 5'-Aza-CdR实验组中HT-29细胞株*CDX2*基因mRNA熔解曲线图; D: DMSO对照组、0.5、1.0、1.5 μmol/L 5'-Aza-CdR实验组中LoVo细胞株*CDX2*基因mRNA熔解曲线图; E: DMSO对照组、0.5、1.0、1.5 μmol/L 5'-Aza-CdR实验组中HT-29细胞株*CDX2*基因mRNA柱状图; F: DMSO对照组、0.5、1.0、1.5 μmol/L 5'-Aza-CdR实验组中LoVo细胞株*CDX2*基因mRNA柱状图.

■应用要点

本实验通过研究5'-Aza-CdR对HT-29和LoVo细胞株作用后*CDX2*基因的DNA层面、mRNA层面和蛋白层面的改变进行初步探究, 探讨肿瘤发生发展过程中*CDX2*基因失活的甲基化机制及药物恢复*CDX2*基因表达的可能性, 以期寻找结直肠癌(colorectal cancer)的肿瘤标志物及新的治疗靶点.

■同行评价
本文内容客观, 实验方法成熟, 观点新颖, 具有一定的科学意义.

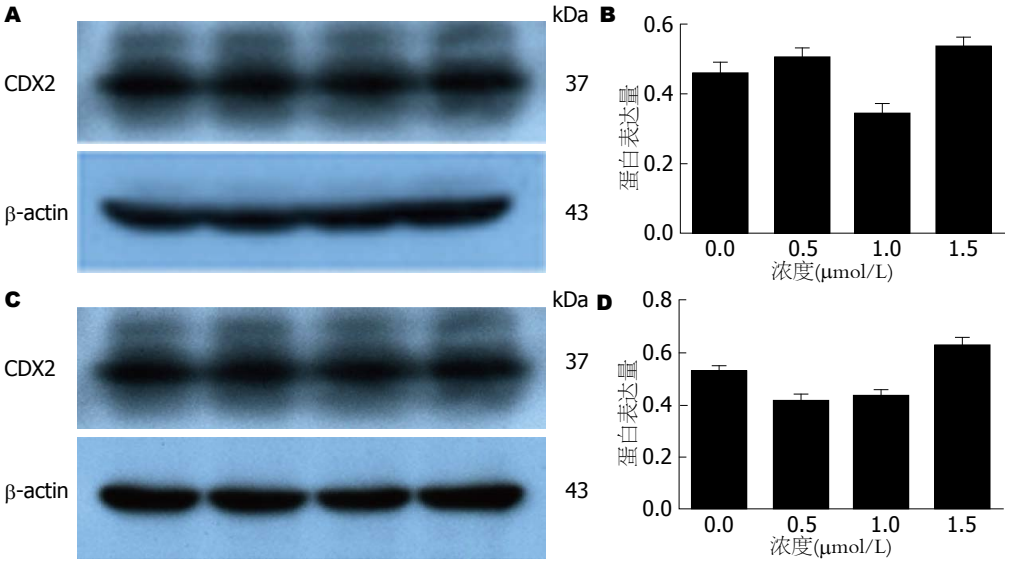


图 3 蛋白表达情况. A: DMSO对照组、0.5、1.0、1.5 μmol/L 5'-Aza-CdR实验组(左→右)中HT-29细胞株CDX2蛋白Western blot条带图; B: DMSO对照组、0.5、1.0、1.5 μmol/L 5'-Aza-CdR实验组中HT-29细胞株CDX2蛋白柱状图; C: DMSO对照组、0.5、1.0、1.5 μmol/L 5'-Aza-CdR实验组(左→右)中LoVo细胞株CDX2蛋白Western blot条带图; D: DMSO对照组、0.5、1.0、1.5 μmol/L 5'-Aza-CdR实验组中LoVo细胞株CDX2蛋白柱状图.

表 3 HT-29和LoVo细胞株中CDX2蛋白表达状况

5'-Aza-CdR浓度(μmol/L)	细胞株	
	HT-29	LoVo
0.0	0.454 ± 0.049	0.527 ± 0.037
0.5	0.501 ± 0.041[a]	0.415 ± 0.037[a]
1.0	0.340 ± 0.050	0.432 ± 0.040
1.5	0.531 ± 0.046[a]	0.626 ± 0.046
*F*值和*P*值	$F = 9.700, P = 0.005$	$F = 17.701, P = 0.001$

[a]$P<0.05$ *vs* 对照组. 5'-Aza-CdR: 5'-氮杂-2'-脱氧胞苷.

2).

2.3 结直肠癌细胞株HT-29和LoVo中CDX2蛋白表达状况 Western blot结果运用Image J软件进行条带图像分析, 获得HT-29和LoVo细胞株各条带光密度值, 并计算出两种细胞在各组中的平均光密度比值, 进行半定量分析及统计学分析, 并以各实验分组为横坐标, 将测出相应的平均光密度比值为纵坐标绘出柱状图后发现0.5、1.0、1.5 μmol/L 5'-Aza-CdR作用后, HT-29细胞株中CDX2蛋白表达水平较对照组有统计学差异, 但无时间、药物浓度依赖性($F = 0.438$, $P = 0.732$), 与对照组DMSO组比较0.5 μmol/L 5'-Aza-CdR实验组($t = 5.150$, $P = 0.036$)、1.5 μmol/L 5'-Aza-CdR实验组($t = 30.597$, $P = 0.001$); LoVo细胞株中CDX2蛋白表达水平较对照组有统计学差异, 但无时间、药物浓度依赖性($F = 1.370$, $P = 0.320$), 与对照组DMSO组比较0.5 μmol/L 5'-Aza-CdR实验组($t = -60.527$, $P = 0.000$)(表3, 图3).

3 讨论

CRC是最常见的消化系恶性肿瘤之一, 每年全球新发病例达123万, 病死率约为发病率的1/2. 我国CRC发病率虽低于西方发达国家, 但近20年来CRC的发病率仍在逐渐上升, 同时, 其发病年龄有增高趋势. 近年研究表明CRC的发病是多因素、多阶段、多基因连续累积发生的过程, 除遗传学改变外, 表观遗传学改变亦参与CRC的发生、发展过程. 表观遗传学是指不涉及DNA序列改变, 但基因表达却发生可遗传的改变, DNA甲基化、组蛋白修饰、microRNA等是表观遗传学的主要形式. 与肿瘤发生关系最密切的是DNA甲基化修饰异常, 其中包括基因组去甲基化及部分区域高度甲基化两种形式. DNA甲基化可以导致癌相关基因沉默, 病变迅速进展为癌. CRC有若干高度甲基化基因, 若能认识CRC中基因异常DNA甲基化, 将可能获得CRC诊断的肿瘤标记物及新的治疗靶点[12-14]. 本实验研究中我们采用去甲基化药物5'-Aza-CdR处理两个结直肠癌细胞株: MSS细胞株HT-29和MSI细胞株LoVo后通过实时荧光定量PCR检测, 我们发现DNA层面上DMSO溶剂对照组、0.5、1.0、1.5 μmol/L 5'-Aza-CdR实验组

中HT-29和LoVo细胞株中*CDX2*基因甲基化状态分均为甲基化, 说明去甲基化药物5'-Aza-CdR不能逆转*CDX2*基因甲基化状态, 同时在mRNA层面上我们发现在0.5、1.0、1.5 μmol/L 5'-Aza-CdR作用后, 虽然HT-29细胞株中CDX2 mRNA表达水平较对照组有统计学差异, 但无时间、药物浓度依赖性(F = 25.146, P = 0.000), 与对照组DMSO组比较1.5 μmol/L 5'-Aza-CdR实验组(t = 8.156, P = 0.015); LoVo细胞株中*CDX2*基因的mRNA表达水平较对照组有统计学差异, 但无时间、药物浓度依赖性(F = 5.470, P = 0.024), 组间比较各实验组与对照组也均无统计学差异(P>0.05); 最后通过Western blot在蛋白层面上发现HT-29细胞株中CDX2蛋白表达水平较对照组有统计学差异, 但无时间、药物浓度依赖性(F = 9.700, P = 0.005), 与对照组DMSO组比较0.5 μmol/L 5'-Aza-CdR实验组(t = 5.150, P = 0.036)、1.5 μmol/L 5'-Aza-CdR实验组(t = 30.597, P = 0.001); LoVo细胞株中CDX2蛋白表达水平较对照组无统计学差异, 并且也无时间、药物浓度依赖性(F = 17.701, P = 0.001), 与对照组DMSO组比较0.5 μmol/L 5'-Aza-CdR实验组(t = -60.527, P = 0.000).

本实验研究显示去甲基化药物5'-Aza-CdR不能改变*CDX2*基因mRNA或CDX2蛋白表达, 即CDX2的表达不受DNA甲基化的调控. 这与之前的研究结果相符, 即CDX2在CRC表达沉默可能受转录后调控因子影响[15]. 近年来的研究显示CDX2在食管癌和胃癌中异位表达. 此时, *CDX2*基因启动子发生甲基化, 并与*CDX2*基因mRNA表达水平呈负相关[16-18]. 提示不同组织肿瘤中CDX2表达有异质性, CDX2在CRC中与食管癌和胃癌中的沉默机制不同.

4 参考文献

1 Siegel R, Ma J, Zou Z, Jemal A. Cancer statistics, 2014. *CA Cancer J Clin* 2014; 64: 9-29 [PMID: 24399786 DOI: 10.3322/caac.21208]

2 Beck F, Chawengsaksophak K, Waring P, Playford RJ, Furness JB. Reprogramming of intestinal differentiation and intercalary regeneration in Cdx2 mutant mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96: 7318-7323 [PMID: 10377412]

3 Brabletz T, Spaderna S, Kolb J, Hlubek F, Faller G, Bruns CJ, Jung A, Nentwich J, Duluc I, Domon-Dell C, Kirchner T, Freund JN. Down-regulation of the homeodomain factor Cdx2 in colorectal cancer by collagen type I: an active role for the tumor environment in malignant tumor progression. *Cancer Res* 2004; 64: 6973-6977 [PMID: 15466189 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-04-1132]

4 Subtil C, Guérin E, Schneider A, Chenard MP, Martin E, Domon-Dell C, Duluc I, Brabletz T, Kedinger M, Duclos B, Gaub MP, Freund JN. Frequent rearrangements and amplification of the CDX2 homeobox gene in human sporadic colorectal cancers with chromosomal instability. *Cancer Lett* 2007; 247: 197-203 [PMID: 16730885 DOI: 10.1016/j.canlet.2006.04.004]

5 Yagi OK, Akiyama Y, Yuasa Y. Genomic structure and alterations of homeobox gene CDX2 in colorectal carcinomas. *Br J Cancer* 1999; 79: 440-444 [PMID: 10027310 DOI: 10.1038/sj.bjc.6690068]

6 Aoki K, Tamai Y, Horiike S, Oshima M, Taketo MM. Colonic polyposis caused by mTOR-mediated chromosomal instability in Apc+/Delta716 Cdx2+/- compound mutant mice. *Nat Genet* 2003; 35: 323-330 [PMID: 14625550 DOI: 10.1038/ng1265]

7 Gross I, Duluc I, Benameur T, Calon A, Martin E, Brabletz T, Kedinger M, Domon-Dell C, Freund JN. The intestine-specific homeobox gene Cdx2 decreases mobility and antagonizes dissemination of colon cancer cells. *Oncogene* 2008; 27: 107-115 [PMID: 17599044 DOI: 10.1038/sj.onc.1210601]

8 许春伟, 王鲁平, 葛畅, 张玉萍, 方园. 锯齿状病变患者组织中CDX2基因启动子中上游区域的甲基化. 世界华人消化杂志 2013; 21: 58-66

9 Ogino S, Kawasaki T, Brahmandam M, Cantor M, Kirkner GJ, Spiegelman D, Makrigiorgos GM, Weisenberger DJ, Laird PW, Loda M, Fuchs CS. Precision and performance characteristics of bisulfite conversion and real-time PCR (MethyLight) for quantitative DNA methylation analysis. *J Mol Diagn* 2006; 8: 209-217 [PMID: 16645207 DOI: 10.2353/jmoldx.2006.050135]

10 牛海静, 陈鑫, 王邦茂. SOX2和CDX2在胃黏膜肠化生中的表达及意义. 世界华人消化杂志 2011; 19: 1295-1299

11 Campbell DJ, Koch MA. Phenotypical and functional specialization of FOXP3+ regulatory T cells. *Nat Rev Immunol* 2011; 11: 119-130 [PMID: 21267013 DOI: 10.1038/nri2916]

12 Snover DC. Update on the serrated pathway to colorectal carcinoma. *Hum Pathol* 2011; 42: 1-10 [PMID: 20869746 DOI: 10.1016/j.humpath.2010.06.002]

13 Dhir M, Yachida S, Van Neste L, Glöckner SC, Jeschke J, Pappou EP, Montgomery EA, Herman JG, Baylin SB, Iacobuzio-Donahue C, Ahuja N. Sessile serrated adenomas and classical adenomas: an epigenetic perspective on premalignant neoplastic lesions of the gastrointestinal tract. *Int J Cancer* 2011; 129: 1889-1898 [PMID: 21154739 DOI: 10.1002/ijc.25847]

14 Arber N, Shapira I, Ratan J, Stern B, Hibshoosh H, Moshkowitz M, Gammon M, Fabian I, Halpern Z. Activation of c-K-ras mutations in human gastrointestinal tumors. *Gastroenterology* 2000; 118: 1045-1050 [PMID: 10833479]

15 Hinoi T, Loda M, Fearon ER. Silencing of CDX2 expression in colon cancer via a dominant repression pathway. *J Biol Chem* 2003; 278: 44608-44616 [PMID: 12947088 DOI: 10.1074/jbc.M307435200]

16 Liu T, Zhang X, So CK, Wang S, Wang P, Yan L, Myers R, Chen Z, Patterson AP, Yang CS, Chen X. Regulation of Cdx2 expression by promoter methylation, and effects of Cdx2 transfection on morphology and gene expression of human esophageal epithelial cells. *Carcinogenesis* 2007; 28: 488-496 [PMID: 16990345 DOI: 10.1093/carcin/bgl176]

17 李慧, 帅晓玮, 谢鹏雁, 李江. CDX1/2在人Barrett′s食管中的表达以及胆酸对CDX2表达. 世界华人消化杂志 2009; 17: 1738-1744

18 蒋伟, 张健锋, 董丽娟, 戚菁, 张弘, 毛振彪. 人胃癌细胞株CDX2基因表达与其启动子区甲基化的关系. 南通大学学报(医学版) 2012; 32: 21-24

编辑 田滢 电编 鲁亚静

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊

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

世界华人消化杂志 2014年4月8日; 22(10): 1431-1435
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

研究快报 RAPID COMMUNICATION

胃转流术对2型糖尿病大鼠胰腺胰岛素抵抗的影响

温雨晴, 谭迎春, 吕墩涛, 张蓬波, 任泽强

温雨晴, 徐州医学院研究生学院 江苏省徐州市 221002
谭迎春, 徐州医学院护理学院 江苏省徐州市 221002
吕墩涛, 张蓬波, 任泽强, 徐州医学院附属医院普外科 江苏省徐州市 221002
温雨晴, 徐州医学院硕士, 主要从事胰腺胆道疾病的研究.
徐州市科技基金资助项目, No. XM12B028
作者贡献分布: 本实验由温雨晴、谭迎春及吕墩涛共同设计; 实验流程操作与数据分析由温雨晴、吕墩涛及张蓬波完成; 本论文写作由温雨晴与吕墩涛完成; 选题与审校由任泽强完成.
通讯作者: 任泽强, 教授, 硕士生导师, 221002, 江苏省徐州市淮海西路99号, 徐州医学院附属医院普外科. rzq0805@189.cn
电话: 0516-85805317
收稿日期: 2014-01-03 修回日期: 2014-01-22
接受日期: 2014-02-18 在线出版日期: 2014-04-08

Influence of gastric bypass on pancreatic insulin resistance in type 2 diabetic rats

Yu-Qing Wen, Ying-Chun Tan, Dun-Tao Lv, Peng-Bo Zhang, Ze-Qiang Ren

Yu-Qing Wen, Graduate School, Xuzhou Medical College, Xuzhou 221002, Jiangsu Province, China
Ying-Chun Tan, School of Nursing, Xuzhou Medical College, Xuzhou 221002, Jiangsu Province, China
Dun-Tao Lv, Peng-Bo Zhang, Ze-Qiang Ren, Department of General Surgery, the Affiliated Hospital of Xuzhou Medical College, Xuzhou 221002, Jiangsu Province, China
Supported by: the Scientific Research Foundation of Xuzhou, No. XM12B028
Correspondence to: Ze-Qiang Ren, Professor, Department of General Surgery, the Affiliated Hospital of Xuzhou Medical College, 99 Huaihai Weat Road, Xuzhou 221002, Jiangsu Province, China. rzq0805@189.cn
Received: 2014-01-03 Revised: 2014-01-22
Accepted: 2014-02-18 Published online: 2014-04-08

Abstract

AIM: To observe the influence of gastric bypass on pancreatic insulin resistance in type 2 diabetic rats.

METHODS: Twenty-four type 2 diabetic SD rats were randomly and equally divided into three groups: a gastric bypass group (T group), a food control group (F group), and a type 2 diabetes control group (C group). Plasma levels of glucose, insulin, quantitative insulin sensitivity check index and protein expression of pancreatic insulin receptor substrates-1 and -2 (IRS-1,2) were measured preoperatively and at weeks 1, 2, 4 and 8 postoperatively.

RESULTS: Fasting blood glucose in the T group decreased from week 1 after gastric bypass and reached 5.79 mmol/L ± 1.83 mmol/L at week 8 ($P < 0.05$). Fasting plasma insulin (FINS) in the T group slightly increased at week 1 after surgery, then decreased and reached 7.69 mU/L ± 1.73 mU/L at week 8 ($P < 0.05$). In contrast, fasting blood glucose and FINS showed no significant changes after surgery in the F and C groups ($P > 0.05$ for all). QUICKI had a dramatic increase in the T group, from 0.44 ± 0.05 preoperatively to 0.61 ± 0.05 ($P < 0.05$) 8 weeks post operation, while the F and C groups showed no significant changes after operation ($P > 0.05$ for both). Compared with the C group, a significant increase in the expression of IRS-1, 2 proteins was observed in the T group 8 weeks postoperatively ($P < 0.05$), although no significant difference was observed in the F and C groups ($P > 0.05$).

CONCLUSION: GBP can improve the expression of hepatic IRS-1, 2 and thus increase pancreatic insulin sensitivity in rats with type 2 diabetes mellitus.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Gastric bypass; Type 2 diabetes mellitus; Insulin resistance

Wen YQ, Tan YC, Lv DT, Zhang PB, Ren ZQ. Influence of gastric bypass on pancreatic insulin resistance in type 2 diabetic rats. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(10): 1431-1435 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1431.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i10.1431

摘要

目的: 观察胃转流术(gastric bypass, GBP)对2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)大鼠胰腺的胰岛素抵抗的影响.

方法: 将24只T2DM SD大鼠随机分为手术组(O组)、饮食控制组(F组)、对照组(C组)每组8只. 术前及术后第1、2、4、8周分别测各组空腹血糖(fasting plasma insulin, FPG)、空腹胰

■背景资料
糖尿病的发病率逐年增高, 到2030年全球患者数预计达到3.66亿, 而我国则为世界糖尿病第2大国. 其中85%-90%为2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM). 目前T2DM的治疗以内科为主, 但治疗效果不理想. Pories等报道胃转流术(gastric bypass, GBP)治疗病态肥胖症时偶然发现合并有T2DM的患者, 术后血糖快速恢复了正常, 且不再需要采取任何措施维持. 后来国内外大量的临床实践证实GBP对正常体质量的T2DM的也有较好的疗效.

■同行评议者
于珮, 主任医师, 天津医科大学代谢病医院

■研发前沿
外科手术的应用，打破了传统内科治疗的思路，但目前GBP治疗T2DM的具体机制尚不清楚. 国内外通过多项实验研究，提出了许多理论假说，主要有：前肠学说；后肠学说；脂肪-胰岛轴学说.

岛素(fasting plasma insulin, FINS)；计算各组术前及术后第8周胰岛素敏感指数(quantitative insulin sensitivity check index, QUICKI)；Western blot检测各组术后第8周胰腺组织胰岛素受体底物-1/-2(insulin receptor substrate-1/-2, IRS-1/-2)蛋白的表达.

结果：与术前相比，T组FPG由GBP后第1周开始降低，至第8周时FPG降至5.79 mmol/L±1.83 mmol/L(P<0.05)；T组FINS在GBP后第1周时稍有上升，之后开始下降，至第8周降至7.69 mU/L±1.73 mU/L(P<0.05)，即术后糖尿病手术组空腹胰岛素经历了先升后降的过程；术后8 wk T组QUICKI由术前的0.44±0.05升至0.61±0.05(P<0.05)；Western blot检测结果显示：T组与C组相比术后8 wk胰腺组织IRS-1、2的蛋白表达分别增加了35%和38%(P<0.05).

结论：GBP可上调T2DM大鼠胰腺组织胰岛素信号传导通路中IRS-1、2的表达水平，提高胰腺组织的胰岛素敏感性.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词：胃转流术；2型糖尿病；胰岛素抵抗

核心提示：本实验通过高糖高脂加链脲佐菌素(streptozotocin, STZ)诱导2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)的模型，发现胃转流术(gastric bypass)可以通过改善胰岛β细胞胰腺组织胰岛素受体底物-1/-2(insulin receptor substrate-1/-2, IRS-1/-2)/PI3K和MAPK胰岛素信号传导通路，改善胰岛自身的胰岛素抵抗，从而使胰岛β细胞功能恢复正常，最终使T2DM患者糖尿病得到治愈.

温雨晴，谭迎春，吕墩涛，张蓬波，任泽强. 胃转流术对2型糖尿病大鼠胰腺胰岛素抵抗的影响. 世界华人消化杂志 2014; 22(10): 1431-1435 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1431.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i10.1431

0 引言

胃转流术(gastric bypass, GBP)对2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)有确切的治疗作用[1,2]，其排除了胃远端、十二指肠和近端空肠，从而使未消化或未完全消化的食物提前到达回肠，十二指肠与部分空肠从肠-胰岛轴中被排除，这就提示GBP改变了胃肠道激素的分泌，从而导致胰岛素抵抗的降低，糖代谢的改善[3].

研究证实，T2DM最主要的发病机制是胰岛β细胞功能减退和胰岛素抵抗[4,5]. 胰岛β细胞功能减退包括胰岛素分泌不足和胰岛β细胞数量减少；胰岛素抵抗是胰岛β细胞功能减退的始动因素和主要原因，包括外周胰岛素抵抗(肝脏、骨骼肌和脂肪)和胰岛细胞的胰岛素抵抗；而胰岛细胞的胰岛素抵抗成为近年来研究的热点[6]. 我们通过观察GBP对T2DM大鼠胰腺的胰岛素抵抗的影响，探索胃转流术改善胰腺组织胰岛素抵抗机制，为胃转流术治疗T2DM患者提供实验依据.

1 材料和方法

1.1 材料 健康♂Sprague-Dawley(SD)大鼠30只，体质量250-300 g，购自徐州医学院实验动物中心，实验动物的合格证号：SYXK(苏)2012-0032. 高糖高脂饲料：猪油18%+蔗糖20%+蛋黄3%+基础饲料59%. 主要实验试剂和仪器：链脲佐菌素(streptozotocin, STZ)(美国Sigma公司)；Insulin一抗(武汉博士德生物技术有限公司)；BCA蛋白浓度测定试剂盒(碧云天公司)；胰腺组织胰岛素受体底物1(insulin receptor substrate-1, IRS-1)一抗、IRS-2一抗(Santa Cruz公司)；稳步血糖仪(美国强生公司)；DYY-8C型电泳仪(北京六一仪器厂)；Centrifuge 5810R冷冻高速离心机(德国Eppendorf公司)；Centrifuge 5810R冷冻高速离心机(德国Eppendorf公司).

1.2 方法

1.2.1 动物制模：SD大鼠经高糖高脂饲料喂养2 mo后腹腔内注射STZ(30 mg/kg)建立2型糖尿病模型，72 h和1 wk后快速血糖仪测随机血糖，两次均≥16.7 mmol/L为成功模型[7]，成模大鼠均独笼饲养.

1.2.2 动物分组：成模大鼠随机分为手术组(gastric bypass operation group, T组)、饮食控制组(food control group, F组)、糖尿病对照组(type 2 diabetes-control group, C组)，每组8只，其余大鼠备用.

1.2.3 GBP手术：为了避免胃部分切除造成的摄食减少，T组行保留全胃的GBP手术，大鼠术前禁食12-14 h，不限饮水，3%戊巴比妥钠(1 mL/kg)腹腔内注射麻醉，腹部脱毛剂脱毛，固定于手术台，碘伏消毒3遍后铺无菌巾，上腹部正中切口长约3 cm进腹，切口周围无菌纱布保护，切断幽门，闭合十二指肠残端，距Treitz韧带约8 cm切断空肠，远端空肠与幽门行端端吻合，近端空肠与距此吻合口远端12 cm行空肠端侧吻合，均用0/6号丝线缝合，术后用庆大霉素(80万U/L)2 mL冲洗腹腔后关腹. 术后1 d进糖盐水，3 d后进普通饲料，

表 1 BM、FPG、FINS、QUICKI比较 (n = 8, mean ± SD)

指标	BM(g)	FPG(mmol/L)	Fins(mU/L)	QUICKI
T组	376.4 ± 31.2	18.98 ± 2.05	11.09 ± 1.88	0.44 ± 0.05
F组	374.9 ± 26.4	20.09 ± 1.81	10.94 ± 2.12	0.43 ± 0.03
C组	373.5 ± 29.2	19.47 ± 2.07	10.67 ± 1.90	0.47 ± 0.06

BM: 体质量; FPG: 空腹血糖; FINS: 空腹胰岛素; QUICKI: 胰岛素敏感指数. T组: 手术组; F组: 饮食控制组; C组: 糖尿病对照组.

表 2 各组大鼠空腹血糖(FPG)变化 (n = 8, mean ± SD, mmol/L)

分组	术前	术后			
		1 wk	2 wk	4 wk	8 wk
T组	18.98 ± 2.05	15.45 ± 2.27^{ace}	14.06 ± 1.78^{ace}	10.96 ± 2.01^{ace}	5.79 ± 1.83^{ace}
F组	20.09 ± 1.81	20.04 ± 1.82	19.34 ± 1.80	20.23 ± 1.79	19.41 ± 1.89
C组	19.47 ± 2.07	19.53 ± 2.10	19.75 ± 2.04	21.66 ± 1.90	19.86 ± 1.95

^{a}P<0.05 *vs* 术前; ^{c}P<0.05 *vs* F组; ^{e}P<0.05 *vs* C组. T组: 手术组; F组: 饮食控制组; C组: 糖尿病对照组.

表 3 各组大鼠空腹胰岛素(FINS)变化 (n = 8, mean ± SD, mU/L)

分组	术前	术后			
		1 wk	2 wk	4 wk	8 wk
T组	11.09 ± 1.88	14.40 ± 1.92^{ace}	12.49 ± 1.98^{ace}	9.62 ± 1.85	7.69 ± 1.73^{ace}
F组	10.94 ± 2.12	11.14 ± 1.85	11.27 ± 1.80	11.23 ± 1.84	11.34 ± 1.96
C组	10.67 ± 1.90	10.98 ± 1.63	11.03 ± 1.96	11.54 ± 1.95	10.83 ± 2.07

^{a}P<0.05 *vs* 术前; ^{c}P<0.05 *vs* F组; ^{e}P<0.05 *vs* C组. T组: 手术组; F组: 饮食控制组; C组: 糖尿病对照组.

保证充足饮水. F组进食量控制在15 g/(只·d)[8].

1.2.4 检测指标: 术前各组大鼠体质量(body mass, BM)、空腹血糖(fasting plasma insulin, FPG)、空腹血清胰岛素(fasting plasma insulin, Fins)和胰岛素敏感指数(quantitative insulin sensitivity check index, QUICKI)之间均无显著差异(表1).

术前及术后第1、2、4、8周分别测各组FPG、FINS; 计算各组术前及术后第8周QUICKI, QUICKI = 1/(logFINS+logFPG); 应用blot技术检测各组术后第8周IRS-1、2的表达. 眼眶取血法取血约1 mL, 离心后取血清放入-80 ℃冰箱保存, 统一检测FINS. 术后第8周取胰腺组织用于Western blot分析IRS-1、2蛋白含量.

统计学处理 数据使用SPSS16.0统计软件处理, 多组间数据比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA), 计量资料以mean±SD表示, 两组间比较采用t检验, P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 FPG变化 T组GBP后第1周开始下降, 至术后第2周FPG值降至14.06 mmol/L±1.78 mmol/L(P<0.05), 至第4、8周分别降至10.96 mmol/L±2.01 mmol/L、5.79 mmol/L±1.83 mmol/L(P<0.05). T组自术后第2周开始FPG明显低于F组、C组各时间点(P<0.05). F组、C组手术前后变化差异无统计学意义(P>0.05)(表2).

2.2 FINS变化 与术前相比, T组FINS在GBP后第1周开始升至14.40 mU/L±1.92 mU/L(P<0.05), 自第2周有下降趋势, 至第8周降至7.69 mU/L±1.73 mU/L, 即术后糖尿病手术组空腹胰岛素经历了先升后降的过程. F组、C组手术前后变化差异无统计学意义(P>0.05)(表3).

2.3 QUICKI变化 与术前相比, 术后8 wk T组QUICKI由术前的0.44±0.05升至0.61±0.05(P<0.05). F组、C组手术前后变化差异无统计学意义(P>0.05)(表4).

■创新盘点

早期, 人们对胰岛素抵抗的研究都是针对经典的胰岛素靶组织骨骼肌、脂肪等外周组织和肝脏组织, 即外周胰岛素抵抗和肝胰岛素抵抗; 目前胰岛β细胞表面存在的胰岛素受体被发现, 且胰岛素对胰岛β细胞有反馈调节作用, 所以胰岛本身也是胰岛素作用的靶器官. 本实验研究的是胃转流术对T2DM大鼠胰腺的胰岛素抵抗影响.

■应用要点

2型糖尿病的传统内科治疗包括饮食控制、体育运动、口服降糖药及胰岛素的使用等, 虽能控制血糖, 但很少能使患者的血糖完全恢复正常, 且患者依从性差, 效果不理想. 与传统内科治疗相比, 手术治疗T2DM起效后, 患者可不必长期控制饮食, 也减少了终生治疗的费用, 肥胖型T2DM患者行GBP后血糖得到长期稳定的控制已得到多数学者的认可, 并得到临床病例回顾性研究的肯定, 对于体质量正常的患者, 亦有明显疗效.

表 4 术前与术后8 wk各组大鼠胰岛素敏感指数(QUICKI)变化 (n = 8, mean ± SD)

分组	术前	术后8 wk
T组	0.44 ± 0.05	0.61 ± 0.05[ace]
F组	0.43 ± 0.03	0.42 ± 0.03
C组	0.47 ± 0.06	0.44 ± 0.05

[a]P<0.05 *vs* 术前; [c]P<0.05 *vs* F组; [e]P<0.05 *vs* C组. T组: 手术组; F组: 饮食控制组; C组: 糖尿病对照组.

2.4 Western blot检测术后8 wk IRS-1、2的蛋白表达 T组与C组相比术后8周胰腺组织IRS-1、2的蛋白表达分别增加了35%和38%, 差异有统计学意义(P<0.05); 内参照β-actin蛋白表达没有差异. F组、C组手术前后相比蛋白表达差异无统计学意义(P>0.05)(图1).

3 讨论

GBP治疗T2DM的具体机制尚未完全阐明[9]. 起初在肥胖症患者中发现此现象时被认为是术后肥胖症患者饮食减少和体质量下降的结果[10], 亦有学者提出“肠-胰岛轴”、“脂肪-胰岛轴”、“生长激素-胰岛素样生长因子1轴”等机制[11].

目前, 从T2DM的发病机制来看, 在胰岛素敏感性降低的情况下, 随着胰岛素的增加患者糖尿病症状并没有得到改善, 而胰岛β细胞的“压力”却增加了, 致使其功能受损, 甚至衰竭、β细胞凋亡, 从而加速了T2DM的发展. 本实验T组FINS在GBP术后第1周由术前的11.09 mU/L±1.88 mU/L(P<0.05)升至14.40 mU/L±1.92 mU/L(P<0.05), 而以后并没有继续增加或保持高水平不变, 至术后8 wk降至7.69 mU/L±1.73 mU/L(P<0.05)与正常FINS接近. 而胰岛素敏感性T组由术前0.44±0.05升高到术后8 wk的0.61±0.05(P<0.05). 另有文献报道[12], 在肥胖或伴T2DM患者中伴随着胰岛素敏感性提高, FINS分泌量也有所减少, 尤其在GBP术后这种变化更明显. 可见GBP可以通过改善胰岛素敏感性来实现T2DM血糖恢复正常.

近来研究显示, 胰岛β细胞在血糖的调控中扮演着主体和客体的“双重角色”, 他既可以产生胰岛素, 反过来又接受胰岛素的反馈机制或前馈机制的调控[13]. 胰岛β细胞存在胰岛素受体(insulin receptor, Ins-R)和IRS, 同时存在胰岛素信号转导通路各组分如Ins-R、IRS家族、磷脂酰肌醇3激酶(phosphatidyl inositol 3-kinase,

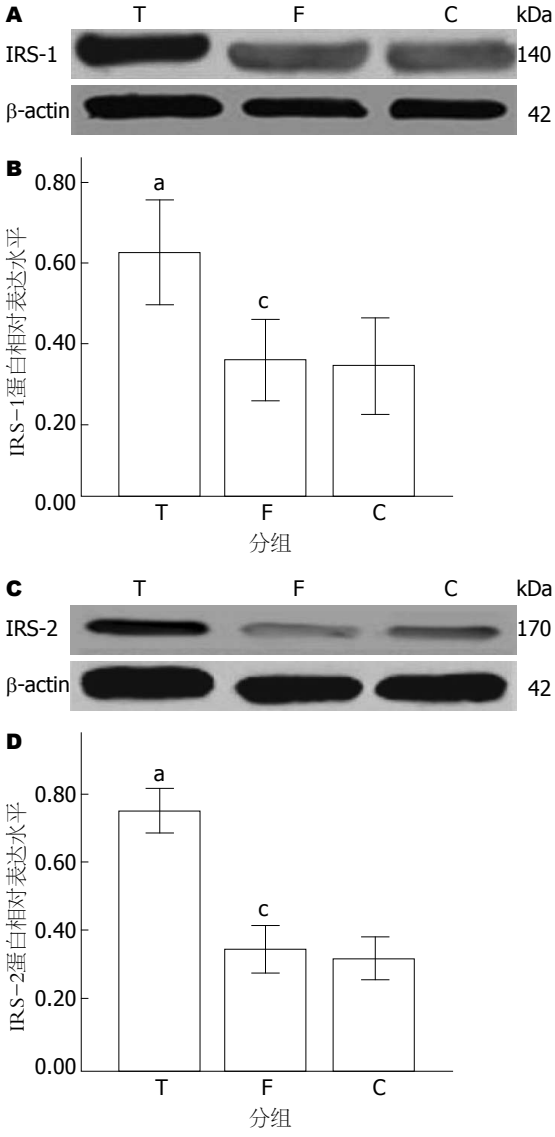


图 1 Western blot检测术后8 wk IRS-1、2的蛋白表达. A: IRS-1 Western blot结果; B: IRS-1蛋白相对表达水平. [a]P<0.05 *vs* F组; [c]P<0.05 *vs* C组; C: IRS-2 Western blot结果; D: IRS-1蛋白相对表达水平. [a]P<0.05 *vs* F组; [c]P<0.05 *vs* C组. T组: 手术组; F组: 饮食控制组; C组: 糖尿病对照组. IRS: 胰腺组织胰岛素受体底物.

PI3K)及其下游的蛋白激酶B(proteinkinase B, PKB)、Ras、Raf及丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinases, MAPKs)等的表达, 其胰岛素信号转导通路主要包括PI3K和MAPK两条途径[14], 任何一个或多个环节障碍, 均会在β细胞水平发生胰岛素抵抗, 导致β细胞功能降低, 导致糖尿病, 尤其是T2DM. 已有学者通过免疫组织化学证明, Ins-R及IRS-1、IRS-2主要集中于胰岛, 而胰腺外分泌部分含量甚少[15]. 因此, 本试验中直接采用整个胰腺来代替胰岛用于Western blot检测.

本实验通过高糖高脂加STZ诱导T2DM的模

型, 术后发现T组胰腺组织IRS-1、2蛋白表达水平显著上调, T组与C组相比术后8 wk IRS-1、2的蛋白表达分别增加了35%和38%, 差异有统计学意义(P<0.05). 可见GBP可以通过改善胰岛β细胞IRS-1(-2)/PI3K和MAPK胰岛素信号传导通路, 改善胰岛自身的胰岛素抵抗, 从而使胰岛β细胞功能恢复正常, 最终使T2DM患者糖尿病得到治愈.

4 参考文献

1 Buchwald H, Avidor Y, Braunwald E, Jensen MD, Pories W, Fahrbach K, Schoelles K. Bariatric surgery: a systematic review and meta-analysis. *JAMA* 2004; 292: 1724-1737 [PMID: 15479938 DOI: 10.1001/jama.292.14.1724]

2 Rubino F. Is type 2 diabetes an operable intestinal disease? A provocative yet reasonable hypothesis. *Diabetes Care* 2008; 31 Suppl 2: S290-S296 [PMID: 18227499 DOI: 10.2337/dc08-s271]

3 Ukkola O. Gastric bypass and glucose metabolism. *Intern Med J* 2009; 39: 502-505 [PMID: 19732198 DOI: 10.1111/j.1445-5994.2008.01797.x]

4 Stern SE, Williams K, Ferrannini E, DeFronzo RA, Bogardus C, Stern MP. Identification of individuals with insulin resistance using routine clinical measurements. *Diabetes* 2005; 54: 333-339 [PMID: 15677489 DOI: 10.2337/diabetes.54.2.333]

5 Valverde AM, Kahn CR, Benito M. Insulin signaling in insulin receptor substrate (IRS)-1-deficient brown adipocytes: requirement of IRS-1 for lipid synthesis. *Diabetes* 1999; 48: 2122-2131 [PMID: 10535444 DOI: 10.2337/diabetes.48.11.2122]

6 Alexandrides TK, Skroubis G, Kalfarentzos F. Resolution of diabetes mellitus and metabolic syndrome following Roux-en-Y gastric bypass and a variant of biliopancreatic diversion in patients with morbid obesity. *Obes Surg* 2007; 17: 176-184 [PMID: 17476868 DOI: 10.1007/s11695-007-9044-z]

7 洪丽莉, 许冠芬, 申国明, 尹刚, 刘向国, 方正清. SD大鼠2型糖尿病模型的建立. 实验动物科学与管理 2005; 22: 1-3

8 张士虎, 苗毅. 胃旁路术对糖尿病大鼠的降糖作用及其机制. 中华实验外科杂志 2006; 23: 997-999

9 John S, Hoegerl C. Nutritional deficiencies after gastric bypass surgery. *J Am Osteopath Assoc* 2009; 109: 601-604 [PMID: 19948694]

10 Greenway SE, Greenway FL, Klein S. Effects of obesity surgery on non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Arch Surg* 2002; 137: 1109-1117 [PMID: 12361414 DOI: 10.1001/archsurg.137.10.1109]

11 王瑜, 焦亚彬, 王祎波, 黄盛, 王畅, 刘斌, 邹志东. 胃转流术对非肥胖型2型糖尿病治疗作用的临床究. 中华内分泌外科杂志 2011; 5: 408-411

12 Ferrannini E, Natali A, Camastra S, Nannipieri M, Mari A, Adam KP, Milburn MV, Kastenmüller G, Adamski J, Tuomi T, Lyssenko V, Groop L, Gall WE. Early metabolic markers of the development of dysglycemia and type 2 diabetes and their physiological significance. *Diabetes* 2013; 62: 1730-1737 [PMID: 23160532]

13 Assmann A, Ueki K, Winnay JN, Kadowaki T, Kulkarni RN. Glucose effects on beta-cell growth and survival require activation of insulin receptors and insulin receptor substrate 2. *Mol Cell Biol* 2009; 29: 3219-3228 [PMID: 19273608 DOI: 10.1128/MCB.01489-08]

14 Aulinger B, D'Alessio D. Glucagon-like peptide 1: continued advances, new targets and expanding promise as a model therapeutic. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 2007; 14: 68-73 [PMID: 17940423 DOI: 10.1097/MED.0b013e328013e79e]

15 Araujo EP, Amaral ME, Souza CT, Bordin S, Ferreira F, Saad MJ, Boschero AC, Magalhães EC, Velloso LA. Blockade of IRS1 in isolated rat pancreatic islets improves glucose-induced insulin secretion. *FEBS Lett* 2002; 531: 437-442 [PMID: 12435589 DOI: 10.1016/S0014-5793(02)03580-9]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

■同行评价

本文对2型糖尿病的研究有一定的参考价值.

世界华人消化杂志 2014年4月8日; 22(10): 1436-1441
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

研究快报 RAPID COMMUNICATION

A20与EGFP共表达腺病毒载体的构建及转染THP-1细胞

郭永红, 陈 琳, 何 瑜, 周 云, 范 超, 张 颖, 纪光晰, 秦 源, 张凌云, 贾战生

■背景资料
A20是炎症信号传导的中心调节因子-核转录因子-κB(nuclear factor-κB, NF-κB)抑制因子, 在天然免疫和过继性免疫调节中发挥了重要作用. A20与多种炎症疾病及自身免疫性疾病相关, 具有抑制炎症、抑制凋亡等作用, 了解该蛋白的作用机制有利于研究相关疾病.

郭永红, 何瑜, 周云, 范超, 张颖, 纪光晰, 秦源, 贾战生, 第四军医大学唐都医院全军感染病诊疗中心 陕西省西安市 710038
郭永红, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科 陕西省西安市 710004
陈琳, 第四军医大学唐都医院质量控制科 陕西省西安市 710038
张凌云, 河南新乡医学院感染科 河南省新乡市 453000
郭永红, 副主任医师, 博士研究生, 第四军医大学唐都医院全军感染病诊疗中心博士后, 主要从事病毒性肝炎、肝硬化及肝癌的发病机制研究.
国家自然科学基金资助项目, Nos. 81170389, 81273218
作者贡献分布: 此课题由郭永红、陈琳、 何瑜、周云及范超设计; 研究过程由郭永红、纪光晰及张凌云操作完成; 数据分析由秦源完成; 本论文写作由郭永红、张颖及贾战生完成.
通讯作者: 贾战生, 教授, 主任医师, 710038, 陕西省西安市灞桥区新寺路569号, 第四军医大学唐都医院全军感染病诊疗中心. jiazsh@fmmu.edu.cn
收稿日期: 2013-11-25 修回日期: 2013-12-24
接受日期: 2014-02-18 在线出版日期: 2014-04-08

Construction and identification of a recombinant adenoviral vector expressing A2 and EGFP

Yong-Hong Guo, Lin Chen, Yu He, Yun Zhou, Chao Fan, Ying Zhang, Guang-Xi Ji, Yuan Qin, Ling-Yun Zhang, Zhan-Sheng Jia

Yong-Hong Guo, Yu He, Yun Zhou, Chao Fan, Ying Zhang, Guang-Xi Ji, Yuan Qin, Zhan-Sheng Jia, State Key Laboratory for Diagnosis and Treatment of Infectious Diseases, the Tongdu Hospital of Fourth Military Medical University, Xi'an 710038, Shaanxi Province, China
Yong-Hong Guo, Department of Infection Diseases, the Second Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, Shaanxi Province, China
Lin Chen, Department of Medical Quality Control, the Tongdu Hospital of Fourth Military Medical University, Xi' an 710038, Shaanxi Province, China
Ling-Yun Zhang, Department of Infection, Xinxiang Medical College, Xinxiang 453000, Henan Province, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, Nos. 81170389 and 81273218
Correspondence to: Zhan-Sheng Jia, Professor, Chief Physician, State Key Laboratory for Diagnosis and Treatment of Infectious Diseases, the Tongdu Hospital of Fourth Military Medical University, 569 Xinsi Road, Baqiao District, Xi'an 710038, Shaanxi Province, China. jiazsh@fmmu.edu.cn
Received: 2013-11-25 Revised: 2013-12-24
Accepted: 2014-02-18 Published online: 2014-04-08

Abstract

AIM: To construct an adenoviral vector expressing A20 and enhanced green fluorescent protein (EGFP) and evaluate its effects in human mononuclear cell line THP-1.

METHODS: *A20* gene fragment was amplified by PCR and inserted to GV314 vector to obtain a recombinant shuttle plasmid pGV314-A20. The recombinant vector was amplified in competent cells DH5α. A recombinant adenovirus co-expressing A20 and EGFP was generated by homologous recombination and packaged *via* 293T cells. The adenovirus was transfected into THP-1 cells, and then the expression of protein A20 was detected by Western blot. The levels of tumor necrosis factor alpha (TNF-α) and interleukin-6 (IL-6) in the culture supernatants of lipopolysaccharides (LPS)-stimulated THP-1 cells were assessed by ELISA.

RESULTS: The recombinant vector was identified and confirmed by restriction enzyme digestion and DNA sequencing. The titer of packaged adenoviruses was 1×10^{11} pfu/L, and 293 cells infected with the adenovirus showed obvious ballooning. Western blot analysis indicated that A20 protein expression was increased in THP-1 cells transfected by the adenovirus. The levels of TNF-α and IL-6 in the supernatants declined significantly in the A20 group compared with the control group ($P < 0.05$).

CONCLUSION: A recombinant adenoviral vector which expresses A20 and EGFP has been successfully constructed, which lays a foundation for further study of anti-inflammatory function of A20.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: A20; Enhanced green fluorescent protein; THP-1

Guo YH, Chen L, He Y, Zhou Y, Fan C, Zhang Y, Ji GX, Qin Y, Zhang LY, Jia ZS. Construction and identification of a recombinant adenoviral vector expressing A2 and EGFP. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(10): 1436-1441 URL: http://www.wjgnet.

■同行评议者
郭永红, 副主任医师, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科

com/1009-3079/22/1436.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i10.1436

摘要

目的: 构建A20和增强型绿色荧光蛋白(enhanced green fluorescent protein, EGFP)共表达的腺病毒载体, 观察其对人单核-巨噬细胞系THP-1的影响.

方法: PCR扩增目的基因片段*A20*, 将目的基因与载体GV314连接获得重组穿梭质粒pGV314-A20, 在DH5a感受态细胞中扩增, 同源重组得到含有目的基因的腺病毒载体, 转染293T细胞, 包装成具有感染能力的共表达A20和EGFP的腺病毒颗粒, 转染目的细胞THP-1, 通过Western blot检测A20蛋白在THP-1细胞的表达, EILSA检测脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)刺激THP-1后其上清肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor α, TNF-α)和白介素-6(interleukin-6, IL-6)的表达.

结果: 限制性内切酶酶切鉴定与DNA测序证实重组载体构建成功, 包装的腺病毒滴度达到1×10^{11} pfu/mL, 感染了腺病毒后的293细胞出现了明显的气球样变, Western blot证实转染THP-1后A20蛋白表达显著增加, 与空白组比较, THP-1上清中TNF-α和IL-6的表达下降, 两者相比, 有统计学差异($P<0.05$).

结论: 成功构建A20与EGFP共表达腺病毒载体, 能够在THP-1细胞表达, 降低其炎性因子表达, 为进一步研究其抗炎功能奠定基础.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: A20; **增强型绿色荧光蛋白**; THP-1

核心提示: 构建A20和增强型绿色荧光蛋白(enhanced green fluorescent protein, EGFP)双基因表达载体, 通过A20与EGFP使用不同的启动子共表达, 通过EGFP的表达观察绿色荧光有利于观察转染率, 同时EGFP不会影响A20蛋白的表达, 转染单核-巨噬细胞系THP-1细胞上调A20表达, 观察其对炎症因子释放的影响.

郭永红, 陈琳, 何瑜, 周云, 范超, 张颖, 纪光晰, 秦源, 张凌云, 贾战生. A20与EGFP共表达腺病毒载体的构建及转染THP-1细胞. 世界华人消化杂志 2014; 22(10): 1436-1441 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1436.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i10.1436

0 引言

锌指蛋白A20又称为肿瘤坏死因子α诱导蛋白3(tumor necrosis factor alpha induced protein 3, TNFAIP3), 是1990年美国密西根州大学病理系Dixit教授在内皮细胞对肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)应答反应的研究中发现[1]. 作为负调控因子, A20能在多种组织细胞内诱导表达, A20的调节作用表现为抑制TNF-α、白介素-1(interleukin-1, IL-1)、IL-6、IL-8、细胞间黏附分子等多种促炎因子的过度释放, 以及抑制细胞凋亡和坏死. A20在发挥调控功能时主要利用其双重泛素化酶功能, 使胞浆中相关信号通路的多种关键蛋白分子泛素化, 进而被蛋白酶体识别, 加速降解, 达到抑制信号通路的作用, 抑制促炎因子的表达, 增加抗炎因子的表达[2,3]. 研究表明, A20在TNF-α、IL-1和Toll样受体(Toll-like receptor, TLR)等刺激之下, 通过其结构中的双重泛素化功能负向调节TNF-α和TLR-信号通路, 从而抑制核转录因子-κB(nuclear factor-κB, NF-κB)信号通路的活性[4]. 目前, 关于A20在单核及巨噬细胞中的作用机制知之甚少, 因此, 在本项研究中, 通过构建A20及增强型绿色荧光蛋白(enhanced green fluorescent protein, EGFP)双基因表达载体, 转染单核-巨噬细胞系THP-1细胞上调A20表达, 观察其对炎症因子释放的影响, 为进一步探索A20对单核-巨噬细胞系统作用机制打下基础.

1 材料和方法

1.1 材料 各种限制性内切酶均购自NEB公司; T4 DNA聚合酶、Taq DNA聚合酶购自SinoBio公司; 小量质粒提取试剂盒及质粒pGEM T-Easy购自Promega; 琼脂糖凝胶回收试剂盒购自天根生化公司; DNA Marker购自Fermentas公司; DMEM培养基、胎牛血清购自Hyclone公司; 大肠杆菌DH5α、腺病毒载体GV314及包装系统购自上海吉凯基因化学技术公司; HEK293购自ATCC(cat# CRL-1573); 辅助包装质粒购自Microbix公司(Microbix, Canada); 腺病毒纯化系统Adeno-X™ Virus Purification Kit购自BD Biosciences(Clontech); TNF-α和IL-6 EILSA检测试剂盒购自RD公司; 兔源A20单克隆抗体购自Abcam公司.

1.2 方法

1.2.1 PCR扩增目的基因片段: 参照已在GenBank中登录的*A20*基因的序列设计引物, 根据克隆所需在上下游引物分别引入*Bam*HⅠ和*Age*Ⅰ限制性酶切位点, 引物均由捷瑞生物

■研发前沿
A20的主要作用是抑制炎症及凋亡, A20可能成为一种减缓炎症反应的理想候选靶分子, 目前关于A20在单核及巨噬细胞中的作用机制了解较少, 增加其表达是否能抑制炎症及相应的不良反应均需要深入研究.

■相关报道
研究证实, 在A20缺陷小鼠中, 容易发生慢性炎症及多器官的炎性损伤, 而在小鼠过敏性哮喘及类风湿关节炎等自身免疫的炎症性病理模型中, 过表达A20能减缓小鼠的炎症反应并有一定保护作用, A20在病毒感染引起的固有免疫信号通路中发挥着调控作用.

公司合成. A20引物的序列: 上游5'-AGGTCGACTCTAGAGGATCCCGCCACCATGGCTGAACAAGTCCTTCCTC-3'; 下游5'-TCCTTGTAGTCCATACCGCCATACATCTGCTTGAACTG-3'.

1.2.2 重组穿梭质粒构建: 利用PCR产物交换入线性化表达载体构建重组穿梭质粒, 将目的载体GV314进行*Bam*HⅠ/*Age*Ⅰ酶切线性化, 酶切产物电泳回收后与纯化后的PCR产物片段进行交换, 其产物转化细菌感受态细胞DH5α, 阳性对照为纯化的*GAPDH*基因的PCR产物, 克隆进行菌落PCR鉴定, 接种阳性转化子, 37 ℃培养16 h后保存为甘油菌, 分装200 μL进行测序和比对分析, 比对正确的即为构建成功的重组目的质粒.

1.2.3 腺病毒质粒同源重组和鉴定: 利用AdMax腺病毒包装系统, 将携带外源基因的腺病毒穿梭质粒GV314与辅助包装质粒共转染HEK293细胞, 利用Cre/loxP重组酶系统的作用产生重组腺病毒. 具体过程为: 将处于对数生长期的293T细胞进行胰酶消化, 制成细胞悬液(细胞数约为4×10^5)接种于24孔培养板中37 ℃、5%CO_2培养箱, 培养至细胞融合度达到约50%-60%, 转染前2 h将细胞培养基更换为无血清DMEM培养基, 根据Invitrogen Lipofectamine 2000转染试剂使用说明书进行转染操作, 转染24 h后荧光显微镜下观察细胞内荧光标记基因(EGFP)的表达情况, 转染36 h后收集细胞进行Western blot检测.

1.2.4 重组腺病毒GV314/A20中目的基因*A20*的鉴定: 取病毒液100 μL, 99 ℃加热10 min, 12000 *g*离心15 min, 进行PCR反应, 扩增产物在1.2%琼脂糖凝胶上电泳, 观察有无目的片段.

1.2.5 重组腺病毒的包装、扩增、纯化: pAdGV314/A20质粒经*Pac*Ⅰ酶切线性化、酚/氯仿抽提, 乙醇沉淀回收并测定其含量与纯度, 转染HEK293大约10-15 d时, 细胞部分出现病变(cytopathic effect, CPE), 待大部分细胞出现典型的CPE(局部细胞变圆、脱落, 成网状), 且有50%的细胞脱壁, 收集病毒上清于-80 ℃保存, 重复感染、收集步骤, 于液氮和37 ℃水浴中反复冻融4次, 取病毒上清液再次感染293细胞进行扩增, 进行数轮扩增, 将最终收集的PBS重悬病毒上清液按Adeno-X™ Virus Purification Kit (BD Biosciences, Clontech)的步骤纯化重组腺病毒.

1.2.6 腺病毒滴度测定-终点稀释法: 收集的病毒利用终点稀释法进行滴度测定, 以下式计算所测样本病毒颗粒滴度(Spearman-Karber Method): 病毒滴度 = 10(x+0.8)(pfu/mL), x = 10^{-1}到10^{-13}依次稀释度下CPE阳性率总和.

1.2.7 重组腺病毒转染THP-1: 将THP-1细胞以1×10^6/mL的密度接种于培养瓶中, 按100感染复数(multiplicity of infection, MOI)加入重组腺病毒感染THP-1细胞, 观察荧光表达同时Western blot鉴定A20蛋白表达. 重组腺病毒转染THP-1后48 h, 每孔细胞加入100 μL RIPA裂解液, 含终浓度1 mg/mL PMSF, 冰上裂解10 min, 12000 *g*高速低温离心10 min, 取5 μL裂解上清BCA蛋白定量, 取相同质量的总蛋白50 μg, 加入5×电泳上样缓冲液, 100 ℃煮沸10 min, 进行常规SDS-PAGE电泳, 电转移至PVDF膜上, 以兔源A20单克隆抗体为一抗, 羊抗兔IgG-HRP为二抗, ECL化学发光试剂盒检测A20蛋白的表达.

1.2.8 细胞培养上清中TNF-α和IL-6浓度的测定: 将THP-1细胞以1×10^6/mL的密度接种于6孔培养板中加入100 ng/L的LPS刺激, 加入10%胎牛血清, 5%CO_2 37 ℃继续培养12 h后, 离心收集细胞培养上清, 按照RD公司ELISA试剂盒说明书操作检测上清中TNF-α和IL-6浓度.

统计学处理 本实验数据采用GrapPad Prism5软件处理, 正态分布计量资料采用mean±SD表示, 组间比较采用ANOVA方差分析, P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 PCR扩增*A20*基因片段的电泳鉴定 质粒中*A20*基因CDS全长约为2.4 kb，PCR法扩增该片段, 琼脂糖凝胶电泳显示在2.4 kb处有明显的目的条带, 电泳结果显示条带符合理论结果(图1).

2.2 重组腺病毒的产生 pAd-GV314/A20经脂质体转染293T细胞后24 h出现绿色荧光蛋白表达(图2) , 荧光表达随时间增强, 测得腺病毒滴度为1×10^{11} pfu/mL.

2.3 重组腺病毒转染THP-1细胞 重组腺病毒在THP-1细胞均有较好的荧光表达(图3).

2.4 Western blot鉴定pAdGV314/A20转染THP-1后A20的表达 重组腺病毒pAdGV314/A20转染THP-1细胞后Western blot鉴定A20蛋白表达, 目的蛋白分子量为89 kDa(图4).

2.5 pAdGV314/A20转染THP-1抑制炎症因子的表达作用 LPS以100 ng/mL诱导刺激THP-1, 12 h

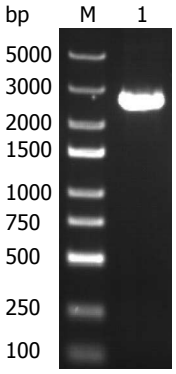


图 1 PCR扩增*A20*基因片段的电泳图. M: 标准分子量Marker; 1: PCR扩增*A20*基因片段.

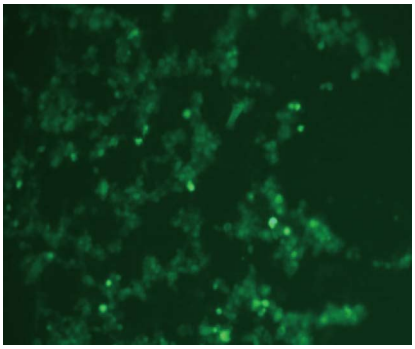


图 2 重组病毒转染293T细胞后绿色荧光的表达(×100).

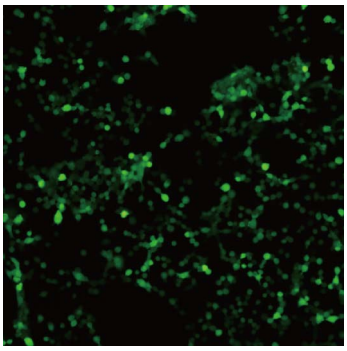


图 3 重组腺病毒转染THP-1的绿色荧光表达(×100).

后用ELISA法检测培养上清中细胞因子IL-6、TNF-α的水平. 在LPS刺激后, 对照组细胞因子IL-6、TNF-α表达上调, 而pAdGV314/A20转染组与对照组比较, 表达较低, 两者比较差异有统计学意义(P<0.05, 表1).

3 讨论

*A20*基因在人类其定位于6q23, 其cDNA全长4426 bp, 转录产物mRNA全长约4 kb, 可读框为2370 bp. 人A20蛋白大小为90 kDa, 氨基酸序列高度保守, 与小鼠的A20蛋白有高达98%的同

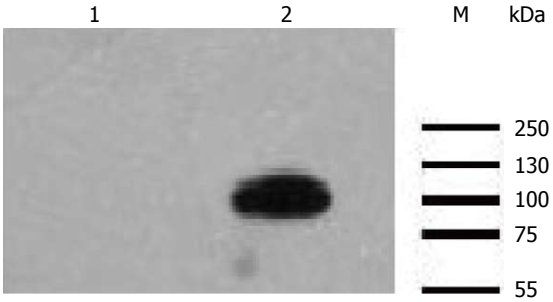


图 4 Western blot鉴定pAdGV314/A20转染THP-1后A20的表达. 1: 空载体组; 2: pAdGV314/A20转染组; M: 标准分子量Marker.

表 1 ELISA检测LPS刺激THP-1产生细胞因子IL-6、TNF-α表达 (pg/mL)

分组	TNF-α	IL-6
对照组	638.97 ± 51.34	507.36 ± 22.68
A20转染组	278.55 ± 14.89[a]	367.54 ± 32.53[a]

[a]P<0.05 *vs* 对照组. TNF-α: 肿瘤坏死因子-α; IL-6: 白介素-6; LPS: 脂多糖.

源性, 其氨基端的卵巢肿瘤基序(ovarian tumor motif, OTU)结构域, 能够与泛素结合, 发挥去泛素化酶作用, 其羧基端结构域的锌指结构具有泛素化酶功能, 由于其双重的泛素化功能, 通过使NF-κB信号通路中的关键分子肿瘤坏死因子受体相关因子6(TNF receptor-associated factor 6, TRAF6)去泛素化及RIP1泛素化降解, 可抑制NF-κB信号通路的活化[5,6]. *A20*最早被认为是一种TNF诱导基因和NF-κB靶向基因, 多种刺激因素可以诱导其在不同类型细胞中的表达[7]. NF-κB信号转导研究中, A20可以直接下调NF-κB活性、下调NF-κB依赖性炎性细胞因子的表达以及重要膜受体TLR4的表达, 在预防体内炎症反应过度、保护组织细胞免于发生炎症损伤中发挥重要作用[8], 因此A20能抑制多种炎症因子的产生和分泌, A20缺陷的巨噬细胞中NF-κB活性增强, A20缺陷的小鼠对LPS和TNF的敏感性也大大提高, 可发生多器官的重度炎症反应, 使小鼠出生后不久即死亡[9,10].

单核巨噬细胞是人体重要的免疫细胞, 具有多种功能, 包括炎症时通过趋化作用募集炎症细胞. 单核巨噬细胞在炎症反应中发挥抗原提呈、吞噬消化和杀伤作用, 可以合成、分泌多种生物活性介质, 参与成纤维细胞、血管内皮细胞的迁移、增生, 促进血管和肉芽组织的形

■创新盘点

既往过表达A20及增强型绿色荧光蛋白(enhanced green fluorescent protein, EGFP), 大都采用融合表达, 这种表达会影响A20蛋白的表达及活性, 本方法可克服此类缺点, 利用不同启动子表达不同蛋白质, 起到同时表达又不相互干扰, 可推广使用.

■应用要点
建立A20过表达载体, 利用同时表达的EGFP观察其在不同细胞的表达, 了解其抑制炎症及凋亡的效果, 进行完善及改进后有可能应用于临床治疗.

成, 是感染发生发展过程中的核心介导细胞[11,12], 因此研究单核巨噬细胞对了解炎症信号转导通路和作用机制具有重要意义. THP-1细胞来源于人急性单核细胞白血病细胞, 其细胞表型和分化更能完整的代表人单核巨噬细胞系统的功能, 因此是目前运用较多的用以研究单核巨噬细胞分化及功能的细胞模型[13].

本实验成功构建了pAdGV314/A20的表达载体, GV314载体中含有HIV的基本元件5'长末端重复序列(long terminal repeat, LTR)和3'LTR以及其他辅助元件, GV314载体含有EGFP, 其启动子为猿猴空泡病毒(simian vacuolating virus 40, SV40), 而A20的启动子为巨细胞病毒(cytomegalovirus, CMV), 两个目的基因分别使用不同的启动子, 不会相互影响, 而EGFP的表达有利于直接观察转染效率. 构建成功的表达载体有荧光表达, 是转染成功的直接证据, 转染效率可达到80%以上, 可用于后续转染THP-1细胞及功能实验. LPS对单核巨噬细胞THP-1具有显著的诱导激活作用, 在LPS诱导THP-1细胞产生炎症反应后, IL-6、TNF-α表达显著增加, 说明LPS诱导了核转录因子NF-κB的表达炎症细胞因子的上调[13,14]. 通过转染THP-1上调A20蛋白的表达, 结果表明, A20对LPS激活THP-1细胞细胞分泌TNF-α和IL-6存在干预作用, 加入A20时能够明显降低TNF-α和IL-6的表达, 因此, A20具有抑制LPS对单核细胞NF-κB的激活作用, 降低细胞TNF-α和IL-6的分泌水平, 对单核细胞LPS炎症应答具有负向调节作用, 具有抗炎活性, pAdGV314/A20转染组较空载体组及空白组IL-6、TNF-α表达降低, 但是IL-6、TNF-α并没有完全降到LPS刺激前的水平, 说明还存在其他的通路诱导炎症反应, 例如细胞膜受体TLR4等[15].

本研究以LPS攻击THP1细胞作为炎症细胞模型, 观察过表达A20对THP-1细胞分泌到培养液中的TNF-α和IL-6水平的影响, 了解A20对细胞炎症反应的调节能力, 为进一步研究A20对单核巨噬细胞系统作用奠定了基础.

4 参考文献

1 Opipari AW, Boguski MS, Dixit VM. The A20 cDNA induced by tumor necrosis factor alpha encodes a novel type of zinc finger protein. *J Biol Chem* 1990; 265: 14705-14708 [PMID: 2118515]
2 Wertz IE, O'Rourke KM, Zhou H, Eby M, Aravind L, Seshagiri S, Wu P, Wiesmann C, Baker R, Boone DL, Ma A, Koonin EV, Dixit VM. De-ubiquitination and ubiquitin ligase domains of A20 downregulate NF-kappaB signalling. *Nature* 2004; 430: 694-699 [PMID: 15258597 DOI: 10.1038/nature02794]
3 Shembade N, Ma A, Harhaj EW. Inhibition of NF-kappaB signaling by A20 through disruption of ubiquitin enzyme complexes. *Science* 2010; 327: 1135-1139 [PMID: 20185725 DOI: 10.1126/science.1182364]
4 Lu TT, Onizawa M, Hammer GE, Turer EE, Yin Q, Damko E, Agelidis A, Shifrin N, Advincula R, Barrera J, Malynn BA, Wu H, Ma A. Dimerization and ubiquitin mediated recruitment of A20, a complex deubiquitinating enzyme. *Immunity* 2013; 38: 896-905 [PMID: 23602765 DOI: 10.1016/j.immuni.2013.03.008]
5 Verstrepen L, Verhelst K, van Loo G, Carpentier I, Ley SC, Beyaert R. Expression, biological activities and mechanisms of action of A20 (TNFAIP3). *Biochem Pharmacol* 2010; 80: 2009-2020 [PMID: 20599425 DOI: 10.1016/j.bcp.2010.06.044]
6 Evans PC, Ovaa H, Hamon M, Kilshaw PJ, Hamm S, Bauer S, Ploegh HL, Smith TS. Zinc-finger protein A20, a regulator of inflammation and cell survival, has de-ubiquitinating activity. *Biochem J* 2004; 378: 727-734 [PMID: 14748687]
7 Vereecke L, Beyaert R, van Loo G. The ubiquitin-editing enzyme A20 (TNFAIP3) is a central regulator of immunopathology. *Trends Immunol* 2009; 30: 383-391 [PMID: 19643665 DOI: 10.1016/j.it.2009.05.007]
8 Das S, Pandey K, Kumar A, Sardar AH, Purkait B, Kumar M, Kumar S, Ravidas VN, Roy S, Singh D, Das P. TGF-β1 re-programs TLR4 signaling in L. donovani infection: enhancement of SHP-1 and ubiquitin-editing enzyme A20. *Immunol Cell Biol* 2012; 90: 640-654 [PMID: 21968712 DOI: 10.1038/icb.2011.80]
9 Coornaert B, Carpentier I, Beyaert R. A20: central gatekeeper in inflammation and immunity. *J Biol Chem* 2009; 284: 8217-8221 [PMID: 19008218 DOI: 10.1074/jbc.R800032200]
10 Lee EG, Boone DL, Chai S, Libby SL, Chien M, Lodolce JP, Ma A. Failure to regulate TNF-induced NF-kappaB and cell death responses in A20-deficient mice. *Science* 2000; 289: 2350-2354 [PMID: 11009421]
11 Turer EE, Tavares RM, Mortier E, Hitotsumatsu O, Advincula R, Lee B, Shifrin N, Malynn BA, Ma A. Homeostatic MyD88-dependent signals cause lethal inflamMation in the absence of A20. *J Exp Med* 2008; 205: 451-464 [PMID: 18268035]
12 Zhang FX, Kirschning CJ, Mancinelli R, Xu XP, Jin Y, Faure E, Mantovani A, Rothe M, Muzio M, Arditi M. Bacterial lipopolysaccharide activates nuclear factor-kappaB through interleukin-1 signaling mediators in cultured human dermal endothelial cells and mononuclear phagocytes. *J Biol Chem* 1999; 274: 7611-7614 [PMID: 10075645]
13 Auwerx J. The human leukemia cell line, THP-1: a multifacetted model for the study of monocyte-macrophage differentiation. *Experientia* 1991; 47: 22-31 [PMID: 1999239]
14 Diya Zhang, Lili Chen, Shenglai Li, Zhiyuan Gu, Jie Yan. Lipopolysaccharide (LPS) of Porphyromonas gingivalis induces IL-1beta, TNF-alpha and IL-6 production by THP-1 cells in a way different from that of Escherichia coli LPS. *Innate Immun* 2008; 14:

99-107 [PMID: 18713726 DOI: 10.1177/1753425907088244]
15 Peng X, Li W, Zhang W. Poly(ADP-ribose) polymerase 1 inhibition protects human aortic endothelial cells against LPS-induced inflammation response. *Acta Biochim Biophys Sin* (Shanghai) 2012; 44: 911-917 [PMID: 23027378 DOI: 10.1093/abbs/gms080]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

■同行评价
该研究为进一步探索A20对单核-巨噬细胞系统作用机制打下基础, 研究方法和技术有创新性, 得到有价值的科学结论.

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》参考文献要求

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

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2014年4月8日; 22(10): 1442-1445
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

新疆哈萨克族食管癌风险的预测

李 婧, 秦江梅

■背景资料
食管癌的死亡率不同地区、不同民族差异很大, 新疆哈萨克族是我国食管癌的高发民族. 对慢性疾病和复杂性疾病建立风险预测模型, 对高危人群和易感个体进行早期预测、早期诊断、早期治疗是有效的.

李婧, 石河子大学医学院预防医学系 新疆维吾尔自治区石河子市 832002
秦江梅, 卫生部卫生发展研究中心 北京市 100191
李婧, 主要从事肿瘤分子流行病学的研究.
国家自然科学基金资助项目, No. 30660161
作者贡献分布: 此课题由秦江梅设计; 数据分析由李婧完成; 本论文写作由李婧与秦江梅完成.
通讯作者: 秦江梅, 教授, 100191, 北京市海淀区学院路38号, 卫生部卫生发展研究中心. qinjm@nhei.cn
电话: 010-82801398 传真: 010-82805512
收稿日期: 2013-12-02 修回日期: 2014-02-26
接受日期: 2014-02-28 在线出版日期: 2014-04-08

Prediction of risk for esophageal cancer in Kazak people in Xinjiang

Jing Li, Jiang-Mei Qin

Jing Li, Department of Preventive Medicine, Shihezi University School of Medicine, Shihezi 832002, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China
Jiang-Mei Qin, Health Development Research Center of the Ministry of Health, Beijing 100191, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 30660161
Correspondence to: Jiang-Mei Qin, Professor, Health Development Research Center of the Ministry of Health, 38 Xueyuan Road, Haidian District, Beijing 100191, China. qinjm@nhei.cn
Received: 2013-12-02 Revised: 2014-02-26
Accepted: 2014-02-28 Published online: 2014-04-08

Abstract

AIM: To develop risk prediction models for esophageal cancer, and provide evidence and information for the establishment of an esophageal cancer monitoring system for high-risk Kazak population in Xinjiang.

METHODS: Data of the local population and controls, including environmental, behavioral risk factors, and genetic data, were collected. Risk factors were screened using conditional Logistic regression to establish Logistic discriminant predictive models.

RESULTS: Two groups were selected as controls in this study: one was Kazakh population and the other was general population. Compared with the Kazakh control group, values of odds ratios (ORs) of related risk factors were as follows: alcohol drinking (OR = 2.77), irregular diet (OR = 3.42), frequent binge eating (OR = 4.01), fruit eating (OR = 2.65), gastropathy history (OR = 2.66), eating speed (OR = 1.94), family history of esophageal cancer (OR = 2.06), HLA-DRB1*0901 (OR = 2.83), TAP2379 (OR = 2.09), and CYP2E1 (OR = 1.60), and 10 factors were selected into the model . As for the population-based control, values of OR were: age (OR = 1.10), alcohol drinking (OR = 6.27), irregular diet (OR = 118.05), frequently eating hot and burning food (OR = 3.02), frequent binge eating (OR = 2.11), fruit eating (OR = 6.80), smoked meat eating (OR = 17.14), gastropathy history (OR = 5.31), and 7 factors were selected into the model. The discriminant accuracy rates of the four models were 74.6%, 70.1%, 76.1% and 96.9%, respectively, with the discriminant model 4 having the best accuracy.

CONCLUSION: The models established with environmental and poor behavioral factors are suitable for basic health care facilities. Self-assessment of risk probability could be implemented using these simple and effective risk prediction models.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Esophageal cancer; Risk prediction; Logistic discriminant model

Li J, Qin JM. Prediction of risk for esophageal cancer in Kazak people in Xinjiang. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(10): 1442-1445 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1442.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i10.1442

摘要

目的: 利用不同危险因素建立食管癌风险预测模型, 为新疆哈萨克族食管癌高危人群监测体系的建立提供循证依据和基础信息.

方法: 利用前期收集对照和当地人群对照环境、行为危险因素和基因检测数据, 采用条件

■同行评议者
姜春萌, 教授, 大连医科大学附属第二医院消化科

Logistic回归筛选危险因素, 利用Logistic判别建立预测模型.

结果: 以哈萨克族对照, 饮酒(OR = 2.77)、饮食不规律(OR = 3.42)、经常暴饮暴食(OR = 4.01)、少吃水果(OR = 2.65)、胃病变史(OR = 2.66)、进食速度快(OR = 1.94)、食管癌家族史(OR = 2.06)、HLA-DRB1*0901(OR = 2.83)、TAP2379(OR = 2.09)、CYP2E1(OR = 1.60)10个因素进入模型; 以人群对照时, 年龄(OR = 1.10)、饮酒(OR = 6.27)、饮食不规律(OR = 118.05)、经常热烫饮食(OR = 3.02)、经常暴饮暴食(OR = 2.11)、少吃水果(OR = 6.80)、吃熏制肉(OR = 17.14)、胃病变史(OR = 5.31)7个因素进入模型; 从判别效果看4个模型的判别正确率分别为74.6%、70.1%、76.1%和96.9%. 模型四的判别效果最好.

结论: 以环境、不良行为因素建立的风险预测模型适合基层应用, 风险预测模型可以通过该简单、有效的预测概率模型进行风险自我评估.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 食管癌; 风险预测; Logistic判别模型

核心提示: 通过病例对照研究, 采用Logistic回归分析与食管癌相关的危险因素, Logistic判别方法建立食管癌判别模型及风险预测模型.

李婧, 秦江梅. 新疆哈萨克族食管癌风险的预测. 世界华人消化杂志 2014; 22(10): 1442-1445 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1442.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i10.1442

0 引言

预测模型已经大量应用于疾病一级预防, 通过预测模型确定患者未来发病风险. 疾病风险预测模型不仅在发病率较高的疾病高血压、糖尿病等[1-3]应用广泛, 在肿瘤发病率相对较低, 乳腺癌、肺癌等[4-6]也有应用. 食管癌是消化系统肿瘤中可获得较好防治效果的癌种, 人群一级预防措施可行[7,8]. 前期已在新疆伊犁州新源县食管癌高发区地建立了哈萨克族食管癌监测点, 哈拉布拉乡和那拉提镇已经建立4万人的研究队列. 本研究拟在前期研究的基础上, 利用Logistic分析方法建立高发区、高发民族哈萨克族食管癌风险预测模型.

1 材料和方法

1.1 材料 收集2008-2011年新疆自治区人民医院、伊犁州友谊医院、伊犁州奎屯医院、新源县人民医院、阿勒泰地区人民医院和阿勒泰北屯医院六所医院, 经病理活检、X线或内窥镜确诊的哈萨克族新发食管癌166例. 同期收集哈萨克族非肿瘤、非消化道疾病的住院病人或正常人群370例; 收集新疆新源县哈拉布拉乡居民4878例(该数据来自于科技支撑计划《新疆维吾尔族、哈萨克族高发病防治适宜技术研究与示范》在哈拉布拉乡基于人群做的健康普查资料).

1.2 方法 采用条件Logistic回归进行食管癌危险因素分析, 计算回归系数估计值、*P*值、OR值. 利用Logistic判别法建立判别函数: Logistic回归中的两类判别, 第一类Y = 0, 第二类Y = 1, 根据指标可以建立logit(p)关于自变量X1, X2, …Xm的Logistic回归方程: $\text{logit}(p) = \beta_0+\beta_1X_1+\cdots+\beta_mX_m$

得概率估计公式:

$p = \exp(\beta_0+\beta_1X_1+\cdots+\beta_mX_m)/[1+\exp(\beta_0+\beta_1X_1+\cdots+\beta_mX_m)]$

根据估计概率进行判别归类. 计算预测概率*P*值, 建立风险预测图: 基于病例对照研究的非条件Logistic回归不能直接获得β_0后的估计值, β_0'可在得到模型估计参数β_0后, 对常数项进行校正, 获得$\beta_0' = \ln(p_0/1-p_0)-(\beta_1\overline{X}_1+\beta_2\overline{X}_2+\cdots+\beta_k\overline{X}_k)$

其中为p_0总体的患病率, $\overline{X}_1$, $\overline{X}_2$, …$\overline{X}_k$为X_1, X_2, …X_k的总体均数, 由于总体均数不易获得, 可用样本均数代替, 后再用调整后的β_0'作为Logistic回归方程的常数项就可以计算预测概率*P*值[9-11].

统计学处理 数据核查后整理建库, 用SPSS17.0进行数据处理和分析, 统计学方法采用Logistic回归分析. $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 危险因素分析 Logistic回归分析显示: 以哈萨克族对照, 饮酒(OR = 2.77)、饮食不规律(OR = 3.42)、经常暴饮暴食(OR = 4.01)、少吃水果(OR = 2.65)、胃病变史(OR = 2.66)、进食速度快(OR = 1.94)、食管癌家族史(OR = 2.06)、HLA-DRB1*0901(OR = 2.83)、TAP2379(OR = 2.09)、CYP2E1(OR = 1.60)10个因素进入模型; 以人群对照时, 年龄(OR = 1.10)、饮酒(OR = 6.27)、饮食不规律(OR = 118.05)、经常热烫饮食(OR = 3.02)、经常暴饮暴食(OR = 2.11)、少吃水果(OR

■研发前沿
在食管癌的预防研究中, 转变预防管理思想, 将疾病管理从单一危险因素管理转变为食管癌的风险预测管理, 从而提高了预防及干预力度.

■相关报道

孙凤等也利用Logistic回归构建了台湾省慢性肾病个体化风险预测模型, 其模型是基于大规模人群长期随访的结果所建立, 研究结论更能反映台湾当地居民的真实情况, 应用价值很好, 而且其简便易行, 可直接估计体检者5年内新发疾病风险. 其认为风险预测模型具有直观的可视化效果, 不仅能够对中高度危险者提出强烈的警示信号, 也能够用于那些有良好习惯的低度危险人群, 鼓舞他们保持健康生活方式的信心.

表 1 危险因素的多因素分析

因素	对照1(哈萨克族对照)			对照2(全人群对照)		
	β	*P*值	OR	β	*P*值	OR
X_1 年龄>50岁(对照≤50岁)	–	–	–	0.096	0.00	1.10
X_2 饮酒 (对照 = 否)	1.018	0.00	2.77[1]	1.835	0.00	6.27[1]
X_3 饮食不规律(对照 = 规律)	1.230	0.00	3.42[1]	4.771	0.00	118.1[1]
X_4 经常热烫饮食(对照 = 否)	–	–	–	1.105	0.00	3.02[1]
X_5 经常暴饮暴食(对照 = 否)	1.390	0.00	4.01[1]	0.747	0.03	2.11[1]
X_6 少吃水果(对照 = 多吃)	0.975	0.02	2.65[1]	1.918	0.00	6.80[1]
X_7 吃熏制肉(对照 = 否)	–	–	–	2.842	0.00	17.1[1]
X_8 胃病变史(对照 = 无)	0.975	0.00	2.66[1]	1.670	0.00	5.31[1]
X_9 进食速度快(对照≥10分钟)	0.663	0.04	1.94	–	–	–
X_{10} 食管癌家族史(对照 = 否)	0.721	0.02	2.06[1]	–	–	–
X_{11} HLA-DRB1*0901(对照 = 阴性)	1.039	0.00	2.83[1]	–	–	–
X_{12} TAP2379(对照 = G/G型)	0.739	0.00	2.09[1]	–	–	–
X_{13} CYP2E1(对照 = C1/C2或C2/C2型)	0.468	0.03	1.60	–	–	–

[1]OR>2.0.

表 2 模型判别效果的评价

	判别正确率(%)			判别函数
	对照组	病例组	总	
模型一	93.2	33.1	74.6	$Logit(p) = -1.657+1.042X_2+0.787X_9+1.248X_3+1.406X_5$
模型二	93.5	18.1	70.1	$Logit(p) = -1.498+1.137X_{11}+0.769X_{12}+0.574X_{13}$
模型三	92.2	40.4	76.1	$Logit(p) = -1.803+1.001X_2+0.692X_9+1.219X_3+1.423X_5+1.005X_{11}$
模型四	98.9	57.8	96.9	$Logit(p) = -11.487+0.106X_1+1.622X_2+4.47X_3+1.377X_5+0.835X_4$

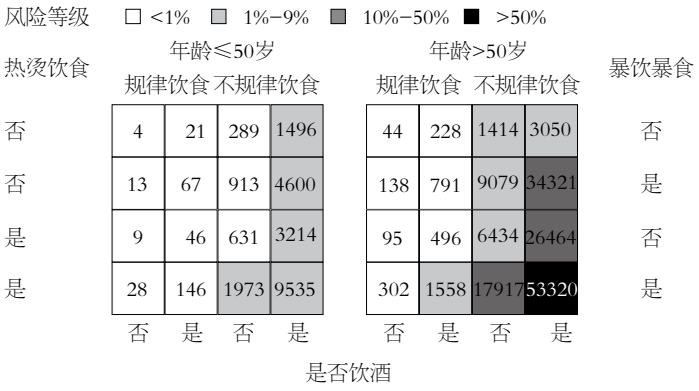


图 1 模型四食管癌风险预测图.

= 6.80)、吃熏制肉(OR = 17.14)、胃病变史(OR = 5.31)7个因素进入模型, 除外暴饮暴食, 其他相同因素, 以人群为对照的OR值更大(表1).

2.2 风险判别模型的建立 建立包含不同危险因素的风险预测模型, 模型一是基于可改变的不良行为危险因素、模型二是基于基因危险因素、模型三以基于基因和行为因素相结合、模型四利用的是人群对照, 基于可改变的不良行为危险因素. 从判别效果看上述4种模型的判别正确率分别为74.6%、70.1%、76.1%和96.9%. 模型四的正确率(96.9%)较其他3种模型高(表2).

2.3 建立风险预测图 模型四具有较高的判别正确率, 对照来自一般人群, 符合人群实际, 以此制定风险预测图. 模型预测图中涉及年龄、饮酒、饮食规律性、热烫饮食、暴饮暴食等5个风险因素. 如当个体年龄>50岁、饮酒、饮食不规律、热烫饮食、暴饮暴食未来患食管癌的风险概率>50%(图1).

3 讨论

3.1 食管癌危险因素的影响 依据不同对照, 患病的风险存在很大不同如以人群为对照时, 相同危险因素的OR值更大这是由于以相同民族为对照, 其生活环境和饮食习惯等具有相似性, 部分高危因素在所有哈萨克族人群中都普遍存在, 这会降低这些危险因素的风险. 从建立的以哈萨克族对照的3个风险模型的判别正确性看, 行为危险因素和基因危险因素同时存在模型判别正确率为76.1%, 较单独行为危险因素的74.6%和单独基因的70.1%, 增加幅度不明显, 该结果一方面说明行为危险因素与基因危险因素间存在共线性, 另一方面也与基因对食管癌发生的作用的微效性有关. 在哈族聚集地这样的偏远落后地区基因检测技术不完善, 环境、不良行为因素数据更易获得, 风险预测模型四更加适用.

3.2 风险预测模型的应用 WHO利用年龄、性别、吸烟等简单易测的指标建立的心血管疾病风险预测图, 已作为一种干预措施利用于初级卫生保健领域[12]. 风险预测图简单, 可对个体进行风险自我评估. 基于当地哈萨克族人群食管癌发病概率为20/10万, 本研究认为个体食管癌预测概率高于1%即可作为界点, 高于1%的人群可视为危险人群. 孙凤等[13-15]也利用Logistic回归构建了台湾省慢性肾病和2型糖尿病个体化风险预测模型, 直接估计体检者5年内新发疾病风险. 其认为风险预测模型具有直观的可视化效果, 不仅能够对中高度危险者提出强烈的警示信号, 也能够用于那些有良好习惯的低度危险人群, 鼓舞他们保持健康生活方式的信心. 本研究建议基层采用风险预测模型告知食管癌高危危险人群, 让高危人群意识到患癌风险和自觉改善不良行为, 可能会降低食管癌的发病风险达到预防食管癌的目的.

3.3 研究的局限性 本研究具有一定的局限性, 主要包括两个方面, 一是风险模型的建立不是基于前瞻性的队列研究, 二是研究还未进行人群验证研究, 旨在为新疆哈萨克族食管癌高危人群监测体系的建立提供循证依据和基础信息.

■同行评议
本文统计方法运用恰当合理, 利用多因素条件Logistic回归分析有一定的学术价值.

4 参考文献

1 Cardiovascular risk. Ceneva, World Health Organization, 2007
2 Guilbert JJ. The world health report 2002 - reducing risks, promoting healthy life. *Educ Health* (Abingdon) 2003; 16: 230 [PMID: 14741909]
3 周玲, 胡旭, 徐天亮, 刘继永, 徐海蓉. 2型糖尿病高危人群的早期预测及其评价. 中国公共卫生 2004; 20: 293-294
4 Tucker JD, Preston RJ. Chromosome aberrations, micronuclei, aneuploidy, sister chromatid exchanges, and cancer risk assessment. *Mutat Res* 1996; 365: 147-159 [PMID: 8898995]
5 林欢, 钟文昭, 杨学宁, 严红虹, 吴一龙. 肺癌家系肿瘤风险度病例对照研究与预测模型. 中国肺癌杂志 2011; 14: 581-587
6 戴俊程. 基于全基相关联研究的中国女性乳腺癌风险预测模型研究. 南京医科大学 2011: 34-38
7 魏文强, 乔友林, 邵壮, 王贵齐, 李新庆, 范金虎, 王国清, 董志伟. 食管癌高危人群的预防与控制研究进展. 实用肿瘤杂志 2001; 16: 371-373
8 杨秋兰, 韩璐. 三成以上癌症可以预防. 健康报 2009; (2): 2
9 孙振球, 徐勇勇. 医学统计学. 北京: 人民卫生出版社, 2010: 278-336
10 陈峰. 医用多元统计. 北京: 高等教育出版社, 2002: 85-91
11 张家放. 医用多元统计方法. 北京: 高等教育出版社, 2004: 128-157
12 Package of essential noncommunicable disease interventions for primary health care in low-resource settings. Ceneva, World Health Organization, 2010
13 孙凤, 陶庆梅, 陶秋山, 杨兴华, 曹纯铿, 詹思延. 中国台湾地区35-74岁健检人群2型糖尿病患病率以及5年发病风险预测模型. 中华疾病控制杂志 2013; 17: 369-373
14 孙凤, 郁凯, 陶庆梅, 陶秋山, 杨兴华, 曹纯铿, 詹思延. 中国台湾省35-74岁健检人群慢性肾病5年发病风险预测模型. 中国预防医学杂志 2013; 14: 47-52
15 孙凤, 陶庆梅, 陶秋山, 杨兴华, 曹纯铿, 詹思延. 中国台湾省35-74岁健检人群肥胖5年发病风险预测模型. 中华流行病学杂志 2012; 33: 47-52

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年4月8日; 22(10): 1446-1450
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

FOLFOX4与FLP方案治疗食管胃交界部癌和远端胃癌的疗效比较

陆圣雄, 张 耿, 胡少敏

■背景资料
食管胃结合部癌和远端胃癌是胃癌中常见疾病, 发病率比较高. 术后辅以化疗能够有效的延缓病情的发展, 提高患者的生活质量. 但是如何选择化疗方案在临床中尚无统一标准, 文章重点探讨奥沙利铂+氟尿嘧啶+亚叶酸钙[oxaliplatin(O) + fluorouracil(5-FU) + leucovorin(L), FOLFOX4]方案与铂+氟尿嘧啶+亚叶酸钙[Cisplatin(C) + 5-FU + L, FLP]方案的应用效果, 为临床中治疗该病提供参考.

陆圣雄, 张耿, 胡少敏, 海口市第三人民医院肿瘤内科 海南省海口市 571100
陆圣雄, 主治医师, 主要从事肿瘤治疗的研究.
作者贡献分布: 本研究设计与论文写作由陆圣雄完成; 张耿与胡少敏参与治疗.
通讯作者: 陆圣雄, 主治医师, 571100, 海南省海口市琼山区府城建国路15号, 海口市第三人民医院肿瘤内科.
lushengxionghainan@163.com
电话: 0898-65882829
收稿日期: 2013-12-26 修回日期: 2014-01-21
接受日期: 2014-02-18 在线出版日期: 2014-04-08

Clinical effects of FOLFOX4 regimen versus FLP regimen for patients with gastroesophageal junction cancer or distal gastric cancer

Sheng-Xiong Lu, Geng Zhang, Shao-Min Hu

Sheng-Xiong Lu, Geng Zhang, Shao-Min Hu, Department of Medical Oncology, the 3rd People's Hospital of Haikou City, Haikou 571100, Hainan Province, China
Correspondence to: Sheng-Xiong Lu, Attending Physician, Department of Medical Oncology, the 3rd People's Hospital of Haikou City, 15 Jianguo Road, Haikou 571100, Hainan Province, China. lushengxionghainan@163.com
Received: 2013-12-26 Revised: 2014-01-21
Accepted: 2014-02-18 Published online: 2014-04-08

Abstract

AIM: To investigate the clinical effects of oxaliplatin (O) + fluorouracil (5-FU) + leucovorin (L) (FOLFOX4) regimen versus cisplatin (C) + 5-FU + L (FLP) regimen in the treatment of gastroesophageal junction cancer and distal gastric cancer.

METHODS: A retrospective analysis of 48 patients with gastroesophageal junction cancer and 52 patients with distal gastric cancer who were treated with the FOLFOX4 or FLP regimen at our hospital form January 2009 to December 2010 was performed. Overall survival, disease-free survival and adverse reactions were compared between different groups.

RESULTS: In patients with gastroesophageal junction cancer, the FOLFOX4 regimen was associated with significantly better overall survival and disease-free survival than the FLP regimen (42.1 mo *vs* 25.2 mo, 35.6 mo *vs* 16.6 mo, $P < 0.05$ for both). In contrast, there were no significantly differences in overall survival and disease-free survival in patients with distal gastric cancer treated with the FOLFOX4 regimen and those treated with the FLP regimen ($P > 0.05$ for both). In both patients with gastroesophageal junction cancer and those with distal gastric cancer, the incidence rates of leukopenia, thrombocytopenia, neutropenia, transaminase abnormalities and diarrhea ($P > 0.05$) showed no significant differences between the FOLFOX4 and FLP groups. In patients with gastroesophageal junction cancer, the incidence rate of nausea and vomiting was significantly lower in the FOLFOX4 group than in the FLP group (20.0% *vs* 47.8%, $P < 0.05$). In distal gastric cancer patients, the incidence rate of nausea and vomiting was significantly higher in the FOLFOX4 group than in the FLP group (30.0% *vs* 9.1%, $P < 0.05$).

CONCLUSION: In patients with gastroesophageal junction cancer, the FOLFOX4 regimen has better efficacy than the FLP regimen; however, in patients with distal gastric cancer, the two regimens have similar effects.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Gastroesophageal junction cancer; Distal gastric cancer; Oxaliplatin + fluorouracil + leucovorin regimen; Cisplatin + fluorouracil + leucovorin regimen

Lu SX, Zhang G, Hu SM. Clinical effects of FOLFOX4 regimen versus FLP regimen for patients with gastroesophageal junction cancer or distal gastric cancer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(10): 1446-1450
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1446.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i10.1446

摘要

目的: 探讨临床中食管胃结合部癌和远端

■同行评议者
许玲, 主任医师, 教授, 上海中医药大学附属龙华医院肿瘤科

胃癌患者应用奥沙利铂+氟尿嘧啶+亚叶酸钙[oxaliplatin(O)+fluorouracil(5-FU)+leucovorin(L), FOLFOX4]方案与铂+氟尿嘧啶+亚叶酸钙[cisplatin(C)+5-FU+L, FLP]方案治疗的效果.

方法: 采取回顾性方法对我院2009-01/2010-12的48例食管胃结合部癌和52例远端胃癌患者应用FOLFOX4与FLP方案治疗的总生存期、无病生存期和不良反应进行观察.

结果: 食管胃结合部癌中FOLFOX4组和FLP组的总生存期(overall survival, OS)和无病生存期(disease-free survival, DFS)比较具有明显的差异(42.1 mo *vs* 25.2 mo, 35.6 mo *vs* 16.6 mo, $P<0.05$), 统计学有意义; 远端胃癌中FOLFOX4组和FLP组的OS和DFS比较无明显的差异($P>0.05$), 统计学无意义; 食管胃结合部癌和远端胃癌患者中FOLFOX4组和FLP组的白细胞减少、血小板减少、中性粒细胞减小和转氨酶异常以及腹泻等发生率比较无明显的差异($P>0.05$), 统计学无意义; 食管胃结合部癌中FOLFOX4组的恶心与呕吐均低于FLP组(20.0% *vs* 47.8%, $P<0.05$), 统计学有意义; 远端胃癌患者中FOLFOX4组的恶心与呕吐均高于FLP组(30.0% *vs* 9.1%, $P<0.05$), 统计学有意义.

结论: 临床中对于食管胃结合部癌患者应用FOLFOX4化疗方案效果优于FLP化疗效果, 远端胃癌患者应用FOLFOX4与FLP方案效果相似.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 食管胃结合部癌; 远端胃癌; FOLFOX4方案; FLP方案

核心提示: 此次临床中重点分析食管胃结合部癌和远端胃癌患者应用奥沙利铂+氟尿嘧啶+亚叶酸钙[oxaliplatin(O)+fluorouracil(5-FU)+leucovorin(L), FOLFOX4]方案与铂+氟尿嘧啶+亚叶酸钙[cisplatin(C)+5-FU+L, FLP]方案的治疗效果, 主要是从总生存期、无病生存期和不良反应3个方面进行重点分析, 找出其应用的优越性, 合理的帮助医师选择治疗方案.

陆圣雄, 张耿, 胡少敏. FOLFOX4与FLP方案治疗食管胃交界部癌和远端胃癌的疗效比较. 世界华人消化杂志 2014; 22(10): 1446-1450 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1446.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i10.1446

0 引言

胃癌是临床中常见恶性肿瘤之一, 在临床中具有较高的发病率和死亡率. 其病理类型也不一, 临床中常见有食管胃结合部癌和远端胃癌, 二者的发率比较高. 术后辅以化疗能够有效的延缓病情的发展, 提高患者的生活质量[1,2]. 临床中常常采取以氟尿嘧啶与铂类为主的药物进行化疗, 并且临床中尚无统一的化疗标准方案[3-5]. 因此, 本文对食管胃结合部癌和远端胃癌患者应用奥沙利铂+氟尿嘧啶+亚叶酸钙[oxaliplatin(O)+fluorouracil(5-FU)+leucovorin(L), FOLFOX4]方案与铂+氟尿嘧啶+亚叶酸钙[cisplatin(C)+5-FU+L, FLP]方案治疗的效果进行探讨, 从而为临床中选取化疗方案提高参考, 具体的分析如下.

■研发前沿
食管胃结合部癌患者应用FOLFOX4化疗方案效果优于FLP化疗效果, 远端胃癌患者应用FOLFOX4与FLP方案效果相似, 不良反应少, 治疗安全性高.

1 材料和方法

1.1 材料 本次研究选取2009-01/2010-12的48例食管胃结合部癌和52例远端胃癌患者为研究对象, 48例食管胃结合部癌中FOLFOX4治疗25例, FLP治疗23例; 52例远端胃癌中FOLFOX4治疗30例, FLP治疗22例; 食管胃结合部癌和远端胃癌中FOLFOX4组和FLP组的基本资料比较无明显的差异($P>0.05$), 统计学无意义. 数据的比较如表1, 2.

1.2 方法

1.2.1 治疗: FOLFOX4治疗方案: 静脉滴注85.0 mg/m^{2}奥沙利铂, d1; 静脉推注400.0 mg/m^2 5-FU+静脉滴注600.0 mg/m^2 5-FU, 时间22 h, d1, 2; 静脉滴注200.0 mg/m^{2}亚叶酸钙, d1, 2, 其他时间停药, 2 wk为一个治疗周期[6,7]. FLP治疗方案: 静脉滴注30.0 mg/m^{2}顺铂, d1-3; 静脉滴注500.0 mg/m^2 5-FU, 时间4 h, d1-5; 静脉滴注200.0 mg/m^{2}亚叶酸钙, d1-5, 3 wk为一个治疗周期[8,9].

1.2.2 观察指标: (1)总生存期(overall survival, OS); (2)无病生存期(disease-free survival, DFS); (3)不良反应.

统计学处理 采取SPSS19.0的统计学软件进行数据处理, 计量资料采取mean±SD表示, 采取t进行检验, 计数资料采取χ^2进行检验, OS和DFS均采取Kaplan-Meier法进行检验, $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 远期效果的比较 食管胃结合部癌中FOLFOX4组和FLP组的OS和DFS比较具有明显的差异($P<0.05$), 有统计学意义(表3); 远端胃癌中FOLFOX4组和FLP组的OS和DFS比较无明显的差异($P>0.05$), 无统计学意义(表4).

■相关报道
胃癌患者实施ECF方案能够延长切除胃癌与食管癌结合部腺癌的总生存期与无进展生存期, 进一步提示临床中应用化疗方案能够提高胃癌患者的总生存期与无进展生存期. 加之, 奥沙利铂联合氟尿嘧啶化疗方案在结肠癌辅助和一线化疗中的应用, 有多数的研究中采取奥沙利铂取代顺铂, 提高整体效果.

表 1 48例食管胃结合部癌患者的基本资料

项目	FOLFOX4组	FLP组	t/χ^2	*P*值
性别	13/12	12/11	0.3600	>0.05
男性/女性				
年龄(岁)				
–	53.3±3.2	54.6±2.7	0.1562	>0.05
病理类型			0.3200	>0.05
腺癌	10	9		
黏液腺癌	8	7		
印戒细胞癌	7	7		
临床分期			0.2400	>0.05
Ⅰ期	3	2		
Ⅱ期	8	7		
Ⅲ期	12	11		
Ⅳ期	2	3		

FOLFOX4: 奥沙利铂+氟尿嘧啶+亚叶酸钙; FLP: 顺铂+氟尿嘧啶+亚叶酸钙.

表 2 52例远端胃癌患者的基本资料

项目	FOLFOX4组	FLP组	t/χ^2	*P*值
性别				
男/女性	15/15	11/11	0.2100	>0.05
年龄(岁)				
–	55.1±3.1	54.9±3.7	0.3023	>0.05
病理类型			0.5200	>0.05
腺癌	10	7		
黏液腺癌	10	8		
印戒细胞癌	10	7		
临床分期			0.4600	>0.05
Ⅰ期	4	2		
Ⅱ期	10	8		
Ⅲ期	12	10		
Ⅳ期	4	2		

FOLFOX4: 奥沙利铂+氟尿嘧啶+亚叶酸钙; FLP: 顺铂+氟尿嘧啶+亚叶酸钙.

2.2 不良反应 食管胃结合部癌和远端胃癌患者中FOLFOX4组和FLP组的白细胞减少、血小板减少、中性粒细胞减小和转氨酶异常以及腹泻等发生率比较无明显的差异(*P*>0.05), 统计学无意义; 食管胃结合部癌中FOLFOX4组的恶心与呕吐均低于FLP组(*P*<0.05), 有统计学意义; 远端胃癌患者中FOLFOX4组的恶心与呕吐均高于FLP组(*P*<0.05), 有统计学意义(表5, 6).

表 3 48例食管胃结合部癌中FOLFOX4组和FLP组的OS和DFS比较(mo)

指标	分组	mo(95%CI)	*P*值
OS	FOLFOX4组	42.1(32.2–50.4)	0.032
	FLP组	25.2(20.4–31.6)	
DFS	FOLFOX4组	35.6(24.2–48.6)	0.004
	FLP组	16.6(12.2–20.8)	

FOLFOX4: 奥沙利铂+氟尿嘧啶+亚叶酸钙; FLP: 顺铂+氟尿嘧啶+亚叶酸钙; OS: 总生存期; DFS: 无病生存期.

表 4 52例远端胃癌患者中FOLFOX4组和FLP组的OS和DFS比较 (mo)

指标	分组	95%CI	*P*值
OS	FOLFOX4组	46.5(33.1–59.5)	0.724
	FLP组	43.5(32.5–55.6)	
DFS	FOLFOX4组	35.8(20.1–51.2)	0.805
	FLP组	32.7(19.9–48.4)	

FOLFOX4: 奥沙利铂+氟尿嘧啶+亚叶酸钙; FLP: 顺铂+氟尿嘧啶+亚叶酸钙; OS: 总生存期; DFS: 无病生存期.

3 讨论

胃癌是临床中常见疾病之一, 在临床中具有较高的发病率, 严重的影响患者的身体健康[10,11]. 其中, 食管胃结合部癌和远端胃癌均是其常见的类型, 临床中常常采取手术治疗, 但是手术治疗的之后依然存在有复发的风险, 而R0切除之后由将近一半的患者表现为复发转移[12-15]. 因此, 临床中术后经常辅以化疗, 术后化疗的目的是有效的缩小病灶, 病情减轻相关症状, 从而延长患者的生存期和提高生活质量[16-19]. 但是, 临床中选取何种化疗方案依然无统一的标准[20]. 临床资料显示, 胃癌患者实施ECF方案能够延长切除胃癌与食管癌结合部腺癌的总生存期与无进展生存期[21,22]. 因此, 在临床中NCCN 2010胃癌诊断治疗指南提出, 对于身体状况较好和能够切除局限性胃癌与胃食管结合不腺癌患者在其围术期给予ECF或者改良的化疗方案进行化疗效果明显[23]. 而且术前给予予ECF或者改良的化疗方案治疗的患者, 术后应继续给予3个周期的原方案治疗[24,25].

临床中对于手术治疗前未使用ECF或者改良的化疗方案治疗的患者, 术后给予化疗的总生存期与无进展生存期均明显地高于单纯手术治疗的患者. 临床研究显示, 辅助化疗治疗能够有效的提高患者的生存期, 并且给予氟尿嘧啶或者卡培他滨作为基础化疗方案是可行的[26,27].

表 5 48例食管胃结合部癌中FOLFOX4组和FLP组的不良反应比较 [*n*(%)]

分组	*n*	白细胞减少	血小板减少	中性粒细胞减小	转氨酶异常	腹泻	恶心与呕吐
FOLFOX4组	25	6(24.0)	3(12.0)	3(12.0)	4(16.0)	2(8.0)	5(20.0)
FLP组	23	4(17.4)	2(8.7)	3(13.0)	3(13.0)	1(4.3)	11(47.8)
χ^2	–	0.45	0.34	0.17	0.18	0.23	7.49
*P*值	–	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	<0.05

FOLFOX4: 奥沙利铂+氟尿嘧啶+亚叶酸钙; FLP: 顺铂+氟尿嘧啶+亚叶酸钙.

表 6 52远端胃癌患者中FOLFOX4组和FLP组的不良反应比较 [*n*(%)]

分组	*n*	白细胞减少	血小板减少	中性粒细胞减小	转氨酶异常	腹泻	恶心与呕吐
FOLFOX4组	30	7(23.3)	4(13.3)	2(6.7)	3(10.0)	3(10.0)	10(30.0)
FLP组	22	5(22.7)	3(13.6)	3(13.6)	2(9.1)	2(9.1)	2(9.1)
χ^2	–	0.14	0.11	0.32	0.16	0.16	7.35
*P*值	–	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	<0.05

FOLFOX4: 奥沙利铂+氟尿嘧啶+亚叶酸钙; FLP: 顺铂+氟尿嘧啶+亚叶酸钙.

■创新盘点

本文重点阐述食管胃交界部癌和远端胃癌患者应用临床中FOLFOX4化疗方案与FLP化疗方案治疗的可行性, 分析的过程中分别对食管胃交界部癌和远端胃癌患者的治疗效果进行组间的比较, 从而更准确的判断二者优越性. 本文重点突出FOLFOX4在临床中的优越性, 提高总生存期、无病生存期, 降低不良反应.

随着临床中奥沙利铂联合氟脲嘧啶化疗方案在结肠癌辅助和一线化疗中的应用, 有多数的研究中采取奥沙利铂取代顺铂, 从而提高整体效果[28]. 通过本次的临床研究分析, 临床中对于食管胃结合部癌患者应用FOLFOX4化疗方案效果优于FLP化疗效果, 而远端胃癌患者应用FOLFOX4与FLP方案效果相似. 这一结果与国外的一些研究基本相同[29]. 进一步说明, 在食管胃结合部癌患者治疗的过程中, 应用奥沙利铂的效果明显的优于传统的顺铂治疗效果, 尤其对于结合部癌患者治疗过程中更加明显. 但是此次研究中, OS和PFS的数值比较长, 主要是由于此次的患者均为肿瘤内科治疗, 此次患者的临床用药和用药周期均比较规范, 从而使得患者体能影响较小, 提高预后效果[30]. 临床中应进一步的加强大型临床试验分析, 从而更加全面的了解奥沙利铂的临床优越性.

总之, 临床中食管胃结合部癌患者应用FOLFOX4化疗方案效果明显优于FLP化疗效果, 提高预后效果. 对于远端胃癌患者应用FOLFOX4与FLP方案均是可行的.

4 参考文献

1 杨子鑫, 王龙, 王玉栋, 左静, 刘巍, 王淑琴, 王玉华, 刘凤玲, 魏素菊. FOLFOX4与FLP方案用于食管胃结合部癌和远端胃癌辅助化疗的比较. 临床肿瘤学杂志 2011; 16: 719-724

2 余嘉文. FOLFOX4与FLP方案治疗晚期胃癌的疗效比较. 中国现代药物应用 2013; 7: 13-14

3 陈文琪, 李小琴, 谢明慧. FOLFOX4方案及PLF方案治疗晚期胃癌的毒副作用评价. 中外医疗 2009; 28: 76-77

4 韩国花, 王丽娜, 商艳敏. DCF和FOLFOX4方案治疗晚期胃癌的疗效比较. 贵阳医学院学报 2011; 11: 379-381

5 Guaragna A, Chiaviello A, Paolella C, D'Alonzo D, Palumbo G, Palumbo G. Synthesis and evaluation of folate-based chlorambucil delivery systems for tumor-targeted chemotherapy. *Bioconjug Chem* 2012; 23: 84-96 [PMID: 22121907 DOI: 10.1021/bc200410d]

6 杨子鑫, 王龙, 王玉栋, 左静, 刘巍, 王淑琴, 王玉华, 刘凤玲, 魏素菊. FOLFOX4与FLP方案在食管胃结合部癌辅助化疗中的疗效比较. 肿瘤 2011; 23: 851-855

7 陈刚, 张贯启, 丁华. 新辅助化疗方案FOLFOX4治疗晚期胃癌效果观察. 山东医药 2010; 50: 94-95

8 Fakih MG, Groman A, McMahon J, Wilding G, Muindi JR. A randomized phase II study of two doses of vorinostat in combination with 5-FU/LV in patients with refractory colorectal cancer. *Cancer Chemother Pharmacol* 2012; 69: 743-751 [PMID: 22020318]

9 成染兰, 郑秀红, 朱晓彤. FolFox4化疗方案治疗晚期大肠癌患者的护理. 现代临床护理 2009; 8: 26-33

10 杨子鑫. FOLFOX4与FLP方案在治疗食管胃结合部癌和远端胃癌中的临床疗效比较. 河北医科大学, 2011

11 朱晓东, 王碧芸, 曹军宁, 曹东, 洪小南, 印季良. 表柔比星、奥沙利铂、氟尿嘧啶联合治疗晚期胃癌的疗效及安全性评价. 中国癌症杂志 2006; 16: 367-373

12 蒋代文, 蔡君, 李爽, 李晶晶, 付国权, 柯庆华, 边耀武, 杨继元. 奥沙利铂联合卡培他滨治疗晚期胃癌的临床观察. 现代肿瘤医学 2010; 18: 972-973

13 潘领明, 冷祝强, 方建龙. 奥沙利铂联合卡培他滨方案治疗晚期胃癌临床观察. 中国医药指南 2011; 9: 121-122

14 Cunningham D, Allum WH, Stenning SP, Thompson JN, Van de Velde CJ, Nicolson M, Scarffe JH, Lofts FJ, Falk SJ, Iveson TJ, Smith DB, Langley RE, Verma M, Weeden S, Chua YJ. Perioperative chemotherapy versus surgery alone for resectable gas-

■同行评价

本文重点讲述了食管胃结合部癌和远端胃癌术后给予FOLFOX4与FLP方案治疗效果，重点分析了OS和DFS，观点鲜明，可读性强，临床意义重大．但是，加强大型临床试验分析，从而更加全面的了解奥沙利铂的临床优越性．

troesophageal cancer. *N Engl J Med* 2006; 355: 11-20 [PMID: 16822992]
15 谢智华, 戴德坚, 钟林. 恩度联合FOLFOX4方案应用于Ⅱ和Ⅲ期结直肠癌辅助化疗的临床随机对照研究. 中华普通外科杂志 2013; 28: 758-762
16 程国雄. 结直肠癌术后行5-FU/LV和FOLFOX4方案化疗的疗效及安全性评价. 中国医师杂志 2012; 14: 480-482
17 宋延强, 李扬, 庞新建, 林惠忠, 吕文平, 李林浩, 蔡长聚, 齐宏. 新辅助化疗FOLFOX4方案治疗进展期胃癌的效果. 齐鲁医学杂志 2009; 24: 385-387
18 Lichtman MA. A historical perspective on the development of the cytarabine (7days) and daunorubicin (3days) treatment regimen for acute myelogenous leukemia: 2013 the 40th anniversary of 7+3. *Blood Cells Mol Dis* 2013; 50: 119-130 [PMID: 23154039 DOI: 10.1016/j.bcmd.2012.10.005]
19 杨立平, 吴兆华, 刘伟. 方苦参素联合FOLFOX-4方案对结直肠癌术后辅助化疗的疗效观察. 临床和实验医学杂志 2010; 9: 1224-1225
20 吴亚丛, 张春, 戴光熙, 王利军, 叶进科. 鸦胆子油乳注射液联合FOLFOX4方案治疗晚期胃癌临床观察. 解放军医药杂志 2012; 24: 29-31
21 徐晓辉, 马锐, 李琳琳, 刘斌. 西妥昔单抗联合FOLFOX4方案治疗转移性结直肠癌临床观察. 肿瘤研究与临床 2009; 21: 695-696
22 Siemeister G, Lücking U, Wengner AM, Lienau P, Steinke W, Schatz C, Mumberg D, Ziegelbauer K. BAY 1000394, a novel cyclin-dependent kinase inhibitor, with potent antitumor activity in mono- and in combination treatment upon oral application. *Mol Cancer Ther* 2012; 11: 2265-2273 [PMID: 22821149 DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-12-0286]
23 Tolcher AW, Chi KN, Shore ND, Pili R, Molina A, Acharya M, Kheoh T, Jiao JJ, Gonzalez M, Trinh A, Pankras C, Tran N. Effect of abiraterone acetate plus prednisone on the QT interval in patients with metastatic castration-resistant prostate cancer. *Cancer Chemother Pharmacol* 2012; 70: 305-313 [PMID: 22752297]
24 吕利成, 巨新世, 毛学正, 王晓英. 表柔比星联合奥沙利铂、5-氟尿嘧啶/亚叶酸钙治疗晚期胃癌43例. 肿瘤研究与临床 2010; 22: 118-119
25 印滇, 王亚非, 杨莉. 奥沙利铂联合表阿霉素、5-FU/CF治疗晚期胃癌的临床观察. 现代肿瘤医学 2009; 17: 1309-1311
26 詹正宇, 钟陆行, 张凌, 彭小东, 熊建萍. 奥沙利铂联合表柔比星、氟尿嘧啶治疗原发性肝癌. 实用临床医学 2008; 9: 24-25
27 Touil YS, Seguin J, Scherman D, Chabot GG. Improved antiangiogenic and antitumour activity of the combination of the natural flavonoid fisetin and cyclophosphamide in Lewis lung carcinoma-bearing mice. *Cancer Chemother Pharmacol* 2011; 68: 445-455 [PMID: 21069336]
28 Jenkins P, Wallis R. Dose-rounding of adjuvant chemotherapy for breast cancer: an audit of toxicity. *J Oncol Pharm Pract* 2010; 16: 251-255 [PMID: 19965948 DOI: 10.1007/s00280-010-1505-8]
29 叶晓兵, 杨志敏, 舒桂君. 奥沙利铂联合表阿霉素及5氟尿嘧啶治疗晚期胃癌. 安徽医学 2008; 29: 590-591
30 邓立春, 蔡洪川, 姜藻, 张瑶, 沈伟生, 袁明, 奚蕾. 奥沙利铂联合表阿霉素和氟尿嘧啶治疗晚期胃癌的临床观察. 现代医学 2008; 36: 268-269

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com
世界华人消化杂志 2014年4月8日; 22(10): 1451-1454
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

超声测定内脏脂肪厚度与非酒精性脂肪性肝病的关系

蔡怀阳, 李运泽, 李 莉, 涂 强

蔡怀阳, 李运泽, 柳州市人民医院消化内科 广西壮族自治区 柳州市 545006
李莉, 柳州市人民医院感染科 广西壮族自治区柳州市 545006
涂强, 柳州市人民医院体检部 广西壮族自治区柳州市 545006
蔡怀阳, 主治医师, 主要从事肝脏疾病研究.
广西柳州市科学技术局健康安全技术开发与应用研究基金资助项目, No. 2008031423
作者贡献分布: 蔡怀阳与李运泽对此文做出主要贡献; 此课题由李运泽设计; 研究过程由李运泽、蔡怀阳、李莉及涂强等共同完成; 数据分析由蔡怀阳与李运泽完成; 本论文写作由蔡怀阳与李运泽完成.
通讯作者: 李运泽, 教授, 545006, 广西壮族自治区柳州市文昌路8号, 柳州市人民医院消化内科. lyze@163.com
电话: 0772-2662775
收稿日期: 2014-01-09 修回日期: 2014-01-23
接受日期: 2014-02-18 在线出版日期: 2014-04-08

Relationship between viseral fat thickness measured by ultrasonography and nonalcoholic fatty liver disease

Huai-Yang Cai, Yun-Ze Li, Li Li, Qiang Tu

Huai-Yang Cai, Yun-Ze Li, Department of Gastroenterology, the People's Hospital of Liuzhou, Liuzhou 545006, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China
Li Li, Department of Infectious Diseases, the People's Hospital of Liuzhou, Liuzhou 545006, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China
Qiang Tu, Department of Physical Examination, the People's Hospital of Liuzhou, Liuzhou 545006, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China
Supported by: Technology Development and Application of Health and Safety Research Fund of Liuzhou Science and Technology Bureau in Guangxi Zhuang Autonomous Region, No. 2008031423
Correspondence to: Yun-Ze Li, Professor, Department of Gastroenterology, the People's Hospital of Liuzhou, 8 Wengchang Road, Liuzhou 545000, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. lyze@163.com
Received: 2014-01-09 Revised: 2014-01-23
Accepted: 2014-02-18 Published online: 2014-04-08

Abstract

AIM: To investigate relationship between visceral fat thickness measured by ultrasonography and nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD).

METHODS: One hundred and seventy subjects were enrolled and divided into two groups: a NAFLD group (n = 110) and a healthy control group (n = 60). Blood pressure (BP), height, weight, waist circumference (WC), hip circumference, body mass index (BMI), waist-hip ratio (WHR), triglycerides (TG), total cholesterol (TC), fasting blood glucose, liver function and fasting insulin were measured in each subject, and the homeostasis model assessment of insulin resistance (HOMA-IR) was calculated according to the typical HOMA model. Visceral fat thickness was measured by ultrasonography.

RESULTS: The visceral fat thickness, BMI, WHR and HOMA-IR were significantly higher in the NAFLD group than in the normal control group (P < 0.05 for all). The visceral fat thickness had significant statistical difference between the mild, moderate and severe NAFLD groups. Correlation analysis showed that there were significantly positive correlations between visceral fat thickness and BMI, WHR and HOMA-IR (r = 0.62, 0.509, 0.596, P < 0.05 for all).

CONCLUSION: Visceral fat thickness measured by ultrasonography may be an important index for diagnosing nonalcoholic fatty liver disease.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Nonalcoholic fatty liver disease; Visceral fat thickness

Cai HY, Li YZ, Li L, Tu Q. Relationship between viseral fat thickness measured by ultrasonography and nonalcoholic fatty liver disease. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(10): 1451-1454 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1451.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i10.1451

摘要

目的: 探讨内脏脂肪厚度与非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease , NAFLD)的关系.

方法: 选择进行健康体检的人员共170例; 分成两组: 即非酒精性脂肪性肝病组110例(分轻度40例、中度40例和重度30例), 健康对照组60

■背景资料
近年来随着人们生活水平的提高和人口老龄化, 我国脂肪肝尤其是非酒精性脂肪肝的患病率明显上升, 脂肪肝已经成为最常见的肝病, 有取代病毒性肝炎成为最常见肝病的趋势. 寻找一项评价非酒精性脂肪肝的手段成为尤为重要.

■同行评议者
迟宝荣, 教授, 吉林大学第一医院消化内科

■研发前沿
国外的研究报道超声能够来定量测定内脏脂肪和皮下脂肪, 用来评价内脏型肥胖, 而且和CT呈最好的相关性, 可以替代CT. 经超声测量的内脏脂肪厚度与非酒精性脂肪性肝病的发生的关系目前尚不明确, 国内在这方面的研究较少.

例. 入选者空腹检查血压、身高、体质量、臀围、腰围、甘油三脂、总胆固醇、血糖、肝功能、血胰岛素水平, 计算体质量指数(body mass index, BMI)、腰臀比(waist-hip ratio, WHR)、胰岛素抵抗指数(homeostasis model assessment, HOMA-IR). 超声测量内脏脂肪厚度.

结果: 非酒精性脂肪性肝病组的BMI、WHR、HOMA-IR、内脏脂肪厚度等指标与健康对照组相比较均增高, 差异存在统计学意义(P<0.05). 内脏脂肪厚度在轻度、中度、重度非酒精性脂肪性肝病各组中两两比较差异均有统计学意义. 相关分析显示, 内脏脂肪厚度与BMI、WHR、HOMA-IR等呈正相关(r值依次为0.62、0.509、0.596, 均P<0.05).

结论: 超声测定内脏脂肪厚度可作为评价非酒精性脂肪性肝病的一项重要指标.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 非酒精性脂肪性肝病; 内脏脂肪厚度

核心提示: 本文通过比较超声测定的内脏脂肪厚度及相关临床和生化指标, 提示超声检查内脏脂肪厚度具有简便、可靠、无创、费用低等优点, 非酒精性脂肪性肝病是临床上常见病, 应用超声测量内脏脂肪厚度有望成为临床评价非酒精性脂肪性肝病及其严重程度的一项重要指标.

蔡怀阳, 李运泽, 李莉, 涂强. 超声测定内脏脂肪厚度与非酒精性脂肪性肝病的关系. 世界华人消化杂志 2014; 22(10): 1451-1454
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1451.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i10.1451

0 引言

随着生活水平的提高及饮食习惯的改变, 非酒精性脂肪性肝病患病率不断升高, 这可能与肥胖及其相关代谢紊乱患病率增加有关[1]. 经超声测量的内脏脂肪厚度是一项简便、可靠和实用的评价内脏性肥胖的指标. 而非酒精性脂肪性肝病与肥胖特别是腹型肥胖密切相关. 经超声测量的内脏脂肪厚度与非酒精性脂肪性肝病的发生的关系目前尚不明确, 国内在这方面的研究较少, 目前尚未见有相关文献报道. 本文拟探讨经超声测量的内脏脂肪厚度与非酒精性脂肪性肝病的发生的关系, 现报告如下.

1 材料和方法

1.1 材料 非酒精性脂肪性肝病的诊断标准采用2010年中华医学会肝脏病学分会脂肪肝和酒精性肝病学组制定的非酒精性脂肪性肝病诊断标准[2]. 选择柳州市人民医院体检部进行健康体检的人员共170例; 剔除过量饮酒(乙醇摄入量男性210 g/wk, 女性140 g/wk)、慢性病毒性肝炎、肝硬化、妊娠和哺乳期妇女、自身免疫性和遗传学性肝病及入选时已有多元代谢紊乱和心脑血管疾病的人群. 分成两组: 即非酒精性脂肪性肝病组110例(分轻度40例、中度40例和重度30例), 正常对照组60例. 日立7170-S全自动生化分析仪, BL-9600化学发光分析仪(天津贝尔公司), PHILIPS SONOS5500多功能超声诊断仪.

1.2 方法

1.2.1 生理指标的测定: 采用台式水银血压计, 受检者坐位测量肱动脉压, 连续测量3次, 取平均值为个体血压值. 受检者空腹、免冠、脱鞋, 仅穿单衣测量其身高、体质量、腰围、臀围. 腰围: 取腋中线肋弓下缘至髂前上棘连线的中点水平面周径. 臀围: 取两侧股骨粗隆水平面周径. 体质量指数(body mass index, BMI) = 体质量(kg)/身高(m^2). 腰臀比(waist-hip ratio, WHR) = 腰围/臀围.

1.2.2 生化指标的测定: 抽取禁食12 h后的次日清晨空腹肘静脉血, 分离血清2 mL, 用酶联免疫法测定甘油三脂、总胆固醇、血糖、总胆红素、直接胆红素、间接胆红素、白蛋白、胆固醇、甘油三酯、谷丙转氨酶、谷草转氨酶等. 分离血清4 mL, 测定血清空腹胰岛素水平. 稳态模型评估的胰岛素抵抗指数(homeostasis model assessment, HOMA-IR) = 空腹血糖(fasting blood glucose, FBG)×空腹胰岛素(fasting insulin, FINS)/22.5.

1.2.3 内脏脂肪厚度的测定: 先作B超检查, 所有受检者由同一人操作, 探头位于脐上1.0 cm, 探头频率7.5 MHz, 测量皮下脂肪厚度; 探头频率3.5 MHz测量内脏脂肪厚度, 内脏脂肪厚度为腹直肌内缘到大动脉前壁的距离.

统计学处理 采用SPSS13.0统计软件包进行统计, 计数资料以率(%)表示, 采用χ^2检验; 所有计量资料以mean±SD表示, 各组之间比较均进行方差齐性检验, 两组间显著性比较用t检验. 多因素相关性用逐步法多元线性回归分析. P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 临床及实验室指标的比较 健康对照组与非酒

表 1 对照组与各NAFLD组相关资料

	健康对照组	轻度脂肪肝组	中度脂肪肝组	重度脂肪肝组	*P*值
男/女	35/25	24/16	30/10	22/8	>0.05
年龄(岁)	47 ± 13	49 ± 11	49 ± 14	43 ± 13	>0.05
身高(cm)	165.7 ± 5.5	165.8 ± 6.6	167.6 ± 5.7	167.1 ± 6.5	>0.05
体质量(kg)	62.34 ± 8.56	72.64 ± 12.28^{b}	80.38 ± 8.45^{bc}	81.78 ± 12.49^{bc}	<0.05
BMI(kg/m^2)	23.3 ± 2.9	26.3 ± 3.1bc	28.5 ± 2.4^{bc}	28.6 ± 3.2^{bc}	<0.05
WHR	0.84 ± 0.05	0.89 ± 0.07^{b}	0.92 ± 0.6^{b}	0.91 ± 0.05^{b}	<0.01
收缩压(mmHg)	129 ± 13	135 ± 12^{a}	139 ± 16^{b}	141 ± 12^{b}	<0.05
舒张压(mmHg)	78 ± 12	84 ± 8^{a}	85 ± 8^{b}	85 ± 5^{b}	<0.05
HOMA–IR	1.06 ± 0.59	1.78 ± 0.73^{b}	2.49 ± 0.82^{bc}	2.64 ± 1.37^{bc}	<0.05
甘油三酯(mmol/L)	1.68 ± 1.37	2.22 ± 1.36	3.32 ± 2.15^{bc}	2.22 ± 1.19	<0.05
胆固醇(mmol/L)	4.95 ± 0.85	5.27 ± 0.94	5.37 ± 1.37	5.16 ± 0.94	>0.05
总胆红素(μmol/L)	13.70 ± 3.36	13.91 ± 3.25	16.16 ± 7.41	16.19 ± 4.21	>0.05
直接胆红素(μmol/L)	4.31 ± 1.38	4.14 ± 1.50	4.24 ± 1.95	4.73 ± 1.15	>0.05
间接胆红素(μmol/L)	9.39 ± 2.22	9.78 ± 2.21	11.92 ± 5.77	11.50 ± 3.48	>0.05
白蛋白(g/L)	47.99 ± 3.43	48.54 ± 3.16	48.44 ± 3.18	49.55 ± 2.55	>0.05
谷丙转氨酶(U/L)	21.6 ± 10.7	25.2 ± 10.7	39.2 ± 19.3^{bc}	40.5 ± 18.6^{bc}	<0.05
谷草转氨酶(U/L)	23.3 ± 8.3	22.3 ± 5.6	28.3 ± 8.6^{ac}	32.4 ± 12.5^{bc}	<0.05
皮下脂肪厚度(mm)	21.3 ± 6.2	29.7 ± 6.3^{b}	29.0 ± 5.6^{b}	29.3 ± 5.8^{b}	<0.01
内脏脂肪厚度(mm)	46.4 ± 8.8	66.6 ± 10.0^{b}	74.5 ± 11.1^{bc}	83.5 ± 12.7^{bce}	<0.05

^{a}P<0.05, ^{b}P<0.01 *vs* 健康对照组; ^{c}P<0.05 *vs* 轻度脂肪肝组; ^{e}P<0.05 *vs* 中度脂肪肝组. BMI: 体质量指数; WHR: 腰臀比; HOMA–IR: 胰岛素抵抗指数.

精性脂肪性肝病组的性别构成、年龄、身高、总胆红素、直接胆红素、间接胆红素、白蛋白、胆固醇、甘油三酯比较差异均无统计学意义(P>0.05). 而BMI、WHR、收缩压、舒张压、HOMA-IR、内脏脂肪厚度、皮下脂肪厚度等指标差异存在统计学意义(P<0.05或0.01). 内脏脂肪厚度在轻度、中度、重度非酒精性脂肪性肝病各组中两两比较差异均有统计学意义(表1).

2.2 相关分析 以内脏脂肪厚度为因变量, 年龄、BMI、WHR、收缩压、舒张压、胰岛素、甘油三酯、胆固醇、血糖、总胆红素、直接胆红素、间接胆红素、白蛋白、谷丙转氨酶、谷草转氨酶、HOMA-IR等为自变量进行逐步法多元线性回归分析, 内脏脂肪厚度与年龄、直接胆红素、胆固醇、白蛋白等均无相关性(F值依次为1.660、0.421、2.707、2.392, r值依次为0.099、0.05、0.126、0.118, P均>0.05), 与BMI、WHR、HOMA-IR、皮下脂肪厚度等呈正相关(F值依次为104.907、58.834、92.641、49.212, r值依次为0.620、0.509、0.596、0.474, P均<0.05).

3 讨论

近10年来, 随着人们生活水平的提高和人口老龄化, 我国脂肪肝尤其是非酒精性脂肪性肝病的患病率明显上升, 2004年上海成人脂肪肝的患病率为20.82%, 与国外脂肪肝的患病率相接近[3]. 在西方国家, 脂肪肝已经成为最常见的肝病; 在我国, 脂肪肝也有取代病毒性肝炎成为最常见肝病的趋势. 非酒精性脂肪性肝病是一种病变主体在肝小叶以肝细胞脂肪变性和脂肪贮积为病理特征但无过量饮酒史的临床综合征, 包括单纯性脂肪肝、脂肪性肝炎、脂肪性肝硬化3种主要类型. 患者常伴有体质量过重或肥胖、糖耐量异常或2型糖尿病以及血脂紊乱等易患因素[4].

计算机断层扫描(computed tomography, CT)和核磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)已经是公认的评价身体脂肪的最准确和可重复的测量方法, 特别是腹部脂肪组织, 然而CT和MRI扫描耗时、费用高, 而且CT要暴露于射线之下[5]. 因此需要简单易行和实用的方法来评价内脏型肥胖. 国外的研究报道超声能够来定量测定内脏脂肪和皮下脂肪, 用来评价内脏型肥胖, 而且和CT呈最好的相关性, 可以替代CT[6,7]. 经超声测量的内脏脂肪厚度不仅能评价内脏型肥胖, 还可以评价心血管病和代谢疾病

■相关报道
目前有较多关于超声测定内脏脂肪厚度与肥胖、代谢综合征、冠状动脉狭窄等关系的文献报道, 但关于超声测定的内脏脂肪厚度与非酒精性脂肪性肝病的关系尚未有文献发表.

■同行评价
超声测定的内脏脂肪厚度与代谢综合征的关系已证明有明确的关系, 非酒精性脂肪性肝病作为代谢综合征临床表现的一种, 本文拟探讨内脏脂肪厚度与非酒精性脂肪性肝病的关系, 文章立意有一定的新意.

的危险性[8]. 相关研究表明腹部内脏脂肪厚度与冠状动脉粥样硬化及代谢综合征密切相关[9,10], 但目前尚无超声测量的内脏脂肪厚度与非酒精性脂肪性肝病关系的相关研究.

非酒精性脂肪性肝病是由遗传、环境、代谢应激等相关因素所致的临床病理综合征, 与BMI、腰臀比、胰岛素抵抗的因素密切, 近年大量研究表明, 非酒精性脂肪性肝病与代谢综合征的各个组分密切伴随, 甚至有学者将其作为代谢综合征的组分之一, 并发现胰岛素抵抗在非酒精性脂肪性肝病发病机制中起关键作用[11-14]. 胰岛素抵抗是代谢综合征的中心环节, 也是糖尿病和心血管病发病的重要机制之一. 胰岛素抵抗状态常与肥胖特别是腹型肥胖并存, 两者可互为因果. 而非酒精性脂肪性肝病与肥胖特别是腹型肥胖关系密切[15]. Tominaga等[16]研究发现在儿童和青少年非酒精性脂肪性肝病的发病率与代谢综合征、胰岛素抵抗关系密切. 本研究结果表明, 健康人群与非酒精性脂肪性肝病患者比较, BMI、腰臀比、胰岛素抵抗指数有统计学差异, 这表明胰岛素抵抗也可能是非酒精性脂肪性肝病发病的重要机制之一.

本研究通过超声测定内脏脂肪厚度并探讨其与非酒精性脂肪性肝病的关系; 结果显示, 非酒精性脂肪性肝病患者与健康对照组比较, 超声测量的内脏脂肪厚度有统计学差异, 而且内脏脂肪厚度在轻度、中度、重度非酒精性脂肪性肝病各组中两两比较差异均有统计学意义. 相关分析表明在非酒精性脂肪性肝病组, 内脏脂肪厚度与BMI、腰臀比、胰岛素抵抗指数呈正相关. 这说明超声测量内脏脂肪厚度与非酒精性脂肪性肝病可能存在相关性, 并且有可能在一定程度上可以反映非酒精性脂肪性肝病的严重程度.

超声检查内脏脂肪厚度具有简便、可靠、无创、费用低等优点, 非酒精性脂肪性肝病是临床上常见病, 应用超声测量内脏脂肪厚度有望成为临床评价非酒精性脂肪性肝病及其严重程度的一项重要指标.

4 参考文献

1 杨恩. 脂肪肝110例分析. 中国临床保健杂志 2007; 10: 473-474
2 中华医学会肝脏病学分会脂肪肝和酒精性肝病学组. 非酒精性脂肪性肝病诊疗指南. 中华肝病杂志 2010; 18: 163-166
3 范建高, 曾民德. 脂肪性肝病. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 200-229
4 Ribeiro-Filho FF, Faria AN, Azjen S, Zanella MT, Ferreira SR. Methods of estimation of visceral fat: advantages of ultrasonography. *Obes Res* 2003; 11: 1488-1494 [PMID: 14694213 DOI: 10.1038/oby.2003.199]
5 丁效蕙, 赵景民. 非酒精性脂肪性肝炎的发病机制及治疗的研究进展. 世界华人消化杂志 2005; 13: 371-375
6 Iacobellis G, Ribaudo MC, Assael F, Vecci E, Tiberti C, Zappaterreno A, Di Mario U, Leonetti F. Echocardiographic epicardial adipose tissue is related to anthropometric and clinical parameters of metabolic syndrome: a new indicator of cardiovascular risk. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 5163-5168 [PMID: 14602744 DOI: 10.1210/jc.2003-030698]
7 Stolk RP, Meijer R, Mali WP, Grobbee DE, van der Graaf Y. Ultrasound measurements of intraabdominal fat estimate the metabolic syndrome better than do measurements of waist circumference. *Am J Clin Nutr* 2003; 77: 857-860 [PMID: 12663283]
8 Kim SK, Kim HJ, Hur KY, Choi SH, Ahn CW, Lim SK, Kim KR, Lee HC, Huh KB, Cha BS. Visceral fat thickness measured by ultrasonography can estimate not only visceral obesity but also risks of cardiovascular and metabolic diseases. *Am J Clin Nutr* 2004; 79: 593-599 [PMID: 15051602]
9 杨成宇. 超声检测内脏脂肪厚度与老年人动脉粥样硬化的相关关系. 临床和实验医学杂志 2011; 10: 412-414
10 李浙成, 胡智星, 童跃峰, 梅起化, 徐永远, 黄金莲. 超声测量的内脏脂肪厚度和代谢综合征的关系. 中华高血压杂志 2006; 14: 874-878
11 高鑫. 非酒精性脂肪性肝病与代谢综合征. 国际内分泌代谢杂志 2006; 26: 73-79
12 Kim JK, Fillmore JJ, Chen Y, Yu C, Moore IK, Pypaert M, Lutz EP, Kako Y, Velez-Carrasco W, Goldberg IJ, Breslow JL, Shulman GI. Tissue-specific overexpression of lipoprotein lipase causes tissue-specific insulin resistance. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; 98: 7522-7527 [PMID: 11390966 DOI: 10.1073/pnas.121164498]
13 罗瑞华, 李晔, 黄学文. 非酒精性脂肪性肝病与代谢综合征的关系探讨. 中国临床医学 2004; 11: 742-744
14 颜红梅, 高鑫, 刘蒙. 非酒精性脂肪性肝病与代谢综合征的关系研究. 中国糖尿病杂志 2006; 14: 326-328
15 徐芸, 王振豫, 尚佳. 腹内型肥胖与非酒精性脂肪肝的关系. 中华肝脏病杂志 2001; 9: 124
16 Tominaga K, Fujimoto E, Suzuki K, Hayashi M, Ichikawa M, Inaba Y. Prevalence of non-alcoholic fatty liver disease in children and relationship to metabolic syndrome, insulin resistance, and waist circumference. *Environ Health Prev Med* 2009; 14: 142-149 [PMID: 19568858 DOI: 10.1007/s12199-008-0074-5]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年4月8日; 22(10): 1455-1459
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

CT引导下^{125}I粒子植入联合GP方案治疗局部进展期胰腺癌

杨文魁, 陈 勇, 王 磊, 吴晓东

杨文魁, 陈勇, 郑州人民医院医学影像科 河南省郑州市 450003
王磊, 郑州人民医院放疗科 河南省郑州市 450003
吴晓东, 郑州市儿童医院病理科 河南省郑州市 450004
杨文魁, 硕士, 医师, 主要从事肿瘤介入治疗的研究.
作者贡献分布: 杨文魁、陈勇及王磊参与课题的设计、研究过程、试剂的提供、数据分析及论文写作; 吴晓东与王磊参与数据分析; 试剂由吴晓东提供.
通讯作者: 杨文魁, 医师, 450003, 河南省郑州市金水区黄河路33号, 郑州人民医院医学影像科. 353917641@qq.com
电话:0371-67077099
收稿日期: 2014-01-08 修回日期: 2014-01-19
接受日期: 2014-02-18 在线出版日期: 2014-04-08

CT-guided ^{125}I seed interstitial implantation combined with gemcitabine/cisplatin chemotherapy for treatment of locally advanced pancreatic carcinoma

Wen-Kui Yang, Yong Chen, Lei Wang, Xiao-Dong Wu

Wen-Kui Yang, Yong Chen, Department of Radiology, Zhengzhou People's Hospital, Zhengzhou 450003, Henan Province, China
Lei Wang, Department of Radiation Oncology, Zhengzhou People's Hospital, Zhengzhou 450003, Henan Province, China
Xiao-Dong Wu, Department of Pathology, Zhengzhou Children's Hospital, Zhengzhou 450004, Henan Province, China
Correspondence to: Wen-Kui Yang, Physician, Department of Radiation Oncology, Zhengzhou People's Hospital, 33 Huanghe Road, Jinshui District, Zhengzhou 450003 Henan Province, China. 353917641@qq.com
Received: 2014-01-08 Revised: 2014-01-19
Accepted: 2014-02-18 Published online: 2014-04-08

Abstract

AIM: To explore the clinical efficacy of computed tomography (CT)-guided ^{125}I seed interstitial implantation combined with the gemcitabine and cisplatin (GP) chemotherapy regimen for the treatment of locally advanced pancreatic carcinoma.

METHODS: Eighty-eight patients with unresectable locally advanced pancreatic carcinoma (LAPC) were randomly divided into two groups: A (n = 54; ^{125}I seed implantation + chemotherapy) and B (chemotherapy alone). CT-guided ^{125}I seed interstitial implantation was performed under local anaesthesia. Chemotherapy was given 10-14 d after surgery. The chemotherapy protocol was gemcitabine 1000 mg/m^2, d1, 8, + cisplatin 75 mg/m^2 d1-4 every 21 d. After four cycles of chemotherapy, the curative effect was assessed. Contrast-enhanced CT scanning and CA199 test were performed 1, 2, and 3 mo after treatment, and thereafter every 3 mo during a follow-up period of 30 mo.

RESULTS: The rate of clinical benefit and mean survival time were significantly higher in group A than in group B (P < 0.05 for both). No serious complications such as pancreatic leakage, bleeding, visceral perforation and grade Ⅳ bone marrow suppression were observed in either group.

CONCLUSION: CT-guided ^{125}I seed interstitial implantation combined with GP chemotherapy is safe and effective in the treatment of locally advanced pancreatic cancinoma.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Locally advanced pancreatic carcinoma; Iodine-125 seed implantation; Chemotherapy

Yang WK, Chen Y, Wang L, Wu XD. CT-guided ^{125}I seed interstitial implantation combined with gemcitabine/cisplatin chemotherapy for treatment of locally advanced pancreatic carcinoma. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(10): 1455-1459 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1455.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i10.1455

摘要

目的: 探讨computed tomography (CT)引导下^{125}I粒子植入联合吉西他滨及顺铂(gemcitabine and cisplatin, GP)方案化疗治疗局部进展期胰腺癌的疗效.

方法: 88例不能手术切除局部进展期胰腺癌(locally advanced pancreatic carcinoma, LAPC)患者随机分为2组: A组(粒子植入+化疗组)45例, 在局麻下行CT引导^{125}I粒子植入术, 术后

■背景资料
胰腺癌是消化系统常见的恶性肿瘤, 目前多学科、多中心联合的综合治疗已经在许多方面取得了一定的进展, 如何提高胰腺癌患者生存质量和生存期为当今治疗的难点和重点. 常规放疗技术定位不准确, 对正常组织保护不利, 不良反应大, 疗效差. CT引导下^{125}I粒子植入能够进行精确定位和精确放疗, 联合吉西他滨及顺铂(gemcitabine and cisplatin, GP)方案治疗局部进展期胰腺癌, 评价其效果, 能提高患者的长期生存率, 改善患者的生活质量, 为临床胰腺癌治疗提供依据.

■同行评议者
张火俊, 副教授, 副主任医师, 长海医院放射科

■研发前沿
不能根治切除的进展期胰腺癌单纯应用化疗药物由于可能产生耐药性从而导致治疗效果不佳. 由于放射性粒子的应用取得了很大的进展, 故联合化疗和放疗将成为不能根治切除的进展期胰腺癌的一个重要的治疗方法.

10-14 d内依据患者体质情况开始行GP方案化疗, 具体方案同化疗组; B组(化疗组)43例, 应用“GP方案”全身化疗, 具体: 吉西他滨1000 mg/m^2 (d1, 8)+顺铂75 mg/m^{2}分割呈1-4 d应用, 21 d为1疗程. 2组患者均按期完成4个周期化疗后进行疗效评价. 患者治疗后1、2、3 mo行增强CT扫描及CA199复查, 以后为每3 mo 1次, 共随访30 mo.

结果: A组临床受益率与B组临床受益率比较P<0.05, 有统计学意义; A组平均生存时间与B组平均生存时间比较P<0.05, 有统计学意义. 2组88例患者中均按计划顺利完成, 无1例术后及化疗后出现胰漏、出血、脏器穿孔及Ⅳ度骨髓抑制等严重不良反应.

结论: CT引导下^{125}I粒子植入联合GP方案综合治疗局部进展期胰腺癌是一种安全、有效的治疗手段.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 局部进展期胰腺癌; I^{125}粒子植入; 化疗

核心提示: 本研究样本量较大, CT引导下^{125}I植入技术成熟, 与肿瘤科密切配合, 严格细化执行GP化疗方案, 临床效果较好, 具有一定应用价值.

杨文魁, 陈勇, 王磊, 吴晓东. CT引导下^{125}I粒子植入联合GP方案治疗局部进展期胰腺癌. 世界华人消化杂志 2014; 22(10): 1455-1459 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1455.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i10.1455

0 引言

胰腺癌是常见消化系恶性肿瘤之一. 但由于其早期诊断困难及侵袭性生物学特性, 就诊时仅有10%-20%患者可行根治性手术切除, 总体5年生存率仅1%-9%. 而胰腺癌中约40%为局部晚期胰腺癌[1], 其治疗方法较多, 但效果不尽人意[2,3]. ^{125}I粒子组织间植入已成为局部晚期胰腺癌的重要治疗手段, 目前国内外已有小样本报道并取得不错的疗效[4-6]. 但与化疗联合的报道较少. 为进一步评价^{125}I粒子植入联合化疗在局部晚期胰腺癌方面的疗效. 我院放射科联合放疗科2006-09/2013-09采用^{125}I粒子植入联合吉西他滨及顺铂(gemcitabine and cisplatin, GP)方案化疗治疗患者, 取得了较好的疗效. 现汇报如下.

1 材料和方法

1.1 材料 搜集2006-09/2010-09我院放疗科收治的局部进展期胰腺癌患者共88例, 其中56例经计算机断层扫描(computed tomography, CT)引导下穿刺活检确诊, 其余32例患者均经增强CT或磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)结合CA199临床确诊. 其中男53例, 女35例. 年龄平均为50岁, 既往未曾行局部放疗及全身化疗, Karnofsky评分87±2.4. 随机分为2组, 病例之间无统计学差异. 使用西门子公司生产的16排螺旋CT扫描仪, 放射性粒子植入治疗计划系统(treatment planning system, TPS)和粒子植入器由珠海和佳医疗股份有限公司生产, 使用日产粒子植入针, ^{125}I粒子由北京市401研究所提供. 封闭性放射性粒子源^{125}I粒子的直径为0.8 mm, 长4.5 mm, 外壳由钛合金制造. 放射活性范围1.52×10^7 Bq-3.03×10^7 Bq(0.41-0.82 mCi), 半衰期59.46 d.

1.2 方法

1.2.1 治疗前准备: 治疗前根据患者CT或彩超等影像学资料(图1A, B), 经肝胆胰外科、放疗科、放射科和放疗物理师联合会诊, 经郑州人民医院伦理委员会批准, 若黄疸较重, 先至外科行姑息性手术(胆管空肠吻合和/或胃空肠吻合术)以解除黄疸及胆道梗阻后再行粒子植入治疗(内镜下胆道支架植入时需切开十二指肠奥迪氏括约肌, 损伤了重要解剖结构, 术后容易导致出血和胆汁反流). 粒子植入先通过扫描仪将胰腺肿瘤层面的CT图像传入TPS内, 勾勒出肿块的轮廓, 确定进针的路径, 计算所需粒子的数目(图1D, F). 主要根据肿瘤大小确定植入粒子数, 使用每个粒子的活度为1.1×10^7 Bq-1.8×10^7 Bq, 植入粒子具体数目估算公式为: 粒子植入总数 = [(肿瘤长+宽+高)/3×5]/每个粒子的活度.

1.2.2 治疗: 粒子植入在CT引导下, 用施源器将^{125}I放射粒子精确植入, 避免胰管以及大血管损伤. 穿刺点间距1.5-2.0 cm, 每一穿刺点植入^{125}I放射粒子5-8枚(图1C, E, G). 平均植入^{125}I粒子22粒(11-60粒), 植入粒子源强平均2.44×10^7 Bq/粒(0.41-0.82 mCi), 植入前每枚粒子性活度测定、与术前要求不符者予以更换. 在粒子植入后10-14 d内依据患者体质恢复情况行GP方案化疗. 具体方案如下: 吉西他滨注射液1000 mg/m^2 (d1, 8)+顺铂注射液75 mg/m^{2}分4 d使用, 每21 d为1周期. 依据患者的毒性反应相应减少剂量.

1.2.3 疗效评价: (1)临床疗效标准: 按世界卫生组织(World Health Organization, WHO)疗效评价标准, 将患者治疗疗效评价为: 所有已知病灶消失

表 1 患者临床指标对比

分组	PR+CR	SD+PD	客观有效率(%)	临床受益率n(%)	并发症n(%)
A	15	30	33.3	29(64.4)	2(4.4)
B	10	33	23.3	14(32.6)	1(2.3)
总计	25	63	39.7	43(48.9)	3(3.4)

客观有效率 = PR+CR; 临床受益率 = PR+CR+SD. PR: 部分缓解; CR: 完全缓解; SD: 稳定; PD: 进展.

表 2 两组的生存时间对比

分组	均值				中位数			
	95%置信区间				95%置信区间			
	估计	标准误	下限	上限	估计	标准误	下限	上限
A组	15.328	1.286	12.808	17.849	12.7	0.738	11.254	14.146
B组	11.029	0.975	9.119	12.940	8.9	0.590	7.744	10.056

并保持最少4 wk为完全缓解(complete remission, CR), 肿瘤双径乘积之和减少50%以上维持4 wk为部分缓解(partial remission, PR)(图1H), 缩小不足50%为无变化(no change, NC)或稳定(steady, SD), 肿瘤体积增大>25%或有新病灶出现为进展(progress, PD). (2)临床受益反应(the clinical benefit response, CBR): 依据1997年Burris等制定的CBR标准对患者的疼痛强度评分(pain intensity scores, PIS)、镇痛药物消耗量、KPS评分和体质量变化综合评估. 凡符合下列一项指标(持续4 wk以上), 并无任何一项恶化者, 定义为临床受益:疼痛强度减轻≥50%; 镇痛药物用量减少≥50%; 体力状况按卡氏评分标准改善≥2分; 如疼痛程度及体力状况均稳定, 则体质量增加≥7%.

统计学处理 2组间样本客观有效率, 临床受益率以及并发症发生率等采用χ^2检验, 采用SPSS17.00软件上进行统计学分析; 对生存率比较采用Log-rank检验法. P<0.05差异有统计学意义.

2 结果

2.1 2组实验组患者治疗后的各项指标的对比 客观有效率: A组, 15/45 = 33.3%; B组, 10/43 = 23.3%; χ^2 = 1.098, P = 0.295, 无统计学差异. 临床受益率: A组, 29/45 = 64.4%; B组, 14/43 = 32.6%; χ^2 = 8.974, P = 0.003<0.05, 有统计学差异. 并发症: A组, 2/45 = 4.4%; B组, 1/43 = 2.3%; χ^2 = 0.000, P = 1.000, 无统计学差异. 并发症发生主要是发热、腹腔感染, 恶心、呕吐为主(表1).

2.2 患者生存时间及生存曲线 A组中位生存期为12.70 mo, B组中位生存期为8.90 mo, 平均生存时间A组为15.3 mo, B组为11 mo. Log-rank检验发现两组差异有统计学意义(χ^2 = 5.024, P = 0.025<0.05)(表2, 图2).

3 讨论

胰腺癌是一种常见的消化系恶性肿瘤, 其恶性程度高, 发展快, 具有发现晚, 病期短, 预后极差等特点. 根据美国肿瘤学会最新资料显示胰腺癌发病率与死亡率几乎相当, 发病率位居恶性肿瘤第10位, 死亡率在女性为第5位, 男性为第4位, 5年生存率仅为4%[7,8]. 目前, 虽然胰腺癌的治疗存在许多问题, 但多学科、多中心联合治疗胰腺癌的研究广泛开展着, 并在许多方面取得了成就. 胰腺癌位置深, 周围肠道的放射耐受性低, 常规外照射的剂量受到一定限制, 达不到根治放疗目的, 使肿瘤局部控制率低、复发率高. 三维适形或调强放射治疗虽能在一定程度上改善局部控制率, 但仍受到肿瘤周围正常组织耐受剂量限制和腹腔脏器移动的困扰, 难以达到彻底治愈的目的. 如何提高胰腺癌的疗效是目前肿瘤科医师亟待解决难题.

1934年Handley[9]在世界上首先运用镭针插植成功治疗胰腺癌的先例, 自此拉开了肿瘤内植入放射性粒子治疗肿瘤序幕. 粒子植入可应用其低剂量率连续照射特性, 从而增加肿瘤照

■相关报道
GP方案是临床研究较早的治疗进展期胰腺癌的2药方案, 研究者认为, 一般状况较好者能从GP方案治疗中获益. 有研究认为^{125}I植入具有很多优势, 对无法手术的胰腺癌患者具有重要意义.

■创新盘点

本研究采用CT引导下^{125}I植入联合GP方案治疗进展期胰腺癌, 充分发挥化疗及靶向放疗的优势, 提高患者的长期生存率, 改善患者的生活质量.

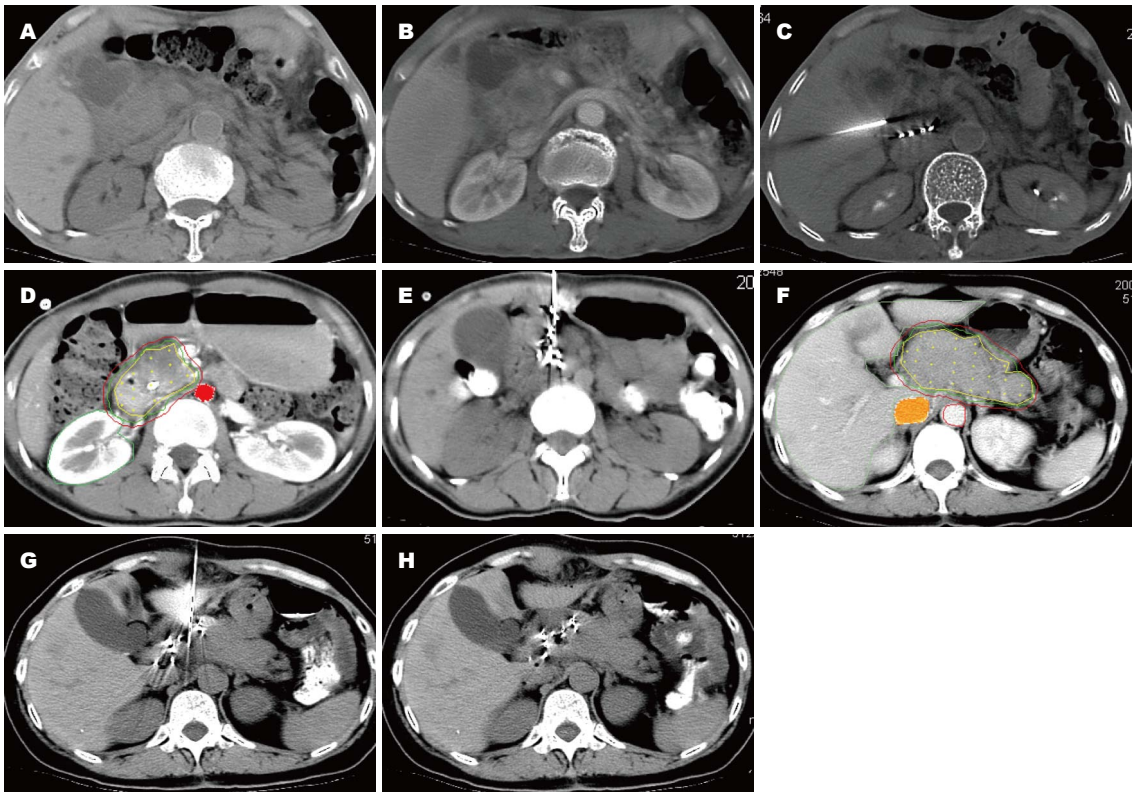


图 1 胰头进展期胰腺癌. A: CT平扫定位图; B: MRI增强肿瘤轻度强化不均匀低信号; C: CT引导下^{125}I粒子植入治疗; A-C: 为同一患者; D: TPS图; E: CT引导下^{125}I粒子植入治疗; D, E为同一患者; F: TPS图; G: CT引导下^{125}I粒子植入治疗; H: 治疗后复查肿瘤缩小; F-H为同一患者.

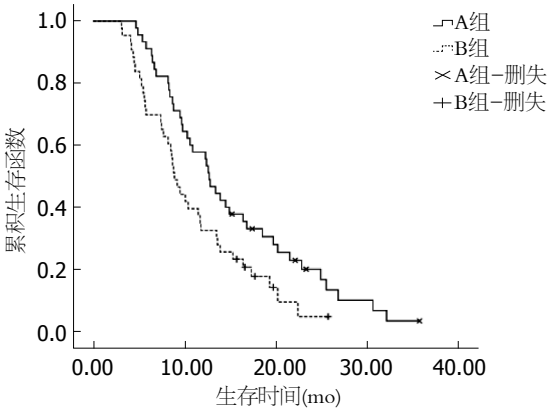


图 2 两组生存时间(mo)曲线Log-Rank检验对比.

射剂量、提高肿瘤局控率, 成为肿瘤局部治疗的一种有效手段. 目前常用的核素粒子有^{125}I、^{103}Pd、^{198}AU、^{169}Y. 目前我院常用为^{125}I, 其半衰期为60.1 d, 外壳钛合金管与人体组织相容性好, 保存时间相对较长、便于运输, 有利于临床医师应用. ^{125}I产生的γ射线虽然能量不大, 但他持续照射肿瘤组织内处不同分裂时象的细胞, 使其完全处在辐射中. 而且放射性粒子使肿瘤得到根治剂量的同时, 由于其放射距离短(1.7 cm), 对周围正常组织放射损伤少, 减少了相邻正常组织的不良反应. 最近国内应用^{125}I粒子植入治疗晚期胰腺癌已成为研究热门课题, 但尚缺乏大样本的临床研究案例.

而我院正是基于以上的研究背景, 联合吉西他滨+顺铂化疗对局部晚期胰腺癌患者进行一系列的疗效分析. 吉西他滨对胰腺癌的治疗作用最早在1999年Storniolo等[10]、Yoshitomi等[11]及吴汉清等[12]一项临床试验, 证明了吉西他滨对晚期胰腺癌的治疗价值. 他作为新合成的脱氧胞苷类似物, 具有完全不同的抗肿瘤活性, 美国FDA于1996年批准吉西他滨作为抗胰腺癌的一线用药, 对于局部晚期的胰腺癌患者, 吉西他滨可以获得较高的有效率和更长的生存期. Yoshitomi等[11]报道了胰腺癌术后辅助化疗的Ⅱ期随机临床试验结论是吉西他滨联合顺铂为基础的联合化疗方案对患者是安全有效的.

本研究结果显示对局部晚期胰腺癌患者, 在行全身化疗基础上, 结合^{125}I粒子植入可显著提高患者的客观有效率和临床受益率. 同时结果显示^{125}I粒子植入+化疗组临床受益率明显高于单独化疗组, 说明^{125}I粒子植入可持久的改善患者生活质量, 缓解痛苦, 这可能与^{125}I粒子既可以

使肿瘤局部变性坏死, 减轻内部张力, 也可以破坏腹膜后神经丛有关. 在并发症的发生率上, ^{125}I粒子植入+化疗组并发症发生并没有高于单独化疗组, 这说明在粒子植入对于患者是安全的. 在生存时间的比较上, ^{125}I粒子植入+化疗组与单独化疗组有明显的统计学差异, 因此粒子植入能够提高患者的远期生存率, 延长患者生存时间, 这可能与^{125}I粒子的放射性能够杀灭胰腺肿瘤细胞, 抑制肿瘤的生长, 从而提高患者中位生存期[13-15]. 但^{125}I粒子种植治疗也有其不利的因素, 如粒子游走等. 而且由于^{125}I的半衰期特点以及穿透力的局限性, 目前国内许多专家正进行更具优越性的^{103}Pd粒子治疗胰腺癌的探讨, 但确切疗效尚需要大样本资料对照研究来进一步证实.

总之, ^{125}I粒子植入联合全身化疗对局部进展期胰腺癌, 能控制局部肿瘤的生长, 提高患者生存率, 是一种安全有效的治疗晚期胰腺肿瘤良好方案, 值得进一步深入研究.

4 参考文献

1 李伟, 李凯, 纪跃廷, 宁红. 三维适形放疗同步吉西他滨及氟尿嘧啶化疗治疗局部进展期胰腺癌. 齐齐哈尔医学院学报 2008; 29: 2498-2499

2 Cooperman AM, Kini S, Snady H, Bruckner H, Chamberlain RS. Current surgical therapy for carcinoma of the pancreas. *J Clin Gastroenterol* 2000; 31: 107-113 [PMID: 10993424 DOI: 10.1097/00004836-200009000-00004]

3 冉维强, 葛辉玉, 苗立英, 王金锐. 超声监测仍I放射性粒子植入治疗胰腺癌的应用. 中华超声影像学杂志 2004; 13: 514-516

4 Peretz T, Nori D, Hilaris B, Manolatos S, Linares L, Harrison L, Anderson LL, Fuks Z, Brennan MF. Treatment of primary unresectable carcinoma of the pancreas with I-125 implantation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1989; 17: 931-935 [PMID: 2808054 DOI: 10.1016/0360-3016(89)90138-7]

5 张福君, 吴沛宏, 赵明, 黄金华, 范卫君, 顾仰葵, 刘健, 张亮, 卢鸣剑. CT引导下125I离子植入治疗胰腺癌. 中华医学杂志 2006; 86: 223-227

6 Jemal A, Murray T, Ward E, Samuels A, Tiwari RC, Ghafoor A, Feuer EJ, Thun MJ. Cancer statistics, 2005. *CA Cancer J Clin* 2005; 55: 10-30 [PMID: 15661684 DOI: 10.3322/caac.20138]

7 明德国, 于香红, 李振家, 肖连祥, 武乐斌, 窦卫涛, 韩旭建. CT导向125I粒子植入治疗胰腺癌的临床应用. 实用放射学杂志 2010; 26: 1006-1009

8 Oya N. Chemoradiotherapy for pancreatic cancer: current status and perspectives. *Int J Clin Oncol* 2004; 9: 451-457 [PMID: 15616875 DOI: 10.1007/s10147-004-0449-6]

9 Handley WS. Pancreatic cancer and its treatment by implanted radium. *Ann Surg* 1934; 100: 215-223 [PMID: 17856333 DOI: 10.1002/(SICI)1097-0142(19990315)85]

10 Storniolo AM, Enas NH, Brown CA, Voi M, Rothenberg ML, Schilsky R. An investigational new drug treatment program for patients with gemcitabine: results for over 3000 patients with pancreatic carcinoma. *Cancer* 1999; 85: 1261-1268 [PMID: 10189130]

11 Yoshitomi H, Togawa A, Kimura F, Ito H, Shimizu H, Yoshidome H, Otsuka M, Kato A, Nozawa S, Furukawa K, Miyazaki M. A randomized phase II trial of adjuvant chemotherapy with uracil/tegafur and gemcitabine versus gemcitabine alone in patients with resected pancreatic cancer. *Cancer* 2008; 113: 2448-2456 [PMID: 18823024 DOI: 10.1002/cncr.23863]

12 吴汉青, 吴河水, 杨智勇, 王春友, 原伟伟. I125粒子植入在胰腺恶性肿瘤治疗中的疗效分析. 世界华人消化杂志 2009; 17: 2951-2954

13 王成锋, 赵平, 李晔雄, 单毅, 赵东兵, 田艳涛, 孙跃民, 白晓枫, 车旭, 曲辉, 解亦斌, 郑荣, 周纯武. 125I粒子植如治疗局部进展期胰腺癌. 中华医学杂志 2010; 90: 92-96

14 朱永强, 陈英俊, 郭剑峰. CT引导下125I粒子植入治疗晚期胰腺癌的临床效果分析. 介入放射学杂志 2011; 20: 283-286

15 Oettle H, Post S, Neuhaus P, Gellert K, Langrehr J, Ridwelski K, Schramm H, Fahlke J, Zuelke C, Burkart C, Gutberlet K, Kettner E, Schmalenberg H, Weigang-Koehler K, Bechstein WO, Niedergethmann M, Schmidt-Wolf I, Roll L, Doerken B, Riess H. Adjuvant chemotherapy with gemcitabine vs observation in patients undergoing curative-intent resection of pancreatic cancer: a randomized controlled trial. *JAMA* 2007; 297: 267-277 [PMID: 17227978 DOI: 10.1001/jama.297.3.267]

■同行评价

该研究在临床方面有一定创新, 具有一定临床应用价值.

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年4月8日; 22(10): 1460-1464
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

护理干预对大肠癌腹会阴联合直肠癌根治术患者精神和心理健康的影响

吴俊晓, 陈 英

■背景资料
Miles手术是治疗低位及超低位大肠癌的重要临床手段, 但患者术中需行腹壁永久性造口, 术后需长期使用人工造口袋收集粪便, 给患者术后生活带来较大影响, 也增加了患者的心理压力.

吴俊晓, 陈英, 南阳医学高等专科学校 河南省南阳市 473000
吴俊晓, 主管护师, 主要从事临床护理工作.
作者贡献分布: 本文由吴俊晓与陈英共同完成.
通讯作者: 吴俊晓, 主管护师, 473000, 河南省南阳市卧龙路1439号, 南阳医学高等专科学校. nyyzwjx@126.com
收稿日期: 2014-01-10 修回日期: 2014-02-23
接受日期: 2014-02-28 在线出版日期: 2014-04-08

Effect of nursing intervention on mental and physical health in patients with rectal cancer after Miles operation

Jun-Xiao Wu, Ying Chen

Jun-Xiao Wu, Ying Chen, Nanyang Medical College, Nanyang 473000, Henan Province, China
Correspondence to: Jun-Xiao Wu, Charge Nurse, Nanyang Medical College, 1439 Wolong Road, Nanyan 473000, Henan Province, China. nyyzwjx@126.com
Received: 2014-01-10 Revised: 2014-02-23
Accepted: 2014-02-28 Published online: 2014-04-08

Abstract

AIM: To explore the effect of nursing intervention on mental and physical health in patients with rectal cancer after Miles operation.

METHODS: One hundred and six patients with rectal cancer were randomly divided into two groups. The control group received routine nursing intervention, and the experiment group received comprehensive nursing intervention on the basis of routine nursing intervention. Three and six months after discharge, patients were assessed using the exercise of self-care agency (ESCA) scale and the symptom checklist 90 scale.

RESULTS: The scores of ESCA, self-care skills, self-nursing responsibility, self-concept and the scores of health knowledge in the two groups were significantly higher at 6 mo after discharge than at 3 mo (experiment group: 127.71 ± 14.17 *vs* 96.01 ± 13.33, 33.99 ± 3.66 *vs* 26.98 ± 4.11, 21.96 ± 3.68 *vs* 17.89 ± 3.12, 25.65 ± 3.71 *vs* 18.63 ± 4.20, 35.09 ± 7.58 *vs* 30.95 ± 5.39; control group: 121.06 ± 11.27 *vs* 91.30 ± 10.18, 29.86 ± 2.13 *vs* 21.09 ± 3.16, 18.96 ± 2.00 *vs* 14.73 ± 2.09, 21.96 ± 4.15 *vs* 16.38 ± 3.03, 31.94 ± 4.79 *vs* 26.33 ± 4.05, $P < 0.05$ for all); these parameters at 3 and 6 mo were significantly higher in the experiment group than in the control group ($P < 0.05$ for all). The scores of somatization, obsessive-compulsive symptoms, interpersonal relationship, depression, anxiety, sensitivity, terror, bigotry and psychotic symptom in the two groups were significantly lower at 6 mo after discharge than at 3 mo (experiment group: 1.48 ± 0.45 *vs* 3.32 ± 0.47, 1.54 ± 0.59 *vs* 3.05 ± 0.52, 1.38 ± 0.77 *vs* 2.92 ± 0.75, 1.57 ± 0.46 *vs* 3.06 ± 0.48, 1.44 ± 0.52 *vs* 2.95 ± 0.66, 1.29 ± 0.51 *vs* 2.49 ± 0.50, 1.20 ± 0.53 *vs* 2.74 ± 0.55, 1.38 ± 0.41 *vs* 2.66 ± 0.44, 1.28 ± 0.42 *vs* 2.71 ± 0.47; control group: 1.86 ± 0.28 *vs* 4.34 ± 0.43, 1.98 ± 0.56 *vs* 4.05 ± 0.49, 1.68 ± 0.66 *vs* 3.91 ± 0.68, 2.07 ± 0.62 *vs* 4.03 ± 0.57, 2.03 ± 0.73 *vs* 3.94 ± 0.69, 1.67 ± 0.47 *vs* 3.47 ± 0.48, 1.64 ± 0.45 *vs* 3.72 ± 0.46, 1.59 ± 0.56 *vs* 3.67 ± 0.59, 1.68 ± 0.36 *vs* 3.72 ± 0.38, $P < 0.05$ for all); these scores at 3 and 6 mo were significantly lower in the experiment group than in the control group ($P < 0.05$ for all).

CONCLUSION: Comprehensive nursing intervention can improve self-care skills and mental and physical health in patients with rectal cancer after Miles operation.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Rectal cancer; Miles; Self-care ability; Mental health

Wu JX, Chen Y. Effect of nursing intervention on mental and physical health in patients with rectal cancer after Miles operation. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(10): 1460-1464 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1460.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i10.1460

■同行评议者
白雪, 副主任医师, 中国人民解放军北京军区总医院普通外科

摘要

目的: 探讨护理干预对大肠癌Miles(腹会阴联

合大肠癌根治术)术后患者造口自我护理能力及精神、心理健康的影响.

方法: 按照随机数字表法将我院收治的106例行Miles手术治疗的大肠癌患者均分为实验组和对照组, 对照组患者仅给予常规护理, 实验组患者在此基础上给予综合护理干预, 比较两组患者出院后3和6 mo自我护理能力实施量表(exercise of self-care agency, ESCA)及症状自评量表(symptom checklist 90, SCL-90)评分.

结果: 两组患者出院后6 mo ESCA总分、自我护理技能、自我护理责任感、自我概念及健康知识水平评分均明显升高, 与同组出院后3 mo比较, (127.71±14.17 *vs* 96.01±13.33)、(33.99±3.66 *vs* 26.98±4.11)、(21.96±3.68 *vs* 17.89±3.12)、(25.65±3.71 *vs* 18.63±4.20)、(35.09±7.58 *vs* 30.95±5.39), (121.06±11.27 *vs* 91.30±10.18)、(29.86±2.13 *vs* 21.09±3.16)、(18.96±2.00 *vs* 14.73±2.09)、(21.96±4.15 *vs* 16.38±3.03)、(31.94±4.79 *vs* 26.33±4.05), 差异具有统计学意义(P<0.05); 实验组患者出院后3和6 mo ESCA总分、自我护理技能、自我护理责任感、自我概念及健康知识水平评分均明显高于对照组, (127.71±14.17 *vs* 121.06±11.27)、(33.99±3.66 *vs* 29.86±2.13)、(21.96±3.68 *vs* 18.96±2.00)、(25.65±3.71 *vs* 21.96±4.15)、(35.09±7.58 *vs* 31.94±4.79), 差异具有统计学意义(P<0.05); 两组患者出院后6 mo躯体化、强迫症状、人际关系、抑郁、焦虑感、敏感、恐怖感、偏执和精神病性症状均明显降低, 与同组出院后3 mo比较, (1.48±0.45 *vs* 3.32±0.47)、(1.54±0.59 *vs* 3.05±0.52)、(1.38±0.77 *vs* 2.92±0.75)、(1.57±0.46 *vs* 3.06±0.48)、(1.44±0.52 *vs* 2.95±0.66)、(1.29±0.51 *vs* 2.49±0.50)、(1.20±0.53 *vs* 2.74±0.55)、(1.38±0.41 *vs* 2.66±0.44)、(1.28±0.42 *vs* 2.71±0.47), (1.86±0.28 *vs* 4.34±0.43)、(1.98±0.56 *vs* 4.05±0.49)、(1.68±0.66 *vs* 3.91±0.68)、(2.07±0.62 *vs* 4.03±0.57)、(2.03±0.73 *vs* 3.94±0.69)、(1.67±0.47 *vs* 3.47±0.48)、(1.64±0.45 *vs* 3.72±0.46)、(1.59±0.56 *vs* 3.67±0.59)、(1.68±0.36 *vs* 3.72±0.38), 差异具有统计学意义(P<0.05); 实验组患者出院后3 mo和6 mo躯体化、强迫症状、人际关系、抑郁、焦虑感、敏感、恐怖感、偏执和精神病性症状均明显低于对照组, (1.48±0.45 *vs* 1.86±0.28)、(1.54±0.59 *vs* 1.98±0.56)、(1.38±0.77 *vs* 1.68±0.66)、(1.57±0.46 *vs* 2.07±0.62)、(1.44±0.52 *vs* 2.03±0.73)、(1.29±0.51 *vs* 1.67±0.47)、(1.20±0.53 *vs* 1.64±0.45)、(1.38±0.41 *vs* 1.59±0.56)、(1.28±0.42 *vs* 1.68±0.36), 差异具有统计学意义(P<0.05).

结论: 有效护理干预能够提高患者术后造口自我护理能力, 改善患者精神、心理状态, 临床应用和推广价值较高.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 大肠癌; 腹会阴联合大肠癌根治术; 自我护理能力; 心理健康

核心提示: 本研究结果显示, 在常规护理基础上实施综合护理干预后, 患者出院后自我护理能力实施量表(exercise of self-care agency)总分、自我护理技能、自我概念及健康知识水平改善情况令人满意, 且出院后3和6 mo随访结果均明显优于仅采取常规护理的患者. 表明护理干预对大肠癌Miles术后患者自我护理能力具有显著提升效果. 患者出院后SCL-90评分调查结果显示, 实验组患者出院后躯体化、强迫症状、人际关系、抑郁、焦虑感、敏感、恐怖感、偏执和精神病性症状改善效果确切, 且3和6 mo随访结果均明显优于仅采取常规护理的患者. 表明护理干预在改善大肠癌Miles术后患者精神、心理健康上具有显著效果.

吴俊晓, 陈英. 护理干预对大肠癌腹会阴联合直肠癌根治术患者精神和心理健康的影响. 世界华人消化杂志 2014; 22(10): 1460-1464 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1460.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i10.1460

■研发前沿
目前国内Miles手术技术较为成熟, 但患者术后仍可能发生多种并发症, 常见的包括造口狭窄、会所、出血、炎症等, 对患者正常生活造成较大影响.

0 引言

大肠癌临床发病率较高, 属于常见消化系恶性肿瘤. Miles手术是治疗低位及超低位大肠癌的重要临床手段. 但患者术中需行腹壁永久性造口, 术后需长期使用人工造口袋收集粪便, 给患者术后生活带来较大影响, 也增加了患者的心理压力[1]. 临床研究表明, 自我护理能力是影响大肠癌患者Miles术后对腹壁永久造口适应性、日常生活质量及精神、心理健康的重要因素[2]. 因此, 研究有效护理干预对改善大肠癌Miles术后造口患者自我护理能力及精神、心理健康有重要意义, 现报道如下.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2012-05/2013-05我院收治的行

■相关报道
临床研究表明，有计划的护理干预能帮助大肠癌肠造口患者降低因疾病产生的焦虑、抑郁等负性情绪，提高患者的治疗依从性，不断改善患者的生活质量.

Miles手术治疗的大肠癌患者106例作为研究对象. 所有患者均为初次手术能够自行理解或在调查人员讲解下理解随访调查量表内容，排除术后采用结肠灌洗法、存在精神疾病、意识障碍、不愿接受护理干预或随访以及合并其他全身严重疾病者. 按照随机数字表法将106例患者均分为实验组和对照组，两组患者在性别、年龄、肿瘤类型及手术方式等上差异无统计学意义(P>0.05)(表1)，具有可比性. 本研究经我院伦理委员会审核通过，所有患者均签署知情同意书，愿意配合术后3和6 mo各随访1次.

1.2 方法

1.2.1 护理操作: 对照组患者仅给予常规护理，包括围手术期常规护理、造口护理、饮食护理、出院指导等[3]. 实验组患者在常规护理的基础上给予综合护理干预，包括心理干预、健康教育和自我护理能力培养，具体如下: (1)心理干预. 患者术后需适应永久性造口，不仅形象发生改变，还需长期使用人工造口袋收集粪便，严重影响了生活质量，也给患者带来了较大生活和精神压力[4]. 护理人员要积极与患者构建良好护患关系，耐心向患者解释疑惑，及时进行心理疏导，尊重患者，并通过开展各种形式交流活动避免患者产生孤独、压力等心理问题. 帮助患者树立治疗信心，保持身心健康; (2)健康教育. 通过座谈会、讲座或者一对一交流等不同方式，定期对患者进行健康教育[5]. 内容包括建立良好的生活习惯、合理安排饮食、调整作息时间、病理知识解答等，全面向患者展示术后相关并发症知识、注意事项、饮食禁忌等，提高患者对大肠癌Miles术后认识，主动配合治疗和护理，早日恢复至正常生活[6]; (3)自我护理能力培养. 自我护理能力培养是在心理护理和健康教育的基础上实施的，以培养患者自我护理造口的能力为主要目的. 通过观看录像、图片以及现场示范等途径指导患者掌握护理操作要领，初期可让患者逐步参与到部分护理操作中，随着逐步强化，患者操作水平提升后逐步实现自我护理[7].

1.2.2 观察指标: 自我护理能力采用自我护理能力实施量表(exercise of self-care agency, ESCA)进行评分，包括ESCA总分、自我护理技能、自我护理责任感、自我概念及健康知识水平5项内容，得分越高患者自我护理能力越强[8].

精神、心理状态采用症状自评量表(symptom checklist 90, SCL-90)进行评分，包括躯体化、强迫症状、人际关系、抑郁、焦虑感、敏感、恐怖感、偏执和精神病性症状9项，得分越低者精神、心理状态更佳[9].

两组患者出院后均获得3和6 mo两次随访，比较两组患者出院后3和6 mo ESCA及SCL-90评分.

统计学处理 本研究数据均采用SPSS18.0进行统计学处理，计量资料采用mean±SD表示，差异性比较使用t检验，记数资料比较使用χ^2检验，P<0.05为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 两组患者出院后3和6 mo ESCA各项评分比较 两组患者出院后6 mo ESCA总分、自我护理技能、自我护理责任感、自我概念及健康知识水平评分均明显升高，与同组出院后3 mo比较，差异具有统计学意义(P<0.05); 实验组患者出院后3和6 mo ESCA总分、自我护理技能、自我护理责任感、自我概念及健康知识水平评分均明显高于对照组，差异具有统计学意义(P<0.05)(表2).

2.2 两组患者出院后3和6 mo SCL-90各项评分比较 两组患者出院后6 mo躯体化、强迫症状、人际关系、抑郁、焦虑感、敏感、恐怖感、偏执和精神病性症状均明显降低，与同组出院后3 mo比较，差异具有统计学意义(P<0.05); 实验组患者出院后3和6 mo躯体化、强迫症状、人际关系、抑郁、焦虑感、敏感、恐怖感、偏执和精神病性症状均明显低于对照组，差异具有统计学意义(P<0.05)(表3).

3 讨论

Miles手术是治疗低位及超低位大肠癌的主要术式，术中需要制造腹壁永久性造口进行结肠改道. 目前国内Miles手术技术较为成熟，但患者术后仍可能发生多种并发症，常见的包括造口狭窄、会所、出血、炎症等，对患者正常生活造成较大影响[10].

自我护理能力指患者主动参与自我照顾并完成自我行为的能力，永久性结肠造口患者需在短时间内熟悉和掌握新的排便方式，能够自我护理，改善生存质量[11]. 患者具备自我护理能力，一方面能够有效避免频繁住院和过多花费医疗费用，提高生存质量[12]; 另一方面也是患者正视疾病，逐渐走出心理消沉期的关键，对患者尽快适应结肠造口带来的变化及身心的康复均有重要意义[13]. 因此，采取有效护理干预提高患者自我护理能力十分有必要. 本研究中通过住

表 1 两组患者临床资料比较 [n = 53, n(%)]

分组	性别		平均年龄(岁)	肿瘤类型			
	男性	女性		腺癌	黏液腺癌	未分化癌	腺鳞癌
实验组	29(54.72)	24(45.28)	54.82 ± 6.13	45(84.91)	5(9.43)	2(3.77)	1(1.89)
对照组	28(52.83)	25(47.17)	54.57 ± 6.76	43(81.13)	6(11.32)	2(3.77)	2(3.77)

表 2 两组患者出院后3、6 mo ESCA各项评分比较 (n = 53)

分组	时间(mo)	总分	自我护理技能	自我护理责任感	自我概念	健康知识水平
实验组	3	96.01 ± 13.33[c]	26.98 ± 4.11[c]	17.89 ± 3.12[c]	18.63 ± 4.20c	30.95 ± 5.39[c]
	6	127.71 ± 14.17[ac]	33.99 ± 3.66[ac]	21.96 ± 3.68[ac]	25.65 ± 3.71[ac]	35.09 ± 7.58[ac]
对照组	3	91.30 ± 10.18	21.09 ± 3.16	14.73 ± 2.09	16.38 ± 3.03	26.33 ± 4.05
	6	121.06 ± 11.27[a]	29.86 ± 2.13[a]	18.96 ± 2.00[a]	21.96 ± 4.15[a]	31.94 ± 4.79[a]

[a]P<0.05 *vs* 同组出院后3 mo; [c]P<0.05 *vs* 对照组.

表 3 两组患者出院后3、6 mo SCL-90各项评分比较 (n = 53)

分组	时间(mo)	躯体化	强迫症状	人际关系	抑郁	焦虑感	敏感	恐怖感	偏执	精神病性症状
实验组	3	3.32 ± 0.47[c]	3.05 ± 0.52[c]	2.92 ± 0.75[c]	3.06 ± 0.48[c]	2.95 ± 0.66[c]	2.49 ± 0.50[c]	2.74 ± 0.55[c]	2.66 ± 0.44[c]	2.71 ± 0.47[c]
	6	1.48 ± 0.45[ac]	1.54 ± 0.59[ac]	1.38 ± 0.77[ac]	1.57 ± 0.46[ac]	1.44 ± 0.52[ac]	1.29 ± 0.51[ac]	1.2 ± 0.53[ac]	1.38 ± 0.41[ac]	1.28 ± 0.42[ac]
对照组	3	4.34 ± 0.43	4.05 ± 0.49	3.91 ± 0.68	4.03 ± 0.57	3.94 ± 0.69	3.47 ± 0.48	3.72 ± 0.46	3.67 ± 0.59	3.72 ± 0.38
	6	1.86 ± 0.28[a]	1.98 ± 0.56[a]	1.68 ± 0.66[a]	2.07 ± 0.62[a]	2.03 ± 0.73[a]	1.67 ± 0.47[a]	1.64 ± 0.45[a]	1.59 ± 0.56[a]	1.68 ± 0.36[a]

[a]P<0.05 *vs* 同组出院后3 mo; [c]P<0.05 *vs* 对照组.

院期间给予患者多方面护理干预, 帮助患者减轻心理压力, 掌握自主护理造口的理论及技巧, 对患者尽快恢复至正常生活水平取得了良好的临床效果.

临床研究表明, 有计划的护理干预能帮助大肠癌肠造口患者降低因疾病产生的焦虑、抑郁等负性情绪, 提高患者的治疗依从性, 不断改善患者的生活质量[14]. 另外, 适当加强对患者的心理护理能够有效减少患者因多种因素导致的消极心理及其他心理负担, 确保患者能够健康回归家庭[15]. 本研究结果显示, 在常规护理基础上实施综合护理干预后, 患者出院后ESCA总分、自我护理技能、自我护理责任感、自我概念及健康知识水平改善情况令人满意, 且出院后3和6 mo随访结果均明显优于仅采取常规护理的患者. 表明护理干预对大肠癌Miles术后患者自我护理能力具有显著提升效果. 患者出院后SCL-90评分调查结果显示, 实验组患者出院后躯体化、强迫症状、人际关系、抑郁、焦虑感、敏感、恐怖感、偏执和精神病性症状改善效果确切, 且3和6 mo随访结果均明显优于仅采取常规护理的患者. 表明护理干预在改善大肠癌Miles术后患者精神、心理健康上具有显著效果.

总体来看, 通过采取综合护理干预, 不仅增强了患者的主动参与意识, 提高了患者的自我护理能力, 同时也让患者认识到造口对消化功能影响不大, 减轻了患者的心理压力; 另一方面, 有效地缓解了大肠癌肠造口患者的抑郁、焦虑感等负面情绪, 改善了肠造口患者的躯体功能、心理功能和社会功能, 体现了护理人员对患者及家人的关爱[16].

总之, 有效护理干预能够提高患者术后造口自我护理能力, 改善患者精神、心理状态, 临床

■应用要点

有效护理干预能够提高患者术后造口自我护理能力, 改善患者精神、心理状态, 临床应用和推广价值较高.

■同行评价
本文内容详实, 操作方法切实可行, 对临床护理工作有一定参考价值.

应用和推广价值较高.

4 参考文献

1 傅红, 黄恺, 史向军. 直肠癌腹会阴联合根治术后会阴切口临床处理进展. 世界华人消化杂志 2008; 16: 02-04
2 高云萍. 护理干预对直肠癌Miles术后患者生活质量的影响. 右江医学 2012; 40: 551-552
3 O'Connor G, Coates V, O'Neill S. Exploring the information needs of patients with cancer of the rectum. *Eur J Oncol Nurs* 2010; 14: 271-277 [PMID: 20236861 DOI: 10.1016/j.ejon.2010.01.024]
4 陈俊霞, 李淑然, 陈书爱. 直肠癌Miles术患者的心理行为干预方法研究. 河北医药 2010; 32: 2450-2451
5 李卫平, 张秋娥. 直肠癌Miles术患者造口护理的阶段式健康教育. 护理学杂志 2012; 27: 82-83
6 罗璇, 膝丽. 实施家庭健康教育对直肠癌造瘘口患者生活质量的影响. 国际护理学杂志 2011; 30: 722-723
7 张亚琪, 刘希红, 徐宇红. 护理干预对直肠癌根治术并行造口术患者排便自我管理能力的影响. 中华护理杂志 2010; 45: 588-590
8 Wilson J, Gramling L. The application of Orem's Self-Care Model to burn care. *J Burn Care Res* 2009; 30: 852-858 [PMID: 19692925 DOI: 10.1097/BCR.0b013e3181b48a2d]
9 Colgrove LA, Kim Y, Thompson N. The effect of spirituality and gender on the quality of life of spousal caregivers of cancer survivors. *Ann Behav Med* 2007; 33: 90-98 [PMID: 17291174]
10 宋新明, 李欣欣. 从生存质量角度评估永久性结肠造口对直肠癌患者的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21: 2627-2632
11 刘秋燕. 护理干预对直肠癌结肠造口术后患者生活质量的影响. 齐鲁护理杂志 2009; 15: 15-16
12 朱振华, 兰恒平, 耿勤, 杨静. 家庭健康教育对直肠癌Miles术后患者生活质量的影响. 中国实用护理杂志 2012; 28: 88-89
13 Canda AE, Terzi C, Gorken IB, Oztop I, Sokmen S, Fuzun M. Effects of preoperative chemoradiotherapy on anal sphincter functions and quality of life in rectal cancer patients. *Int J Colorectal Dis* 2010; 25: 197-204 [PMID: 19784660 DOI: 10.1007/s00384-009-0807-y]
14 曾明秀. 直肠癌结肠造口患者生活质量的影响因素及护理进展. 上海护理 2010; 10: 66-69
15 邓吟吟, 叶芳. 护理干预对直肠癌Miles术后患者生活质量的影响. 中国实用护理杂志 2010; 26: 52-53
16 Pucciarelli S, Del Bianco P, Toppan P, Serpentini S, Efficace F, Pasetto LM, Friso ML, De Salvo GL, Nitti D. Health-related quality of life outcomes in disease-free survivors of mid-low rectal cancer after curative surgery. *Ann Surg Oncol* 2008; 15: 1846-1854 [PMID: 18459006 DOI: 10.1245/s10434-008-9923-0]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年4月8日; 22(10): 1465-1470
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

经内镜治疗急性非静脉曲张性上消化道出血的应用价值

田书信, 陈卫刚, 黎永军, 陈世耀, 阮开学, 尚国臣, 郑 勇

田书信, 陈卫刚, 黎永军, 阮开学, 尚国臣, 郑勇, 石河子大学医学院第一附属医院消化内科 新疆维吾尔自治区石河子市 832008
陈世耀, 复旦大学中山医院消化内镜中心 上海市 200032
田书信, 硕士, 主治医师, 主要从事消化内镜技术的研究.
作者贡献分布: 本课题由田书信、陈卫刚及郑勇设计; 技术指导由陈世耀与郑勇完成; 研究过程由田书信、陈卫刚、黎永军、阮开学、尚国臣及郑勇完成; 数据分析由田书信完成; 本论文写作由田书信、陈卫刚、陈世耀及郑勇完成.
通讯作者: 郑勇, 教授, 主任医师, 832008, 新疆维吾尔自治区石河子市北二路, 石河子大学医学院第一附属医院消化内科.
zy2850@126.com
收稿日期: 2013-11-25 修回日期: 2014-01-29
接受日期: 2014-02-19 在线出版日期: 2014-04-08

Endoscopic treatment of acute non-variceal upper gastrointestinal bleeding

Shu-Xin Tian, Wei-Gang Chen, Yong-Jun Li, Shi-Yao Chen, Kan-Xue Ruan, Guo-Chen Shang, Yong Zheng

Shu-Xin Tian, Wei-Gang Chen, Yong-Jun Li, Kan-Xue Ruan, Guo-Chen Shang, Yong Zheng, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Shihezi University School of Medicine, Shihezi 832008, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China
Shi-Yao Chen, Endoscopic Center, Zhongshan Hospital, Fudan University, Shanghai 200032, China
Correspondence to: Yong Zhang, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Medicine of College of Shihezi University, Beier Road, Shihezi 832008, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. zy2850@126.com
Received: 2013-11-25 Revised: 2014-01-29
Accepted: 2014-02-19 Published online: 2014-04-08

Abstract

AIM: To assess the safety and effectiveness of endoscopic treatment of acute non-variceal upper gastrointestinal bleeding (ANVUGIB).

METHODS: Clinical data for 112 patients with ANVUGIB were analyzed, including general data, bleeding site, Forrest classification, Rockall score, Blatchford score, and endoscopic treatment. A comparative analysis of treatment outcomes between 52 cases (Forrest classification Ⅱa-Ⅱb) undergoing endoscopic treatment and 63 cases (Forrest classification Ⅱa-Ⅱb) undergoing conservative treatment was also performed.

RESULTS: Endoscopic hemostasis was successful in 101 of 112 cases, and the success rate was 90.2%. Eleven patients after endoscopic hemostatic treatment still had active bleeding, of whom 5 underwent repeated endoscopic hemostasis (2-3 times) and combined internal conservative treatment, 3 underwent surgical treatment, 2 underwent intervention hemostasis, and 1 died. The higher the Rockall score, the lower the endoscopic treatment success rate. For Forrest Ⅱa-Ⅱb patients, positive and effective endoscopic treatment may improve the success rate of hemostasis.

CONCLUSION: Endoscopic therapy of ANVUGIB is safe and effective.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Acute non-variceal upper gastrointestinal bleeding; Hemostasis; Endoscopic; Therapy

Tian SX, Chen WG, Li YJ, Chen SY, Ruan KX, Shang GC, Zheng Y. Endoscopic treatment of acute non-variceal upper gastrointestinal bleeding. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(10): 1465-1470 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1465.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i10.1465

摘要

目的: 探讨内镜下止血法在急性非静脉曲张性上消化道出血(acute nonvarieeal upper gastrointestinal bleeding, ANVUGIB)治疗中的应用价值.

方法: 分析了112例ANVUGIB Forrest分级Ⅰa-Ⅱb患者一般资料、出血部位、Forrest分级、Rockall评分、Blatchford评分、内镜治疗方法等; 对照分析了Forrest分级Ⅱa-Ⅱb内镜治疗组52例与Forrest分级Ⅱa-Ⅱb内科保守治疗组63例的治疗结果.

结果: (1)112例Forrest分级Ⅰa-Ⅱb患者有101例1次内镜止血成功, 内镜止血成功率为90.2%; 11例患者经内镜止血治疗后仍提示有

■背景资料
急性非静脉曲张性上消化道出血是临床常见急危重症, 近年来, 质子泵抑制剂的应用大大降低了患者的再出血率和死亡率, 但仍有部分患者需要内镜、介入、外科手术的干预治疗才能达到止血的目的. 消化内镜技术快速发展为微创治疗急性非静脉曲张性上消化道出血提供了新思路.

■同行评议者
戈之铮, 教授, 上海交通大学医学院附属仁济医院消化科; 杜奕奇, 副教授, 中国人民解放军第二军医大学长海医院

■研发前沿
内镜下常用的止血方法有: 药物喷洒法、黏膜下注射法、电凝法、机械法以及上述方法联合使用的联合法. 在何时使用何种方法治疗不同病因造成的消化道出血是目前需要解决和规范的问题.

活动性出血, 其中5例行2-3次内镜下再止血并联合内科保守治疗后未再出血, 3例转外科手术治疗, 2例行介入止血治疗, 1例死亡; (2) Rockall评分越高, 内镜治疗成功率越低; (3) 对Forrest分级Ⅱa-Ⅱb患者积极有效的内镜治疗可能会提高止血成功率.

结论: 内镜治疗ANVUGIB是安全、有效的, 值得推广应用.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 急性非静脉曲张性上消化道出血; 止血; 消化内镜; 治疗

核心提示: 本文对112例急性非静脉曲张性上消化道出血患者内镜下止血的疗效进行了回顾性分析, 认为Rockall评分越高, 内镜治疗成功率越低; Forrest分级Ⅱa-Ⅱb患者积极有效的内镜治疗可能会提高止血成功率.

田书信, 陈卫刚, 黎永军, 陈世耀, 阮开学, 尚国臣, 郑勇. 经内镜治疗急性非静脉曲张性上消化道出血的应用价值. 世界华人消化杂志 2014; 22(10): 1465-1470 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1465.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i10.1465

0 引言

急性非静脉曲张性上消化道出血(acute non-varieeal upper gastrointestinal bleeding, ANVUGIB)系指屈氏韧带以上消化道非静脉曲张性疾患引起的出血, 常见的出血原因有消化性溃疡、上消化道肿瘤、急性胃黏膜病变、Dieulafoy病变、Mallory-Weiss综合征以及血管畸形等, 年发病率为(50-150)/10万[1-3]. 对于持续性活动性出血需要内镜、介入或手术干预才能达到迅速止血的目的. 消化内镜技术的快速发展, 为微创治疗活动性ANVUGIB提供了好的临床思路. 内镜下常用的止血方法有: 药物喷洒法、黏膜下注射法、电凝法、机械法以及上述方法联合使用的联合法. 本文回顾性分析2009-01/2013-09在石河子大学医学院第一附属医院消化内镜中心接受内镜治疗的Forrest分级Ⅰa-Ⅱb ANVUGIB非肿瘤性病变患者资料, 并对照分析了同期Forrest分级Ⅱa-Ⅱb内镜治疗与内科药物保守治疗的止血效果, 现报道如下.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2009-01/2013-09石河子大学医学院第一附属医院主要以呕血和/或黑便为主诉就诊的患者, 行急诊内镜检查确诊为ANVUGIB, 其中Forrest分级为Ⅰa-Ⅱb并行内镜治疗112例, 内镜治疗患者须排除经内镜诊断为上消化道恶性肿瘤者. 分析上述患者的一般资料、出血部位、病变出血征象、Rockall评分[4]、Blatchford评分[5]、内镜治疗方法等(表1). Forrest分级Ⅰa-Ⅱb行内镜治疗共112例, 其中男性79例, 女性33例, 平均年龄51.9岁±17.6岁. 本研究并对同期Forrest分级Ⅱa -Ⅱb进行了内镜治疗与内科保守治疗随机对照研究, 其中内镜治疗组52例, 男性35例, 女性17例, 平均年龄50.7岁±8.4岁; 内科保守治疗组63例, 其中男性42例, 女性21例, 平均年龄48.2岁±15.3岁; 两组间患者的年龄、性别等一般临床资料对比, 具有可比性(P>0.05).

1.2 方法

1.2.1 诊断标准: 所有患者就诊后积极完善常规检查, 并进行Blatchford评分. 行内镜检查并记录病变部位、大小、出血征象以及内镜诊断, 病变出血征象采用Forrest分级. 完成内镜检查后对所有患者进行Rockall再出血和死亡危险性评分.

1.2.2 内镜治疗: 内镜治疗组在内科保守治疗的基础上, 根据内镜下出血情况, 采取不同内镜下止血方法. 使用胃镜型号为OLYMPUS-GIF-H260型、GIF-Q260J型. 内镜下喷洒的药物使用装置为OLYMPUS-PW-1V-1灌洗管或OLYMPUS-OFP内镜送水泵, 使用的药物有冰盐水加去甲肾上腺素或凝血酶. 内镜下注射治疗常用的注射针为OLYMPUS-NM-200L-0623 型, 使用的药物包括0.01%肾上腺素、聚氧乙烯月桂醇醚、组织黏胶. 内镜下电凝治疗主要使用ERBE氩离子凝固治疗或OLYMPUS-FD-1L-1型热活检钳电凝治疗. 机械止血方法使用OLYMPUS-HX-610-135L钛夹止血夹. 当一种方法不能有效止血时常使用两种或两种以上的方法联合治疗, 常用的方法有内镜下喷洒+内镜下注射, 内镜下喷洒+钛夹, 内镜下注射+钛夹.

1.2.3 内镜治疗方法的选择原则: 对于消化系黏膜疾病所致的非动脉性出血, 如消化性溃疡引起的静脉性出血, 尤其是弥漫性渗血常选用内镜下药物喷洒法. 对于各种血管病变出血或钛夹固定不稳定的病变常选择黏膜下注射法止血. 弥漫性活动性出血且范围较大的病变如血管畸形以及ESD术后活动性出血常选择电凝法止血. 对于镜下能够见到血管断端的病变、溃疡病、Mallory-Weiss综合征、Dieulafoy病变、黏膜撕裂性病变首选钛夹止血.

表 1 112例内镜治疗出血患者病因、Forrest分级、Rockall评分、Blatchford评分、内镜止血方法、成功率

诊断结果	*n*	Forrest分级				Rockall分级[a]			Blatchford评分[b]		止血方法					一次治疗成功率(%)
		Ⅰa	Ⅰb	Ⅱa	Ⅱb	低危	中危	高危	低危	中高危	喷洒法	注射法	钛夹法	电凝法	联合法	
十二指肠溃疡	34	0	13	7	14	14	16	4	8	26	4	16	4	0	10	94.1
胃溃疡	25	1	11	5	8	8	13	4	6	19	5	8	2	2	8	80.0
Mallory-Weiss综合征	11	2	6	2	1	1	5	5	2	9	0	1	6	0	4	100.0
幽门溃疡	8	0	2	4	2	4	2	2	2	6	1	1	1	3	2	87.5
空肠憩	7	1	3	3	0	2	4	1	0	7	0	0	5	2	0	100.0
ESD术后	6	1	2	0	3	0	4	2	0	6	2	0	2	2	0	100.0
毛细血管扩张	6	0	6	0	0	4	2	0	4	2	0	0	0	6	0	100.0
Dieulafoy病变	6	3	3	0	0	1	3	2	0	6	0	1	5	0	0	100.0
食管溃疡	4	0	2	2		3	1	0	3	1	2	0	1	1	0	75.0
胃良性病变	3	0	2	1	0	0	1	2	1	2	0	2	0	1	0	66.7
十二指肠乳头病变	2	0	2	0	0	0	2	0	0	2	0	0	0	0	2	100.0
总计	112	8	52	24	28	37	53	22	26	86	14	29	26	17	26	90.2

[a]Rockall评分积分≥5分为高危; 3–4分为中危; 0–2分为低危; [b]Blatchford评分积分≥6分为中高危; ＜6分为低危.

表 2 Rockall评分与内镜止血成功率的比较

Rockall分级	*n*	止血成功例数	成功率(%)
低危组	37	36	97.2[a]
中危组	53	50	94.3[a]
高危组	22	15	68.2
合计	112	101	90.2

[a]*P*<0.05 *vs* 高危组.

表 3 Forrest分级Ⅱa－Ⅱb内镜治疗组与药物治疗组的比较

	n	成功例数	成功率(%)
内镜治疗组	52	49	94.2[b]
药物治疗组	63	45	71.4

[b]*P*<0.01 *vs* 药物治疗组.

1.2.4 内科保守治疗: 内科保守治疗组予禁食、补液、抑酸、止血等对症治疗.

1.2.5 疗效标准: 根据临床有无活动出血可分为有效和无效[1]. 有效的判定标准为: 患者呕血或便血症状消失, 大便隐血转阴, 血常规示血红蛋白未再有进行性下降, 则临床提示消化道出血已经停止, 视为有效; 如>72 h仍未见明显止血倾向, 为无效. 介入或手术治疗标准: 保守治疗或内镜治疗不能控制的出血反复出血、消化性溃疡出血怀疑穿孔.

统计学处理 应用SPSS17.0统计软件, 正态分布的计量资料以mean±SD表示; 计数资料以率或构成比描述, 组间率的比较采用χ^2检验, *P*<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 内镜治疗患者病变特点、各种评分、治疗效果 112例患者出血部位、Forrest分级、Rockall评分、Blatchford评分、各出血部位使用的止血方法及治疗效果如图1, 表1; 按Rockall评分系统分级, 低危、中危、高危3组止血效果如表2; Forrest分级Ⅱa-Ⅱb内科保守治疗组与内镜治疗组见的比较如表3.

2.2 内镜治疗后患者转归 112例患者有101例内镜止血成功, 内镜止血成功率为90.2%; 11例患者经内镜止血治疗后仍提示有活动性出血, 其中5例行2-3次内镜下止血并联合内科保守治疗后未再出血, 3例转外科手术治疗, 2例行介入止血治疗, 1例十二指肠球部溃疡患者溃疡面较大且考虑有穿孔可能行内镜下药物喷洒治疗暂时止血成功, 12 h内再次呕血, 拒绝手术治疗死亡.

2.3 内科保守治疗 63例Forrest分级Ⅱa-Ⅱb内科保守治疗组有45例治疗成功, 内科保守治疗成功率为71.4%, 18例患者药物治疗72 h后仍考虑有活动性出血遂行内镜下止血, 所有患者均成功止血.

3 讨论

ANVUGIB是临床常见的急危重症之一, 快速找

■相关报道

我国李兆申教授进行了一项全国范围内的多中心内镜研究, 报道了在中国人群中关于高危消化性溃疡出血人群的比例、患者药物及内镜治疗情况以及再出血率、死亡率等更详细的信息.

■创新盘点
本文根据相关分析研究, 对国内外指南的争议部分提供了有价值的临床依据.

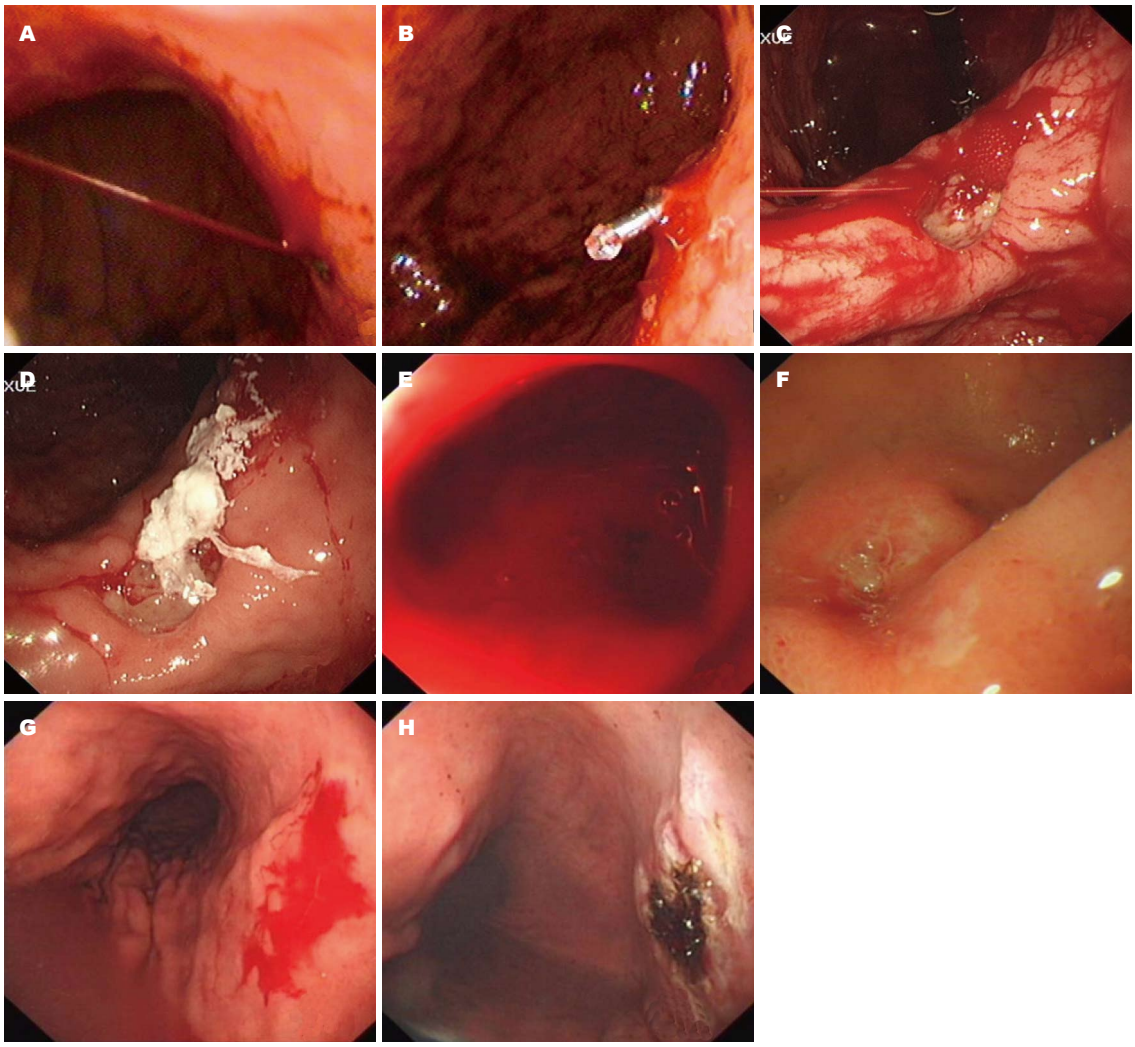


图 1 内镜下治疗ANVUGIB. A: Dieulafoy病变出血Forrest Ⅰa级; B: 钛夹止血; C: 胃角溃疡出血Forrest Ⅰa级; D: 内镜注射组织胶止血; E: 十二指肠球部溃疡出血Forrest Ⅰb级; F: 内镜喷洒凝血酶止血; G: 冲洗后显示贲门脊根尾部毛细血管扩张出血Forrest Ⅰb级; H: 氩气APC止血.

到出血原因并实施有效的止血措施是治疗的关键. 近年来质子泵抑制剂(proton pump inhibitor, PPI)的广泛应用降低了出血病灶的Forrest分级级别、减少需要内镜干预的比例并为ANVUGIB患者明确诊断赢得了时间[6,7]. 在病情平稳时行内镜检查并行内镜下止血仍然是ANVUGIB患者的首选诊疗方法[1-3]. 内镜下止血治疗明显改善了患者的预后, 降低了患者的住院时间和医疗费用. 在本研究中内镜治疗组患者成功率为90.2%(101/112), 本研究的结果与国内外文献报道结果基本一致[8-10].

急诊内镜一般在入院12-24 h以内进行, 对急性大出血患者, 内镜检查越早越好[1-3]. Rockall评分系统是用于预测患者的再出血和死亡危险性[4]. 本研究结果显示Rockall评分越高, 内镜治疗成功率越低, 本研究的结果与张静等研究结果一致[8]. 因此, 合理的选择治疗方式是提高ANVUGIB患者治愈率的关键[11]. 对Rockall评分低的患者首选内镜检查, 对Rockall评分为高危的患者应启动多学科会诊, 选择合理的治疗方式, 如内科药物治疗、内镜治疗、介入治疗或外科手术治疗对降低患者死亡率有一定的帮助. 尽管Rockall评分系统能够预测患者的再出血和死亡危险性, 但未能找到合适的需要内镜干预患者临界点. 一项前瞻性的研究显示提示: Blatchford评分系统主要适用于低危, Rockall评分系统对低危患者是无效的[12]. 因此亚太共识中专家组建议使用Blatchford评分筛选需要进行内镜治疗的患者, 即Blatchford评分为0的患者无需接受内镜检查和干预, 而Blatchford评分≥1的患者则需接受内镜检查和内镜下干预[3].

我国的指南和亚太的指南都推荐对Forrest

分级Ⅰa-Ⅰb的出血病变可行内镜下止血治疗. 但对于Forrest分级Ⅱa-Ⅱb是内科保守治疗还是内镜治疗国际上仍存在争议[13,14]. 在本研究中, Forrest分级Ⅱa-Ⅱb患者内科药物治疗与内镜治疗止血成功率分别是: 71.4%、94.2%, P<0.01. 所有内科保守治疗无效患者均再次行内镜检查并治疗后未再出血. 亚太专家组建议如果内镜下发现溃疡面上附有血凝块, 需要用力冲洗至少5 min, 内镜下治疗(包括药物注射、热凝止血、机械止血等)可以与质子泵抑制剂同时使用. 但这项操作是有风险的, 因为该操作有可能引起无法控制的大出血. 目前还没有好的方法来判断溃疡底部血管再出血的风险高低, 因此在内镜检查过程中发现Forrest分级Ⅱa-Ⅱb应充分告知患者家属病情, 积极有效的内镜治疗可能会提高止血成功率.

内镜下止血常用的方法有喷洒法、黏膜下注射法、电凝法、钛夹法以及以上方法的联合使用治疗. 临床工作中可根据出血病变部位、大小、Forrest分级、内镜中心现有条件以及操作者的经验等综合分析考虑选择何种方法进行止血治疗[15], 目前尚无哪种病变用何种止血方法效果更好的大型随机对照研究. 笔者认为内镜下喷洒法主要适用于Forrest分级Ⅰb-Ⅱb患者, 尤其是对弥漫性渗血有效. 内镜下喷洒法常用的药物有冰盐水加去甲肾上腺素或凝血酶等, 在止血的同时, 还可以起到清洗消化道管腔, 显露血管, 因此该法常与其他止血方法联合应用, 是内镜下止血的基础[16]. 当消化道管腔积血较少, 管壁附着新鲜血迹时可选用注水泵冲洗, 这样可迅速找到出血部位, 在明确出血部位后可选择用喷洒管缓慢喷洒药物. 当胃腔内潴留大量新鲜血迹在未明确出血部位前应慎重选择喷洒药物的方法, 可单纯用冰盐水冲洗, 因为去甲肾上腺素或凝血酶能够使新鲜的血液迅速形成血凝块而影响操作者寻找出血部位; 当经过仔细的观察仍无法确认出血部位时可在消化道管腔内推注大量去甲肾上腺素或凝血酶, 可为急诊外科手术或介入治疗赢得一定的时间, 有时亦能起到止血作用. 内镜黏膜下注射法主要适用于Forrest分级Ⅰb-Ⅱb患者, 注射常用的药物有肾上腺素、乙氧硬化醇、聚氧乙烯月桂醇醚、生物组织胶等[16]. 其止血的主要机制是: (1)局部压迫止血作用; (2)肾上腺素可起到血管收缩和血小板聚集等综合止血作用, 乙氧硬化醇、聚氧乙烯月桂醇醚、生物组织胶能够迅速破坏血管内皮、周边黏膜的水肿、炎症和血栓形成而达到止血作用. 应注意在注射肾上腺素后可出现一过性的心率加快, 无需特殊处理; 在注射乙氧硬化醇、聚氧乙烯月桂醇醚时应注意注射的深度和量, 防止组织坏死后出现迟发性穿孔. 电凝法适用于Forrest分级Ⅰa-Ⅰb, 如EMR/ESD术后活动性出血、肿瘤的出血、血管畸形的出血等, 其作用机制为电凝产生的高热, 使组织水肿、膨胀、压迫血管, 血管内腔变小或闭塞, 进一步血栓形成而达到止血效果. 电凝时应注意电凝的功率和深度, 防止再出血和迟发性穿孔的发生. 钛夹法Forrest分级Ⅰa-Ⅱb患者, 其作用机制为通过夹闭血管断端而起到机械性止血的目的. 本法不引起黏膜变性, 其治疗的最大优点是止血效果肯定, 广泛应用于各种病变所致的出血[17,18]. 使用钛夹止血时应注意: (1)十二指肠乳头区止血时应防止夹闭胆胰管, 尽量使用少的钛夹完成止血任务, 必要时可先放置胆胰管支架后再行钛夹止血; (2)对于蠕动较快的区域, 如贲门、幽门、十二指肠球部病变, 应注意钛夹的方向和牢固性, 防止钛夹过早的脱落导致再出血的发生. 综上分析本研究中5例行多次内镜下止血联合内科保守治疗后未再出血患者的资料, 考虑初次止血方法选择不恰当是内镜止血后再出血的主要原因.

内镜治疗ANVUGIB Forrest分级Ⅰa-Ⅱb患者是安全、有效的, 值得在临床推广应用. 需要前瞻性大样本多中心的临床研究为何时行内镜检查、何种病变用何种方法治疗提供医学证据.

■应用要点
本文总结了各种内镜下止血方法应用要点和注意事项, 对临床工作具有一定的指导作用.

4 参考文献

1 中华内科杂志编委会, 中华消化杂志编委会, 中华消化内镜杂志编委会. 急性非静脉曲张性上消化道出血诊治指南(2009, 杭州). 中华内科杂志 2009; 48: 891-894

2 Barkun AN, Bardou M, Kuipers EJ, Sung J, Hunt RH, Martel M, Sinclair P. International consensus recommendations on the management of patients with nonvariceal upper gastrointestinal bleeding. *Ann Intern Med* 2010; 152: 101-113 [PMID: 20083829 DOI: 10.7326/0003-4819-152-2-201001190-00009]

3 Sung JJ, Chan FK, Chen M, Ching JY, Ho KY, Kachintorn U, Kim N, Lau JY, Menon J, Rani AA, Reddy N, Sollano J, Sugano K, Tsoi KK, Wu CY, Yeomans N, Vakil N, Goh KL. Asia-Pacific Working Group consensus on non-variceal upper gastrointestinal bleeding. *Gut* 2011; 60: 1170-1177 [PMID: 21471571 DOI: 10.1136/gut.2010.230292]

4 Rockall TA, Logan RF, Devlin HB, Northfield TC. Risk assessment after acute upper gastrointestinal haemorrhage. *Gut* 1996; 38: 316-321 [PMID: 8675081

■同行评价

本文立意及创新性较好, 具有很好的参考价值.

DOI: 10.1136/gut.38.3.316]

5 Blatchford O, Murray WR, Blatchford M. A risk score to predict need for treatment for upper-gastrointestinal haemorrhage. *Lancet* 2000; 356: 1318-1321 [PMID: 11073021 DOI: 10.1016/S0140-6736(00)02816-6]

6 Wang CH, Ma MH, Chou HC, Yen ZS, Yang CW, Fang CC, Chen SC. High-dose vs non-high-dose proton pump inhibitors after endoscopic treatment in patients with bleeding peptic ulcer: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Arch Intern Med* 2010; 170: 751-758 [PMID: 20458081 DOI: 10.1001/archinternmed.2010.100]

7 辛磊, 彭国林, 廖专, 胡良皞, 常雪娇, 朱明华, 郑建明, 潘春树, 沈茜, 李兆申. 大剂量质子泵抑制剂治疗消化性溃疡出血的研究进展. 中华消化内镜杂志 2012; 29: 478-480

8 Tai CM, Huang SP, Wang HP, Lee TC, Chang CY, Tu CH, Lee CT, Chiang TH, Lin JT, Wu MS. High-risk ED patients with nonvariceal upper gastrointestinal hemorrhage undergoing emergency or urgent endoscopy: a retrospective analysis. *Am J Emerg Med* 2007; 25: 273-278 [PMID: 17349900 DOI: 10.1016/j.ajem.2006.07.014]

9 张静, 张佳莹, 丁士刚, 王晔, 周丽雅. 内镜止血在急性非静脉曲张性上消化道出血治疗中的临床价值. 北京大学学报(医学版) 2012; 44: 582-587

10 Bai Y, Du YQ, Wang D, Zou DW, Jin ZD, Zhan XB, Zhao XY, Sha WH, Wang JB, Yu WF, Jiang Y, Ye LP, Zhang ST, Zhou LY, Chen MH, Yu XF, Zheng JW, Wang RQ, Huang XJ, Chen DF, Wang HH, Tian de A, Lu NH, Hou XH, Ji F, Wang JY, Yuan YZ, Fan DM, Wu KC, Jiang B, Li ZS. Peptic ulcer bleeding in China: a multicenter endoscopic survey of 1006 patients. *J Dig Dis* 2014; 15: 5-11 [PMID: 24118892 DOI: 10.1111/1751-2980.12104]

11 Lu Y, Loffroy R, Lau JY, Barkun A. Multidisciplinary management strategies for acute non-variceal upper gastrointestinal bleeding. *Br J Surg* 2014; 101: e34-e50 [PMID: 24277160 DOI: 10.1002/bjs.9351]

12 Pang SH, Ching JY, Lau JY, Sung JJ, Graham DY, Chan FK. Comparing the Blatchford and pre-endoscopic Rockall score in predicting the need for endoscopic therapy in patients with upper GI hemorrhage. *Gastrointest Endosc* 2010; 71: 1134-1140 [PMID: 20598244 DOI: 10.1016/j.gie.2010.01.028]

13 Kahi CJ, Jensen DM, Sung JJ, Bleau BL, Jung HK, Eckert G, Imperiale TF. Endoscopic therapy versus medical therapy for bleeding peptic ulcer with adherent clot: a meta-analysis. *Gastroenterology* 2005; 129: 855-862 [PMID: 16143125 DOI: 10. 1053/j.gastro.2005.06.070]

14 Laine L, McQuaid KR. Endoscopic therapy for bleeding ulcers: an evidence-based approach based on meta-analyses of randomized controlled trials. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2009; 7: 33-47; quiz 1-2 [PMID: 18986845]

15 李闻, 钟尚志. 急诊内镜治疗非静脉曲张性上消化道出血. 中国消化内镜 2007; 1: 54-58

16 黄妍, 曾昆, 肖政, 陈艳. 急诊胃镜下药物喷洒与药物注射治疗非静脉曲张性上消化道出血的疗效. 世界华人消化杂志 2013; 21: 2096-2099

17 李欢, 于皆平, 杨艳, 曹俊, 于红刚. 内镜下钛夹治疗非静脉曲张性消化道出血47例. 世界华人消化杂志 2007; 15: 3038-3040

18 Holster IL, Kuipers EJ. Management of acute non-variceal upper gastrointestinal bleeding: current policies and future perspectives. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 1202-1207 [PMID: 22468083 DOI: 10.3748/wjg.v18.i11.1202]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



世界华人消化杂志 2014年4月8日; 22(10): 1471-1474
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

受试者工作曲线评价盆底表面肌电对功能性肛门直肠痛的诊断价值

薛雅红, 丁曙晴, 丁义江, 王 静, 李 敏, 曹建葆, 周惠芬

薛雅红, 丁曙晴, 丁义江, 王静, 李敏, 曹建葆, 周惠芬, 南京中医药大学第三附属医院全国肛肠医疗中心 江苏省南京市 210001
薛雅红, 硕士, 医师, 主要从事肛肠疾病的研究.
南京市医学科技发展基金资助项目, No. YKK12142
作者贡献分布: 此课题由薛雅红、丁曙晴及丁义江共同设计; 研究过程及数据采集由薛雅红、王静、李敏、曹建葆及周惠芬操作完成; 数据统计分析由薛雅红完成; 本论文写作由薛雅红与丁曙晴完成.
通讯作者: 丁曙晴, 副教授, 副主任医师, 210001, 江苏省南京市金陵路1号, 南京中医药大学第三附属医院. njgczx@gmail.com
电话: 025-52276742 传真: 025-52276742
收稿日期: 2013-12-29 修回日期: 2014-01-29
接受日期: 2014-02-18 在线出版日期: 2014-04-08

Diagnostic value of pelvic floor surface electromyography in functional anorectal pain

Ya-Hong Xue, Shu-Qing Ding, Yi-Jiang Ding, Jing Wang, Min Li, Jian-Bao Cao, Hui-Fen Zhou

Ya-Hong Xue, Shu-Qing Ding, Yi-Jiang Ding, Jing Wang, Min Li, Jian-Bao Cao, Hui-Fen Zhou, National Colorectal Treatment Center of Chinese Medicine, the Third Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210001, Jiangsu Province, China
Supported by: the Fund of Medical Science and Technology Development of Nanjing, No. YKK12142
Correspondence to: Shu-Qing Ding, Associate Professor, Associated Chief Physician, the Third Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, 1 Jinling Road, Nanjing 210001, Jiangsu Province, China. njgczx@gmail.com
Received: 2013-12-29 Revised: 2014-01-29
Accepted: 2014-02-18 Published online: 2014-04-08

Abstract

AIM: To assess the diagnostic value of pelvic floor surface electromyography (sEMG) in functional anorectal pain (FARP) using receiver operating characteristic (ROC) curve analysis.

METHODS: The parameters of pelvic floor sEMG in 118 patients with FARP and 103 normal controls were measured according to the Glazer protocol. Parameters included amplitude (AVG), coefficient of variance (CV), onset time and median frequency (MF). The ROC curve was plotted to assess the diagnostic value of pelvic floor sEMG.

RESULTS: Compared with the control group, the FARP group had a lower AVG (23.81 ± 13.75 *vs* 30.55 ± 16.14, $P < 0.05$) and a higher CV (0.43 ± 0.12 *vs* 0.30 ± 0.07, $P < 0.05$) during the tonic phase and a higher CV during the endurance phase (0.40 ± 0.15 *vs* 0.28 ± 0.09, $P < 0.05$). The critical value of CV during the tonic and endurance phases were 0.35 and 0.31, respectively, and the areas under ROC curve were 0.813 and 0.761.

CONCLUSION: CV during the tonic and endurance phases has better diagnostic value in FARP.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: sEMG; Functional anorectal pain; ROC curve

Xue YH, Ding SQ, Ding YJ, Wang J, Li M, Cao JB, Zhou HF. Diagnostic value of pelvic floor surface electromyography in functional anorectal pain. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(10): 1471-1474 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1471.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i10.1471

摘要

目的: 探讨受试者工作曲线(receiver operating characteristic curve, ROC)评价盆底表面肌电对功能性肛门直肠痛的临床诊断价值.

方法: 对同期118例功能性肛门直肠痛患者和103例无症状人群采用Glazer盆底表面肌电评估方法采集表面肌电值, 包括波幅、变异系数、反应时间和中值频率. 绘制ROC曲线, 对表面肌电值诊断功能性肛门直肠痛的准确性进行评价.

结果: 功能性肛门直肠痛患者在持续收缩阶段的收缩波幅明显小于无症状组(23.81±13.75 *vs* 30.55±16.14, $P<0.05$), 持续收缩阶段的变异系数明显大于无症状组(0.43±0.12 *vs* 0.30±0.07, $P<0.05$), 耐久收缩阶段的变异系数也大于无症状组(0.40±0.15 *vs* 0.28±0.09,

■背景资料
国外很早将盆底表面肌电应用于盆底痛的研究, 主要研究领域在泌尿生殖系统方面, 包括阴道痛、外阴痛综合征、男性膀胱疼痛综合征、前列腺痛等, 但关于肛门直肠痛的研究几乎处于空白.

■同行评议者
陈卫昌, 教授, 苏州大学附属第一医院消化内科

■**创新盘点**
本文采用经肛门盆底表面肌电评估功能性肛门直肠痛盆底肌肉功能的异常，同时用ROC曲线明确了各指标的诊断价值，为功能性肛门直肠痛的诊断提供了特异性的诊断指标.

P<0.05). ROC曲线显示，持续收缩和耐久收缩阶段的变异系数诊断临界值分别为0.35和0.31，曲线下面积分别为0.813和0.761.

结论：收缩阶段的变异系数对功能性肛门直肠痛有较好的临床诊断价值.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词：表面肌电；功能性肛门直肠痛；受试者工作曲线

核心提示：通过本文研究发现，持续收缩阶段的变异系数对功能性肛门直肠痛(functional anorectal pain, FARP)的诊断有较好的准确性，当此项检测指标>0.35时，诊断FARP的可能性大.

薛雅红，丁曙晴，丁义江，王静，李敏，曹建葆，周惠芬. 受试者工作曲线评价盆底表面肌电对功能性肛门直肠痛的诊断价值. 世界华人消化杂志 2014; 22(10): 1471-1474 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1471.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i10.1471

0 引言

功能性肛门直肠痛(functional anorectal pain, FARP)是发生在肛门和/或直肠的非器质性的特发性疼痛. 目前对FARP的诊断，主要依据功能性胃肠疾病罗马Ⅲ诊断标准[1]，FARP包括慢性肛门痛和痉挛性肛门痛，可根据疼痛持续的时间、频率和特征加以区分，其中慢性肛门痛又分为肛提肌综合征和非特异性肛门直肠痛. 对于FARP临床尚缺乏特异性的实验室检查方法，缺乏客观、准确的评价指标. 盆底表面肌电(pelvic floor sEMG)是采用经肛门电极记录盆底横纹肌潜在运动电位，分析肌电波幅、变异性等，可以诊断和评估盆底肌功能异常. 相关研究已显示，FARP患者盆底表面肌电表现出一定的异常[2]. 本文采用受试者工作曲线(receiver operating characteristic curve, ROC曲线)对盆底表面肌电检测值进行综合分析，进一步为临床提供可靠的诊断依据.

1 材料和方法

1.1 材料 选择2012-05/2013-07南京中医药大学第三附属医院盆底中心FARP患者(FARP组)118例，其中女84例，男34例，年龄20-70岁，平均49.59岁±12.42岁. 所有患者诊断均符合功能性胃肠疾病罗马Ⅲ诊断标准，同时排除以下原因引起的肛门直肠痛：(1)肛门直肠器质性疾病：痔疮、肛裂、肛瘘、肛周脓肿、直肠肛管肿瘤、炎性肠病等；(2)妇科及泌尿系疾病：阴道炎、前庭炎、盆腔炎、子宫内膜异位症、前列腺炎、间质性膀胱炎等；(3)其他：尾骨痛. 同期招募无盆底疾病者(无症状组)103例作为健康对照组，其中女60例，男43例，年龄21-62岁，平均44.01岁±12.44岁，两组性别、年龄无统计学差异. 采用加拿大Thought-Technology公司生产的生物反馈治疗仪(MyoTrac Infiniti)，其中带有Glazer盆底表面肌电评估方案软件. 检查时患者取斜躺仰卧位120度，整个身体放松，双脚分开，与肩等宽，臀部旋转脚尖向外60度. 采用经肛门表面肌电电极(T6051).

1.2 方法 Glazer盆底表面肌电评估方案实施过程及检测指标：(1)前基线：休息1 min，检测波幅(amplitude, AVG)、变异系数(coefficient of variance, CV)；(CV = 标准差/均值)；(2)快速收缩：进行5次快速收缩，每次收缩之间有10 s休息，检测收缩反应时间(onset)，最大收缩波幅(peak AVG)；(3)持续收缩：放松10 s，持续收缩10 s，共5次，检测收缩AVG、CV、中值频率(median frequency, MF)；(4)耐久收缩：持续1 min收缩，检测收缩AVG、CV、中值频率；(5)后基线：再次1 min休息，检测AVG、CV.

统计学处理 采用SPSS16.0软件进行数据录入及统计分析，成组设计资料差异统计学意义比较，采用独立样本t检验；并绘制ROC曲线，采用ROC工作曲线下面积综合评价盆底表面肌电值的诊断价值.

2 结果

2.1 两组盆底表面肌电值比较 在持续收缩阶段，FARP患者收缩波幅明显小于无症状组，变异系数明显大于无症状组，两者差异均有统计学意义(P<0.05)；耐久收缩阶段，FARP患者变异系数明显大于无症状组，差异有统计学意义(P<0.05)(表1).

2.2 盆底表面肌电指标诊断FARP的ROC特征曲线 对以上3个有统计学差异的盆底表面肌电值，即持续收缩-AVG、持续收缩-CV、耐久收缩-CV绘制ROC曲线. 结果发现，持续收缩-AVG的ROC曲线下面积<50%，没有临床诊断意义. 持续收缩-CV及耐久收缩-CV的ROC曲线下面积>50%，认为临床有诊断意义. 其中持续收缩-CV诊断FARP的临界值为0.35，灵敏度为70%，特异度为72.8%，ROC曲线下面积为0.813；耐久收缩

表 1 FARP患者与无症状人群盆底表面肌电值比较 (mean ± SD)

盆底表面肌电值		FARP组	无症状组	t值	P值
n		118	103		
前基线	波幅(μv)	4.52 ± 2.69	4.16 ± 2.12	1.090	0.277
	变异系数	0.19 ± 0.08	0.20 ± 0.07	0.695	0.488
快速收缩	反应时间(s)	1.96 ± 0.38	1.93 ± 0.38	0.504	0.615
	最大波幅(μv)	58.11 ± 31.95	65.61 ± 30.71	1.771	0.078
持续收缩	收缩波幅(μv)	23.81 ± 13.75	30.55 ± 16.14	3.353	0.001
	变异系数	0.43 ± 0.12	0.30 ± 0.07	9.070	0.000
	中值频率(Hz)	87.83 ± 13.12	85.02 ± 9.76	1.784	0.076
耐久收缩	收缩波幅(μv)	21.30 ± 11.85	24.23 ± 12.16	1.808	0.072
	变异系数	0.40 ± 0.15	0.28 ± 0.09	6.987	0.000
	中值频率(Hz)	88.15 ± 13.28	86.46 ± 11.81	0.997	0.320
后基线	波幅(μv)	4.16 ± 2.57	4.38 ± 2.42	0.649	0.517
	变异系数	0.22 ± 0.13	0.23 ± 0.16	0.303	0.762

FARP: 功能性肛门直肠痛.

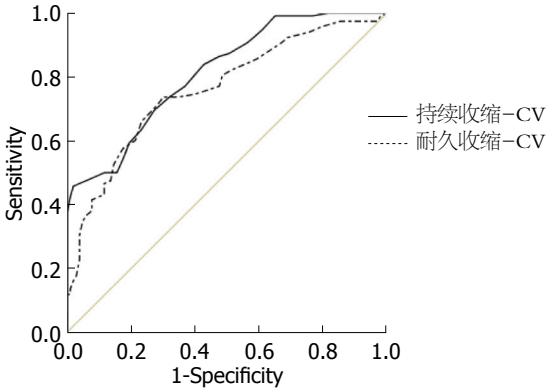


图 1 盆底表面肌电值诊断FARP的ROC曲线. CV: 变异系数.

-CV诊断FARP的临界值为0.31, 灵敏度为73.7%, 特异度为70%, ROC曲线下面积为0.761(图1).

3 讨论

表面肌电技术在临床医学的疾病诊断、康复医学领域的肌肉功能评估及预后评价等方面已体现出重要的实用价值[3], 他可以评价肌肉的力量、判断肌肉的功能状态、评价肌肉活动的稳定性等. 而盆底表面肌电已被广泛应用于下泌尿生殖道、性疼痛的诊断和治疗[4], 用来诊断和评估盆底肌功能异常. 随着对盆底的整体性认识, FARP已属于整个盆底痛(泌尿生殖道、肛门直肠)的范畴[5]. 国外一些关于盆底痛表面肌电的研究结果显示, 外阴痛、膀胱疼痛综合征患者表现为静息波幅高, 收缩波幅低, 稳定性差(表现为变异系数升高), 这是盆底肌慢性过度活动引起肌肉疲劳的典型标志[6,7]. 而最有意义的是肌肉的稳定性, 在评价盆底肌功能方面比波幅更可靠[8], 是诊断和评估疗效最有意义的指标[9]. Glazer等[10]自1995年开始对盆底痛患者表面肌电数据进行分析, 2005年提出盆底表面肌电评估方案(Glazer Protocol), 主要致力于女性阴道痛方面的研究. 此方案能很好地反映盆底肌在不同状态下的肌电活动状态, 评估不同肌纤维(快型肌和慢型肌)所表现的功能障碍[11]. Glazer的研究同样发现肌肉的稳定性是决定治疗效果的关键, 这一方案的实施提高了疗效, 但此方案用于FARP的研究甚少.

在本研究中, FARP患者与无症状人群比较, 静息状态波幅两者无差异($P>0.05$), 说明静息电活动增强并不是FARP的典型特征, 与其他类型盆底痛的肌电特征存在差异. 之前认为引起FARP的主要因素是盆底肌的过度活动[12], 患者会表现出肛管压力的增高, 肌电活动增强[13,14]. 实际在临床上可以发现, 一些FARP患者肛管张力并不增高, 肌电也不处于活跃状态. 在持续收缩阶段, FARP收缩波幅明显下降($P<0.05$), 这与国外的研究是相似的, 说明FARP患者快型肌募集功能较差. 持续收缩和耐久收缩阶段, FARP患者的变异系数明显大于无症状人群($P<0.05$), 显著说明了FARP患者盆底肌运动不协调, 稳定性差.

采用ROC曲线评价盆底表面肌电值对FARP患者的诊断价值基本指标是灵敏度、特异度及曲线下面积. ROC曲线下面积实际取值范围为0.5-1, 一般认为对于一个诊断性试验, 面积在

■同行评价
本研究对临床上诊断功能性肛门直肠痛具有较好的参考价值和指导意义.

0.5-0.7之间时认为诊断价值较低, 在0.7-0.9之间时诊断价值中等, 在0.9以上诊断价值较高[15]. 同时, 根据灵敏度和特异度之和最大的方法确定诊断临界值. 本研究显示, 持续收缩-CV曲线下面积为0.813, 诊断临界值为0.35, 此时灵敏度为70%, 特异度为72.8%; 耐久收缩-CV曲线下面积为0.761, 诊断临界值为0.31, 灵敏度为73.7%, 特异度为70%. 说明两者对FARP的诊断有一定的价值, 相比之下, 当持续收缩-CV大于0.35时考虑诊断FARP的准确性较高.

盆底表面肌电是一项无创检查, 数据搜集可重复性高, 相比其他检查患者更易于接受. 本研究通过ROC曲线分析, 证实了盆底表面肌电对FARP有较好的诊断价值, 同时为临床判断FARP患者盆底肌功能提供了合适的评价指标, 值得临床推广和进一步研究.

4 参考文献

1 Bharucha AE, Wald A, Enck P, Rao S. Functional anorectal disorders. *Gastroenterology* 2006; 130: 1510-1518 [PMID: 16678564 DOI: 10.1053/j.gastro.2005.11.064]

2 薛雅红, 丁曙晴. 功能性肛门直肠痛患者盆底表面肌电的检测及临床意义. 实用医学杂志 2012; 28: 1803-1805

3 蔚二文, 陈维毅. 表面肌电图在肌肉功能评估中的应用. 大众科技 2007; 7: 120-122

4 余洪俊, 刘宏亮, 陈蕾. 表面肌电图的发展与应用. 中国临床康复 2002; 6: 720-721

5 Fall M, Baranowski AP, Elneil S, Engeler D, Hughes J, Messelink EJ, Oberpenning F, de C Williams AC. EAU guidelines on chronic pelvic pain. *Eur Urol* 2010; 57: 35-48 [PMID: 19733958 DOI: 10.1016/j.eururo.2009.08.020]

6 Glazer HI, Marinoff SC, Sleight IJ. Web-enabled Glazer surface electromyographic protocol for the remote, real-time assessment and rehabilitation of pelvic floor dysfunction in vulvar vestibulitis syndrome. A case report. *J Reprod Med* 2002; 47: 728-730 [PMID: 12380455]

7 Hetrick DC, Glazer H, Liu YW, Turner JA, Frest M, Berger RE. Pelvic floor electromyography in men with chronic pelvic pain syndrome: a case-control study. *Neurourol Urodyn* 2006; 25: 46-49 [PMID: 16167354 DOI: 10.1002/nau.20162]

8 Santoro GA, Wieczorek AP, Bartram CI. Pelvic Floor Disorders. 1st ed. Italy: Springer Verlag, 2010: 580

9 Gentilcore-Saulnier E, McLean L, Goldfinger C, Pukall CF, Chamberlain S. Pelvic floor muscle assessment outcomes in women with and without provoked vestibulodynia and the impact of a physical therapy program. *J Sex Med* 2010; 7: 1003-1022 [PMID: 20059663 DOI: 10.1111/j.1743-6109.2009.01642.x]

10 Glazer HI. Biofeedback vs electrophysiology. *Rehab Manag* 2005; 18: 32-34 [PMID: 16274115]

11 薛雅红, 丁曙晴, 丁义江, 张勇, 曾宪东, 钱雄杰, 刘峰, 王静. 盆底失弛缓综合征患者盆底表面肌电的研究及临床意义. 世界华人消化杂志 2012; 20: 1025-1029

12 Messelink B, Benson T, Berghmans B, Bø K, Corcos J, Fowler C, Laycock J, Lim PH, van Lunsen R, á Nijeholt GL, Pemberton J, Wang A, Watier A, Van Kerrebroeck P. Standardization of terminology of pelvic floor muscle function and dysfunction: report from the pelvic floor clinical assessment group of the International Continence Society. *Neurourol Urodyn* 2005; 24: 374-380 [PMID: 15977259 DOI: 10.1002/nau.20144]

13 Hull M, Corton MM. Evaluation of the levator ani and pelvic wall muscles in levator ani syndrome. *Urol Nurs* 2009; 29: 225-231 [PMID: 19718937]

14 Atkin GK, Suliman A, Vaizey CJ. Patient characteristics and treatment outcome in functional anorectal pain. *Dis Colon Rectum* 2011; 54: 870-875 [PMID: 21654255 DOI: 10.1007/DCR.0b013e318217586f]

15 赵耐清. 临床医学研究设计和数据分析. 第1版. 上海: 复旦大学出版社, 2005: 241-252

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年4月8日; 22(10): 1475-1478
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

克拉霉素+甲硝唑+奥美拉唑三联疗法治疗小儿幽门螺杆菌阳性消化系溃疡的效果

郭鲁闽, 许 韫, 于 群

郭鲁闽, 许韫, 于群, 武警山东省总队医院儿科 山东省济南市 250014
郭鲁闽, 副主任医师, 主要从事小儿内科疾病的临床研究.
作者贡献分布: 本研究设计由郭鲁闽完成; 许韫与于群参与; 论文写作由郭鲁闽完成.
通讯作者: 郭鲁闽, 副主任医师, 250014, 山东省济南市历下区浆水泉路12-8号, 武警山东省总队医院儿科.
guoluminshandong@163.com
收稿日期: 2014-01-10 修回日期: 2014-02-10
接受日期: 2014-02-19 在线出版日期: 2014-04-08

Clarithromycin-based triple therapy for treatment of peptic ulcer in *Helicobacter pylori*-positive children

Lu-Min Guo, Yun Xu, Qun Yu

Lu-Min Guo, Yun Xu, Qun Yu, Department of Pediatrics, General Hospital of Armed Police Corps in Shandong Province, Jinan 250014, Shandong Province, China
Correspondence to: Lu-Min Guo, Associate Chief Physician, Department of Paediatrics, Armed Police Corps in Shandong Province Hospital of Pediatrics, 12-8 Jiangshuiquan Road, Lixia District, Jinan 250014, Shandong Province, China. guoluminshandong@163.com
Received: 2014-01-10 Revised: 2014-02-10
Accepted: 2014-02-19 Published online: 2014-04-08

Abstract

AIM: To observe the clinical efficacy of triple therapy with clarithromycin, metronidazole and omeprazole in the treatment of *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) infection-related peptic ulcer in children.

METHODS: A retrospective analysis of 96 children with peptic ulcer associated with *H. pylori* infection treated at our hospital from July 2011 to July 2013 was performed. Depending on the treatment, the patients were divided into either a treatment group or a control group (n = 48 for each). The treatment group received triple therapy with clarithromycin, metronidazole and omeprazole, while the control group was treated with amoxicillin, metronidazole and omeprazole. After treatment, children in both groups underwent gastroscopy and *H. pylori* examination to compare clinical efficacy, rate of *H. pylori* eradication and adverse reactions.

RESULTS: The clinical efficacy was better in the treatment group than in the control group. The overall effective rate was significantly higher in the treatment group than in the control group (95.83% *vs* 70.83%, $P < 0.05$). Five weeks after treatment, the rate of *H. pylori* eradication was significantly higher in the treatment group than in the control group (87.50% *vs* 62.5%, $P < 0.05$). There was no significant difference in the incidence of adverse reactions between the two groups.

CONCLUSION: Triple therapy with clarithromycin, metronidazole and omeprazole is associated with a higher rate of *H. pylori* eradication and a lower rate of adverse reactions in the treatment of *H. pylori* infection-associated peptic ulcer in children.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: *Helicobacter pylori*; Peptic ulcer; Clarithromycin; Metronidazole; Omeprazole

Guo LM, Xu Y, Yu Q. Clarithromycin-based triple therapy for treatment of peptic ulcer in *Helicobacter pylori*-positive children. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(10): 1475-1478
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1475.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i10.1475

摘要

目的: 观察克拉霉素、甲硝唑联合奥美拉唑三联疗法治疗幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染相关消化性溃疡的临床疗效, 为临床治疗提供参考.

方法: 回顾性分析2011-07/2013-07我院收治的*H. pylori*感染相关消化性溃疡患儿96例, 根据治疗方式的不同, 将其分为治疗组和对照组, 每组各48例; 治疗组给予克拉霉素、甲硝唑联合奥美拉唑进行治疗, 对照组患儿给予阿莫

■背景资料
全球半数人口存在幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染, 现已公认, *H. pylori*与消化性溃疡、B细胞淋巴瘤及胃癌等多种疾病密切相关, 是目前公认的引发消化性溃疡的重要致病菌, 大约有80%左右的消化性溃疡患儿均与*H. pylori*感染有关. 因此, 治疗该病的关键就是要根除*H. pylori*, 这样才能促进消化性溃疡的愈合, 并减少其复发. 临床实践表明, *H. pylori*阳性消化性溃疡以1种质子泵抑制剂为主, 并联两种抗生素进行治疗, 能有效提高治疗效果, 降低复发率.

■同行评议者
白玉作, 教授, 中国医科大学附属盛京医院小儿外科

■研发前沿
临床上认为治疗此类消化性溃疡的关键就在于根除*H. pylori*, 大量临床实践也证明了这一点, 根除*H. pylori*可促进溃疡的愈合, 并能降低其复发率.

西林、甲硝唑联合奥美拉唑进行治疗, 两组患儿连续治疗结束后行胃镜复查和*H. pylori*检查, 观察两组的临床疗效、*H. pylori*根除率以及不良反应.

结果: 治疗组临床疗效明显优于对照组, 治疗组的总有效率为95.83%, 对照组的总有效率为70.83%; 5 wk治疗结束后, 治疗组患儿的*H. pylori*根除率明显高于对照组, 治疗组患儿的*H. pylori*根除率为87.50%, 对照组的*H. pylori*根除率为62.5%, 组间差异有统计学意义(P<0.05). 两组不良反应发生率比较差异无统计学意义.

结论: 克拉霉素、甲硝唑联合奥美拉唑治疗小儿*H. pylori*感染相关消化性溃疡效果显著, 且安全性高, 不良反应少, *H. pylori*根除性强, 值得在临床上广泛推广.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 幽门螺杆菌; 消化性溃疡; 克拉霉素; 甲硝唑; 奥美拉唑

核心提示: 本研究通过克拉霉素+奥美拉唑+甲硝唑对小儿幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)相关消化性溃疡进行治疗, 取得良好效果, 结果显示: 治疗组患儿的临床疗效明显优于对照组, 治疗组的总有效率为95.83%, 对照组的总有效率为70.83%. 4 wk治疗结束后, 治疗组患儿的*H. pylori*根除率明显高于对照组, 治疗组患儿的*H. pylori*根除率为87.50%, 对照组的*H. pylori*根除率为62.5%, 组间差异有统计学意义(P<0.05). 治疗组不良反应发生率较低, 但与对照组比较差异无统计学意义(P>0.05). 可见, 采用克拉霉素、甲硝唑这两种敏感抗生素与奥美拉唑组合的三联疗法临床疗效和*H. pylori*根除率均较高, 且安全性更好.

郭鲁闽, 许韫, 于群. 克拉霉素+甲硝唑+奥美拉唑三联疗法治疗小儿幽门螺杆菌阳性消化系溃疡的效果. 世界华人消化杂志 2014; 22(10): 1475-1478 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1475.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i10.1475

0 引言

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*), 是目前公认的引发消化性溃疡的重要致病菌, 大约有80%左右的消化性溃疡患儿均与*H. pylori*感染有关[1]. 因此, 治疗该病的关键就是要根除*H. pylori*, 这样才能促进消化性溃疡的愈合, 并减少其复发. 临床实践表明, *H. pylori*阳性消化性溃疡以1种质子泵抑制剂为主, 并联两种抗生素进行治疗, 能有效提高治疗效果, 降低复发率[2]. 为了研究治疗小儿*H. pylori*感染相关消化性溃疡的有效方法, 我院以96例*H. pylori*感染相关消化性溃疡患儿为研究对象, 探讨克拉霉素、甲硝唑联合奥美拉唑的治疗效果, 并于常规治疗方法进行对比. 具体操作如下.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2010-07/2013-07我院收治的*H. pylori*感染相关消化性溃疡患儿96例, 其中男64例, 女32例, 年龄3-12岁, 平均年龄5.18岁±1.11岁. 所有患儿经胃镜检查均确诊为消化性溃疡, 且胃黏膜活检组织学检查均显示*H. pylori*阳性, 且均由家长签署知情同意书, 排除对治疗药物有过敏史者、合并严重心肝肾疾病者、2 wk内服用抗生素者、长期使用激素或者非甾体类抗炎药以及不合作者, 根据治疗方式的不同, 将其分为治疗组和对照组. 其中治疗组48例, 男35例, 女13例, 年龄4-11岁, 平均年龄8.89岁±1.92岁, 36例为十二指肠溃疡, 12例为胃溃疡, 溃疡直径为0.4-1.7 cm, 对照组48例, 男29例, 女19例, 年龄3-11岁, 平均年龄8.17岁±2.16岁, 38例为十二指肠溃疡, 10例为胃溃疡, 溃疡直径0.3-1.4 cm. 两组患儿在年龄、性别、病情等一般资料上未见明显差异, 无统计学意义(P>0.05), 具有可比性.

1.2 方法

1.2.1 治疗: 治疗组患儿给予7.5 mg/kg克拉霉素(片剂, 250 mg/片, 江苏恒瑞医药股份有限公司生产, 国药准字H10970033), 每天2次+15 mg/kg甲硝唑(片剂, 250 mg/片, 北京秦武田制药有限公司生产, 国药准字H11022489), 每天2次+0.7 mg/kg奥美拉唑肠溶胶囊(胶囊剂, 20 mg/剂, 北京韩美药品有限公司生产, 批准文号: H20060390), 1次/d. 对照组则给予10 mg/kg. 次阿莫西林克拉维酸钾分散片, 口服, 2次/d, 甲硝唑和奥美拉唑肠溶胶囊给药方法同治疗组. 两组患儿在连续服用7 d后, 均单纯服用奥美拉唑, 1次/d, 4 wk为一疗程. 治疗结束后, 行位胃镜和*H. pylori*复查, 并观察药物的不良反应. 详细记录两组患儿的临床疗效、*H. pylori*根除情况以及不良反应发生情况.

1.2.2 评定标准: 临床疗效判定: 治愈: 临床症状及体征消失, 经胃镜检查溃疡消失或者瘢痕形成; 有效: 临床症状及体征明显改善, 经胃镜检

表 1 两组患儿的临床疗效率对比 [n = 48, n(%)]

临床疗效	治疗组		对照组		χ^2	P值
	n	疗效率	n	疗效率		
治愈	30	62.50	21	43.75		
有效	16	33.33	13	27.08		
无效	2	4.17	14	29.17		
总有效	46	95.83	34	70.83	9.0750	0.0026

查溃疡缩小面积>50%, 病灶部位炎症反应明显减轻; 无效: 临床症状及体征无明显好转, 经胃镜检查溃疡缩小面积<50%或者无变化. *H. pylori*根除: 进行快速尿素酶实验和尿素呼气实验, 结果显示阴性即为*H. pylori*根除. 不良反应统计: 记录两组患儿在治疗过程有无纳差、腹泻、便秘、皮疹等不良反应.

统计学处理 采用SPSS17.0统计学软件处理数据, 所有计数资料用百分比表示, 采用χ^2检验, P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 两组临床疗效比较 治疗组患儿的临床疗效明显优于对照组, 其中治疗组中治愈30例, 有效16例, 总有效率为95.83%, 对照组中治愈21例, 有效13例, 总有效率为70.83%. 两组总有效率比较差异显著, 有统计学意义(P<0.05)(表1).

2.2 两组患儿*H. pylori*根除率比较 4 wk治疗结束后, 行快速尿素酶实验和尿素呼气实验, 结果显示阴性即为*H. pylori*根除. 治疗组患儿的*H. pylori*根除率明显高于对照组, 治疗组患儿的*H. pylori*根除率为87.50%, 对照组的*H. pylori*根除率为62.5%, 组间差异有统计学意义(χ^2 = 6.7222, P<0.05).

2.3 不良反应 治疗组患儿中有2例出现不良反应, 1例轻度腹泻, 1例便秘, 不良反应发生率为4.17%, 对照组患儿中有4例出现不良反应, 1例腹泻, 1例皮疹, 2例便秘, 不良反应发生率为8.33%, 6例患儿均在停药后不良反应症状自行缓解, 未影响治疗进程, 均顺利完成治疗. 两组不良反应发生率比较差异无统计学意义(χ^2 = 0.1778, P>0.05).

3 讨论

*H. pylori*是革兰阴性菌的一种, 他是一种微需养型的螺旋状弯曲菌类, 据调查数据显示, *H. pylori*在我国人群中的感染率高达40%-88%[3]. 近两年来随着电子胃镜在儿科应用推广, 使儿童*H. pylori*相关性疾病检出率不断增加. 有研究显示, 患儿在感染了该病菌后则明显增加了发生十二指肠溃疡和胃溃疡的危险性, 25%以上的*H. pylori*感染患儿都会发生消化性溃疡[4]. *H. pylori*主要是通过增加胃酸的分泌, 从而促使十二指肠化生, 导致胃黏膜产生炎性代谢物, 最终改变了黏膜的屏障性质引发消化性溃疡[5]. 因此, 临床上认为治疗此类消化性溃疡的关键就在于根除*H. pylori*, 大量临床实践也证明了这一点, 根除*H. pylori*可促进溃疡的愈合, 并能降低其复发率.

理想的治疗*H. pylori*相关消化性溃疡的方案应该具备以下特点: *H. pylori*根除率高、溃疡复发率低、患儿临床症状及体征消失快、依从性好、不良反应少等[6]. 质子泵抑制剂在目前临床上应用最为广泛, 其在治疗小儿消化性溃疡中起到非常大的作用. 奥美拉唑是第一代质子泵抑制剂, 具有较强的抑制胃酸分泌的作用, 他能够较快缓解症状并且安全性较高, 近年来备受临床医生的青睐[7]. 相关报道显示[8], 通过奥美拉唑+甲硝唑+阿莫西林的联用在*H. pylori*根治率可达80%左右, 本研究对照组采用此种方案进行治疗, *H. pylori*根治率为62.50%, 这与既往报道有较大出入, 可能与阿莫西林耐药性的增强有关. 克拉霉素作为半合成大环内酯类抗生素, 可通过与细菌核中的50S亚基和抑制蛋白合成, 而发挥抗菌作用, 在清除*H. pylori*中具有较强作用[9]. 本研究通过克拉霉素+奥美拉唑+甲硝唑对小儿*H. pylori*相关消化性溃疡进行治疗,取得良好效果, 结果显示: 治疗组患儿的临床疗效明显优于对照组, 治疗组的总有效率为95.83%, 对照组的总有效率为70.83%. 4 wk治疗结束后, 治疗组患儿的*H. pylori*根除率明显高于对照组, 治疗组患儿的*H. pylori*根除率为87.50%, 对照组的*H. pylori*根除率为62.5%, 组间差异有统计学意义(P<0.05). 治疗组不良反应发生率较低, 但与对照组比较差异无统计学意义(P>0.05). 可见, 采用克拉霉素、甲硝唑这两种敏感抗生素与奥美拉唑组合的三联疗法临床疗效和*H. pylori*根除率均较高, 且安全性更好[10-15].

总之, 克拉霉素、甲硝唑联合奥美拉唑治疗小儿*H. pylori*感染相关消化性溃疡效果显著, 且安全性高、不良反应少、*H. pylori*根除率高, 是一种较为理想的治疗方案, 值得在临床上广泛推广.

■相关报道
有研究显示, 患儿在感染了该病菌后则明显增加了发生十二指肠溃疡和胃溃疡的危险性, 25%以上的*H. pylori*感染患儿都会发生消化性溃疡.

■同行评价
本研究选题实用，新颖性一般，但结果对临床具有一定的指导和应用价值.

4 参考文献

1 安菊芬, 杨国平. 酪酸梭菌活菌片联合质子泵抑制剂三联疗法治疗幽门螺杆菌感染消化性溃疡32例. 中国药业 2013; 22: 61-62
2 冯蕴慧. 奥美拉唑治疗小儿幽门螺旋杆菌阳性消化性溃疡117例临床观察. 吉林医学 2012; 33: 759-760
3 李桂娟. 治疗幽门螺杆菌感染相关消化性溃疡疗效分析. 中国现代药物应用 2009; 3: 76-77
4 Zojaji H, Talaie R, Mirsattari D, Haghazali M, Molaei M, Mohsenian N, Derakhshan F, Zali MR. The efficacy of Helicobacter pylori eradication regimen with and without vitamin C supplementation. *Dig Liver Dis* 2009; 41: 644-647 [PMID: 19493713 DOI: 10.1016/j.dld.2008.09.008]
5 Eisig JN, Silva FM, Barbuti RC, Rodriguez TN, Malfertheiner P, Moraes Filho JP, Zaterka S. Efficacy of a 7-day course of furazolidone, levofloxacin, and lansoprazole after failed Helicobacter pylori eradication. *BMC Gastroenterol* 2009; 9: 38 [PMID: 19470177 DOI: 10.1186/1471-230X-9-38]
6 Sezikli M, Cetinkaya ZA, Sezikli H, Güzelbulut F, Tiftikçi A, Ince AT, Gökden Y, Yaşar B, Atalay S, Kurdaş OO. Oxidative stress in Helicobacter pylori infection: does supplementation with vitamins C and E increase the eradication rate? *Helicobacter* 2009; 14: 280-285 [PMID: 19674132 DOI: 10.1111/j.1523-5378.2009.00686.x]
7 Fuccio L, Eusebi LH, Zagari RM, Bazzoli F. Helicobacter pylori eradication treatment reduces but does not abolish the risk of gastric cancer. *Am J Gastroenterol* 2009; 104: 3100; author reply 3101-3102 [PMID: 19956126 DOI: 10.1038/ajg.2009.516]
8 高清. 两种三联疗法治疗80例幽门螺旋杆菌相关消化性溃疡疗效观察. 医学理论与实践 2012; 25: 261-262
9 Kim BG, Lee DH, Ye BD, Lee KH, Kim BW, Kim SG, Kim SW, Kim SK, Kim JJ, Kim HY, Park JJ, Park CY, Baik GH, Lee YC, Lee JH, Lee JH, Chun HJ, Hahm KB, Hong SJ, Lee SW, Jung HC. Comparison of 7-day and 14-day proton pump inhibitor-containing triple therapy for Helicobacter pylori eradication: neither treatment duration provides acceptable eradication rate in Korea. *Helicobacter* 2007; 12: 31-35 [PMID: 17241298 DOI: 10.1111/j.1523-5378.2007.00468.x]
10 Uotani T, Sugimoto M, Nishino M, Kodaira C, Yamade M, Sahara S, Yamada T, Osawa S, Sugimoto K, Tanaka T, Umemura K, Watanabe H, Miyajima H, Furuta T. Ability of rabeprazole to prevent gastric mucosal damage from clopidogrel and low doses of aspirin depends on CYP2C19 genotype. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2012; 10: 879-885.e2 [PMID: 22542748]
11 陈伟, 张桂英, 曾亚, 李乾, 徐美华, 刘霆. 含呋喃唑酮四联一线方案初治幽门螺杆菌的临床观察. 世界华人消化杂志 2013; 21: 1366-1371
12 徐美华, 张桂英, 李常娟. 含铋剂四联一线治疗方案根除幽门螺杆菌疗效观察. 浙江大学学报(医学版) 2011; 40: 327-331
13 余琳玲, 陈洁芳, 黄跃金. 呋喃唑酮致多发性神经病36例临床分析. 海峡药学 2009; 21: 232-232
14 Datta S, Chattopadhyay S, Patra R, De R, Ramamurthy T, Hembram J, Chowdhury A, Bhattacharya SK, Berg DE, Nair GB, Mukhopadhyay AK. Most Helicobacter pylori strains of Kolkata in India are resistant to metronidazole but susceptible to other drugs commonly used for eradication and ulcer therapy. *Aliment Pharmacol Ther* 2005; 22: 51-57 [PMID: 15963080 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2005.02533.x]
15 翠萍, 孙学国, 赵清喜, 张琪, 孔心娟. 替普瑞酮治疗慢性萎缩性胃炎100例. 世界华人消化杂志 2008; 16: 1069-1073

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年4月8日; 22(10): 1479-1483
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

皮下注射胰岛素联合口服二甲双胍治疗儿童2型糖尿病的回顾性分析

许航燕, 斯海燕

许航燕, 斯海燕, 东阳市人民医院儿科 浙江省东阳市 322100
许航燕, 主治医师, 主要从事儿科的临床研究.
作者贡献分布: 此论文由许航燕设计; 研究过程由许航燕与斯海燕实施完成; 数据分析与病理支持由许航燕与斯海燕共同完成; 本论文写作由许航燕完成.
通讯作者: 许航燕, 主治医师, 322100, 浙江省东阳市吴宁西路60号, 东阳市人民医院儿科. xiangkunanhai@163.com
收稿日期: 2014-01-06 修回日期: 2014-02-23
接受日期: 2014-02-28 在线出版日期: 2014-04-08

Clinical effect of subcutaneous insulin injection combined with metformin for type 2 diabetes mellitus in children

Hang-Yan Xu, Hai-Yan Si

Hang-Yan Xu, Hai-Yan Si, Department of Pediatrics, the People's Hospital of Dongyang, Dongyang 322100, Zhejiang Province, China
Correspondence to: Hang-Yan Xu, Attending Physician, Department of Pediatrics, the People's Hospital of Dongyang, 60 Wuning West Road, Dongyang 322100, Zhejiang Province, China. xiangkunanhai@163.com
Received: 2014-01-06 Revised: 2014-02-23
Accepted: 2014-02-28 Published online: 2014-04-08

Abstract

AIM: To explore the clinical effect of subcutaneous insulin injection combined with metformin for type 2 diabetes mellitus (T2DM) in children.

METHODS: Seventy children with T2DM were analyzed retrospectively. They were randomly divided into two groups: a control group and an experiment group. The control group was treated with metformin hydrochloride sustained-release tablets, and the experiment group was treated by subcutaneous injection insulin on the basis of treatment with metformin hydrochloride sustained-release tablets. FPG, 2hPG, TC, TG, HDL-C, LDL-C, HbAlC, FINS, HOMA-IR, F-CP and Homa-β were compared between the two groups.

RESULTS: Post-treatment levels of FPG and 2hPG were lower than pretreatment values (5.52 mmol/L ± 0.77 mmol/L *vs* 10.34 mmol/L ± 3.26 mmol/L, 6.86 mmol/L ± 1.35 mmol/L *vs* 15.17 mmol/L ± 3.89 mmol/L, 5.76 mmol/L ± 0.69 mmol/L *vs* 9.89 mmol/L ± 3.43 mmol/L, 7.02 mmol/L ± 1.08 mmol/L *vs* 14.33 mmol/L ± 2.82 mmol/L, $P < 0.05$ for all). There were no significant differences in FPG and 2hPG between the two groups ($P > 0.05$ for all). Post-treatment levels of TG, LDL-C, HbAlC and BMI were significantly lower than pretreatment values (1.92 mmol/L ± 0.91 mmol/L *vs* 4.06 mmol/L ± 1.09 mmol/L, 1.12 mmol/L ± 0.69 mmol/L *vs* 1.22 mmol/L ± 0.60 mmol/L, 4.81 mmol/L ± 1.30 mmol/L *vs* 8.22% ± 1.73%; 25.13 kg/m^2 ± 2.78 kg/m^2 *vs* 27.95 kg/m^2 ± 1.79 kg/m^2, 1.89 mmol/L ± 1.21 mmol/L *vs* 3.8 mmol/L ± 1.33 mmol/L, 1.31 mmol/L ± 0.49 mmol/L *vs* 1.20 mmol/L ± 0.59 mmol/L, 4.08% ± 1.51% *vs* 7.79% ± 2.83%, 24.76 kg/m^2 ± 2.61 kg/m^2 *vs* 28.62 kg/m^2 ± 1.68 kg/m^2, $P < 0.05$ or 0.01 for all). There were no significant differences in the levels of TC, HDL-C, TG, HDL-C, LDL-C, HbAlC or BMI between before and after treatment in both groups ($P > 0.05$ for all). Post-treatment levels of FINS, F-CP and Homa-β were significantly higher than pre-treatment values (18.32 mU/L ± 3.81 mU/L *vs* 13.30 mU/L ± 4. 13 mU/L, 5.95 mmol/L ± 1.26 mmol/L *vs* 2.72 mmol/L ± 1.30 mmol/L, 85.35 mU/L ± 62.22 mU/L *vs* 23.57 mU/L ± 16.81 mU/L, 15.58 mU/L ± 2.62 mU/L *vs* 12.97 mU/L ± 3.96 mU/L, 3.02 mmol/L ± 1.52 mmol/L *vs* 2.63 mmol/L ± 1.34 mmol/L, 63.88 ± 53.71 *vs* 21.35 ± 17.92, $P < 0.05$ or 0.01 for all), while the levels of HOMA-IR were significantly lower after treatment than before treatment (1.19 ± 0.37 *vs* 1.91 ± 0.56, 1.55 ± 0.33 *vs* 1.86 ± 0.57, $P < 0.05$ or 0.01 for all). The levels of FINS, F-CP and Homa-β in the experiment group were significantly higher than those in the control group (18.32 mU/L ± 3.81 mU/L *vs* 15.58 mU/L ± 2.62 mU/L, 5.95 mmol/L ± 1.26 mmol/L *vs* 3.02 mmol/L ± 1.52 mmol/L, 85.35 ± 62.22 *vs* 63.88 ± 53.71, $P < 0.05$ for all), while the level of HOMA-IR was significantly lower than the control group (1.19 ± 0.37 *vs* 1.55 ± 0.33, $P < 0.05$).

■背景资料
糖尿病(diabetes mellitus, DM)是世界发病率较高的慢性疾病, 成人糖尿病患者2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)占90%, 而儿童T2DM为16%, 且呈现逐年增长的趋势. T2DM不仅严重影响患者生存质量, 也易引发终末肾病、心血管疾病等严重并发症、甚至伤残和死亡. 因此, 儿童T2DM的早期诊断和治疗尤为重要.

■同行评议者
门秀丽, 教授, 河北联合大学(原华北煤炭医学院)病理生理学教研室

■相关报道
临床研究表明, 二甲双胍能够改善DM大鼠的氧化应激, 还可抑制炎症因子基因的表达, 对大鼠肾脏具有保护作用.

CONCLUSION: Subcutaneous insulin injection combined with metformin can improve serum indices and islet function in T2DM children.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: T2DM children; Insulin; Metformin; Clinical effect

Xu HY, Si HY. Clinical effect of subcutaneous insulin injection combined with metformin for type 2 diabetes mellitus in children. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(10): 1479-1483 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1479.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i10.1479

摘要

目的: 探讨皮下注射胰岛素联合口服二甲双胍治疗儿童2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)的临床疗效.

方法: 回顾性分析2012-08/2013-08在我院经盐酸二甲双胍缓释片+皮下注射速效门冬胰岛素治疗的35例T2DM儿童(观察组)和同期经盐酸二甲双胍缓释片治疗的35例儿童(对照组)的临床病例资料, 比较两组患儿治疗前后空腹血糖(fasting plasma glucose, FPG)、餐后2 h血糖(2 hour plasma glucose, 2hPG)、总胆固醇(total cholesterol, TC)、甘油三酯(triglyceride, TG)、高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein, HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein, LDL-C)、糖化血红蛋白(glycosylated hemoglobin, HbAlC)、空腹胰岛素(fasting insulin, FINS)、胰岛素抵抗指数(homeostasis model assessment of insulin resistance, HOMA-IR)、空腹C肽(fasting c-peptide, F-CP)和胰岛素分泌指数(homeostasis model assessment, Homa-β)等指标的变化.

结果: 两组患儿治疗后FPG、2hPG水平均明显下降(5.52 mmol/L±0.77 mmol/L *vs* 10.34 mmol/L±3.26 mmol/L、6.86 mmol/L±1.35 mmol/L *vs* 15.17 mmol/L±3.89 mmol/L, 5.76 mmol/L±0.69 mmol/L *vs* 9.89 mmol/L±3.43 mmol/L、7.02 mmol/L±1.08 mmol/L *vs* 14.33 mmol/L±2.82 mmol/L), 与治疗前比较, 差异具有统计学意义(P<0.05); 两组间治疗后FPG、2hPG水平比较, 差异无统计学意义(P>0.05); 两组患儿治疗后TG、LDL-C、HbAlC及BMI水平均明显下降(1.92 mmol/L±0.91 mmol/L *vs* 4.06 mmol/L±1.09 mmol/L、1.12 mmol/L±0.69 mmol/L *vs* 1.22 mmol/L±0.60 mmol/L、4.81%±1.30% *vs* 8.22%±1.73%、25.13 kg/m^2±2.78 kg/m^2 *vs* 27.95 kg/m^2±1.79 kg/m^2, 1.89 mmol/L±1.21 mmol/L *vs* 3.8 mmol/L±1.33 mmol/L、1.31 mmol/L±0.49 mmol/L *vs* 1.20 mmol/L±0.59 mmol/L、4.08%±1.51% *vs* 7.79%±2.83%、24.76 kg/m^2±2.61 kg/m^2 *vs* 28.62 kg/m^2±1.68 kg/m^2), 与治疗前比较, 差异具有统计学意义(P<0.05或0. 01); 两组患儿治疗后TC和HDL-C水平均无明显变化, 与治疗前比较, 差异无统计学意义(P>0.05); 两组患儿治疗后TC、TG、HDL-C、LDL-C、HbAlC及BMI水平比较, 差异无统计学意义(P>0.05); 两组患儿治疗后FINS、F-CP和Homa-β水平明显升高(18.32 mU/L±3.81 mU/L *vs* 13.30 mU/L±4.13 mU/L、5.95 mmol/L±1.26 mmol/L *vs* 2.72 mmol/L±1.30 mmol/L、85.35 mU/L±62.22 mU/L *vs* 23.57 mU/L±16.81 mU/L, 15.58 mU/L±2.62 mU/L *vs* 12.97 mU/L±3.96 mU/L、3.02 mmol/L±1.52 mmol/L *vs* 2.63 mmol/L±1.34 mmol/L、63.88±53.71 *vs* 21.35±17.92), HOMA-IR水平明显下降(1.19±0.37 *vs* 1.91±0. 56, 1.55±0.33 *vs* 1.86±0.57), 与治疗前比较, 差异具有统计学意义(P<0.05或0.01); 观察组患儿治疗后FINS、F-CP和Homa-β水平明显高于对照组(18.32 mU/L±3.81 mU/L *vs* 15.58 mU/L±2.62 mU/L、5.95 mmol/L±1.26 mmol/L *vs* 3.02 mmol/L±1.52 mmol/L、85.35±62.22 *vs* 63.88±53.71), HOMA-IR水平明显低于对照组(1.19±0.37 *vs* 1.55±0.33), 差异具有统计学意义(P<0.05).

结论: 皮下注射胰岛素联合口服二甲双胍治疗T2DM能够有效改善儿童糖尿病相关指标和胰岛功能, 临床疗效显著.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 儿童2型糖尿病; 胰岛素; 二甲双胍; 疗效

核心提示: 本研究结果显示, 两组患儿空腹血糖(fasting plasma glucose)、餐后2 h血糖(2 hour plasma glucose)、总胆固醇(total cholesterol)、甘油三酯(triglyceride)、高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein)、低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein)、糖化血红蛋白(glycosylated hemoglobin)、空腹胰岛素(fasting insulin)、胰岛素抵抗指数(homeostasis model assessment of insulin resistance)、空腹C肽(fasting c-peptide)和胰岛素分泌指数(homeostasis model assessment)水

平均有不同程度改善, 与治疗前比较, 差异具有统计学意义. 表明胰岛素和二甲双胍均能够有效改善患儿2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus)相关指标及胰岛功能. 胰岛素联合二甲双胍治疗组临床效果显著优于单用二甲双胍组, 疗效更佳.

许航燕, 斯海燕. 皮下注射胰岛素联合口服二甲双胍治疗儿童2型糖尿病的回顾性分析. 世界华人消化杂志 2014; 22(10): 1479-1483 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1479.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i10.1479

■应用要点

皮下注射胰岛素联合口服二甲双胍治疗T2DM能够有效改善患儿糖尿病相关指标和胰岛功能, 临床疗效显著, 具有较高临床应用和推广价值.

0 引言

随着人们生活水平的不断提高, 儿童肥胖发生率逐年升高, 儿童2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)发生率也随之增长[1]. T2DM不仅严重影响儿童生长发育, 也给患儿带来较大的精神和心理压力, 也可导致多种并发症, 危害性较大[2]. 因此, 早期采有效治疗措施至关重要. 我院采取皮下注射胰岛素联合口服二甲双胍治疗儿童T2DM, 取得较为满意的临床效果, 现回顾性报道如下.

1 材料和方法

1.1 材料 回顾性分析2012-08/2013-08我院收治的T2DM患儿临床资料，选取其中给予盐酸二甲双胍缓释片治疗的患儿35例(对照组), 再选取其中盐酸二甲双胍缓释片+皮下注射速效门冬胰岛素治疗的患儿35例(观察组). 两组患儿性别、年龄、身体质量指数(body mass index, BMI)、病程、糖尿病家族史以及糖尿病肾病发生率等，差异无统计学意义(P>0.05)(表1), 具有可比性. 治疗方法经过医院科研处批准, 并经过患儿家属知情同意. 所有患儿均符合2013年美国儿科学会颁布的《儿童和青少年2型糖尿病诊治指南》[3]中儿童2型糖尿病相关诊断标准, 经血、尿常规检查确诊.

1.2 方法

1.2.1 治疗: 对照组患儿均给予盐酸二甲双胍缓释片(江苏正大天晴药业股份有限公司, 国药准字H20031104, 0.5 g×30片)治疗, 第1、2周口服50 mg/次, 2次/d, 第3周口服850 mg/次, 2次/d, 第4周及以后口服1000 mg/次, 2次/d[4]. 观察组患儿在此基础上加用速效门冬胰岛素30(丹麦诺和诺德公司, 进口药品注册证号: S20090097, 分包装批准文号: 国药准字J20100037, 3 mL×1支)治疗, 分别于每日三餐前皮下注射, 注射剂量根据患儿BMI计算. 两组患儿均连续治疗12 wk[5].

1.2.2 观察指标: 两组患儿均于治疗12 wk后复查空腹血糖(fasting plasma glucose, FPG)、餐后2 h血糖(2 hour plasma glucose, 2hPG)、总胆固醇(total cholesterol, TC)、甘油三酯(triglyceride, TG)、高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein, HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein, LDL-C)、糖化血红蛋白(glycosylated hemoglobin, HbAlC)、空腹胰岛素(fasting insulin, FINS)、胰岛素抵抗指数(homeostasis model assessment of insulin resistance, HOMA-IR)、空腹C肽(fasting c-peptide, F-CP)和胰岛素分泌指数(homeostasis model assessment, Homa-β)等水平变化情况[6].

统计学处理 本研究数据均采用SPSS18.0进行统计学处理, 计量资料采用mean±SD表示, 差异性比较使用t检验, 记数资料比较使用χ^2检验, P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 两组患儿治疗前后血糖水平比较 两组患儿治疗后FPG、2hPG水平均明显下降, 与治疗前比较, 差异具有统计学意义(P<0.05); 两组间治疗后FPG、2hPG水平比较, 差异无统计学意义(P>0.05)(表2).

2.2 两组患儿治疗前后血常规及BMI水平比较 两组患儿治疗后TG、LDL-C、HbAlC及BMI水平均明显下降, 与治疗前比较, 差异具有统计学意义(P<0.05或P<0.01); 两组患儿治疗后TC和HDL-C水平均无明显变化, 与治疗前比较, 差异无统计学意义(P>0.05); 两组患儿治疗后TC、TG、HDL-C、LDL-C、HbAlC及BMI水平比较, 差异无统计学意义(P>0.05)(表3).

2.3 两组患儿治疗前后FINS、F-CP、Homa-β、HOMA-IR水平比较 两组患儿治疗后FINS、F-CP和Homa-β水平明显升高, HOMA-IR水平明显下降, 与治疗前比较, 差异具有统计学意义(P<0.05或P<0.01); 观察组患儿治疗后FINS、F-CP和Homa-β水平明显高于对照组, HOMA-IR水平明显低于对照组, 差异具有统计学意义(P<0. 05)(表4).

3 讨论

糖尿病(diabetes mellitus, DM)是世界发病率较高的慢性疾病, 成人糖尿病患者2型糖尿病占90%, 儿童糖尿病患者2型糖尿病为16%, 且呈逐年增长的趋势[7]. T2DM不仅严重影响患者生存质量,

■同行评价
本文回顾性分析研究，创新性一般，但是临床资料有一定参考价值.

表 1 两组患儿临床资料比较 (n = 35)

分组	性别		平均年龄(岁)	体质量指数(kg/m^2)	平均病程(年)	糖尿病家族史	糖尿病肾病
	男	女					
观察组	18	17	11.82 ± 4.13	28.62 ± 1.68	2.09 ± 1.16	34	20
对照组	19	16	12.57 ± 3.76	27.95 ± 1.79	2.13 ± 1.08	35	19

表 2 两组患儿治疗前后血糖水平比较 (n = 35)

分组	空腹血糖(mmol/L)		餐后2 h血糖(mmol/L)	
	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
观察组	10.34 ± 3.26	5.52 ± 0.77[a]	15.17 ± 3.89	6.86 ± 1.35[a]
对照组	9.89 ± 3.43	5.76 ± 0.69[a]	14.33 ± 2.82	7.02 ± 1.08[a]

[a]P<0.05 *vs* 同组治疗前.

表 3 两组患儿治疗前后血常规及BMI水平比较 (n = 35)

分组	时间	总胆固醇(mmol/L)	甘油三酯(mmol/L)	高密度脂蛋白胆固醇(mmol/L)	低密度脂蛋白胆固醇(mmol/L)	糖化血红蛋白(%)	体质量指数(kg/m^2)
观察组	治疗前	5.62 ± 2.39	4.06 ± 1.09	1.22 ± 0.60	4.57 ± 1.13	8.22 ± 1.73[a]	27.95 ± 1.79
	治疗后	4.58 ± 2.77	1.92 ± 0.91[a]	1.12 ± 0.69	3.02 ± 0.68[b]	4.81 ± 1.30	25.13 ± 2.78[b]
对照组	治疗前	5.61 ± 2.12	3.8 ± 1.33	1.20 ± 0.59	4.63 ± 1.18	7.79 ± 2.83	28.62 ± 1.68
	治疗后	4.89 ± 2.09	1.89 ± 1.21[a]	1.31 ± 0.49	3.11 ± 0.89[b]	4.08 ± 1.51[a]	24.76 ± 2.61[b]

[a]P<0.05 *vs* 同组治疗前; [b]P<0.01 *vs* 同组治疗前.

表 4 两组患儿治疗前后空腹胰岛素、空腹C肽、胰岛素分泌指数、胰岛素抵抗指数水平比较 (n = 35)

分组	时间	空腹胰岛素(mU/L)	空腹C肽(mmol/L)	胰岛素分泌指数	
观察组	治疗前	13.30 ± 4.13	2.72 ± 1.30	23.57 ± 16.81	1.91 ± 0.56
	治疗后	18.32 ± 3.81[bd]	5.95 ± 1.26[bd]	85.35 ± 62.22[bd]	1.19 ± 0.37[bcd]
对照组	治疗前	12.97 ± 3.96	2.63 ± 1.34	21.35 ± 17.92	1.86 ± 0.57
	治疗后	15.58 ± 2.62[a]	3.02 ± 1.52a	63.88 ± 53.71[a]	1.55 ± 0.33[a]

[a]P<0.05 *vs* 同组治疗前; [b]P<0.01 *vs* 同组治疗前; [d]P<0.01 *vs* 对照组.

也易引发终末期肾病、心血管疾病等严重并发症、甚至伤残和死亡[8]. 因此, 儿童T2DM的早期诊断和治疗尤为重要.

遗传因素是儿童T2DM的主要危险因素, 一般有阳性家族史者T2DM发病率远高于1型糖尿病, 且各民族发病率呈现一定地域分布特点[9]. 而环境因素对T2DM发病也有重要影响, 如生活方式改变导致儿童肥胖发生率上升, 继而引起T2DM发病率提高[10]. 临床研究表明, 肥胖者脂肪酸水平过高, 导致心功能下降, 骨骼肌对胰岛素产生抵抗, 同时加速β细胞凋亡, 进而逐步发展为糖尿病[11]. T2DM患儿在血糖及胰岛素水平正常至T2DM发病的过程中, 出现高血糖时往往伴有胰岛素对葡萄糖刺激的反应低下、胰岛素前质增多以及β细胞体积缩小. 因此, 认为胰岛素分泌不足是引发儿童T2DM的主要因素. 另外, 儿童青春期生长激素分泌过多对胰岛素产生抵抗也是导致该病发生的重要因素.

儿童T2DM发初期表现为胰岛素作用失常, 病情进展后表现为胰岛功能衰竭. 发病初期血糖水平正常时高胰岛素血症和胰岛素抵抗已经发生, 随着病情进展血糖水平升高促使β细胞加

速凋亡, 进一步加重了胰岛素抵抗和分泌不足, 形成恶性循环[12]. 因此, 胰岛素治疗是临床治疗的必要手段.

目前临床上治疗儿童T2DM的药物主要为促进胰岛素分泌剂、胰岛素增敏剂、双胍类药物和胰岛素[13]. 其中双胍类药物能够提高人体外周组织对葡萄糖的提取和利用, 降低肝葡萄糖输出水平和脂肪酸氧化率, 提高胰岛素敏感性, 降低胰岛素抵抗, 尤其适用于腹型肥胖T2DM患儿. 临床研究表明, 二甲双胍能够改善DM大鼠的氧化应激, 还可抑制炎症因子基因的表达, 对大鼠肾脏具有保护作用[14]. 另有研究表明, 二甲双胍对改善多囊卵巢综合症患者卵巢功能, 降低脂肪肝以及T2DM相关并发症具有显著临床效果[15]. 胰岛素是目前临床上较为常用的降糖药物, 副作用较小, 能够快速稳定患儿血糖水平. 但胰岛素可导致肥胖而引起胰岛素抵抗, 不能长期使用. 胰岛素种类较多, 不同类型胰岛素作用时间和纯度均有一定差异. 本研究使用的胰岛素为速效门冬胰岛素30. 胰岛素也具有一定肾脏保护作用, 临床研究表明, Goto-Kakizaki大鼠使用胰岛素联合二甲双胍治疗后, 肾损伤相关糖基化标志物、纤维化标志物和炎症反应标志物均有不同程度改善, 表明其在预防糖尿病肾病上具有确切效果[16].

本研究结果显示, 两组患儿FPG、2hPG、TG、LDL-C、HbAlC、BMI、FINS、F-CP、Homa-β和HOMA-IR水平均有不同程度改善, 与治疗前比较, 差异具有统计学意义(P<0.05或P<0.01). 表明胰岛素和二甲双胍均能够有效改善患儿T2DM相关指标及胰岛功能. 胰岛素联合二甲双胍治疗组临床效果显著优于单用二甲双胍组, 表明, 两药联用能够相互促进, 疗效更佳.

总之, 皮下注射胰岛素联合口服二甲双胍治疗T2DM能够有效改善患儿糖尿病相关指标和胰岛功能, 临床疗效显著, 具有较高临床应用和推广价值.

4 参考文献

1 傅君芬, 梁黎. 儿童2型糖尿病现状与诊治进展. 中国实用儿科杂志 2010; 25: 837-841

2 杜晨光, 李继安. 儿童2型糖尿病相关研究进展. 中国妇幼保健 2012; 27: 782-783

3 Copeland KC, Silverstein J, Moore KR, Prazar GE, Raymer T, Shiffman RN, Springer SC, Thaker VV, Anderson M, Spann SJ, Flinn SK. Management of newly diagnosed type 2 Diabetes Mellitus (T2DM) in children and adolescents. *Pediatrics* 2013; 131: 364-382 [PMID: 23359574 DOI: 10.1542/peds.2012-3494]

4 雷晓燕, 李丙蓉. 瑞格列奈联合二甲双胍治疗初诊2型糖尿病疗效. 中国社区医师(医学专业) 2010; 12: 43-44

5 张丽华, 郭菊秋, 刘志伟. 胰岛素强化治疗儿童初发2型糖尿病临床观察. 现代预防医学 2012; 39: 4406-4407

6 Biswas A, Bhattacharya S, Dasgupta S, Kundu R, Roy SS, Pal BC, Bhattacharya S. Insulin resistance due to lipid-induced signaling defects could be prevented by mahanine. *Mol Cell Biochem* 2010; 336: 97-107 [PMID: 19826769 DOI: 10.1007/s11010-009-0257-4]

7 Wang W, Bu R, Su Q, Liu J, Ning G. Randomized study of repaglinide alone and in combination with metformin in Chinese subjects with type 2 diabetes naive to oral antidiabetes therapy. *Expert Opin Pharmacother* 2011; 12: 2791-2799 [PMID: 21780853 DOI: 10.1517/14656566.2011.602341]

8 Hu G, Jousilahti P, Tuomilehto J, Antikainen R, Sundvall J, Salomaa V. Association of serum C-reactive protein level with sex-specific type 2 diabetes risk: a prospective finnish study. *J Clin Endocrinol Metab* 2009; 94: 2099-2105 [PMID: 19318443 DOI: 10.1210/jc.2008-2260]

9 韩学尧. 二甲双胍治疗儿童及青少年2型糖尿病的循证医学证据. 药品评价 2010; (3): 32-34

10 Lachin JM, Viberti G, Zinman B, Haffner SM, Aftring RP, Paul G, Kravitz BG, Herman WH, Holman RR, Kahn SE. Renal function in type 2 diabetes with rosiglitazone, metformin, and glyburide monotherapy. *Clin J Am Soc Nephrol* 2011; 6: 1032-1040 [PMID: 21454723 DOI: 10.2215/CJN.09291010]

11 佟爱华. 早期应用胰岛素治疗初诊2型糖尿病对β细胞功能的影响. 中国社区医师(医学专业) 2011; 13: 47-48

12 Gallagher D, Kelley DE, Yim JE, Spence N, Albu J, Boxt L, Pi-Sunyer FX, Heshka S. Adipose tissue distribution is different in type 2 diabetes. *Am J Clin Nutr* 2009; 89: 807-814 [PMID: 19158213 DOI: 10.3945/ajcn.2008.26955]

13 中华医学会糖尿病学分会. 中国2型糖尿病防治指南(2010年版). 中国糖尿病杂志 2012; 20: S1-S37

14 李国生, 刘栩晗, 黄澜, 朱华, 刘亚莉, 马春梅. 2型糖尿病中国地鼠脂肪肝相关胰岛素抵抗的形成机制. 世界华人消化杂志 2011; 19: 457-466

15 吴斌, 高倩, 楚晓婧, 张玫, 黄亨建, 李贵星, 王兰兰. 新诊断2型糖尿病患者外周单核细胞ROCK活性与胰岛素抵抗以及胰岛β细胞功能的关系. 世界华人消化杂志 2013; 21: 1146-1151

16 Moreno M, Ordoñez P, Alonso A, Díaz F, Tolivia J, González C. Chronic 17beta-estradiol treatment improves skeletal muscle insulin signaling pathway components in insulin resistance associated with aging. *Age* (Dordr) 2010; 32: 1-13 [PMID: 19462258 DOI: 10.1007/s11357-009-9095-2]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



世界华人消化杂志 2014年4月8日; 22(10): 1484-1486
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

病例报告 CASE REPORT

食管结核1例

杨正德, 张丽艳, 付国静, 魏艳红, 李心红

■背景资料
食管结核临床表现轻重不一. 患者多以吞咽困难、吞咽痛或胸骨后疼痛为主诉就诊, 缺乏典型的结核中毒症状. 在临床上罕见, 因而在诊断与鉴别诊断中很容易被忽略.

杨正德, 张丽艳, 付国静, 魏艳红, 李心红, 中国人民解放军第八十九医院消化内科 山东省潍坊市 261021
杨正德, 主要从事消化内科疾病的诊治与消化内镜的操作研究.
作者贡献分布: 本文写作由杨正德、李心红及张丽艳完成; 病例资料由付国静与魏艳红提供; 内镜操作由杨正德完成; 李心红负责审校.
通讯作者: 李心红, 261021, 山东省潍坊市北宫西街256号, 中国人民解放军第八十九医院消化内科. 18364622525@163.com
电话: 0536-8439290 传真: 0536-8439290

收稿日期: 2014-01-09 修回日期: 2014-02-26
接受日期: 2014-02-28 在线出版日期: 2014-04-08

Esophageal tuberculosis: A case report and literature review

Zheng-De Yang, Li-Yan Zhang, Guo-Jing Fu, Yan-Hong Wei, Xin-Hong Li

Zheng-De Yang, Li-Yan Zhang, Guo-Jing Fu, Yan-Hong Wei, Xin-Hong Li, Department of Gastroenterology, the 89th Hospital of PLA , Weifang 261021, Shandong Province, China
Correspondence to: Xin-Hong Li, the 89th Hospital of PLA, 256 Beigong West Road, Weifang 261021, Shandong Province, China. 18364622525@163.com

Received: 2014-01-09 Revised: 2014-02-26
Accepted: 2014-02-28 Published online: 2014-04-08

Abstract
Esophageal tuberculosis is a rare type of gastrointestinal tuberculosis. Common clinical symptoms of esophageal tuberculosis are reported to be dysphagia and odynophagia. Upper gastrointestinal endoscopy often reveals ulceration or apophysis. Clinically, esophageal tuberculosis is often misdiagnosed as esophageal cancer, Crohn's disease and Behcet's disease. Clinicians showed raise their awareness of this disease.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Esophageal tuberculosis

Yang ZD, Zhang LY, Fu GJ, Wei YH, Li XH. Esophageal tuberculosis: A case report and literature review. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(10): 1484-1486 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1484.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i10.1484

摘要
食管结核是一种少见病, 在胃肠道结核中最少见. 症状表现为吞咽困难、吞咽疼痛等, 内镜下表现为溃疡或隆起性病变, 易误诊为食管癌、食管克罗恩病、食管白塞氏病等, 临床医师应提高对该疾病的认识.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 食管结核

核心提示: 本文报告了1例52岁女性的食管结核患者, 经抗结核治疗后症状缓解, 胃镜下病变逐渐缩小至消失. 为少见病例报告, 资料齐全, 附有胃镜随诊图片及病理学图片, 并结合国内外文献资料进行了讨论, 对提高本病的认识具有一定临床价值.

杨正德, 张丽艳, 付国静, 魏艳红, 李心红. 食管结核1例. 世界华人消化杂志 2014; 22(10): 1484-1486 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1484.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i10.1484

0 引言
近年来结核病在全球范围内发生率有明显上升之势, 加之消化系内镜及黏膜活检的广泛开展, 食管结核的诊断也明显增多, 但仍是罕见病[1]. 现将我科收治食管结核1例报道如下.

1 病例报告
患者, 女, 52岁, 因胸骨后疼痛半月入院, 院外胃镜检查在食管中段见一1.0 cm×1.0 cm黏膜隆起, 表面呈结节状改变, 质软, 病理提示黏膜慢性炎, 无发热、盗汗、乏力等不适, 入院查体无阳性体征. 化验血常规、血沉、肝肾功、癌胚抗原(carcino-embryonic antigen, CEA)、C-反应蛋白(C-reactive protein, CRP)均正常, 结核杆菌抗体阴性, 给予奥美拉唑40 mg静滴2次/d、铝碳酸镁1 g, 口服3次/d保护黏膜治疗1 wk后复查胃镜(图1A), 显示病变无明显变化, 再次取病理检查(图1D)示: 黏膜慢性炎症, 有大量淋巴细胞浸

■同行评议者
姜慧卿, 教授, 河北医科大学第二医院消化科

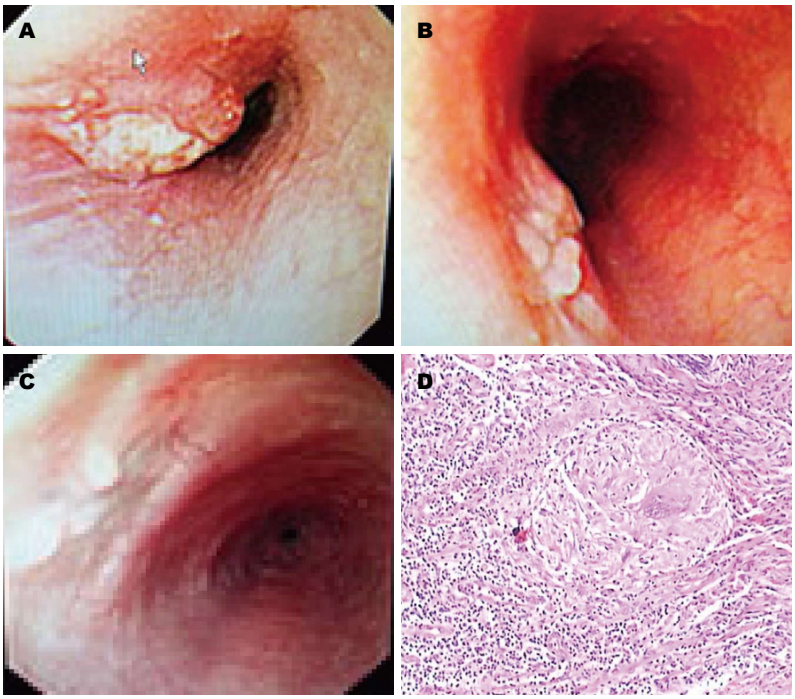


图 1 病例情况. A: 抗结核治疗前; B: 抗结核治疗4 wk; C: 抗结核治疗9 mo; D: 病理检查(HE染色×100).

■研发前沿
食管结核如能早期发现、早期诊断和早期治疗, 其预后良好. 因此早期诊断至关重要.

润, 并见较多多核巨细胞, 考虑肉芽肿性炎; 抗酸染色阴性. 肠镜检查未发现回肠末端有病变, 胸部CT检查未发现异常, 眼科会诊未见异常, 未发现克罗恩病、结节病及白塞氏病的证据; PPD试验强阳性, 拟诊为食管结核. 给予利福平0.45 g口服1次/d、异烟肼0.3 g口服1次/d、链霉素0.75 g肌注1次/d三联抗结核试验治疗, 治疗2 wk后症状明显减轻, 4 wk后基本消失, 复查胃镜显示病变较前明显缩小(图1B), 继续原治疗, 9 mo后复查胃镜见病灶基本消失(图1C), 后继续口服利福平、异烟肼维持治疗9 mo, 复查胃镜未见病变复发.

2 讨论

食管结核是由结核杆菌引起的慢性炎症, 多发生于食管中、下段. 食管结核分为原发型和继发型, 以继发型常见, 是指其他器官组织结核通过直接侵蚀蔓延、淋巴系统累及等途径引起的食管黏膜感染, 多继发于肺及淋巴结结核者多见[2]. 原发型食管结核是指咽下含结核菌的食物或痰液, 并引起食管黏膜的感染, 有报道称原发性食管结核不少见[3]. 本例患者无肺结核及淋巴结核等其他组织结核的证据, 考虑为原发型.

食管结核患者多以吞咽困难、吞咽疼痛、胸骨后或上腹部疼痛、呕血为主要表现, 低热、盗汗、乏力、消瘦等结核中毒症状较轻或少见, 临床上易误诊为食管溃疡、食管癌、食管克罗恩病. 内镜检查及活检是诊断食管结核的主要手段, 多取材、深取材可提高诊断的准确率. 本病在电子胃镜下的表现主要有隆起型和溃疡型两种病变. 隆起型病变表现为黏膜或黏膜下肿物, 质软, 表面光滑, 或有浅溃疡, 溃疡周围黏膜没有明显充血, 与正常黏膜基本一致, 与食管癌、食管平滑肌瘤等病变相似, 单凭内镜所见难以确诊; 溃疡型病变的病灶一般不大, 溃疡底部覆薄白苔, 周边黏膜无明显隆起及充血, 质地较软, 与溃疡型食管癌、食管克罗恩病、食管白塞氏病难以鉴别; 愈合期的病变可形成憩室或狭窄. 食管结核要与食管癌、食管克罗恩病、食管白塞氏病相鉴别. 食管癌病变进行性进展, 多伴有恶病质表现, 内镜下也有隆起型及溃疡型两种表现, 隆起型病变呈结节状或菜花样, 溃疡型病变为不规则溃疡, 底部不平, 覆污秽苔, 周边黏膜呈唇样或马蹄样, 质脆易出血[4]; 克罗恩病侵及上消化道者占全部病例的0.5%-13.0%, 且多是胃、食道同时受累, 单独累及食道者少见[5], 内镜下表现为裂隙样溃疡, 或为铺路石样改变; 食管白塞氏病患者常有复发性口腔溃疡、生殖器溃疡和眼炎及皮肤损害等临床表现, 内镜下主要表现为溃疡, 多位于中下段, 溃疡形态多样, 边界清楚, 周边黏膜隆起, 小血管炎为其基本病理改变[6]. 食管结核的诊断金标准是找到结核杆菌, 其次是在病理上可见干酪性肉芽肿. 该患者以胸骨后疼痛为主要表

■同行评价
本文通过报道1例食管结核病例, 回顾检索了国内外对本病的临床报道, 对临床有一定指导意义.

现, 无其他明显结核中毒症状, 抑酸药治疗无效, PPD试验阳性, 内镜下见病变为隆起型, 隆起表面有浅溃疡, 病理诊断肉芽肿, 且抗结核治疗有效, 诊断食管结核成立.

食管结核治疗与肺等部位结核治疗相同, 多采用四联方案(异烟肼、利福平、吡嗪酰胺、乙胺丁醇), 疗程12-18 mo, 一般治疗2 wk后症状会明显改善[7]. 有文献报道连续四联(异烟肼、利福平、吡嗪酰胺、乙胺丁醇)治疗2 mo后, 二联(异烟肼、利福平)维持治疗4-6 mo病变明显好转[8]. 也有报道异烟肼、利福平、吡嗪酰胺三联治疗6 mo后好转[9]. 对并发食管严重狭窄、瘘、穿孔、大出血或合并及不能排除食管肿瘤者, 应予积极手术治疗. 本例患者应用利福平、异烟肼、链霉素治疗, 4 wk后病灶明显缩小, 9 mo后复查胃镜病变基本消失, 继续利福平、异烟肼维持治疗9 mo, 病变无复发.

食管结核较少见, 诊断也较困难, 临床上遇到胸骨后疼痛、吞咽困难等症状的患者, 尤其是抑酸药治疗无效的患者, 除了考虑食管克罗恩病、食管癌、白塞氏病外, 要考虑食管结核的可能, 及时给予有效治疗.

3 参考文献

1 彭志红, 唐波, 彭贵勇, 房殿春. 食道结核1例. 第三军医大学学报 2006; 28: 159
2 Park JH, Kim SU, Sohn JW, Chung IK, Jung MK, Jeon SW, Kim SK. Endoscopic findings and clinical features of esophageal tuberculosis. *Scand J Gastroenterol* 2010; 45: 1269-1272 [PMID: 20568972 doi: 10.3109/00365521.2010.501524]
3 周丽雅, 闫秀娥. 少见食道疾病的诊治. 中国实用内科杂志 2010; 30: 691-693
4 李宁燕, 何慧萍, 汪雪琦, 王银礼. 367例食管癌胃镜诊断及病理分析. 实用诊断与治疗杂志 2004; 18: 554
5 Ebach DR, Vanderheyden AD, Ellison JM, Jensen CS. Lymphocytic esophagitis: a possible manifestation of pediatric upper gastrointestinal Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2011; 17: 45-49 [PMID: 20848529 DOI: 10.1002/ibd.21347]
6 张淑坤, 王建国, 周世英, 张梦岚, 吴彩虹. 肠型白塞氏病临床病例特征分析3例. 世界华人消化杂志 2009; 17: 1689-1692
7 潘慧, 黄晓俊, 金安琴.食道结核二例并文献复习. 中华消化内镜杂志 2013; 30: 408-409
8 Gomes J, Antunes A, Carvalho A, Duarte R. Dysphagia as a manifestation of esophageal tuberculosis: a report of two cases. *J Med Case Rep* 2011; 5: 447 [PMID: 21902828 DOI: 10.1186/1752-1947-5-447]
9 Hadlich E, Galperim B, Rizzon CF. Esophageal ulcers caused by reactivation of ganglionary tuberculosis: a case report. *Braz J Infect Dis* 2007; 11: 293-296 [PMID: 17625781 DOI: 10.1590/S1413-86702007000200026]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年4月8日; 22(10): Ⅰ-Ⅴ
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

《世界华人消化杂志》投稿须知

《世界华人消化杂志》为保证期刊的学术质量, 对所有来稿均进行同行评议, 是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》收录的学术期刊.

1 投稿总则

1.1 性质 《世界华人消化杂志(*World Chinese Journal of Digestology*, *WCJD*, ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569)》是一份同行评议和开放获取期刊(Open Access Journal, OAJ), 创始于1993-01-15, 旬刊, 每月8、18和28号出版. 《世界华人消化杂志》编辑委员会成员, 由483位专家组成, 分布在30个省市、自治区和特别行政区.

《世界华人消化杂志》的首要任务是出版胃肠病学, 肝病学, 消化系内镜学, 消化系外科学, 消化系肿瘤学, 消化系影像学, 消化系介入治疗, 消化系病理学, 消化系感染学, 消化系药理学, 消化系病理生理学, 消化系病理学, 消化系循证医学, 消化系管理学, 胰腺病学, 消化系检验医学, 消化系分子生物学, 消化系免疫学, 消化系微生物学, 消化系遗传学, 消化系转化医学, 消化系诊断学, 消化系治疗学和糖尿病等领域的原始创新性文章, 综述文章和评论性的文章. 最终目的是出版高质量的文章, 提高期刊的学术质量, 使之成为指导本领域胃肠病学和肝病学实践的重要学术性期刊, 提高消化系疾病的诊断和治疗水平.

《世界华人消化杂志》由百世登出版集团有限公司(Baishideng Publishing Group, BPG)主办和出版的一份印刷版, 电子版和网络版三种版本的学术类核心期刊, 由北京百世登生物医学科技有限公司生产制作, 所刊载的全部文章存储在《世界华人消化杂志》网站上. OAJ最大的优点是出版快捷, 一次性缴纳出版费, 不受版面和彩色图片限制, 作者文章在更大的空间内得到传播, 全球读者免费获取全文PDF版本, 网络版本和电子期刊. 论文出版后, 作者可获得高质量PDF, 包括封面、编委会成员名单、目次、正文和封底, 作为稿酬, 样刊两本. BPG拥有专业的编辑团队, 涵盖科学编辑、语言编辑和电子编辑.目前编辑和出版42种临床医学OAJ期刊, 其中英文版41种, 具备国际一流的编辑与出版水平.

《世界华人消化杂志》被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》, 《Chemical Abstracts》, 《EMBASE/Excerpta Medica》, 《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录. 《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号. 《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学研究领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊.

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

2 撰稿要求

2.1 总体标准 文稿撰写应遵照国家标准GB7713科学技术报告、学位论文和学术论文的编写格式, GB6447文摘编写规则, GB7714文后参考文献著录规则, GB/T 3179科学技术期刊编排格式等要求; 同时遵照国际医学期刊编辑委员会(International Committee of Medical Journal Editors)制定的《生物医学期刊投稿的统一要求(第5版)》(Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals). 见: *Ann Intern Med* 1997; 126: 36-47.

2.2 名词术语 应标准化, 前后统一, 如原词过长且多次出现者, 可于首次出现时写出全称加括号内注简称, 以后直接用简称. 医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准, 药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准, 国家食品药品监督管理局批准的新药, 采用批准的药名; 创新性新药, 请参照我国药典委员会的“命名原则”, 新译名词应附外文. 公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称), 如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD50, HBsAg, HCV

《世界华人消化杂志》英文摘要被《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录.

RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等. 为减少排印错误, 外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上. 中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者, 直接采用原有英语词, 如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词, 如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者, 宜用汉语拼音, 如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤). 通常应小写.

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

2.4 计量单位 采用国际单位制并遵照有关国家标准, GB3100-3102-93量和单位. 原来的“分子量”应改为物质的相对分子质量. 如 30 kD改为M_r 30 000或30 kDa(M大写斜体, r小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即A_r(A大写斜体, r小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u(小写正体). 计量单位在+、－及-后列出. 在±前后均要列出, 如37.6 ℃±1.2 ℃, 45.6岁±24岁, 56.4 d±0.5 d. 3.56±0.27 pg/ml应为3.56 ng/L±0.27 ng/L. BP用kPa(mmHg), RBC数用1×10^{12}/L, WBC数用1×10^{9}/L, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L. M_r明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示. 1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸. 长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm×6 cm×4 cm. 生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO_2结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L. 年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁. 例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把1×10^{-3} g与5×10^{-7} g之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm. 国际代号不用于无数字的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d. 在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg•d), 且在整篇文章内应统一. 单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs. 半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L乙醇; 5% CO_2, 50 mL/L CO_2; 1∶1 000肾上腺素, 1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg, 改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm = 45×10^{-6}; 离心的旋转频率(原称转速)用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示.

2.5 统计学符号 (1)*t*检验用小写*t*; (2)*F*检验用英文大写*F*; (3)卡方检验用希文小写χ^2; (4)样本的

相关系数用英文小写r; (5)自由度用希文小写υ; (6)样本数用英文小写n; (7)概率用英文斜体大写P. 在统计学处理中在文字叙述时平均数±标准差表示为mean±SD, 平均数±标准误为mean±SE. 统计学显著性用$^{a}P<0.05$, $^{b}P<0.01$($P>0.05$不注). 如同一表中另有一套P值, 则$^{c}P<0.05$, $^{d}P<0.01$; 第三套为$^{e}P<0.05$, $^{f}P<0.01$等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字, 如1 000-1 500 kg, 3.5 mmol/L±0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6 347意指6 000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的mean±SD应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3 614.5 g±420.8 g, SD的1/3达一百多g, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6 kg±0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm±0.27 cm, 其SD/3 = 0.09 cm, 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位. 有效位数以后的数字是无效的, 应该舍. 末尾数字, 小于5则舍, 大于5则进, 如恰等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 末尾时只可1次完成, 不得多次完成. 例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该23.48→23.5→24. 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写. 如1985年4月12日, 可写作1985-04-12; 1985年4月, 写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止, 写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止, 写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30. 百分数的有效位数根据分母来定: 分母≤100, 百分数到个位; 101≤分母≤1 000, 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1 486 800.475 65. 完整的阿拉伯数字不移行!

2.7 标点符号 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律用逗号分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末. 标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU. 外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体.

3 稿件格式

3.1 题名 简明确切地反映论文的特定内容, 鲜明而有特色, 阿拉伯数字不宜开头, 不用副题名, 一般20个字. 避免用“的研究”或“的观察”等非特定词.

3.2 作者 论文作者的署名，按照国际医学杂志编辑委员会(ICMJE, International Committee of Medical Journal Editors)作者资格标准执行. 作者标准为: (1)对研究的理念和设计、数据的获得、分析和解读做出重大贡献; (2)起草文章, 并对文章的重要的知识内容进行批评性修改; (3)接受对准备发表文章的最后一稿. 作者应符合条件1, 2, 3, 对研究工作有贡献的其他人可放入志谢中. 作者署名的次序按贡献大小排列, 多作者时姓名间用逗号, 如是单名, 则在姓与名之间空1格(正文和参考文献中不空格). 《世界华人消化杂志》要求所有署名人写清楚自己对文章的贡献. 世界华人消化杂志不设置共同第一作者和共同通信作者.

3.3 单位 作者后写单位的全称空1格后再写省市及邮政编码. 格式如: 张旭晨, 梅立新, 承德医学院病理教研室 河北省承德市 067000

3.4 第一作者简介 格式如: 张旭晨, 1994年北京中医药大学硕士, 讲师. 主要从事消化系统疾病的病理研究.

3.5 作者贡献分布 格式如: 陈湘川与庞丽娟对此文所作贡献两均等; 此课题由陈湘川、庞丽娟、陈玲、杨兰、张金芳、齐妍及李洪安设计; 研究过程由陈玲、杨兰、张金芳、蒋金芳、杨磊、李锋及曹秀峰操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由曹秀峰提供; 数据分析由陈湘川、杨兰及庞丽娟完成; 本论文写作由陈湘川、庞丽娟及李洪安完成.

3.6 同行评议者 为了确保刊出文章的质量, 本刊即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名, 职称, 机构的名称与文章一同在脚注出版. 格式如: 房静远, 教授, 上海交通大学医学院附属医院仁济医院, 上海市消化疾病研究所.

《世界华人消化杂志》编辑部, 100025, 北京市朝阳区, 东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893, Email: wcjd@wjgnet.com; http://www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》自2006-01-01起改为旬刊发行, 每月8、18、28日出版.

3.7 基金资助项目 格式如: 国家自然科学基金资助项目, No. 30224801

3.8 通讯作者 格式如: 通讯作者: 黄缘, 教授, 330006, 江西省南昌市民德路1号, 南昌大学第二附属医院消化内科, 江西省分子医学重点实验室. huang9815@yahoo.com

电话: 0351-4078656 传真: 0351-4086337

收稿日期: 修回日期:

3.9 英文摘要

题名 文章的题名应言简意赅, 方便检索, 英文题名以不超过10个实词为宜, 应与中文题名一致.

作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名, 后姓; 首字母大写, 双名之间用半字线“-”分开, 多作者时姓名间加逗号. 格式如: “潘伯荣”的汉语拼写法为“Bo-Rong Pan”.

单位 先写作者, 后写单位的全称及省市邮政编码. 例如: Xu-Chen Zhang, Li-Xin Mei, Department of Pathology, Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China

基金资助项目 格式如: Supported by National Natural Science Foundation of China, No.30224801

通讯作者 格式如: Correspondence to: Dr. Lian-Sheng Ma, Taiyuan Research and Treatment Center for Digestive Diseases, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China. wcjd@wjgnet.com

收稿及修回日期 格式如: Received: Revised:

摘要 包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致.

3.10 中文摘要 必须在300字左右, 内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的), 方法(必须包括材料或对象. 应描述课题的基本设计, 双盲、单盲还是开放性, 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度. 研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征. 如研究对象是患者, 应阐明其临床表现, 诊断标准. 如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不良反应而中途停止研究), 结果(应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确、具体, 所列数据经用何种统计学方法处理; 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值; 概率写*P*, 后应写出相应显著性检验值), 结论(全文总结, 准确无误的观点及价值).

3.11 正文标题层次 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献. 序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文. 正文内序号连排用(1), (2), (3). 以下逐条陈述.

0 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系.

1 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验. 对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可.

2 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论.

3 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾.

图表的数量要精选. 表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容. 表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出. 图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出. 同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述. 如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化. A: …; B: …; C: …; D: …; E: …; F: …; G: …. 曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号. 统计学显著性用: $^{a}P<0.05$, $^{b}P<0.01$($P>0.05$不注). 如同一表中另有一套*P*值, 则$^{c}P<0.05$, $^{d}P<0.01$; 第3套为$^{e}P<0.05$, $^{f}P<0.01$. *P*值后注明何种检验及其具体数字, 如$P<0.01$, $t = 4.56$ *vs* 对照组等, 注在表的左下方. 表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐. “空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等. 表图勿与正文内容重复. 表图的标目尽量用*t*/min, *c*/(mol/L), *p*/kPa, *V*/mL, *t*/℃表达.

志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐.

4 参考文献 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序. 提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码. 文中如列作者姓名, 则需在“Pang等”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在该论述的句末右上

角注码号. 如马连生[1]报告……, 潘伯荣等[2-5]认为……; PCR方法敏感性高[6-7]. 文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]. 所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed,《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献. 期刊: 序号, 作者(列出全体作者). 文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID和DOI编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部),书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页.

5 网络版的发表前链接 本刊即将开始实行网络版的每篇文章上都有该文发表前纪录的链接, 包括首次提交的稿件, 同行评议人报告, 作者给审稿人回信和作者修回稿, 以PDF格式上传. 读者可以针对论文、审稿意见和作者的修改情况发表意见, 指出问题与不足; 作者也可以随时修改完善自己发表的论文, 使文章的发表成为一个编者、同行评议者、读者、作者互动的动态过程.

4 写作格式实例

4.1 述评写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/sp.asp

4.2 研究原著写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjyz.asp

4.3 焦点论坛写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/jdlt.asp

4.4 文献综述写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/wxzs.asp

4.5 研究快报写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjkb.asp

4.6 临床经验写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/lcjy.asp

4.7 病例报告写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/blbg.asp

5 投稿方式

接受在线投稿, 不接受其他方式的投稿, 如E-mail、打印稿. 在线投稿网址: http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx. 无法在线提交的通过submission@wjgnet.com, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893寻求帮助. 投稿须知下载网址http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.pdf. 审稿过程平均时间需要14-28天. 所有的来稿均经2-3位同行专家严格评审, 2位或以上通过为录用, 否则将退稿或修改后再审.

6 修回稿须知

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

6.2 稿件修改 来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删节时, 本刊编辑部将把退修稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改, 而作者必须于15天内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期寄回, 所造成的问题由作者承担责任.

6.3 版权 本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负. 作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期): 起止页码. 如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有.

《世界华人消化杂志》编辑部

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号

远洋国际中心D座903室

电话: 010-5908-0035

传真: 010-8538-1893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

http: //www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》坚持开放获取(open access, OA)的出版模式, 编辑出版高质量文章, 努力实现编委、作者和读者利益的最大化, 努力推进本学科的繁荣和发展, 向专业化、特色化和品牌化方向迈进.

世界华人消化杂志 2014年4月8日; 22(10): I
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

2014年国内国际会议预告

2014-03-12/15
2014年亚太肝病研究协会肝病周(APASL)
会议地点: 澳大利亚
联系方式: http://apasl2014.com/

2014-04-05/09
2014年美国癌症研究协会大会(AACR)
会议地点: 美国
联系方式: http://www.aacr.org/home/scientists/meetings--workshops/meetings--workshops-calendar.aspx

2014-04-09/13
2014年第49届欧洲肝病研究协年会(EASL)
会议地点: 英国
联系方式: http://www.easl.eu/_the-international-liver-congress/general-information

2014-04-18/05-20
2014中国超声医学学术大会
会议地点: 北京市
联系方式: http://www.cuda.org.cn/new/meeting

2014-04-26/27
中华医学会临床药学分会2014年全国学术会议
会议地点: 成都市
联系方式: http://www.cncscp.org/

2014-05-04/06
2014年美国消化疾病周(DDW)
会议地点: 美国
联系方式: http://www.ddw.org/attendees/faqs

2014-05-16/18
2014第七届世界癌症大会
会议地点: 南京市
联系方式: http://www.bitlifesciences.com/cancer2014/cn/meeting.asp

2014-05-23/24
第六届药源性疾病与安全用药中国论坛-消化系统与肝病药物专题研讨会
会议地点: 北京市
联系方式: adrhuiyi@126.com

2014-05-30/06-03
2014年美国临床肿瘤协会年会(ASCO)
会议地点: 美国
联系方式: http://www.asco.org/meetings/calendar-events

2014-06-04/07
2014年第20届国际肝移植协会年会(ILTS)
会议地点: 英国
联系方式: http://www.ilts.org/meetings/

2014-06-09/12
2014年第47届欧洲儿科胃肠病, 肝病和营养学协会大会(ESPGHAN)
会议地点: 以色列
联系方式: http://www.espghan2014.org/

2014-06-18/21
2014年欧洲胃肠与腹部放射学协会肝部成像研讨会(ESGAR)
会议地点: 奥地利
联系方式: http://www.esgar.org/files/File/ESGAR14

2014-06-25/28
2014年世界胃肠癌大会(WGIC)
会议地点: 西班牙
联系方式: http://worldgicancer.com/WCGI

2014-06-25/28
2014年第14届欧洲内窥镜手术协会国际大会(EAES)
会议地点: 法国
联系方式: hdimcs@163.com

2014-06-27/28
2014中华医学会肝病与代谢学术研讨会
会议地点: 上海市
联系方式: lilyjia@163.com

2014-07-26/31
2014年世界移植大会
会议地点: 美国
联系方式: http://www.wtc2014.org/

2014-07-28/30
第3届国际肠胃病学与泌尿学大会
会议地点: 美国
联系方式: http://www.omicsgroup.com/gastroenterology-urology-conference-2014/registration.php

2014-09-05/07
2014年第8届国际肝癌协会大会(ILCA)
会议地点: 日本
联系方式: http://www.ilca2014.org/

2014-09-26/30
2014年欧洲临床肿瘤协会年会(ESMO)
会议地点: 西班牙
联系方式: http://www.esmo.org/

2014-10-18/22
2014年第22届欧洲联合胃肠病学周(UEG)
会议地点: 奥地利
联系方式: http://www.ueg.eu/week/past-future/future-ueg-week/

世界华人消化杂志 2014年4月8日; 22(10): I
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

• 志谢 •

志谢世界华人消化杂志编委

本期文章审稿中(包括退稿), 我刊编委付出了宝贵的时间和大量的精力, 提高了《世界华人消化杂志》的学术质量, 在此表示衷心感谢!

白爱平 副教授
江西省南昌大学第一附属医院消化病研究所

蔡开琳 副教授
华中科技大学同济医学院附属协和医院普通外科

陈国凤 主任医师
中国人民解放军第302医院感染七科

陈国忠 主任医师
广西中医学院第一附属医院消化内科

陈积圣 教授
中山大学孙逸仙纪念医院肝胆外科

戴朝六 教授
中国医科大学第二临床学院(盛京医院)肝胆外科

董蕾 教授
西安交通大学第二附属医院消化内科

樊晓明 教授
复旦大学附属金山医院消化科

傅晓辉 副教授
东方肝胆外科医院

甘华田 教授
四川大学华西医院老年消化内科

葛海燕 教授
同济大学附属第十人民医院普通外科

巩鹏 教授
大连医科大学附属第一医院普外二科

何松 教授
重庆医科大学附属第二医院消化内科

黄颖秋 教授
本溪钢铁(集团)总医院消化内科

蒋敬庭 教授
常州市第一人民医院(苏州大学附属第三医院)肿瘤生物诊疗中心

李刚 教授
北京大学医学部生物化学与分子生物学系

李康 教授
广东药学院药科学院药物分析教研室

李宗芳 教授
西安交通大学医学院第二附属医院

李正荣 副教授
南昌大学附属第一医院胃肠外科(普六病区)

刘正稳 教授
西安交通大学医学院第一附属医院

卢宁 副主任医师
中国人民解放军兰州军区乌鲁木齐总医院肿瘤科

茅爱武 教授
上海同仁医院介入中心

潘阳林 副主任医师
中国人民解放军第四军医大学西京医院消化病医院消化六科

唐文富 副教授
四川大学华西医院中西医结合科

魏睦新 教授
江苏省南京市,南京医科大学第一附属医院

肖恩华 教授
中南大学湘雅二医院放射教研室

许玲 教授
上海中医药大学附属龙华医院肿瘤科

许剑民 教授
上海市复旦大学附属中山医院普外科

杨家和 教授
中国人民解放军第二军医大学附属东方肝胆外科医院综合治疗三科

于珮 主任医师
天津医科大学代谢病医院

赵春玲 副教授
潍坊医学院细胞生物学教研室

周南进 研究员
江西省医学科学研究所

世界华人消化杂志
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

《中文核心期刊要目总览》收录证书

《中文核心期刊要目总览》入编通知

尊敬的主编先生/女士：

我们谨此郑重通知：依据文献计量学的原理和方法，经研究人员对相关文献的检索、统计和分析，以及学科专家评审，贵刊《**世界华人消化杂志**》入编《中文核心期刊要目总览》2011 年版（即第六版）之 **临床医学/特种医学类** 的核心期刊。该书由北京大学出版社出版。书中按《中国图书馆分类法》的学科体系，列出了 73 个学科的核心期刊表，并逐一对核心期刊进行了著录。著录项目包括：题名、并列题名、主办单位、创刊时间、出版周期、学科分类号、ISSN 号、CN 号、邮发代号、编辑部地址、邮政编码、电话、网址、电子邮箱、内容简介等。

评选核心期刊的工作，是运用科学方法对各种刊物在一定时期内所刊载论文的学术水平和学术影响力进行综合评价的一种科研活动，研究工作量浩大。北京地区十几所高校图书馆、中国科学院国家科学图书馆、中国社会科学院文献信息中心、中国人民大学书报资料中心、中国学术期刊（光盘版）电子杂志社、中国科学技术信息研究所、北京万方数据股份有限公司、国家图书馆等相关单位的百余名专家和期刊工作者参加了研究。

课题组对核心期刊的评价理论、评价方法等问题进行了深入研究，进一步改进了核心期刊评价方法，使之更趋科学合理，力求使评价结果符合客观实际。对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被索量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web 下载量等 9 个评价指标，选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到 60 余种，统计到的文献数量共计 221177 余万篇次，涉及期刊 14400 余种。参加核心期刊评审的学科专家达 8200 多位。经过定量筛选和专家定性评审，从我国正在出版的中文期刊中评选出 1982 种核心期刊。

需要特别指出的是，该研究成果只是一种参考工具书，主要是为图书情报界、出版界等需要对期刊进行评价的用户提供参考，例如为各图书情报部门的中文期刊采购和读者导读服务提供参考帮助等，不应作为评价标准。谨此说明。

顺颂

撰安

《中文核心期刊要目总览》2011 年版编委会

代章：

2012 年 1 月





百世登

Baishideng®

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



ISSN 1009-3079



© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

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

世界华人消化杂志®

WORLD CHINESE JOURNAL OF DIGESTOLOGY

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2014 年 4 月 18 日　　第 22 卷　　第 11 期　(Volume 22 Number 11)



11/2014

ISSN 1009-3079
11>
9 771009 307056

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

世界华人消化杂志　www.wjgnet.com　二零一四年四月十八日　第二十二卷　第十一期

世界华人消化杂志®

编辑委员会

2012-01-01/2014-12-31

wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

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

总顾问

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

名誉主编

潘伯荣教授

主编

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

编委

消化内科学

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

消化外科学

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

世界华人消化杂志®

编辑委员会

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

消化感染病学

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

消化中医药学

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

消化肿瘤学

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

消化影像学

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

消化内镜及介入治疗学

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

消化中西医结合学

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

消化基础研究

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

消化病理学

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

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目　次 ●　2014 年 4 月 18 日　第 22 卷　第 11 期　(总第451期)

述　评

1487 甲胎蛋白的分子结构及生物学功能
王珊珊, 李慧, 李刚

基础研究

1495 Sp3表达下调后肝癌细胞株HepG2基因表达谱的变化
黄兰姗, 李海荣, 陈罡, 陆会平, 李佳, 冯振博

1504 MiR-130a靶向调控*CYLD*基因及其对肝癌细胞增殖的影响
倪芳, 赵华, 汪心怡, 陈卓, 汪思应

1510 黄芩苷减轻大鼠肠缺血再灌注损伤及对Nrf2、HO-1表达的影响
程风春, 耿磊, 李丽, 刘希杰, 郑步峰, 冯文玉, 张兴元, 傅廷亮

临床研究

1518 肝细胞癌患者血浆CDK5测定的临床意义
吴晨, 杨玉秀, 白阳秋, 张立达

文献综述

1525 肠内营养的研究进展
孙晋洁, 徐旭娟

研究快报

1531 胃癌细胞的无血清悬浮培养与初步鉴定
吴丽霞, 王绪明, 张尚昆, 刘丽江

1537 雌激素在衣霉素诱导的内质网应激调控胃癌细胞侵袭力中的作用及机制
付政祺, 邹丰, 李艳, 刘丽江

1542 薏苡附子败酱散对TNBS结肠炎模型大鼠Treg/Th17的影响
张双喜, 史仁杰

临床经验

1547 急性非静脉曲张性上消化道出血内镜下治疗失败的危险因素
梁冬红, 车筑平, 许良璧

1552 超声内镜在消化系隆起性病变诊断中的价值及误诊
陈明锴, 刘云燕, 丁百静, 李生, 戴敏, 何千榆

1559 食管、贲门癌切除胃食管吻合口处理方法的临床对比
李鑫, 张海平, 张力为, 伊力亚尔•夏合丁, 张铸, 伊地力斯•阿吾提

1564 血浆内脏脂肪素与非酒精性脂肪性肝病患者内脏脂肪厚度的关系
蔡怀阳, 李运泽, 李莉, 涂强

1569 聚乙二醇干扰素α-2b治疗慢性乙型肝炎的疗效
董格峰, 孙玉秋, 李程, 解双双

1574 慢性丙型肝炎患者外周血髓系来源抑制细胞增加与病毒复制的相关性
金磊, 张学秀, 曾庆磊, 冯国华, 张纪元, 陈黎明, 徐向升, 张政, 王福生

1581 MiRNA-146a rs2910164单核苷酸多态性与肝癌易感性的Meta分析
胡蓉蓉, 刘海燕

1587 超声检测肝癌血流分级及其与HIF-1α、MVD表达的关系
张璟卓, 刘颖, 马艳艳

1592 百令胶囊治疗慢性肾炎蛋白尿(肝肾阴虚型)的临床疗效
景照峰, 刘剑, 胡蓉, 晏家华, 罗敏

1597 EPLBD不同扩张时间治疗胆总管结石的效果
孙娟娟, 鞠辉, 毛涛, 孙学国, 孔心涓, 赵清喜, 田宇彬

1602 清肺承气颗粒对早期重症急性胰腺炎的影响
李静, 傅强, 祁蕾, 杜超, 余杨梓

1607 脾梗死临床特点分析137例
李一鸣, 赵娇, 刘娟, 叶梅

1612 早期肠内营养及护理支持对危重症脑血管疾病并发症的治疗作用
仲桂英, 李源化, 马丽萍, 黄成萍

1616 双气囊小肠镜诊断小肠疾病的十年回顾性分析
汪妹君, 毛高平, 唐杰, 宁守斌, 金晓维, 朱鸣

1622 MiR-124在克罗恩病中的表达及其靶基因的确定
陈玮煦, 任丽华, 施瑞华

	1628 血卵泡抑素样蛋白1、C反应蛋白和D-二聚体联合检测在溃疡性结肠炎早期诊断的价值 夏晓寒, 黄丁
附　　录	Ⅰ-Ⅴ 《世界华人消化杂志》投稿须知 Ⅰ 2014年国内国际会议预告
志　　谢	Ⅰ 志谢世界华人消化杂志编委
消　　息	1509 中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》影响因子0.873 1530 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊 1558 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费 1580 《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号 1611 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版) 1627 《世界华人消化杂志》参考文献要求
封面故事	《世界华人消化杂志》编委, 李刚, 教授, 100191, 北京市, 北京大学医学部基础医学院生物化学与分子生物学系
本期责任人	编务 李香; 送审编辑 鲁亚静, 郭鹏; 组版编辑 鲁亚静; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 郭鹏; 形式规范审核编辑部主任 田滢; 最终清样审核总编 马连生

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平　题写封面刊名
陈可冀　题写版权刊名

(旬刊)

创　刊 1993-01-15
改　刊 1998-01-25
出　版 2014-04-18
原刊名 新消化病学杂志

期刊名称
世界华人消化杂志

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

主编
程英升, 教授, 200233, 上海市, 上海交通大学附属第六人民医院放射科
党双锁, 教授, 710004, 陕西省西安市, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科
江学良, 教授, 250031, 山东省济南市, 中国人民解放军济南军区总医院消化科
刘连新, 教授, 150001, 黑龙江省哈尔滨市, 哈尔滨医科大学第一临床医学院普外科
刘占举, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院消化内科
吕宾, 教授, 310006, 浙江省杭州市, 浙江中医药大学附属医院(浙江省中医院)消化科
马大烈, 教授, 200433, 上海市, 中国人民解放军第二军医大学附属长海医院病理科
王俊平, 教授, 030001, 山西省太原市, 山西省人民医院消化科
王小众, 教授, 350001, 福建省福州市, 福建医科大学附属协和医院消化内科
姚登福, 教授, 226001, 江苏省南通市, 南通大学附属医院临床医学研究中心
张宗明, 教授, 100016, 北京市, 清华大学第一附属医院消化医学中心

编辑部
田滢, 主任
《世界华人消化杂志》编辑部
100025, 北京市朝阳区东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室
电话: 010-59080035　手机: 13901166126
传真: 010-85381893
E-mail: wcjd@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com

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

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

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

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

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

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

定价
每期90.67元 全年36期3264.00元

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

World Chinese Journal of Digestology

April 2014 Contents in Brief Volume 22 Number 11

EDITORIAL

1487 Molecular structure and biological function of alpha-fetoprotein
Wang SS, Li H, Li G

BASIC RESEARCH

1495 Alteration of gene expression profile in hepatocellular carcinoma HepG2 cells with Sp3 downregulation
Huang LS, Li HR, Chen G, Lu HP, Li J, Feng ZB

1504 MicroRNA-130a targets CYLD to regulate cell proliferation in hepatocellular carcinoma
Ni F, Zhao H, Wang XY, Chen Z, Wang SY

1510 Baicalin attenuates intestinal ischemia/reperfusion injury and alters intestinal expression of Nrf2 and HO-1 in rats
Cheng FC, Geng L, Li L, Liu XJ, Zheng BF, Feng WY, Zhang XY, Fu TL

CLINICAL RESEARCH

1518 Clinical significance of detection of plasma CDK5 in patients with hepatocellular carcinoma
Wu C, Yang YX, Bai YQ, Zhang LD

REVIEW

1525 Advances in enteral nutrition research
Sun JJ, Xu XJ

RAPID COMMUNICATION

1531 Serum-free culture and preliminary identification of gastric cancer cells
Wu LX, Wang XM, Zhang SK, Liu LJ

1537 Involvement of estrogen in gastric cancer cell invasion regulated by tunicamycin induced-endoplasmic reticulum stress
Fu ZQ, Zou F, Li Y, Liu LJ

1542 Effect of Yiyi Fuzi Baijiang powder on Treg/Th17 in rats with TNBS-induced colitis
Zhang SX, Shi RJ

CLINICAL PRACTICE

1547 Risk factors associated with failure of endoscopic therapy for acute non-variceal upper gastrointestinal bleeding
Liang DH, Che ZP, Xu LB

1552 Diagnostic value of endoscopic ultrasonography in detection of gastrointestinal protuberant lesions and reasons for misdiagnosis
Chen MK, Liu YY, Ding BJ, Li S, Dai M, He QY

1559 Clinical analysis of embedding treatment for gastroesophageal anastomotic stoma during resection of esophageal and esophagogastric junction cancer
Li X, Zhang HP, Zhang LW, Ilyar•Sheyhidin, Zhang Z, Idiris•Awut

1564 Relationship between plasma visfatin and visceral fat thickness measured by ultrasonography in nonalcoholic fatty liver disease
Cai HY, Li YZ, Li L, Tu Q

1569 Efficacy of pegylated interferon α-2b in treatment of chronic hepatitis B
Dong GF, Sun YQ, Li C, Xie SS

1574 Increased myeloid-derived suppressor cells correlate with viral persistence in patients with chronic hepatitis C
Jin L, Zhang XX, Zeng QL, Feng GH, Zhang JY, Chen LM, Xu XS, Zhang Z, Wang FS

1581 Association between rs2910164, a single nucleotide polymorphism in miRNA-146a, and susceptibility to hepatocellular carcinoma: A Meta-analysis
Hu RR, Liu HY

1587 Relationship between blood flow assessed by ultrasound, MVD and expression of HIF-1α in hepatocellular carcinoma
Zhang JZ, Liu Y, Ma YY

1592 Bailing capsules for treatment of proteinuria in patients with chronic nephritis (liver and kidney Yin deficiency)
Jing ZF, Liu J, Hu R, Yan JH, Luo M

1597 Endoscopic papillary large balloon dilation after endoscopic sphincterotomy for treatment of common bile duct stones: Effects of different dilation durations
Sun JJ, Ju H, Mao T, Sun XG, Kong XJ, Zhao QX, Tian ZB

1602 Effect of Qingfei Chengqi granules on immune response in patients with early severe acute pancreatitis
Li J, Fu Q, Qi L, Du C, Yu YZ

1607 Splenic infarction: Analysis of 137 cases
Li YM, Zhao J, Liu J, Ye M

1612 Early enteral nutrition and nursing care for prevention of complications of severe cerebrovascular diseases
Zhong GY, Li YH, Ma LP, Huang CP

1616 Double-balloon endoscopy for diagnosis of small intestinal disorders: A systematic review of data over the first decade of use
Wang ZJ, Mao GP, Tang J, Ning SB, Jin XW, Zhu M

1622 Expression of miR-124 in active Crohn's disease and validation of aryl hydrocarbon receptor as its target gene
Chen WX, Ren LH, Shi RH

	1628 Combined detection of serum follistain-like protein 1, C-reactive protein and D-dimer for early diagnosis of ulcerative colitis *Xia XH, Huang D*
APPENDIX	I – V Instructions to authors of *World Chinese Journal of Digestology* I Meeting events calendar in 2014
ACKNOWLEDGMENT	I Acknowledgments to reviewers of *World Chinese Journal of Digestology*
COVER	Editorial Board Member of *World Chinese Journal of Digestology*, Gang Li, Professor, Department of Biochemistry and Molecular Biology, School of Basic Medical Sciences, Peking University Health Science Center, Beijing 100191, China
RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE	Assistant Editor: *Xiang Li* Review Editor: *Ya-Jing Lu, Peng Guo* Electronic Page Editor: *Ya-Jing Lu* English Language Editor: *Tian-Qi Wang* Editor-in-Charge: *Peng Guo* Proof Editor: *Ying Tian* Layout Editor: *Lian-Sheng Ma*

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

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993
Renamed on January 25, 1998
Publication date April 18, 2014

NAME OF JOURNAL
World Chinese Journal of Digestology

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

EDITOR-IN-CHIEF
Ying-Sheng Cheng, Professor, Department of Radiology, Sixth People's Hospital of Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200233, China
Shuang-Suo Dang, Professor, Department of Infectious Diseases, the Second Affiliated Hospital of Medical School of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, Shaanxi Province, China
Xue-Liang Jiang, Professor, Department of Gastroenterology, General Hospital of Jinan Military Command of Chinese PLA, Jinan 250031, Shandong Province, China
Lian-Xin Liu, Professor, Department of General Surgery, the First Clinical Medical College of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China
Zhan-Ju Liu, Professor, Department of Gastroenterology, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China
Bin Lv, Professor, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hang-zhou 310006, Zhejiang Province, China
Da-Lie Ma, Professor, Department of Pathology, Changhai Hospital, the Second Military Medical University of Chinese PLA, Shanghai 200433, China
Jun-Ping Wang, Professor, Department of Gastroenterology, People's Hospital of Shanxi, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China
Xiao-Zhong Wang, Professor, Department of Gastroenterology, Union Hospital, Fujian Medical University, Fuzhou 350001, Fujian Province, China
Deng-Fu Yao, Professor, Clinical Research Center, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China
Zong-Ming Zhang, Professor, Department of General Surgery, Digestive Medical Center, the First Affiliated Hospital, School of Medicine, Tsinghua University, Beijing 100016, China

EDITORIAL OFFICE
Ying Tian, Director
World Chinese Journal of Digestology
Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China
Telephone: +86-10-59080035 13901166126
Fax: +86-10-85381893
E-mail: wcjd@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com

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

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

PRINT SUBSCRIPTION
RMB 90.67 Yuan for each issue
RMB 3264 Yuan for one year

COPYRIGHT
© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved. Articles published by this Open Access journal are distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-commercial License, which permits use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited, the use is non commercial and is otherwise in compliance with the license.

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

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

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2014年4月18日; 22(11): 1487-1494
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

述评 EDITORIAL

甲胎蛋白的分子结构及生物学功能

王珊珊, 李 慧, 李 刚

王珊珊, 李慧, 李刚, 北京大学医学部基础医学院生物化学与分子生物学系 北京市 100191
王珊珊, 北京市肝病研究所 北京市 100069
李刚, 教授, 主要从事基因转录调控方面的研究.
国家自然科学基金资助项目, Nos. 81072710, 81370522
北京市自然科学基金资助项目, No. 7101006
广东省自然科学基金资助项目, No. S2012010010732
深圳市基础研究计划基金资助项目, No. JCYJ20120616153140835
作者贡献分布: 本综述由王珊珊与李慧完成; 李刚审校.
通讯作者: 李刚, 教授, 100191, 北京市海淀区学院路38号, 北京大学医学部基础医学院生物化学与分子生物学系.
ligang55@bjmu.edu.cn
收稿日期: 2013-07-29 修回日期: 2014-01-21
接受日期: 2014-03-19 在线出版日期: 2014-04-18

Molecular structure and biological function of alpha-fetoprotein

Shan-Shan Wang, Hui Li, Gang Li

Shan-Shan Wang, Hui Li, Gang Li, Department of Biochemistry and Molecular Biology, School of Basic Medical Sciences, Peking University Health Science Center, Beijing 100191, China
Shan-Shan Wang, Beijing Institute of Hepatology, Beijing 100069, China
Supported by: the National Natural Science Foundation of China, Nos. 81072710 and 81370522; the Natural Science Foundation of Beijing City, No. 7101006; Guangdong Province Natural Science Foundation, No. S2012010010732; the Shenzhen Research Fund, No. J CYJ20120616153140835
Correspondence to: Gang Li, Professor, Department of Biochemistry and Molecular Biology, School of Basic Medical Sciences, Peking University Health Science Center, 38 Xueyuan Road, Haidian District, Beijing 100191, China. ligang55@bjmu.edu.cn
Received: 2013-07-29 Revised: 2014-01-21
Accepted: 2014-03-19 Published online: 2014-04-18

Abstract

Mammalian alpha-fetoprotein (AFP) as a fetal specific alpha-globulin has long been used as a serum fetal defect/tumor marker for diagnosis and prediction of liver diseases. In the last decade, clinical and basic research data indicated that AFP acts not only as a biomarker but also as an intracellular signal molecule to play multifarious role in the development of hepatocellular carcinoma.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Alpha-fetoprotein; Hepatoma; Gene regulation; Signal molecules

Wang SS, Li H, Li G. Molecular structure and biological function of alpha-fetoprotein. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(11): 1487-1494 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1487.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i11.1487

摘要

甲胎蛋白(alpha-fetoprotein, AFP)是一种胎儿特异性α-球蛋白, 一直以来都被认为是临床诊断胎儿出生缺陷和肝细胞癌的经典肿瘤标志物. 近年来大量的临床统计结果及基础研究证实, AFP不仅仅作为临床的诊断指标, 而在肝细胞癌的发生发展过程中发挥了重要的作用. 近年来研究证实AFP在肝细胞癌中发挥信号分子样作用, 参与调控肝癌细胞的多种生物学进程.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 甲胎蛋白; 肝细胞癌; 基因调控; 信号分子

核心提示: 本文第一次汇总了甲胎蛋白(alpha-fetoprotein, *AFP*)基因的转录调控相关的研究结果, 并全面接受了AFP的各项生物学功能, 尤其是提出了AFP作为信号分子调控肝癌细胞的增殖, 参与肝癌的发生发展过程.

王珊珊, 李慧, 李刚. 甲胎蛋白的分子结构及生物学功能. 世界华人消化杂志 2014; 22(11): 1487-1494 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1487.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i11.1487

0 引言

甲胎蛋白(alpha-fetoprotein, AFP)是肿瘤相关的胚胎特异α-球蛋白, 分子量约为70 kDa. 一直以来, AFP在临床上作为检测胎儿缺陷和肿瘤发生的标志物[1]. 据最新统计, 全世界每年新发肝癌患者约60万例, 而我国的肝癌新发患者数占全球的一半以上, 肝癌已然成为威胁我国人民健康和生命的第一大杀手. 在成人的肝细胞癌中,

■背景资料
甲胎蛋白(alpha-fetoprotein, AFP)是一直以来都被认为是临床诊断胎儿出生缺陷和肝细胞癌的经典肿瘤标志物. 近年来大量研究证实, AFP在肝细胞癌的发生发展过程中发挥了重要的作用, 尤其是促进肝癌细胞的增殖转移等过程, 同时研究证实AFP的水平于患者的预后有着密切的关系. 本文就AFP现有的研究报道, 进行了整体的梳理和汇总.

■同行评议者
刘亮, 副主任医师, 复旦大学胰腺癌研究所, 复旦大学附属肿瘤医院胰腺肝胆外科

■研发前沿
人们对于AFP的研究可以追溯到从20世纪70年代, 目前对于AFP的研究热点主要集中在: (1)*AFP*基因的转录调控; (2)AFP蛋白质发挥作用的分子机制; (3)AFP受体在AFP发挥生物学功能中发挥了什么样的生物学作用. 而研究的重点是: 如何提高AFP作为肝癌标志物的特异性和敏感性以及临床上AFP的应用价值.

表 1 人AFP部分序列可以与多种生长因子及转录相关因子的保守序列相匹配

蛋白质	氨基酸序列号	氨基酸序列	同源性/相似性(%)
生长因子			
Human AFP	447–480	LSEDKLLACGEGAADIIIGHLCIRHEMTPCNPGVG	100/100
Human TGF–β	106–117	LSEDQLLLIQIP	50/8
Human ATV	955–968	LSEQRLLPRGEG	58/17
Human IL–2	1245–1256	IXSIIVGHLGXF	42/8
转录相关因子			
Human AFP	339–362	YSRRHPQLAVSVILRVAKGYQELL	100/100
Human RAR	235–254	FAKRLPGFTXGXXLTIADQXITLL	35/40
Human RXR	346–365	WAKRIPHFSXSXXLPLDDQXVILL	35/35
Human T3R	286–305	FAKKLPMFCXEXXLPCEDQXIILL	20/45
Human ER	360–379	FAKRVPGFVXDXXLTLHDQXVHLL	25/35
转录相关因子			
Human AFP	445–457	LSEDKLLACGEG	100/100
Human Zn–Fg	725–736	LSDHKLLESTCK	45/25
Human Rev–erb	523–535	FSEXKLNALTEE	50/30
Human RAR	307–319	FANQXLLXPLEM	30/40
转录相关因子			
Human AFP	458–470	AADIIIGHLCIR	100/100
Human HGMP	12–21	VAQIIIGHLCIR	83/7
Human Zn–Fg	330–341	AGGTLVGHLCVR	50/25
Human C–Myc	217–226	VOSIIVGHLCWF	50/17
转录相关因子			
Human AFP	471–480	EMTPVNPGVG	100/100
Human TF11D	163–174	PMTPATPGSA	50/20
Human Kid–TS	1145–1154	KSTGANPGVP	50/10
Human Cad–TS	3718–3727	EMTPVLEAII	50/0
Human FTZ–F1	628–637	KPTPISPGYQ	50/30
Human I–Rel TF	528–537	EASPSTPGRQ	40/30

AFP: 甲胎蛋白; TGF: 转化生长因子; IL: 白介素.

约有70%-80%的患者在血清中可以检测到AFP的非正常表达. 据临床统计结果显示, AFP水平的升高与肝癌的恶性程度、药物耐受、患者预后及患者生存率等密切相关[2].

1 AFP的分子结构

人类对甲胎蛋白的研究最早可以追溯到20世纪40年代, 人们发现原发性肝癌患者血清中与人类胎儿血清中有一共同的特殊成分, 并将这种特殊的蛋白成分称为甲种胎儿球蛋白即甲胎蛋白.

截至今日, *AFP*基因的DNA结构已经被全部克隆. *AFP*基因约为20 kbp大小, 由15个内含子和14个外显子组成, 包含590个氨基酸, 其中在N末端有19个氨基酸是信号肽序列[3], AFP蛋白质的分子量约为70 kDa[4]. AFP被归类于白蛋白基因超家族, 这个家族的结构特点为: 由半胱氨基酸残基, 通过二硫键结合, 内折成一个环, 形成一个U形的3级结构域. 这些分子, 通过晶体X-射线结果确定都含有3个结构域(图1)[5].

用GCG(Wisconsin Program)软件对其全序列进行了分析, 结果显示在第3个结构域中, 含有1个异二聚体化的基序, 这个序列中, 连续几个疏水性氨基酸组成的1个亮氨酸拉链样的结构. 分析结果还显示AFP与一些生长因子及核转录因子在序列上也存在一定的匹配性[6]. 这为后续人们研究AFP蛋白质的生物学作用提供了新的思路和方向. 根据文献, 我们总结了并展示了部分AFP的结构分析结果(表1).

2 *AFP*基因的转录调控机制

自从1983年*AFP*基因的DNA全序列被克隆开始, 人们对他的研究从未停止过. 婴儿时期, 基因处于开放状态, 到胎儿出生后, AFP很快处于关闭状态, 直至在肝细胞癌或肝脏良性再生时, AFP

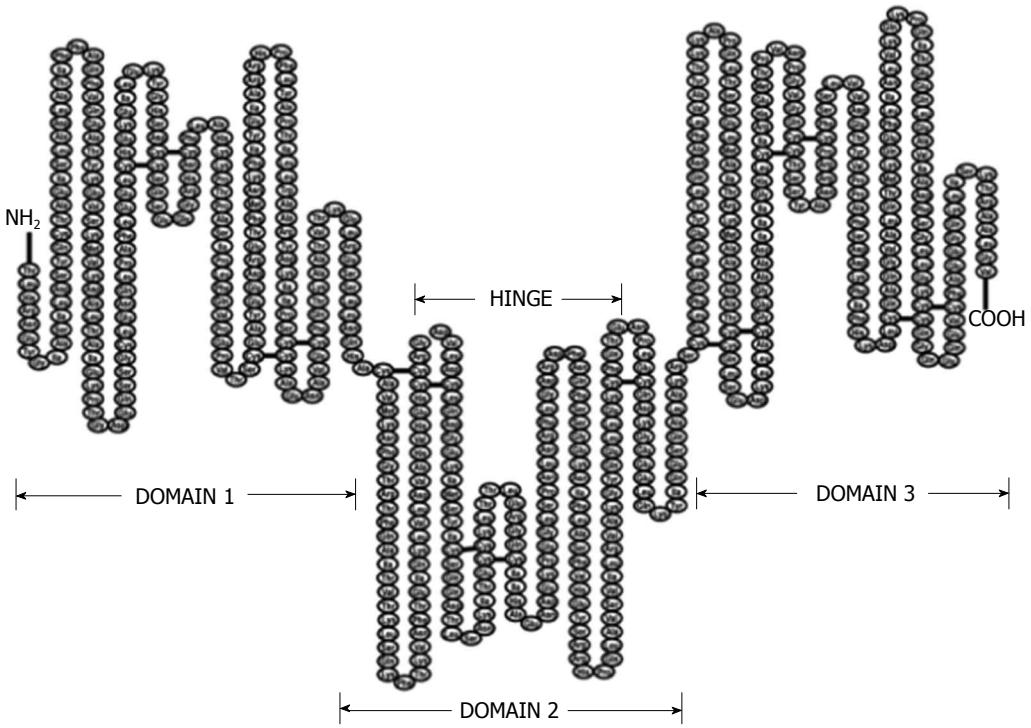


图 1 人AFP蛋白质的氨基酸序列及二级结构示意图. AFP: 甲胎蛋白.

■相关报道
本文主要是整理汇总了有关AFP的研究报道, 为人们深入全面认识AFP提供了一个平台. 在本文中主要的亮点就是集中描述了AFP在胞内的信号分子样作用, 这个概念的提出, 赋予了AFP新的生物学意义, 也为其他肿瘤标志物的研究提供了新的思路.

基因再度处于开放状态, 并在肝细胞癌中发挥了重要的作用, 到底*AFP*基因的转录开放与关闭是如何调控的? 人*AFP*基因的5'-末端是高度保守的, 含有转录因子的特定结合序列[7]. *AFP*基因转录调控主要受控于5'-侧翼的3种调控区域, 即启动子、增强子和沉默子.

2.1 *启动子* *AFP*基因在转录起始位点的上游44 bp处有一个帽子结构, 具有两个AFLU家族(灵长类特有的中度重复序列, 是基因组中最活跃的遗传区域之一). 在帽子序列上游的27 bp处, 还有一个经典的“TATA”盒子结构. *AFP*启动子位于基因上游200 bp的区域, 这个区域里有很多调节*AFP*基因的转录调控因子的结合位点[8]. 其中确定有两个肝细胞核因子1(hepatocyte nuclear factor-1, HNF1)的结合位点, 促进*AFP*基因的转录活性. 此外实验证实, 地塞米松等通过*AFP*基因上游的糖皮质激素反应区域(GRE), 也可以促进*AFP*启动子的活性[9].

有研究证实*AFP*基因的-109 bp发生了G-A点突变, 此位点位于启动子上HNF1、NF1和C/EBP的重叠结合位点内, 而G-A点突变, 使得此序列对HNF1的亲和力增强, 从而促进了AFP转录[10]. 12-O-十四烷酰佛波醋酸酯-13(12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate, TPA)和表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)可以与HNF1结合位点相互作用, 从而协同促进*AFP*基因的转录活性; 而Ras通过*HNF1*抑制基因的转录, 视黄酸可以通过降低HNF1和HNF4的表达, 从而降低AFP的转录水平[11,12].

体外的双荧光素酶报告基因检测系统证明, 启动子的转录活性相对较低, 在的转录活性中, 增强子发挥了很大的作用, 因此增强子的研究在AFP的转录表达中占有了很重要的地位[13,14].

2.2 *增强子* 在*AFP*基因的转录调控区, 目前已经确定有两个增强子[15], 一个远端增强子位于转录起始位点上游的-4.0--3.7 kb处, 近端增强子位于-3.6--3.3 kb处. 已知, 在人AFP远端增强子上已经确定有两个C/EBP结合位点和HNF1、HNF4结合位点各一个. 在近端增强子上确定了3个C/EBP的结合位点和HNF1、HNF3结合位点各一个[5,15].

有报道证实, 这两个增强子具有组织特异性, 在非肝细胞中并不能发挥作用. 实验证明, *AFP*增强子的组织特异性主要是由HNF1的作用引起[16]. 有文献证实*AFP*基因具有高度的保守性, 但在大鼠和小鼠的*AFP*增强子中并未检测到有任何HNF1的结合位点, 因而推测得出, 具有HNF1的结合位点可能是人类*AFP*增强子的一个特征[17].

有报道证实, EGF和12-O-十四烷酰佛波醋

■创新盘点

本文第一次深入全面的解析了AFP蛋白质, 从蛋白质的分子结构, 到*AFP*基因的转录调控机制, 最后到AFP的分子生物学功能及其机制, 都进行了综合的描述. 比其他综述类文章的描述更为全面和详细, 可以快速全面了解AFP.

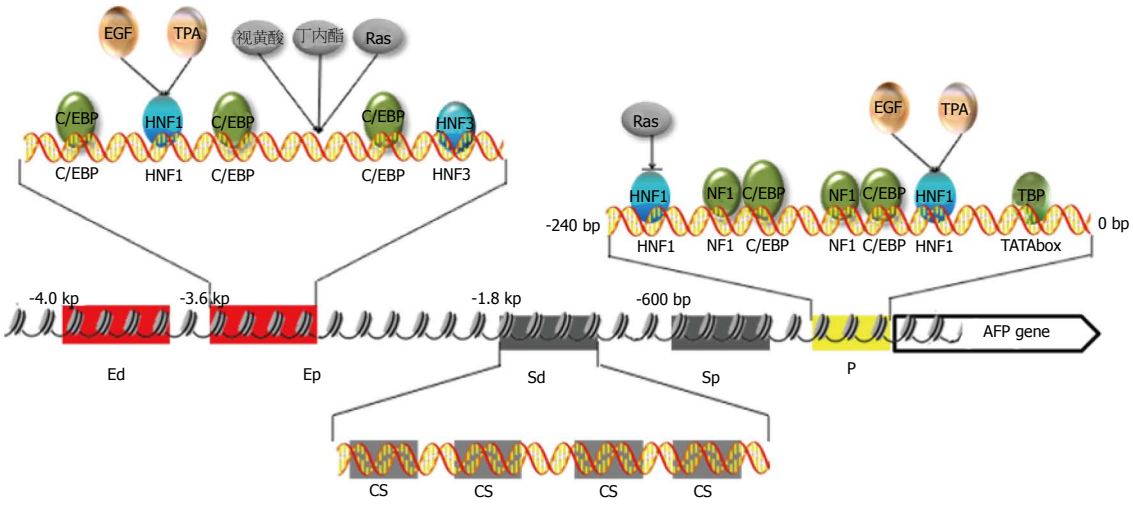


图 2 AFP基因转录调控示意图. Ed: 远端增强子; Ep: 近端增强子; Sd: 远端沉默子; Sp: 近端沉默子; P: 启动子; CS: 保守序列; AFP: 甲胎蛋白.

酸酯-13(TPA)可以通过与增强子上的HNF1的结合位点相互协同促进AFP转录活性. 但Ras对增强子上的HNF1的活性抑制, 相较启动子也更为强烈. 肝素结合表皮生长因子样生长因子(heparin binding epidermal growth factor, HB-EGF)则可以选择性的抑制AFP增强子的活性[18]. 辛伐他丁可以激活*AFP*启动子和增强子的活性, 而视黄酸和丁内酯对增强子来说, 是负调控因素[18-20].

对增强子的研究很多, 但目前并不完全清楚增强子的作用机制, 对于*AFP*增强子的特殊性, 我们还需要进一步的实验证实.

2.3 沉默子 在人AFP的转录调控区, 位于增强子和启动子之间, 存在两个沉默子. 远端沉默子位于转录起始位点的-1.8--1.3 kb处, 近端沉默子位于-400--200 bp处. 众所周知, *AFP*的启动子活性非常弱, 所以AFP的转录活性更多依赖增强子的活性[19]. 研究结果证实AFP的沉默子并不直接抑制启动子的功能, 只是阻止增强子对启动子的增强作用.

有报道称, 远端沉默子对*AFP*基因的调控能力远远大于近端沉默子. 在两个沉默子中, 都存在一个共有序列: 5'-CTTCATAACTA-ATACTT-3', 这个序列在远端沉默子中有4个拷贝, 在近端沉默子中只有1个拷贝[20]. 这个序列高度保守, 可以强烈的抑制AFP的转录活性, 但具体作用机制目前我们还不清楚.

在小鼠体内, 沉默子在胎儿肝脏的活性极其低, 但在成年肝脏中较高. 这提示我们沉默子在抑制AFP表达中发挥了很重要的作用, 沉默子的异常也可以作为重新开启AFP转录活性的关键. 因此对沉默子的研究有助于帮助我们找到AFP活化的关键. 下图展示了*AFP*基因的转录调控机制(图2).

近年来, 人们对于*AFP*基因的转录调控做了大量的研究, 也取得了一定的进展, 但是对于肝癌发生过程中, *AFP*基因的重新激活机制并不明朗, 还需要进一步的研究.

3 AFP的生物学功能

上述我们介绍了AFP的结构及其转录调控机制, 这些为AFP的生物学功能的研究提供了很好的基础, AFP在临床的应用越来越多地被人们所开发. 从开始的胎儿缺陷/肿瘤标志物, 到现在作为患者预后指标. 也可以用作临床治疗肝癌的一个靶分子等.

3.1 AFP在临床上作为肿瘤标志物 AFP是人类发现的第一个具有临床应用价值的肿瘤标志物, 一直以来被认为是诊断原发性肝细胞的重要标志物. 关于AFP的诊断标准, 国际学术界建议将参考值限定在20 ng/mL. 许多学者还将AFP值用来判断患者的预后及治疗效果, 一般认为AFP值高于500 ng/mL, 患者的存活期可能比较短[21]; 手术后AFP值依旧高于200 ng/mL, 表明肝癌组织并未完全切除或存在转移的情况. AFP mRNA水平目前在临床上研究也很多, 实验证实AFP mRNA水平与肝细胞癌的大小及转移情况存在显著的相关性[22-24].

对于AFP蛋白及mRNA在临床上的应用, 人们还在进一步的探索, 如何提高肝细胞癌的诊断以及准确判断患者预后等都还需要人们大量

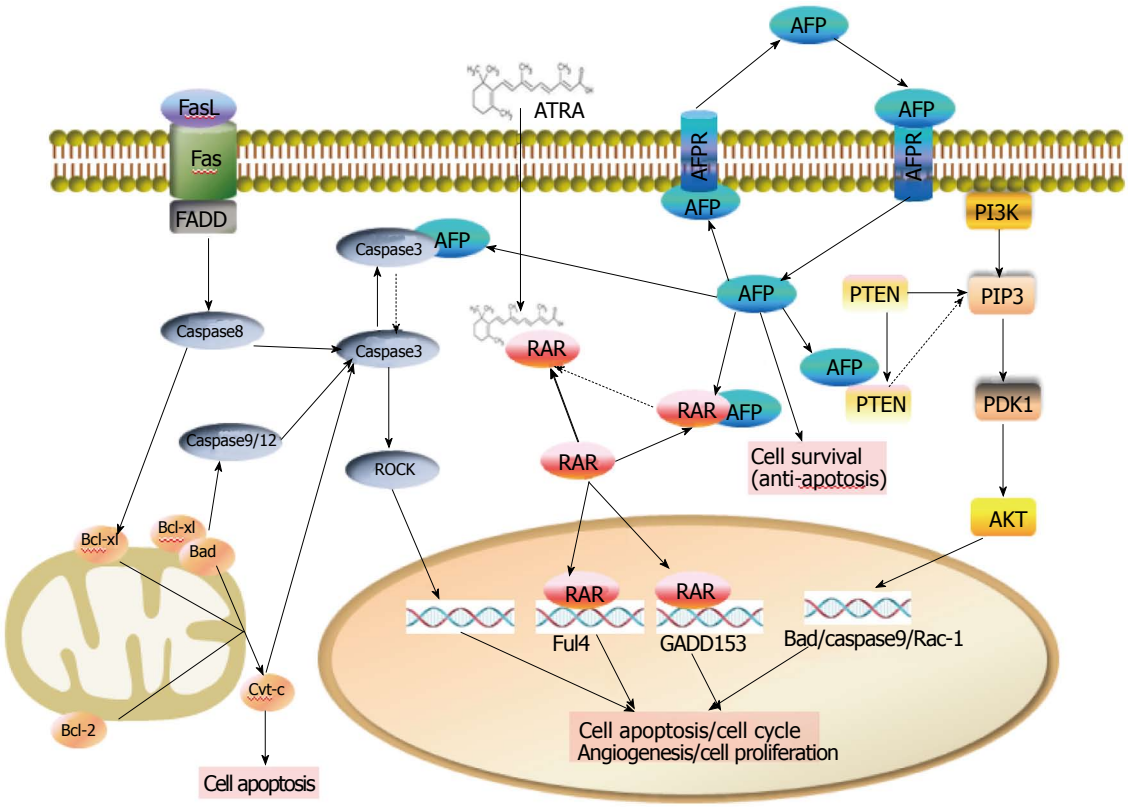


图 3 胞内AFP在肿瘤细胞增殖过程中所发挥作用的示意图. AFP: 甲胎蛋白.

■应用要点

通过本综述, 可以快速全面了解AFP这一分子. 在本文中我们提出了AFP的研究热点及难点, 亟待解决的问题, 为AFP研究者提供了研究方向, 指导人们对于AFP的难点研究, 引导人们更多研究AFP蛋白质的分子机制及其意义, 为临床上治疗肝细胞癌提供更多更好的办法.

的临床统计工作.

3.2 AFP可以作为运输载体 AFP蛋白质归类于白蛋白家族, 所以其部分功能也具有白蛋白家族的共性. 大量的文献报道, AFP具有作为载体结合配体并运输的功能. AFP可以多种配体结合, 主要包括: 脂肪酸类、类固醇类、染料、重金属以及各种药物[25-27]. 最近有报道称, AFP可以和多种抗癌药物结合, 并通过受体介导的胞吞作用选择性的进入肿瘤细胞, 起到靶向高效杀死肿瘤细胞[28,29].

3.3 AFP对免疫抑制功能 AFP是胎儿体内很重要的一个蛋白质分子, 具有免疫抑制功能, 能有效的抑制母体对胎儿的免疫排斥. 在胎儿发育过程中, AFP可以抑制T淋巴细胞介导的细胞毒性, 抑制T细胞的作用, 这可能是胎儿可以逃逸母体免疫排斥的主要原因[30], 但是AFP在肝细胞癌中所发挥的免疫逃逸功能并不是很清楚.

有研究证实AFP在人和小鼠原发性肝细胞癌中, 通过改变$CD4^+$和$CD8^+$等T淋巴细胞亚群的比例, 并导致淋巴细胞死亡, 从而抑制机体的免疫功能. 还有实验报道, AFP可能通过调节肿瘤坏死因子受体、c-Jun及Fas途径, 逃避机体的免疫监视[31]. 近期研究证实, 从人脐带血中分离的AFP作用于肝癌患者的单核细胞, 可以抑制单核细胞转变为成熟的树突细胞(dendritic cell, DC). 由于AFP可以抑制树突细胞的成熟, 因此可以使得肿瘤逃脱了机体的免疫监控.

尽管AFP抑制机体的免疫应答的机制我们并不十分清楚, 但可以肯定的是AFP是一种免疫抑制蛋白质.

3.4 AFP促进肝癌细胞增殖及机制 正常情况下, AFP是作为一个胚胎时期的基因表达产物存在的, 伴随着胚胎的发育和细胞分裂旺盛的阶段. 而在原发性肝细胞癌中, 我们检测到*AFP*基因重新开始表达, 肝癌细胞比起正常肝脏细胞, 其增殖能力及抗凋亡能力都大大提高, 很有可能AFP是促进肿瘤细胞增殖的一个关键的内源性分子[32,33].

作为一种大分子的蛋白质, AFP通过膜受体介导的胞吞作用进入细胞内, 从而调节细胞的各种生物学进程. 体外实验发现, 在人肝癌细胞系HepG2和HLE细胞中, 加入适当剂量的AFP时可以直接促进肝癌细胞的增殖[21].

根据上述AFP结构分析得知, AFP在结构上存在与多种生长因子和核受体相互匹配的保守序列, 包括RAR、RXR、T3R和ER等多种核转录因子[34]. 我们推测, 胞浆当中的AFP可能是通过结合这些分子, 从而作为信号分子参与到多

■同行评价
本文综述整体框架清晰、内容详实, 是一篇质量较高的综述.

种信号通路, 调控细胞增殖等多种生物学进程.

我们实验室首次证实, 胞浆当中的AFP可以与核受体RAR相互作用, 阻止RA-RAR信号通路的传递, 导致RAR调控的下游基因*fn14*和*gadd153*等的表达发生改变, 从而影响整个细胞的生物学进程[35,36]. 揭示了AFP在肿瘤细胞增殖及耐药性方面的所发挥的作用. 部分解释了全反式维甲酸在治疗AFP阳性肝癌时所产生的耐药性, 也给我们在临床用药上提供了思路.

我们实验室还证实了, 胞浆当中的AFP可以与PTEN相互作用, 从而参与了PI3K/AKT信号通路, 参与调控细胞的增殖、迁移、侵袭和肿瘤的血管生成[37]. AFP还可以与Caspase3相互结合, 阻断了Caspase的信号传递, 抑制淋巴细胞分泌的肿瘤坏死因子、Fas和肿瘤坏死因子受体对肝癌细胞的攻击, 从而实现阻断细胞凋亡的信号传递, 促进细胞增殖[38].

总之, 我们可以肯定, AFP不仅可以直接促进细胞的增殖, 还可以作为胞浆内的信号分子, 参与多条信号通路, 从而调控细胞的多种生物学进程. 图3展示了我们实验室所做的工作, 总结了一下AFP在胞浆当中的生物学作用. 当然AFP分子更多的生物学活性还需要进一步的验证.

3.5 AFP分子起源的生长抑制肽的应用 最近有报道称AFP分子促进肝癌细胞增殖, 但其中衍生的小片段却可以抑制细胞的增殖, 这种新的观点引起了人们的关注.

Mizejewski等[39]多次报道, AFP分子衍生四种生长抑制肽(growth inhibitory peptide, GIP), 分别为GIP-34、GIP-12、GIP-14和GIP-8. 但目前研究较多集中在GIP-34上, 结果证实GIP-34可以抑制多种肿瘤细胞的增殖, 在动物体内也得到了一定的证实[40-42]. 有报道称GIP-34通过P53和Bcl-2等参与细胞的调控, 但是对于其具体作用机制, 目前还不是十分清楚, 还需要进一步的实验证实.

如果我们在临床治疗上, 采用小肽段来代替全长的*AFP*基因, 其靶点更为专一, 不良反应较少, 可以为靶向治疗提供了更好的选择.

3.6 AFP的其他作用 AFP并不是肝细胞癌所特有的, 在其他肿瘤中也多有报道. 其中以胃癌最常见, 胃癌中AFP的水平高低与患者的预后, 癌细胞的转移及生存率都有很大的关系[43,44]. 除了胃癌, 在其他消化系统癌症中, 例如: 直肠癌、胆囊癌等也检测到AFP的表达[45]. 此外, 在生殖系统癌症中, 也检测到AFP的表达[46,47], 在乳腺癌中, 也有多次报道AFP的存在, 可以与雌激素相互作用, 促进乳腺癌细胞的增殖[48-50].

近期还有报道称, AFP可以作为肿瘤标志物, 与IL-2共同转染树突细胞, 这些树突细胞, 将携带的AFP肿瘤抗原呈递给T淋巴细胞, 增强了T淋巴细胞的细胞毒性, 可以特异性地消灭肿瘤细胞[51], 目前在临床上已经有应用, 取得了很好的治疗效果.

4 结论

人类从最初发现AFP蛋白到今日, 我们对AFP的认识也越来越多, 70年代作为胎儿缺陷/肿瘤的诊断标志物, 80年代认识AFP可以作为载体运输多种配体, 90年代发现AFP可以促进肝癌细胞的增殖, 到现在AFP可以作为胞内信号分子参与调控细胞的多种进程. 但是AFP是一种结构很复杂的蛋白质, 有3个不同的功能域, 每个功能域有不同的生物学活性, AFP还有多种异构体, 这对我们研究AFP的生物学活性, 都带来了极大的困难. 导致到目前为止, 我们对于AFP的生物学功能还不能完全阐述清楚. 目前AFP受体也没有得到完整的克隆, AFP受体在AFP发挥生物学作用中又起到了什么样的作用, 这些都还是未知数. 不过可以肯定的是, AFP蛋白可以通过多种途径, 促进肝细胞癌的发生发展, 我们需要更多的研究, 来阐述AFP的具体作用机制, 为临床上治疗肝细胞癌提供更多更好的办法.

5 参考文献

1 Mizejewski GJ. Biological roles of alpha-fetoprotein during pregnancy and perinatal development. *Exp Biol Med* (Maywood) 2004; 229: 439-463 [PMID: 15169963]
2 Butterfield LH, Ribas A, Dissette VB, Lee Y, Yang JQ, De la Rocha P, Duran SD, Hernandez J, Seja E, Potter DM, McBride WH, Finn R, Glaspy JA, Economou JS. A phase I/II trial testing immunization of hepatocellular carcinoma patients with dendritic cells pulsed with four alpha-fetoprotein peptides. *Clin Cancer Res* 2006; 12: 2817-2825 [PMID: 16675576 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-05-2856]
3 Tamaoki T, Morinaga T, Sakai M, Protheroe G, Urano Y, Wegmann TG. Structural analysis of the human alpha-fetoprotein gene. *Ann N Y Acad Sci* 1983; 417: 13-20 [PMID: 6200028 DOI: 10.1111/j.1749-6632.1983.tb32843.x]
4 Tomasi TB. Structure and function of alpha-fetoprotein. *Annu Rev Med* 1977; 28: 453-465 [PMID: 67821 DOI: 10.1146/annurev.me.28.020177.002321]
5 Mizejewski GJ. Alpha-fetoprotein structure and function: relevance to isoforms, epitopes, and conformational variants. *Exp Biol Med* (Maywood) 2001;

226: 377-408 [PMID: 11393167]
6 Dauphinée MJ, Mizejewski GJ. Human alpha-fetoprotein contains potential heterodimerization motifs capable of interaction with nuclear receptors and transcription/growth factors. *Med Hypotheses* 2002; 58: 453-461 [PMID: 12323110 DOI: 10.1054/mehy.2001.1445]
7 Sakai M, Morinaga T, Urano Y, Watanabe K, Wegmann TG, Tamaoki T. The human alpha-fetoprotein gene. Sequence organization and the 5' flanking region. *J Biol Chem* 1985; 260: 5055-5060 [PMID: 2580830]
8 Bois-Joyeux B, Danan JL. Members of the CAAT/enhancer-binding protein, hepatocyte nuclear factor-1 and nuclear factor-1 families can differentially modulate the activities of the rat alpha-fetoprotein promoter and enhancer. *Biochem J* 1994; 301 (Pt 1): 49-55 [PMID: 7518671]
9 Mazume H, Nakata K, Hida D, Hamasaki K, Tsuruta S, Nakao K, Kato Y, Eguchi K. Effect of simvastatin, a 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitor, on alpha-fetoprotein gene expression through interaction with the ras-mediated pathway. *J Hepatol* 1999; 30: 904-910 [PMID: 10365819 DOI: 10.1016/S0168-8278(99)80146-9]
10 Locker J, Ghosh D, Luc PV, Zheng J. Definition and prediction of the full range of transcription factor binding sites--the hepatocyte nuclear factor 1 dimeric site. *Nucleic Acids Res* 2002; 30: 3809-3817 [PMID: 12202766 DOI: 10.1093/nar/gkf484]
11 Ishikawa H, Nakata K, Tsuruta S, Nakao K, Kato Y, Tamaoki T, Eguchi K. Differential regulation of albumin gene expression by heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor in alpha-fetoprotein-producing and -nonproducing human hepatoma cells. *Tumour Biol* 1999; 20: 130-138 [PMID: 10213920 DOI: 10.1159/000030055]
12 Nakao K, Lawless D, Ohe Y, Miyao Y, Nakabayashi H, Kamiya H, Miura K, Ohtsuka E, Tamaoki T. c-Ha-ras down regulates the alpha-fetoprotein gene but not the albumin gene in human hepatoma cells. *Mol Cell Biol* 1990; 10: 1461-1469 [PMID: 1690841]
13 Ishikawa H, Nakata K, Mawatari F, Ueki T, Tsuruta S, Ido A, Nakao K, Kato Y, Ishii N, Eguchi K. Utilization of variant-type of human alpha-fetoprotein promoter in gene therapy targeting for hepatocellular carcinoma. *Gene Ther* 1999; 6: 465-470 [PMID: 10476206 DOI: 10.1038/sj.gt.3300870]
14 Lee K. [Regulation of human alpha-fetoprotein gene by C/EBPalpha]. *Hokkaido Igaku Zasshi* 2004; 79: 377-387 [PMID: 15373210]
15 Watanabe K, Saito A, Tamaoki T. Cell-specific enhancer activity in a far upstream region of the human alpha-fetoprotein gene. *J Biol Chem* 1987; 262: 4812-4818 [PMID: 2435718]
16 Jose-Estanyol M, Danan JL. A liver-specific factor and nuclear factor I bind to the rat alpha-fetoprotein promoter. *J Biol Chem* 1988; 263: 10865-10871 [PMID: 2455718]
17 Morinaga T, Yasuda H, Hashimoto T, Higashio K, Tamaoki T. A human alpha-fetoprotein enhancer-binding protein, ATBF1, contains four homeodomains and seventeen zinc fingers. *Mol Cell Biol* 1991; 11: 6041-6049 [PMID: 1719379]
18 Keel BA, Eddy KB, Cho S, May JV. Human alpha-fetoprotein purified from amniotic fluid enhances growth factor-mediated cell proliferation in vitro. *Mol Reprod Dev* 1991; 30: 112-118 [PMID: 1720005 DOI: 10.1002/mrd.1080300207]
19 Magee TR, Cai Y, El-Houseini ME, Locker J, Wan YJ. Retinoic acid mediates down-regulation of the alpha-fetoprotein gene through decreased expression of hepatocyte nuclear factors. *J Biol Chem* 1998; 273: 30024-30032 [PMID: 9792724 DOI: 10.1074/jbc.273.45.30024]
20 Dohda T, Kaneoka H, Inayoshi Y, Kamihira M, Miyake K, Iijima S. Transcriptional coactivators CBP and p300 cooperatively enhance HNF-1alpha-mediated expression of the albumin gene in hepatocytes. *J Biochem* 2004; 136: 313-319 [PMID: 15598887 DOI: 10.1093/jb/mvh123]
21 Li P, Wang SS, Liu H, Li N, McNutt MA, Li G, Ding HG. Elevated serum alpha fetoprotein levels promote pathological progression of hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 4563-4571 [PMID: 22147961 DOI: 10.3748/wjg.v17.i41.4563]
22 Marubashi S, Dono K, Nagano H, Sugita Y, Asaoka T, Hama N, Miyamoto A, Takeda Y, Umeshita K, Monden M. Detection of AFP mRNA-expressing cells in the peripheral blood for prediction of HCC recurrence after living donor liver transplantation. *Transpl Int* 2007; 20: 576-582 [PMID: 17425725 DOI: 10.1111/j.1432-2277.2007.00480.x]
23 Gross-Goupil M, Saffroy R, Azoulay D, Precetti S, Emile JF, Delvart V, Tindilière F, Laurent A, Bellin MF, Bismuth H, Debuire B, Lemoine A. Real-time quantification of AFP mRNA to assess hematogenous dissemination after transarterial chemoembolization of hepatocellular carcinoma. *Ann Surg* 2003; 238: 241-248 [PMID: 12894018 DOI: 10.1097/01.sla.0000080959.95226.be]
24 Zhi H, Zhan J, Deng QL, Huang ZM. [Postoperative detection of AFP mRNA in the peripheral blood of hepatic cellular carcinoma patients and its correlation with recurrence]. *Zhonghua Zhongliu Zazhi* 2007; 29: 112-115 [PMID: 17645845]
25 Terentiev AA, Moldogazieva NT. Structural and functional mapping of alpha-fetoprotein. *Biochemistry* (Mosc) 2006; 71: 120-132 [PMID: 16489915 DOI: 10.1134/S0006297906020027]
26 Deutsch HF. Chemistry and biology of alpha-fetoprotein. *Adv Cancer Res* 1991; 56: 253-312 [PMID: 1709334 DOI: 10.1016/S0065-230X(08)60483-2]
27 Torres JM, Anel A, Uriel J. Alpha-fetoprotein-mediated uptake of fatty acids by human T lymphocytes. *J Cell Physiol* 1992; 150: 456-462 [PMID: 1371512 DOI: 10.1002/jcp.1041500305]
28 Moskaleva EYu GA, Shmyrev II, Rodina AV, Muizhnek EL, Severin ES, Katukov VYu YM, Severin SE. Alpha-fetoprotein-mediated targeting--a new strategy to overcome multidrug resistance of tumour cells in vitro. *Cell Biol Int* 1997; 21: 793-799 [PMID: 9812343 DOI: 10.1006/cbir.1998.0201]
29 Severin SE, Posypanova GA, Katukov VYu II, Luzhkov YuM GK, Zhukova OS, Vorozhtsov GN, Kaliya OL, Lukyanets EA, Severin ES. Antitumor activity of conjugates of the oncofetal protein alpha-fetoprotein and phthalocyanines in vitro. *Biochem Mol Biol Int* 1997; 43: 1081-1089 [PMID: 9415817]
30 Peck AB, Murgita RA, Wigzell H. Cellular and genetic restrictions in the immunoregulatory activity of alpha-fetoprotein. III. Role of the MLC-stimulating cell population in alpha-fetoprotein-induced suppression of T cell-mediated cytotoxicity. *J Immu-*

nol 1982; 128: 1134-1140 [PMID: 6173421]
31 Xu GW, Sun ZT, Forrester K, Wang XW, Coursen J, Harris CC. Tissue-specific growth suppression and chemosensitivity promotion in human hepatocellular carcinoma cells by retroviral-mediated transfer of the wild-type p53 gene. *Hepatology* 1996; 24: 1264-1268 [PMID: 8903408 DOI: 10.1002/hep.510240546]
32 Ohguchi S, Nakatsukasa H, Higashi T, Ashida K, Nouso K, Ishizaki M, Hino N, Kobayashi Y, Uematsu S, Tsuji T. Expression of alpha-fetoprotein and albumin genes in human hepatocellular carcinomas: limitations in the application of the genes for targeting human hepatocellular carcinoma in gene therapy. *Hepatology* 1998; 27: 599-607 [PMID: 9462663 DOI: 10.1002/hep.510270239]
33 Cillo U, Vitale A, Navaglia F, Basso D, Montin U, Bassanello M, D'Amico F, Ciarleglio FA, Brolese A, Zanus G, De Pascale V, Plebani M, D'Amico DF. Role of blood AFP mRNA and tumor grade in the preoperative prognostic evaluation of patients with hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 6920-6925 [PMID: 16437593]
34 Moldogazieva NT, Terent'ev AA, Shaĭtan KV. [Relationship between structure and function of alpha-fetoprotein: conformational status and biological activity]. *Biomed Khim* 2005; 51: 127-151 [PMID: 15945348]
35 Li C, Wang S, Jiang W, Li H, Liu Z, Zhang C, McNutt MA, Li G. Impact of intracellular alpha fetoprotein on retinoic acid receptors-mediated expression of GADD153 in human hepatoma cell lines. *Int J Cancer* 2012; 130: 754-764 [PMID: 21365646 DOI: 10.1002/ijc.26025]
36 Wang S, Jiang W, Chen X, Zhang C, Li H, Hou W, Liu Z, McNutt MA, Lu F, Li G. Alpha-fetoprotein acts as a novel signal molecule and mediates transcription of Fn14 in human hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2012; 57: 322-329 [PMID: 22521346 DOI: 10.1016/j.jhep.2012.03.029]
37 Li M, Li H, Li C, Wang S, Jiang W, Liu Z, Zhou S, Liu X, McNutt MA, Li G. Alpha-fetoprotein: a new member of intracellular signal molecules in regulation of the PI3K/AKT signaling in human hepatoma cell lines. *Int J Cancer* 2011; 128: 524-532 [PMID: 20473866 DOI: 10.1002/ijc.25373]
38 Li M, Li H, Li C, Zhou S, Guo L, Liu H, Jiang W, Liu X, Li P, McNutt MA, Li G. Alpha fetoprotein is a novel protein-binding partner for caspase-3 and blocks the apoptotic signaling pathway in human hepatoma cells. *Int J Cancer* 2009; 124: 2845-2854 [PMID: 19267404 DOI: 10.1002/ijc.24272]
39 Mizejewski GJ, MacColl R. Alpha-fetoprotein growth inhibitory peptides: potential leads for cancer therapeutics. *Mol Cancer Ther* 2003; 2: 1243-1255 [PMID: 14617798]
40 Mizejewski GJ, Mirowski M, Garnuszek P, Maurin M, Cohen BD, Poiesz BJ, Posypanova GA, Makarov VA, Severin ES, Severin SE. Targeted delivery of anti-cancer growth inhibitory peptides derived from human alpha-fetoprotein: review of an International Multi-Center Collaborative Study. *J Drug Target* 2010; 18: 575-588 [PMID: 20151941 DOI: 10.3109/10611861003587243]
41 Mizejewski G, Smith G, Butterstein G. Review and proposed action of alpha-fetoprotein growth inhibitory peptides as estrogen and cytoskeleton-associated factors. *Cell Biol Int* 2004; 28: 913-933 [PMID: 15566961 DOI: 10.1016/j.cellbi.2004.09.005]
42 Mizejewski GJ, Muehlemann M, Dauphinee M. Update of alpha fetoprotein growth-inhibitory peptides as biotherapeutic agents for tumor growth and metastasis. *Chemotherapy* 2006; 52: 83-90 [PMID: 16498241 DOI: 10.1159/000091728]
43 Amano I, Sawai N, Mizuno C, Shaura Y, Nishiwaki M, Horimoto R, Oya H, Kato R, Seki K, Hashimoto H, Amakata Y, Matsumoto J, Tanaka I, Mizuno M, Shima T, Okanoue T. [A case of HER2-positive and AFP-producing gastric cancer successfully treated by trastuzumab/docetaxel/S-1 combination therapy]. *Gan To Kagaku Ryoho* 2012; 39: 2541-2544 [PMID: 23235175]
44 Mosimann F. Laparoscopic cholecystectomy has become the new gold standard for the management of symptomatic gallbladder stones. *Hepatogastroenterology* 2006; 53: 1 p preceding I; author reply 1 p preceding I [PMID: 16795961]
45 Yamanaka H, Nakane Y, Tanaka K, Imabayashi N, Nishi M, Hioki K, Takayama B, Yamamoto M. [AFP-producing gastric cancer--analyses of 17 cases]. *Gan No Rinsho* 1986; 32: 1934-1940 [PMID: 2433472]
46 Calaminus G, Bamberg M, Harms D, Jürgens H, Kortmann RD, Sörensen N, Wiestler OD, Göbel U. AFP/beta-HCG secreting CNS germ cell tumors: long-term outcome with respect to initial symptoms and primary tumor resection. Results of the cooperative trial MAKEI 89. *Neuropediatrics* 2005; 36: 71-77 [PMID: 15822019 DOI: 10.1055/s-2005-837582]
47 Sekiya S, Inaba N, Iwasawa H, Kobayashi O, Takamizawa H, Matsuzaki O, Nagao K. AFP-producing Sertoli-Leydig cell tumor of the ovary. *Arch Gynecol* 1985; 236: 187-196 [PMID: 2409934 DOI: 10.1007/BF02133963]
48 Vakharia D, Mizejewski GJ. Human alpha-fetoprotein peptides bind estrogen receptor and estradiol, and suppress breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2000; 63: 41-52 [PMID: 11079158 DOI: 10.1023/A:1006484223325]
49 Richardson BE, Hulka BS, Peck JL, Hughes CL, van den Berg BJ, Christianson RE, Calvin JA. Levels of maternal serum alpha-fetoprotein (AFP) in pregnant women and subsequent breast cancer risk. *Am J Epidemiol* 1998; 148: 719-727 [PMID: 9786226 DOI: 10.1093/oxfordjournals.aje.a009691]
50 Latteri M, Spinnato G, Pantuso G, Di Lisi G, Latteri S, Bellanca L, Latteri MT, Cirello B, Ciaccio M. [Evaluation of ferritin, CEA and AFP in patients operated on for carcinoma of the breast. Preliminary results]. *Minerva Chir* 1987; 42: 911-916 [PMID: 2442669]
51 Yang JY, Li X, Gao L, Teng ZH, Liu WC. Co-transfection of dendritic cells with AFP and IL-2 genes enhances the induction of tumor antigen-specific antitumor immunity. *Exp Ther Med* 2012; 4: 655-660 [PMID: 23170121]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年4月18日; 22(11): 1495-1503
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

基础研究 BASIC RESEARCH

Sp3表达下调后肝癌细胞株HepG2基因表达谱的变化

黄兰姗, 李海荣, 陈 罡, 陆会平, 李 佳, 冯振博

黄兰姗, 李海荣, 陈罡, 陆会平, 李佳, 冯振博, 广西医科大学第一附属医院病理科 广西壮族自治区南宁市 530021
黄兰姗, 在读硕士, 主要从事肝癌发病机制的研究.
广西科技攻关基金资助项目, Nos. 1298003-2-5, 10124001A-1
作者贡献分布: 本课题由黄兰姗与冯振博设计; 研究过程由黄兰姗完成, 李海荣、陈罡及陆会平协助完成; 数据分析与文章撰写由黄兰姗完成; 文章修改与审阅由陈罡、李佳及冯振博完成.
通讯作者: 冯振博, 教授, 530021, 广西壮族自治区南宁市双拥路22号, 广西医科大学第一附属医院病理科.
guanghu1963@126.com
电话: 0771-5356534
收稿日期: 2014-01-11 修回日期: 2014-02-23
接受日期: 2014-02-28 在线出版日期: 2014-04-18

Alteration of gene expression profile in hepatocellular carcinoma HepG2 cells with Sp3 downregulation

Lan-Shan Huang, Hai-Rong Li, Gang Chen, Hui-Ping Lu, Jia Li, Zhen-Bo Feng

Lan-Shan Huang, Hai-Rong Li, Gang Chen, Hui-Ping Lu, Jia Li, Zhen-Bo Feng, Department of Pathology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China
Supported by: Science and Technology Development Program of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nos. 1298003-2-5 and 10124001A-1
Correspondence to: Zhen-Bo Feng, Professor, Department of Pathology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, 22 Shuangyong Road, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. guanghu1963@126.com
Received: 2014-01-11 Revised: 2014-02-23
Accepted: 2014-02-28 Published online: 2014-04-18

Abstract

AIM: To analyze the alteration of gene expression profile in hepatocellular carcinoma cell line HepG2 with Sp3 downregulation.

METHODS: RNA interference was performed to downregulate Sp3 mRNA in HepG2 cells and NimbleGen Human Gene Expression Microarray was used for gene expression profile analysis. Real-time quantitative PCR was employed to confirm the expression of several differentially expressed genes. The cell cycle was analyzed by flow cytometry.

RESULTS: A total of 1789 genes was found to be differentially expressed in HepG2 cells with Sp3 downregulation, including 1007 up-regulated and 782 down-regulated ones. These genes were involved in many cellular biological process such as proliferation, differentiation, programmed death, adhesion, and metabolic process. Real-time quantitative PCR confirmed the alteration of several cell cycle related genes (CCND1, CCNE2, TGFB1, and CDKN2A). Flow cytometry analysis showed that the percentage of cells in G1 phase increased significantly after Sp3 downregulation.

CONCLUSION: Gene expression profile alters in HepG2 with Sp3 downregulation. Sp3 knockdown induces cell cycle arrest in G_0/G_1 phase in HepG2 cells. Sp3 may play an essential role in the pathogenesis of hepatocellular carcinoma as a transcription factor via regulating cell cycle progression.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Sp3; Hepatocellular carcinoma; Cell cycle; RNA interference; DNA microarray

Huang LS, Li HR, Chen G, Lu HP, Li J, Feng ZB. Alteration of gene expression profile in hepatocellular carcinoma HepG2 cells with Sp3 downregulation. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(11): 1495-1503 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1495.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i11.1495

摘要

目的: 分析转录因子Sp3表达下调后人肝癌细胞株HepG2基因表达谱的变化.

方法: 使用siRNA干扰技术下调人肝癌细胞株HepG2中Sp3表达, 人全基因组表达谱芯片筛查*Sp3*沉默后的差异表达基因, qRT-PCR验证部分差异表达基因, 流式细胞术检测细胞周期.

结果: Sp3表达下调后, 筛查出差异表达基因1789个, 其中上调基因1007个, 下调基因782个, 涉及细胞增殖、分化、凋亡、黏附、代谢等多方面功能, qRT-PCR结果表明周期

■背景资料
转录因子Sp家族包括Sp1等9个成员, Sp3作为家族成员之一, 可扮演转录激活或转录抑制的双重角色, 在胰腺癌、乳腺癌、食管癌等多种肿瘤中异常高表达. 目前对于Sp3调控的下游基因及其参与肝癌发生发展的机制仍存在许多未知. 本研究利用基因芯片检测Sp3表达下调后人肝癌细胞基因表达谱的变化, 可以为肝细胞癌的研究奠定基础.

■同行评议者
何敏, 教授, 广西医科大学医学科学实验中心

■研发前沿
Sp家族具有重要的转录调控作用, 目前关于其肿瘤药物作用以及调控基因表达的机制为研究热点, 然而关于Sp3调控下游基因情况及具体机制尚未明了, 基因芯片技术可以高通量、高度并行性、自动、快速地进行Sp3调控信息研究, 提供系统的实验基础.

相关基因*CCND1*、*CCNE2*、转化生长因子B1(transforming growth factor B1, *TGFB1*)、*CDKN2A*的表达变化与芯片结果一致, 流式细胞术结果显示Sp3表达下调后细胞主要分布在G_1期.

结论: Sp3表达下调后人肝癌细胞株HepG2的基因表达谱发生明显变化, 并出现G_0/G_1期阻滞, Sp3可能通过细胞周期因子参与肝癌的发生发展过程.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: Sp3; **肝癌; 细胞周期;** RNA干扰; **基因芯片**

核心提示: 通过基因芯片与qRT-PCR发现Sp3表达下调后Cyclin D1、Cyclin E2、转化生长因子-β(transforming growth factor-β, TGF-β)mRNA表达亦下调, 而细胞周期蛋白依赖激酶抑制因子(cyclin-dependent inhibitor)2A mRNA表达上调, 流式细胞术分析提示G_0/G_1期阻滞, Sp3可能通过细胞周期参与肝癌的发生发展.

黄兰姗, 李海荣, 陈罡, 陆会平, 李佳, 冯振博. Sp3表达下调后肝癌细胞株HepG2基因表达谱的变化. 世界华人消化杂志 2014; 22(11): 1495-1503 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1495.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i11.1495

0 引言

随着Sp(special protein)1作为第一个真核转录因子被发现[1], Sp转录因子家族也渐渐被科学界认识. Sp家族属于特殊转录因子, 含有高度保守的DNA结合区域, 在羧基端有3个串联的Cys2His2型锌指结构域, 能与GC/GT盒及基本的转录元件结合. 已有研究发现, 脂联素、阿司匹林、二甲双胍[2-4]的抑癌作用与抑制Sp蛋白的转录调控密切相关. 目前发现该家族包括Sp1等9个成员, Sp3作为家族成员之一, 其转录调控作用具有特殊性, 扮演转录激活或转录抑制的双重角色[5-8], 在胰腺癌、乳腺癌、食管癌等多种肿瘤中异常高表达[9-11]. 本课题组前期研究发现, 在原发性肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)的癌组织中Sp3表达高于癌旁肝组织, 且Sp3与临床病理特征及预后存在联系[12], 在肝癌细胞株HepG2中运用siRNA干扰沉默Sp3后, 细胞增殖能力明显减弱[13], 上述研究结果均提示在肝癌的发生发展中Sp3可能作为促癌因子而发挥作用, 然而目前对于Sp3调控的下游基因及其参与肝癌发生发展的机制仍存在许多未知. 基因芯片技术是一种高通量、高度并行性、自动、快速的微量分析技术. 本研究在前期的研究基础上利用基因芯片检测Sp3表达下调后人肝癌细胞基因表达谱的变化, 分析Sp3在肝癌中相关的基因功能及细胞信号通路网络, 进而为肝细胞癌的研究奠定基础.

1 材料和方法

1.1 材料 HepG2肝癌细胞株(中国科学院上海细胞库); DMEM培养基和胎牛血清(Wisent公司); 细胞总RNA提取试剂盒(Axygen公司); 逆转录试剂盒(Fermentas公司); 实时荧光定量PCR试剂盒(Roche公司); 流式细胞术检测细胞周期试剂盒(南京凯基生物公司); 慢病毒质粒Lv-shRNA-Sp3、Lv-shRNA-NC由上海吉凯生物公司构建; 引物合成及测序由Invitrogen公司提供; Roche NimbleGen人全基因组表达谱芯片检测由上海康成生物公司完成.

1.2 方法

1.2.1 细胞培养与慢病毒转染: 人肝癌HepG2细胞培养于10%胎牛血清的高糖DMEM培养液, 于37 ℃、5%CO_2和饱和湿度的CO_2恒温孵育箱. 细胞分3组: 实验组(Lv-shRNA-Sp3慢病毒沉默组)、阴性对照组(Lv-shRNA-NC空载质粒组)和空白对照组(未处理的HepG2细胞). 转染过程同前期实验所述[13].

1.2.2 基因芯片检测与分析: 收获实验组与阴性对照组细胞(每组包含3个重复样本), 由上海康成生物公司进行基因芯片检测和数据分析. (1)总RNA抽提及质检: TRIzol法抽提样本总RNA, 浓度与纯度由NanoDrop ND-1000检测, 总RNA完整性通过甲醛变性凝胶电泳评估; (2)基因表达谱芯片检测: 本实验采用Roche NimbleGen 12×135K人全基因组表达谱芯片, 包含45033个基因. 首先将RNA逆转录成ds-cDNA, 用配套试剂纯化ds-cDNA, 然后标记cDNA Cy3荧光信号(NimbleGen One-Color DNA labling kit), Cy3标记的cDNA与芯片杂交(Hybridization System-NimbleGen Systems), 杂交结束后洗涤(NimbleGen Wash Buffer kit), 最后用Axon GenePix 4000B microarray scanner扫描芯片信号, 所用软件为GenePix Pro 6.0 software. 芯片扫描信号图由NimbleScan software(version 2.5)转化为数据结果并校正; (3)数据分析: 校正后的数据由Agilent GeneSpring GX software(version 11.5)分析, 通过Volcano Plot筛选出显著差异表达基因(上调或下调倍数≥2.0,

表 1 qRT-PCR引物列表

基因名称	引物序列	产物长度(bp)
Sp3	F: 5'-GCTTGCACCTGTCCCAACTGTA-3'	148
	R: 5'-CTCCAGAATGCCAACGCAGA-3'	
Cyclin D1	F: 5'-GGGCCACTTGCATGTTCGT-3'	149
	R: 5'-CAGGTTCCACTTGAGCTTGTTCAC-3'	
Cyclin E2	F: 5'-TGGGAACTTTGTCCTGTAACAATCA-3'	200
	R: 5'-CACAAGGCAGCAGCAGTCAGTA-3'	
TGF-β1	F: 5'-CGCATCCTAGACCCTTTCTCCTC-3'	133
	R: 5'-GGTGTCTCAGTATCCCACGGAAAT-3'	
CKI 2A	F: 5'-TGAGGCGCCCTTTGGTTATC-3'	156
	R: 5'-GAGGTTTCTCAGAGCCTCTCTGGT-3'	
β-actin	F: 5'-GCACCACACCTTCTACAATGAGC-3'	166
	R: 5'-GGATAGCACAGCCTGGATAGCAAC-3'	

■相关报道
本课题组陆会平等应用RNAi技术沉默*Sp3*基因后, 肝癌HepG2细胞增殖减弱. Abdelrahin等沉默胰腺癌细胞株Panc-1中*Sp3*基因后, 细胞停留在G_0/G_1期. Jutooru等应用RNAi技术发现在胰腺癌细胞中Cyclin D1、VEGF等受Sp1、Sp3、Sp4调节.

P<0.05), GO-Analysis(基于Gene Ontology数据库)和Pathway-Analysis(基于KEGG数据库)分析基因相关功能及生物学通路, Hierarchical clustering比较样本间差异基因表达水平.

1.2.3 实时荧光定量PCR: 将实验组、阴性对照组和空白对照组细胞提取总RNA并逆转录为cDNA, 以β-actin为内参进行qRT-PCR. 引物如表1, 反应体系为: Mix 10 μL, 上下游引物各0.5 μL, RNase-free water 8 μL, cDNA 1 μL(共计20 μL). 扩增条件为: 95 ℃ 10 min; 95 ℃ 15 s, 60 ℃ 1 min, 40个循环. 结果采用$2^{-\Delta\Delta Ct}$法计算相对表达量.

1.2.4 流式细胞术检测细胞周期: 实验组、阴性对照组和空白对照组细胞经胰酶消化后, 调整细胞量为1×10^6个/管, 预冷的PBS重悬细胞, 离心去上清后加100 μL RNase, 37 ℃水浴30 min, 再加入PI染液500 μL, 混匀后室温避光反应30 min, 最后流式细胞仪上机检测.

统计学处理 采用SPSS16.0软件进行统计学分析, 结果以mean±SD表示, 各组样本均数比较用单因素方差分析, 组间比较用*t*检验, 检验水准 $\alpha = 0.05$, *P*<0.05为差异有统计学意义. 以上实验结果重复3次以上.

2 结果

2.1 *Sp3*基因干扰效率 qRT-PCR结果显示, 相对于空白对照组, 实验组细胞的Sp3 mRNA表达水平明显下降(0.49±0.04, *P*<0.05), 阴性对照组则无明显变化(0.96±0.08, *P*>0.05), 与前期实验RT-PCR结果一致[13].

2.2 总RNA质量分析 实验组与阴性对照组细胞的总RNA $A_{260/280}$介于1.93-2.03, 浓度>900 ng/μL, 经甲醛变性凝胶电泳可见28、18S条带清晰且强度比值约2∶1, 检测结果表明总RNA质量完好.

2.3 基因表达谱变化 Sp3表达下调后, 发现显著差异表达基因1789个, 其中上调基因1007个, 下调基因782个, 涉及细胞增殖、分化、凋亡、黏附、代谢等多方面功能. 与肿瘤相关的重要基因的差异表达情况如表2, 3.

2.4 GO富集分析 基于Gene Ontology数据库富集生物学过程, 按富集指数(enrichment score, ES)排列出部分显著富集条目(图1). 其中, 上调基因的富集条目涉及细胞氧化呼吸链、氧化磷酸化、蛋白泛素化、细胞生长负向调控、细胞对锌离子应答、DNA损伤应答等; 下调基因的富集条目涉及细胞生理过程正向调控、细胞生长、细胞代谢过程正向调控、信号传导调控、肌组织发育等.

2.5 Pathway富集分析 基于KEGG数据库富集信号通路, 按ES排列出部分显著富集的信号通路(图2). 其中, 上调基因富集的信号通路涉及氧化磷酸化、帕金森病、Huntington病、阿兹海默病、矿质元素吸收、PPAR通路等; 下调基因富集的信号通路涉及PI3K/Akt通路、Hippo通路、病毒性致癌、乙型肝炎、细胞黏附连接、p53通路、细胞周期、Wnt通路等.

2.6 差异表达基因的分层聚类结果 对所有差异表达基因进行分层聚类分析(图3). 其中, 实验组样本与阴性对照组样本分别聚类在一起, 说明聚类结果可靠. 对细胞周期相关的部分基因进行分层聚类分析(图4), *CCNE2*、*CTNNB1*、*INSR*、*TP53*、*TGFB1*、*CCND1*和*TP73*基因在实验组表达下调, *CDKN2A*、*MCM6*、*PSMB4*

■创新盘点

在转录因子Sp家族中, 关于Sp1的研究与发现较多, 而关于Sp3的研究较少, 特别是对于Sp3调控的下游基因与影响的信号通路未见有系统报道, 本研究通过基因芯片系统性研究*Sp3*相关基因信息.

表 2 Sp3相关部分上调基因

NCBI基因号	基因名称	基因描述	变化倍数	*P*值
1029	*CDKN2A*	细胞周期蛋白依赖激酶抑制因子2A(黑色素瘤, p16, CDK4抑制因子)	2.2447672	0.0484199
604	*BCL6*	B细胞慢性淋巴细胞白血病/淋巴瘤因子6(锌指蛋白51)	2.192251	0.0445856
5684	*PSMA3*	蛋白酶体亚组, α型, 3	2.4935203	0.0036072
5710	*PSMD4*	蛋白酶体26S亚组, 非ATP酶, 4	2.2616875	0.0004508
246184	*CDC26*	细胞分裂周期因子26	2.8350668	0.0116091
7046	*TGFBR1*	转化生长因子β受体 I (激活素A II型受体样激酶, 53 kDa)	2.5749626	0.0311112
2296	*FOXC1*	叉头框转录因子C1	2.364293	0.0034894
3265	*HRAS*	v-Ha-ras鼠Harvey肉瘤病毒致癌基因同源物	2.1287968	0.0021295
3429	*IFI27*	干扰素α诱导蛋白27	2.8439498	0.0225853
27113	*BBC3*	BCL2结合物3	2.2185693	0.049462

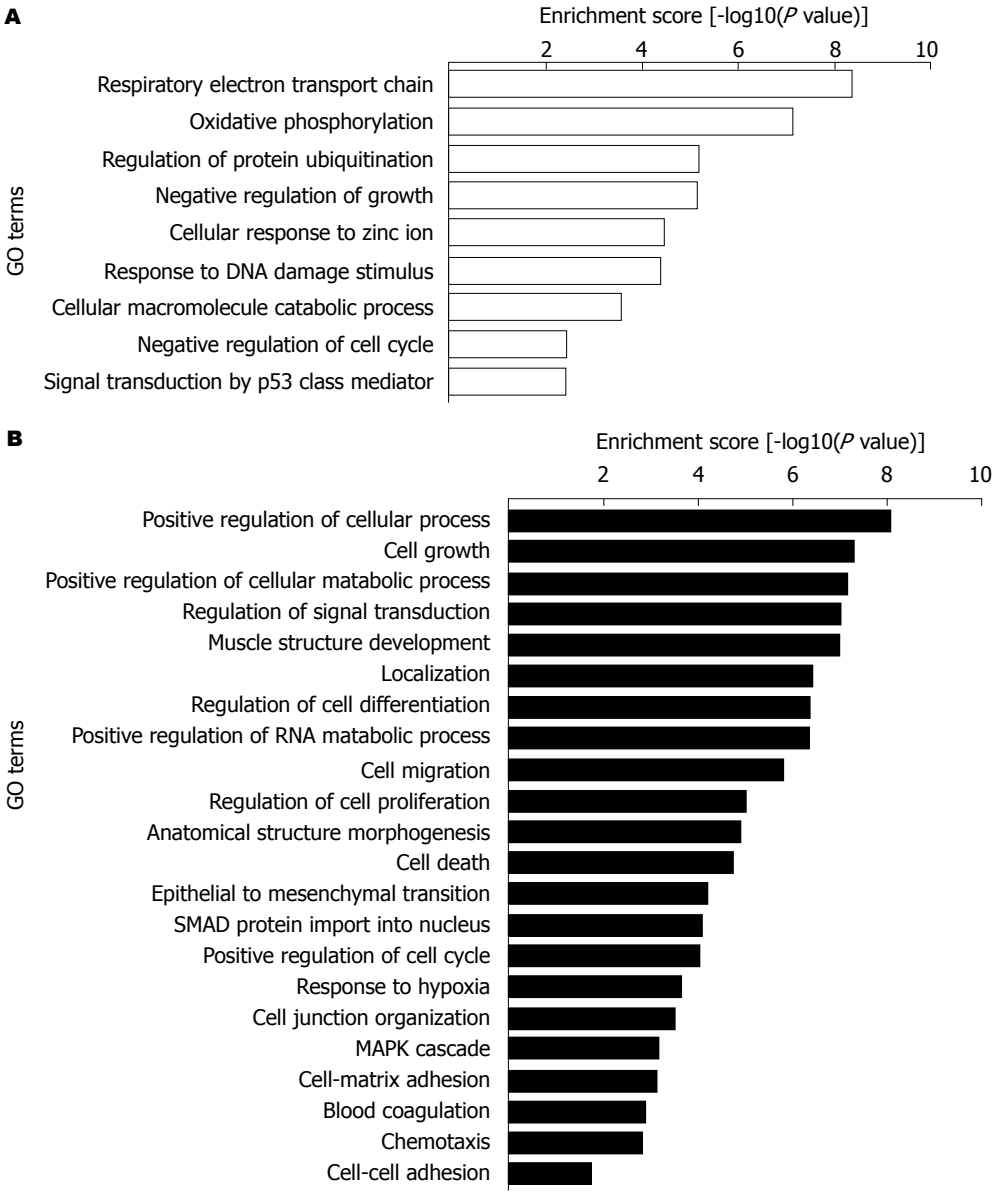


图 1 Sp3相关差异表达基因在GO中显著富集的部分生物学过程. A: 上调基因显著富集的生物学过程; B: 下调基因显著富集的生物学过程. MAPK: 丝裂原活化蛋白激酶.

表 3 Sp3相关部分下调基因

NCBI基因号	基因名称	基因描述	变化倍数	*P*值
595	*CCND1*	细胞周期蛋白D1	−2.107	0.047
9134	*CCNE2*	细胞周期蛋白E2	−2.383	0.037
1027	*CDKN1B*	细胞周期蛋白依赖激酶抑制因子1B(p27, Kip1)	−2.764	0.024
1030	*CDKN2B*	细胞周期蛋白依赖激酶抑制因子2B(p15, CDK4抑制因子)	−2.302	0.037
4089	*SMAD4*	SMAD家族成员4	−2.024	0.033
7040	*TGFB1*	转化生长因子β1(Camurati-Engelmann病)	−2.124	0.010
5155	*PDGFB*	血小板源性生长因子β(v-sis类人猿肉瘤病毒致癌基因同源物)	−2.249	0.004
7422	*VEGF*	血管内皮生长因子	−2.181	0.020
1956	*EGFR*	上皮生长因子受体(v-erb-b鸟类有核红细胞白血病病毒致癌基因同源物)	−2.290	0.007
3488	*IGFBP5*	胰岛素样生长因子结合蛋白5	−3.122	0.011
7157	*TP53*	肿瘤蛋白p53(Li-Fraumeni 综合征)	−2.192	0.012
5594	*MAPK1*	丝裂原活化蛋白激酶1	−2.699	0.008
1499	*CTNNB1*	连环蛋白β1(钙黏蛋白相关蛋白), 88 kDa	−2.323	0.001
8313	*AXIN2*	轴蛋白2(conductin, axil)	−2.289	0.015
3725	*JUN*	v-jun鸟类肉瘤病毒17致癌基因同源物	−3.517	0.002

■应用要点

本文揭示了Sp3在肝细胞癌中影响的众多基因与信号通路, 并重点分析Sp3与细胞周期的关系, 为肝癌的发病机制研究奠定实验基础, 为肝癌的分子靶向治疗提供理论依据.

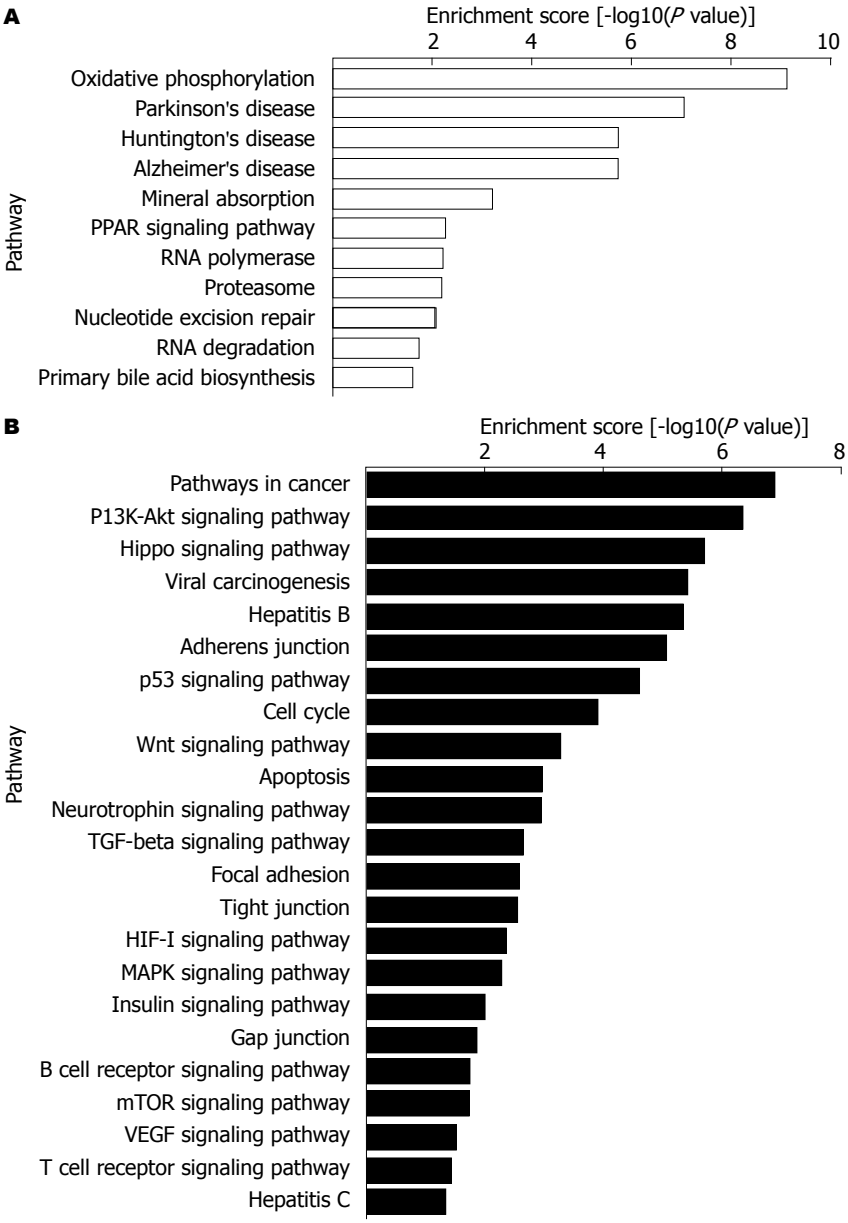


图 2 Sp3相关差异表达基因在KEGG中显著富集的部分信号通路. A: 上调基因显著富集的信号通路; B: 下调基因显著富集的信号通路. TGF-β: 转化生长因子-β; HIF-1: 低氧诱导因子-1; MAPK: 丝裂原活化蛋白激酶; VEGF: 血管内皮生长因子.

■同行评价
目前在肝癌中转录因子Sp3的研究仍不多见, 本文具有一定创新性.

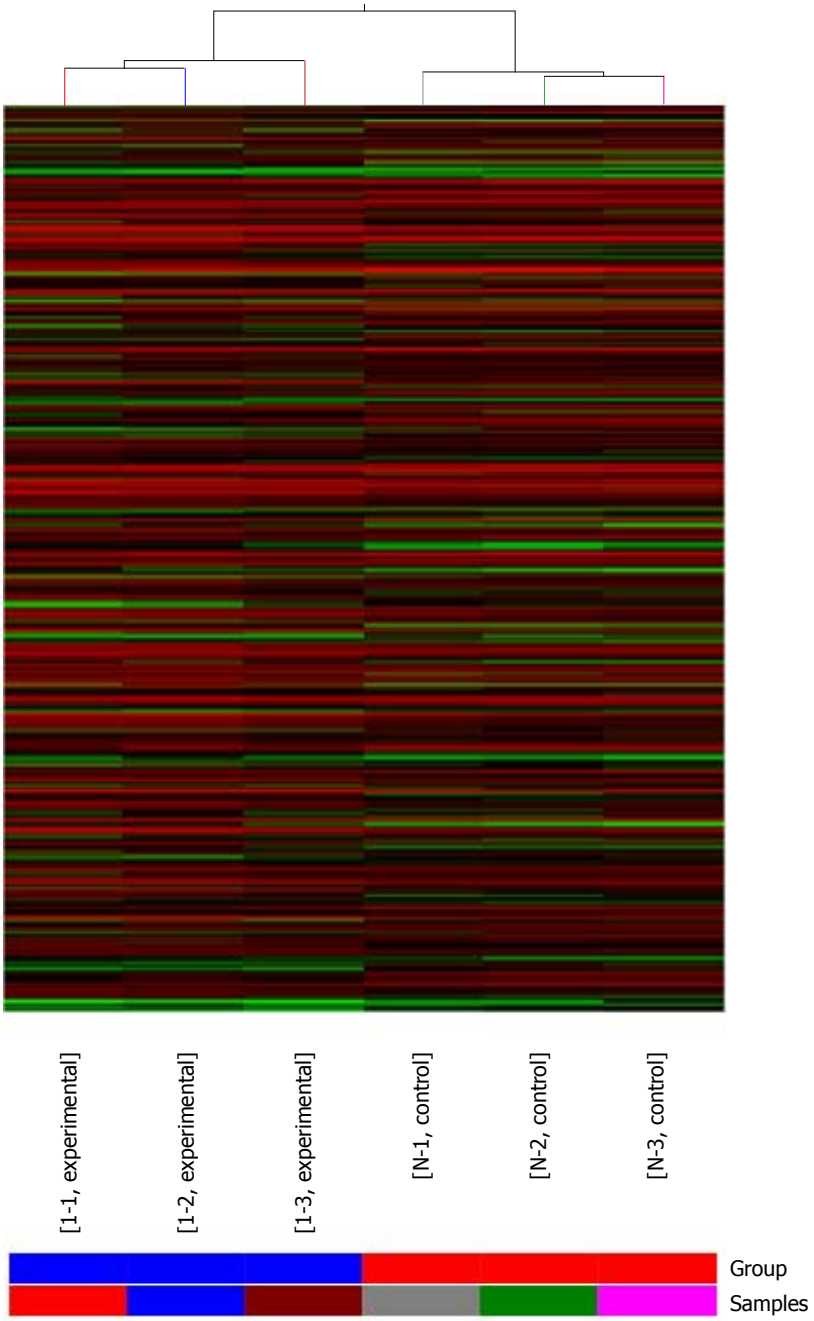


图 3 差异表达基因分层聚类图. 红色: 高表达; 绿色: 低表达; 1−1、1−2、1−3: 实验组重复样本; N−1、N−2、N−3: 阴性对照组重复样本.

和*CETN2*基因则表达上调.

2.7 qRT-PCR验证基因芯片 结合课题组前期研究结果, 选取周期相关的差异表达基因进行qRT-PCR验证, 结果显示, 相对于阴性对照组, 实验组*CCND1*、*CCNE2*、*TGFB1* mRNA表达下调, *CDKN2A* mRNA表达上调, 与基因芯片结果一致(图5).

2.8 流式细胞术检测细胞周期 流式细胞术检测细胞周期结果显示, 与阴性对照组、空白对照组相比, 实验组G_1期细胞数明显增多, 为75.10%±1.00%, P<0.05, 而G_2期细胞数减少, 为11.06%±3.35%, P<0.05, 差异均有统计学意义, S期细胞数则无明显变化(13.85%±2.81%, P>0.05)(表4, 图6).

3 讨论

原发性肝细胞癌是我国最常见的恶性肿瘤之一, 发病机制涉及抑癌基因的染色质杂合性缺失(*TP53*、*RB1*、*AXIN1*、*CDKN2A*、*IGF2R*), 基因突变(*p53*、*CTNNB1*、 *PTEN*)以及他们所引起的信号通路异常(HGF/MET、EGFR/RAS/

表 4 细胞周期时相分布 (%, mean ± SD)

分组	G_1期	S期	G_2期
空白对照组	62.50 ± 4.00[a]	10.38 ± 2.82	27.10 ± 1.20[a]
阴性对照组	59.75 ± 3.85[a]	14.65 ± 1.69	25.05 ± 5.25[a]
实验组	75.10 ± 1.00	13.85 ± 2.81	11.06 ± 3.35

[a]P<0.05 *vs* 实验组.

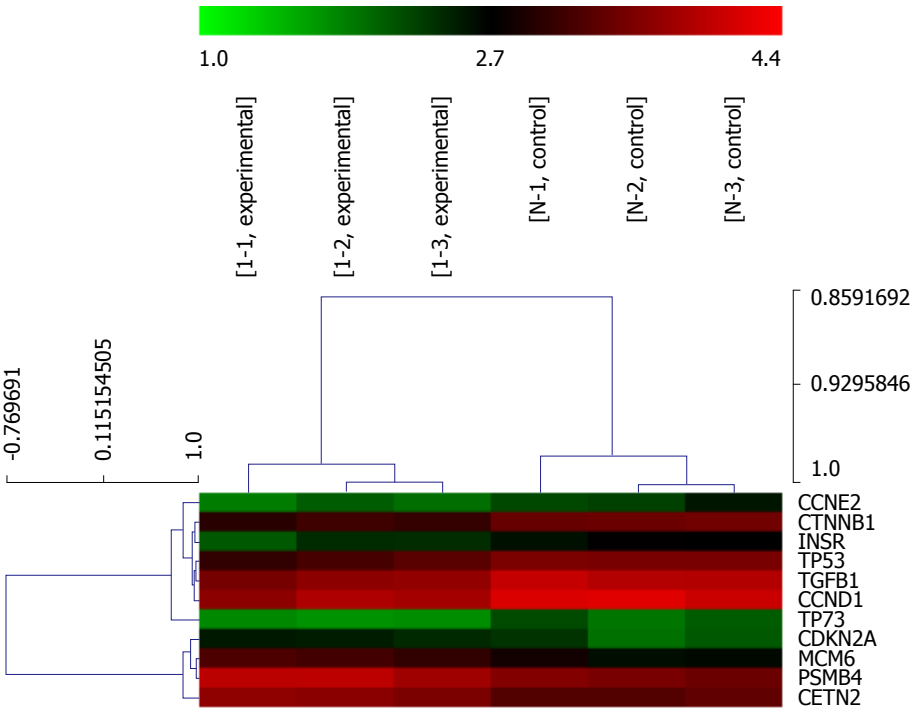


图 4 细胞周期相关的上调与下调基因分层聚类图. 红色: 高表达; 绿色: 低表达; 1−1、1−2、1−3: 实验组重复样本; N−1、N−2、N−3: 阴性对照组重复样本.

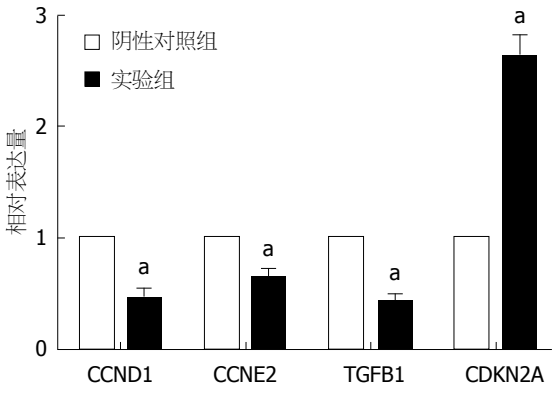


图 5 qRT-PCR验证部分差异表达基因的变化. 实验组mRNA相对表达量CCND1 0.46 ± 0.07, CCNE2 0.63 ± 0.09, TGFB1 0.42 ± 0.06, CDKN2A 2.62 ± 0.19. [a]P<0.05 *vs* 阴性对照组.

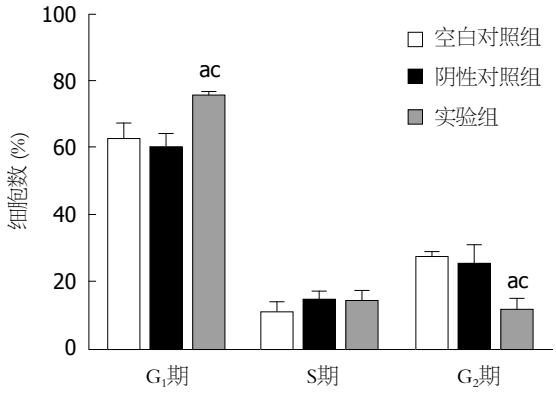


图 6 细胞周期时相分布图. [a]P<0.05 *vs* 阴性对照组; [c]P<0.05 *vs* 空白对照组.

MAPK、Wnt/β-catenin、PIK3CA/AKT、IGF信号链)等[14], 具体的分子机制仍未明了. 转录因子Sp3作为Sp家族成员之一, 因其转录激活或转录抑制的双重作用的特殊性而倍受关注. 目前, 关于Sp3在肝癌中作用的研究甚少. Porntadavity等[15]在研究人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)-1感染与肝癌发生的关系中发现, HIV-1 Tat通过改变Sp1/Sp3比例调节*MnSOD*基因的转录. Choi等[16]发现在肝癌细胞株Hep3B中, Sp1/Sp3/HDAC1蛋白复合体对于曲古菌素A诱导的*IGFBP-3*启动子激活起重要作用. 本课题组前期在肝癌组织及细胞株中的研

究发现, Sp3在HCC癌组织中的表达明显高于癌旁肝组织, 在伴有转移、分化程度低、直径大的病例中, Sp3的表达进一步增强, 并且发现Sp3与VEGF的表达存在正相关性; 同时, 在肝癌细胞株HepG2中运用siRNA干扰沉默Sp3后, 细胞增殖能力明显减弱, 出现G_0/G_1期周期阻滞.

本研究通过人全基因组表达谱芯片检测, 筛查出Sp3沉默组与阴性对照组的差异表达基因1789个, 其中上调基因1007个, 下调基因782个, 涉及广泛的生物学功能, 与其他学者的研究报道相似, Sp家族可调控细胞生长相关因子(Cyclin D1、EGFR)、凋亡相关因子(survivin、Bcl-2)及血管形成相关因子(VEGF、VEGFR1/VEGFR2)等[17-19]. 与此同时, Sp3下调后也引起多个信号传导通路的改变, 如PI3K/Akt通路、病毒性致癌、乙型肝炎、p53通路、Wnt通路等, 其中p53、Rb、Wnt/β-catenin及转化生长因子-β(transforming growth factor β, TGF-β)信号通路异常均已被认为与肝癌的发生密切相关[20]. 由此推测, Sp3在肝癌中的促癌作用可能是通过芯片结果所提示的众多的基因、复杂的信号通路网络调控实现的.

在本课题组前期研究中我们发现, 通过siRNA干扰技术下调肝癌细胞株HepG2中Sp3的表达后, 细胞的生长明显受到抑制, 而在此次芯片结果的众多差异表达基因中, 我们关注到细胞周期因子的变化, 即通过siRNA干扰技术下调肝癌细胞株HepG2中Sp3的表达后, 细胞生长、周期负向调控因子上调, 而正向调控因子下调. 于是通过qRT-PCR验证CCND1、CCNE2、TGFB1和CDKN2A, 其结果与芯片结果相一致, 说明芯片结果具有较高的可信度, 这些周期调控基因确实随着Sp3表达下调而在mRNA水平发生变化. 随后, 我们通过流式细胞术检测细胞周期的变化情况, 发现Sp3表达下调后G_1期细胞数明显增多, G_2期细胞数明显减少, 出现G_0/G_1期阻滞, 与前期结果一致. 由此可见, Sp3可以通过影响细胞周期而干扰肝癌细胞的生长和增殖.

细胞周期, 又称细胞分裂周期, 是指细胞从一次分裂结束到下一次分裂结束所经历的全过程, 依次分为G_1期(DNA合成前期)、S期(DNA合成期)、G_2期(DNA合成后期)和M期(有丝分裂期)[21]. 细胞周期调控的核心因子主要分为3类: 细胞周期蛋白(Cyclin)[22]、细胞周期蛋白依赖激酶(cyclin-dependent kinase, CDK)[23]以及细胞周期蛋白依赖激酶抑制因子(cyclin-dependent inhibitor, CKI)[24]. 其中, Cyclin与CDK结合后形成复合物, 促进细胞周期进展, 而CKI通过与CDK或Cyclin-CDK复合物结合, 抑制细胞进程[25]. 肿瘤最主要的特征是细胞异常增殖, 与细胞周期调控密切相关, 研究发现在肿瘤中CyclinD、Cyclin E、CDK4、p16等[26,27]许多周期相关因子出现蛋白表达水平或基因异常.

通常情况下, 处于G_0期细胞在生长因子和生长因子受体的作用下, 通过相关的信号传导通路使Cyclin D在G_1早期表达增加, Cyclin D与细胞中存在的CDK4、CDK6结合, 从而使RB蛋白磷酸化, 释放转录因子E2F, 诱导Cyclin E和CDK2的表达, 并形成对RB蛋白磷酸化的阳性反馈回路, 使RB进一步磷酸化, 促使细胞越过G_1/S转折点[28]. 在肿瘤的发生过程中, 细胞周期的调控机制破坏, 可出现G_1期、S期、G_2期阻滞[29]. 与Abdelrahim等[30]沉默胰腺癌细胞株Panc-1中*Sp3*基因表达的研究结果相似, 在本研究中, 沉默*Sp3*基因表达使细胞停留在G_1期, 从而抑制癌细胞的增殖. 由此我们推测, 在本研究中, Sp3下调后, TGFβ也下调, 由此导致处于G_0期的细胞缺少信号刺激, 周期启动受限; 与此同时, 一并下调的Cyclin D促使G_1期延长, CKI 2A的升高抑制G_1期进展; 并且, Cyclin E下调, 限制细胞跨越G_1/S转折点, 从而解释Sp3下调后G_1期细胞数明显增多这个现象.

总之, 本研究在课题组前期的工作基础上通过基因芯片发掘了丰富的Sp3与肝癌相关的基因信息, 在后续研究中我们将进一步通过体外细胞及体内动物实验等方法探索Sp3与部分基因的具体联系及作用机制, 特别是与肿瘤发生发展密切相关的细胞周期和相关信号通路, 以期为肝癌的发病机制研究奠定实验基础, 为肝癌的预防与治疗提供新的思路.

4 参考文献

1 Dynan WS, Tjian R. The promoter-specific transcription factor Sp1 binds to upstream sequences in the SV40 early promoter. *Cell* 1983; 35: 79-87 [PMID: 6313230]

2 Liu J, Lam JB, Chow KH, Xu A, Lam KS, Moon RT, Wang Y. Adiponectin stimulates Wnt inhibitory factor-1 expression through epigenetic regulations involving the transcription factor specificity protein 1. *Carcinogenesis* 2008; 29: 2195-2202 [PMID: 18701434 DOI: 10.1093/carcin/bgn194]

3 Pathi S, Jutooru I, Chadalapaka G, Nair V, Lee SO, Safe S. Aspirin inhibits colon cancer cell and tumor growth and downregulates specificity protein (Sp) transcription factors. *PLoS One* 2012; 7: e48208 [PMID: 23110215 DOI: 10.1371/journal.pone.0048208]

4 Nair V, Pathi S, Jutooru I, Sreevalsan S, Basha R, Abdelrahim M, Samudio I, Safe S. Metformin inhibits pancreatic cancer cell and tumor growth and downregulates Sp transcription factors. *Carcinogenesis* 2013; 34: 2870-2879 [PMID: 23803693 DOI: 10.1093/carcin/bgt231]
5 Hagen G, Müller S, Beato M, Suske G. Sp1-mediated transcriptional activation is repressed by Sp3. *EMBO J* 1994; 13: 3843-3851 [PMID: 8070411]
6 Philipsen S, Suske G. A tale of three fingers: the family of mammalian Sp/XKLF transcription factors. *Nucleic Acids Res* 1999; 27: 2991-3000 [PMID: 10454592]
7 Ammanamanchi S, Brattain MG. Sp3 is a transcriptional repressor of transforming growth factor-beta receptors. *J Biol Chem* 2001; 276: 3348-3352 [PMID: 11027677 DOI: 10.1074/jbc.M305961200]
8 Kim H, Lee S, Park B, Che L, Lee S. Sp1 and Sp3 mediate basal and serum-induced expression of human CENP-W. *Mol Biol Rep* 2010; 37: 3593-3600 [PMID: 20180024 DOI: 10.1007/s11033-010-0008-3]
9 Abdelrahim M, Baker CH, Abbruzzese JL, Safe S. Tolfenamic acid and pancreatic cancer growth, angiogenesis, and Sp protein degradation. *J Natl Cancer Inst* 2006; 98: 855-868 [PMID: 16788159 DOI: 10.1093/jnci/djj232]
10 Mertens-Talcott SU, Chintharlapalli S, Li X, Safe S. The oncogenic microRNA-27a targets genes that regulate specificity protein transcription factors and the G2-M checkpoint in MDA-MB-231 breast cancer cells. *Cancer Res* 2007; 67: 11001-11011 [PMID: 18006846 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-07-2416]
11 Papineni S, Chintharlapalli S, Abdelrahim M, Lee SO, Burghardt R, Abudayyeh A, Baker C, Herrera L, Safe S. Tolfenamic acid inhibits esophageal cancer through repression of specificity proteins and c-Met. *Carcinogenesis* 2009; 30: 1193-1201 [PMID: 19406933 DOI: 10.1093/carcin/bgp092]
12 莫伟嘉, 李佳, 陆会平, 冯振博. Sp3与VEGF在肝细胞癌中的表达及相关性. 世界华人消化杂志 2012; 20: 3101-3106
13 陆会平, 李佳, 莫伟嘉, 冯振博. RNAi沉默Sp3基因对肝癌HepG2细胞增殖的影响. 世界华人消化杂志 2012; 20: 2595-2600
14 Nejak-Bowen KN, Monga SP. Beta-catenin signaling, liver regeneration and hepatocellular cancer: sorting the good from the bad. *Semin Cancer Biol* 2011; 21: 44-58 [PMID: 21182948 DOI: 10.1016/j.semcancer.2010.12.010]
15 Porntadavity S, Nath A, Prachayasittikul V, Cota-Gomez A, Flores SC, St Clair DK. Different roles of Sp family members in HIV-1 Tat-mediated manganese superoxide dismutase suppression in hepatocellular carcinoma cells. *DNA Cell Biol* 2005; 24: 299-310 [PMID: 15869407 DOI: 10.1089/dna.2005.24.299]
16 Choi HS, Lee JH, Park JG, Lee YI. Trichostatin A, a histone deacetylase inhibitor, activates the IGFBP-3 promoter by upregulating Sp1 activity in hepatoma cells: alteration of the Sp1/Sp3/HDAC1 multiprotein complex. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; 296: 1005-1012 [PMID: 12200149]
17 Chadalapaka G, Jutooru I, Chintharlapalli S, Papineni S, Smith R, Li X, Safe S. Curcumin decreases specificity protein expression in bladder cancer cells. *Cancer Res* 2008; 68: 5345-5354 [PMID: 18593936 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-07-6805]
18 Jutooru I, Chadalapaka G, Sreevalsan S, Lei P, Barhoumi R, Burghardt R, Safe S. Arsenic trioxide downregulates specificity protein (Sp) transcription factors and inhibits bladder cancer cell and tumor growth. *Exp Cell Res* 2010; 316: 2174-2188 [PMID: 20435036 DOI: 10.1016/j.yexcr.2010.04.027]
19 Jutooru I, Chadalapaka G, Abdelrahim M, Basha MR, Samudio I, Konopleva M, Andreeff M, Safe S. Methyl 2-cyano-3,12-dioxooleana-1,9-dien-28-oate decreases specificity protein transcription factors and inhibits pancreatic tumor growth: role of microRNA-27a. *Mol Pharmacol* 2010; 78: 226-236 [PMID: 20488920 DOI: 10.1124/mol.110.064451]
20 Zender L, Villanueva A, Tovar V, Sia D, Chiang DY, Llovet JM. Cancer gene discovery in hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2010; 52: 921-929 [PMID: 20385424 DOI: 10.1016/j.jhep.2009.12.034]
21 林志娟, 宋德懋. 细胞周期的调控-2001年诺贝尔生理学或医学奖工作介绍及研究进展. 生理科学进展 2009; 40: 274-280
22 Gopinathan L, Ratnacaram CK, Kaldis P. Established and novel Cdk/cyclin complexes regulating the cell cycle and development. *Results Probl Cell Differ* 2011; 53: 365-389 [PMID: 21630153 DOI: 10.1007/978-3-642-19065-0-16]
23 Malumbres M, Harlow E, Hunt T, Hunter T, Lahti JM, Manning G, Morgan DO, Tsai LH, Wolgemuth DJ. Cyclin-dependent kinases: a family portrait. *Nat Cell Biol* 2009; 11: 1275-1276 [PMID: 19884882 DOI: 10.1038/ncb1109-1275]
24 Sherr CJ, Roberts JM. CDK inhibitors: positive and negative regulators of G1-phase progression. *Genes Dev* 1999; 13: 1501-1512 [PMID: 10385618]
25 Lim S, Kaldis P. Cdks, cyclins and CKIs: roles beyond cell cycle regulation. *Development* 2013; 140: 3079-3093 [PMID: 23861057 DOI: 10.1242/dev.091744]
26 朱明华, 倪灿荣, 祝峙, 李芳梅, 张顺民. 原发性肝细胞癌中5种细胞周期蛋白的表达及其临床意义. 中华病理学杂志 2003; 32: 440-443
27 Carnero A. Targeting the cell cycle for cancer therapy. *Br J Cancer* 2002; 87: 129-133 [PMID: 12107831 DOI: 10.1038/sj.bjc.6600458]
28 邹向阳, 李连宏. 细胞周期调控与肿瘤. 国际遗传学杂志 2006; 29: 70-73
29 Kastan MB, Bartek J. Cell-cycle checkpoints and cancer. *Nature* 2004; 432: 316-323 [PMID: 15549093 DOI: 10.1038/nature03097]
30 Abdelrahim M, Smith R, Burghardt R, Safe S. Role of Sp proteins in regulation of vascular endothelial growth factor expression and proliferation of pancreatic cancer cells. *Cancer Res* 2004; 64: 6740-6749 [PMID: 15374992 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-04-0713]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



世界华人消化杂志 2014年4月18日; 22(11): 1504-1509
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

基础研究 BASIC RESEARCH

MiR-130a靶向调控*CYLD*基因及其对肝癌细胞增殖的影响

倪 芳, 赵 华, 汪心怡, 陈 卓, 汪思应

■**背景资料**
肝细胞癌在导致死亡的恶性肿瘤中居世界第3位. 由于其恶性生物学行为的分子机制不清, 导致肝癌患者存活率很低. 近年来的研究表明microRNA在肝癌的发生发展中发挥重要作用, 但仍有大量microRNA的功能是未知的.

倪芳, 赵华, 汪心怡, 陈卓, 汪思应, 安徽医科大学基础医学院病理生理学教研室 安徽省合肥市 230032
倪芳, 讲师, 主要从事肿瘤分子机制的研究.
国家自然科学基金资助项目, No. 31300715
安徽省自然科学基金资助项目, No. 1308085QH136
作者贡献分布: 倪芳与汪思应对此文所作贡献均等; 此课题由汪思应与倪芳设计; 研究过程主要由倪芳操作完成; 赵华、汪心怡及陈卓参与辅助工作; 数据分析由倪芳完成; 本论文写作由倪芳与汪思应完成.
通讯作者: 汪思应, 教授, 230032, 安徽省合肥市蜀山区梅山路81号, 安徽医科大学基础医学院病理生理学教研室.
sywang@ahmu.edu.cn
电话: 0551-65137833
收稿日期: 2014-03-03 修回日期: 2014-03-22
接受日期: 2014-03-28 在线出版日期: 2014-04-18

MicroRNA-130a targets CYLD to regulate cell proliferation in hepatocellular carcinoma

Fang Ni, Hua Zhao, Xin-Yi Wang, Zhuo Chen, Si-Ying Wang

Fang Ni, Hua Zhao, Xin-Yi Wang, Zhuo Chen, Si-Ying Wang, Department of Pathophysiology, Anhui Medical University, Hefei 230032, Anhui Province, China
Supported by: the National Natural Science Foundation of China, No. 31300715; and Anhui Provincial Natural Science Foundation, No. 1308085QH136
Correspondence to: Si-Ying Wang, Professor, School of Basic Medical Sciences, Anhui Medical University, 81 Meishan Road, Shushan District, Hefei 230032, Anhui Province, China. sywang@ahmu.edu.cn
Received: 2014-03-03 **Revised:** 2014-03-22
Accepted: 2014-03-28 **Published online:** 2014-04-18

Abstract

AIM: To detect the expression level of miR-130a in hepatocellular carcinoma and to analyze the effect of miR-130a on hepatocellular carcinoma cell proliferation.

METHODS: MiR-130a expression levels in hepatocellular carcinoma and non-tumor pericarcinous tissues, as well as normal liver and hepatocellular carcinoma cell lines were determined by qRT-PCR. The CYLD 3'-UTR as the target of miR-130a was predicted by bioinformatics analysis. The reporter activity was evaluated by the dual luciferase reporter assay. After HepG2 cells were transfected with a synthetic miR-130a inhibitor (anti-miR-3666) or a synthetic control miRNA (anti-miR-C), the expression of CYLD protein in the transfected HepG2 cells was determined by Western blot, and cell proliferation was determined by MTT assay.

RESULTS: MiR-130a expression was up-regulated in hepatocellular carcinoma compared to non-tumor pericarcinous tissues. The results of dual luciferase assays validate CYLD as a specific target gene of miR-130a. Inhibition of miR-130a resulted in the upregulation of CYLD protein expression in HepG2 cell line. MiR-130a knockdown significantly inhibited the cell proliferation of HepG2 cells.

CONCLUSION: MiR-130a is overexpressed in hepatocellular carcinoma. Inhibition of miR-130a promotes the proliferation of hepatocellular carcinoma cells. MiR-130a may become a new potential therapeutic target for hepatocellular carcinoma.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Hepatocellular carcinoma; MiRNA-130a; CYLD; Proliferation

Ni F, Zhao H, Wang XY, Chen Z, Wang SY. MicroRNA-130a targets CYLD to regulate cell proliferation in hepatocellular carcinoma. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(11): 1504-1509 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1504.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i11.1504

摘要

目的: 检测microRNA-130a(miR-130a)在肝癌中的表达水平及其对*CYLD*基因表达的调控, 并探讨miR-130a对肝癌细胞增殖的影响.

方法: 采用qRT-PCR检测miR-130a在原发性肝癌组织及对应的癌旁组织、肝癌细胞系和正常肝细胞中的表达差异, 利用靶基因预测分析软件预测miR-130a潜在靶基因*CYLD*后, 构建携带靶基因*CYLD*野生型及突变型3'UTR序列的双荧光素酶报告基因质粒, 应用双荧光素酶报告基因实验体系进行验证; 采用miR-130a抑制剂下调肝癌细胞系HepG2中miR-130a的

■**同行评议者**
张志坚, 教授, 福州总医院消化内科

表达, Western blot检测CYLD蛋白的表达变化; MTT法检测肝癌细胞增殖的改变.

结果: MiR-130a在原发性肝癌组织中的表达明显高于对应的癌旁组织($P<0.05$), 在肝癌细胞系中的表达也显著高于正常肝细胞($P<0.05$); 双荧光素酶报告基因系统验证*CYLD*是miR-130a的直接靶基因; HepG2细胞中转染miR-130a抑制剂下调miR-130a表达后. Western blot检测结果显示CYLD蛋白表达水平显著上调; miR-130a抑制剂转染的HepG2细胞其增殖受到明显抑制.

结论: MiR-130a在肝癌中表达上调, 下调miR-130a后可以促进靶基因*CYLD*的表达, 并可以抑制肝癌细胞的增殖活性, miR-130a有可能成为原发性肝癌治疗的新靶点.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 原发性肝细胞癌; MiRNA-130a; CYLD; **增殖**

核心提示: MiR-130a在肝癌中表达上调, 下调miR-130a后可以促进靶基因*CYLD*的表达, 并可以抑制肝癌细胞的增殖活性, miR-130a有可能成为原发性肝癌治疗的新靶点.

倪芳, 赵华, 汪心怡, 陈卓, 汪思应. MiR-130a靶向调控CYLD基因及其对肝癌细胞增殖的影响. 世界华人消化杂志 2014; 22(11): 1504-1509 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1504.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i11.1504

0 引言

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)作为危害性很强的恶性肿瘤之一, 具有高增殖活性, 高转移等恶性生物学特性, 其在导致死亡的恶性肿瘤中居世界第3位[1-3]. 近年来, 尽管不同的治疗方案应用于肝癌的临床治疗, 但由于其恶性生物学行为的分子机制不清, 导致其存活率依然没有明显升高. MicroRNA(miRNA)是近年来发现的一种存在于真核生物中的内源性单链非编码RNA, 通常在转录后水平调节靶基因的表达, 进而参与细胞的增殖、分化和凋亡等多种生命过程[4,5]. 越来越多的研究表明, miRNA在肝癌的发生发展中发挥重要作用[6-12], 但仍有大量miRNA的功能是未知的. 本研究中的miR-130a在肝癌中的表达及其在肝癌发生发展中的作用鲜有研究报道. 我们利用生物信息学方法预测到miR-130a与抑癌基因CYLD mRNA 3'UTR存在相互作用位点, 提示miR-130a可能通过靶向抑癌基因*CYLD*参与肿瘤的发生发展. 本研究拟检测miR-130a在肝癌中的表达情况, 并验证miR-130a对CYLD的靶向调控作用, 同时观察miR-130a对肝癌细胞增殖的影响, 为肝癌防治提供线索.

1 材料和方法

1.1 材料 收集2011-03/2013-03安徽医科大学第一附属医院31例原发性肝癌组织标本及对应的癌旁组织, 患者年龄38-67岁. 所有标本均经病理学检查确诊, 取出后迅速放入液氮保存备用. DMEM培养基、胎牛血清均购自Gibco公司; 人正常肝脏细胞株HL-02以及肝癌细胞系Hep3B、HepG2和Huh7均由本实验室长期保存. 脂质体Lipofectamine 2000购自Invitrogen TRIzol购自Invitrogen公司; MicroRNA逆转录检测试剂盒(miScript Reverse Transcription kit)、hsa-miR-130a及内参RNU6B引物、microRNA荧光定量PCR检测试剂盒(miScript SYBR Green PCR kit)均购自Qiagen公司; 双荧光素酶报告基因检测试剂盒(Dual-Luciferase Reporter Assay System)购自Promega公司; miR-130a模拟体(mimics)及阴性对照(miR-C)、miR-130a抑制体(inhibitor)及阴性对照(anti-miR-C)均购自上海吉玛生物公司; CYLD兔抗人单克隆抗体购自Cell Signaling公司; HRP标记的山羊抗兔二抗购自北京中杉金桥生物公司.

1.2 方法

1.2.1 qRT-PCR检测miR-130a的表达: TRIzol提取细胞或组织总RNA(含miRNA), 采用miScript Reverse Transcription Kit(含通用反向引物)(Qiagen)合成cDNA; 依据miScript SYBR Green PCR kit说明书配置PCR反应液(20 μL体系), 按下列条件扩增: 95 ℃预变性10 s, 95 ℃ 5 s, 60 ℃ 34 s, 40个循环. 反应结束后, 以RNU6B为内参, 进行相对定量分析.

1.2.2 双荧光素酶报告基因质粒的构建: 首先通过生物信息学在线软件Targetscan预测miR-130a的靶基因, GenBank中查找miR-130a靶基因*CYLD* 3'UTR序列, 由上海生工合成CYLD-WT 3'UTR(含有预测的miR-130a与CYLD 3'UTR结合序列上下游各150 bp左右的片段)、CYLD-mutant 3'UTR基因(删除整段预测的miR-130a与CYLD 3'UTR结合序列), 两端带有*Not* Ⅰ和*Xho* Ⅰ酶切位点; 之后重组入双荧光素酶报告基因质粒psi-CHECK2多克隆位点, 分别获得野生型

■研发前沿
MiRNA与恶性肿瘤的发生发展密切相关, 本研究中的miR-130a在肝癌中的表达及其在肝癌发生发展中的作用鲜有研究报道. 我们利用生物信息学方法预测到miR-130a与抑癌基因*CYLD* mRNA 3'UTR存在相互作用位点, 并验证miR-130a对CYLD的靶向调控作用, 同时观察miR-130a对肝癌细胞增殖的影响.

■相关报道
*CYLD*作为肿瘤抑制基因，在多种肿瘤的发生发展中发挥重要作用，最新研究报道CYLD在肝癌的发生发展也起重要作用. 然而，*CYLD*基因表达调控的机制还很不清楚. 很多研究表明microRNA在肝癌的发生发展中起重要调控作用，然而miR-130a在肝癌中的作用却知之甚少.

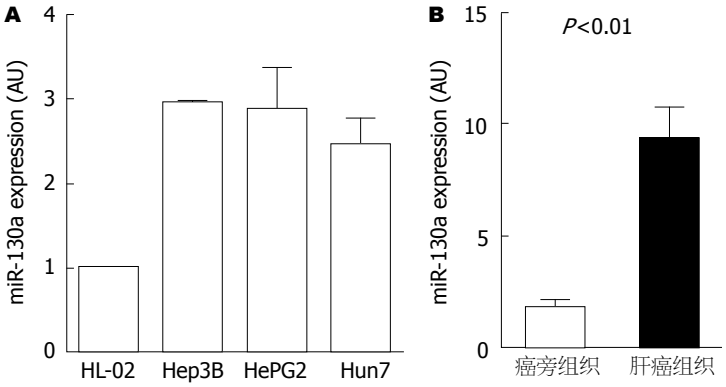


图 1 qRT-PCR分别检测检测miR-130a在肝癌细胞系和正常肝脏细胞中的表达水平. A: 原发性肝癌; B: 癌旁组织中.

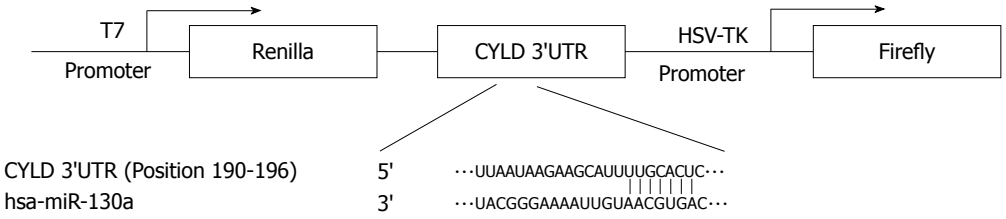


图 2 生物信息学软件预测miR-130a与*CYLD*基因3'UTR区域特异结合.

及突变型克隆并测序鉴定正确性.

1.2.3 双荧光素酶报告基因活性检测: 将HEK293A细胞接种到24孔板中, 每孔8×10^4细胞, 待细胞会和度达到80%左右时进行转染, 按照Lipofectamine 2000说明书配制转染试剂, 将0.2 μg的双荧光素酶报告质粒及20 nmol/L终浓度的miR-130a mimics或阴性对照共转染HEK293A细胞, 5 h后更换DMEM完全培养基, 48 h后用Dual-Luciferase Reporter Assay System (Promega)检测荧光素酶的活性.

1.2.4 Western blot检测CYLD蛋白表达水平: 在肝癌细胞株HepG2细胞中分别转染miR-130a抑制体(anti-miR-130a)和阴性对照(anti-miR-C), 48 h后, 收集上述不同转染组的HepG2细胞, 加入RIPA蛋白裂解液, BCA法测定蛋白浓度. 每孔40 μg上样进行SDS-PAGE凝胶电泳后, 用水浴式电转仪转至PVDF膜上. 5%脱脂牛奶室温封闭1 h, 加入1∶1000稀释的兔抗人CYLD单克隆抗体, 4 ℃孵育过夜, TBST洗膜后, 然后加入HRP标记的羊抗兔二抗(1∶8000), 室温孵育1 h, 取出, TBST洗膜, 化学发光法检测后分析结果.

1.2.5 MTT法检测细胞增殖活性: 转染anti-miR-130a组和anti-miR-C组HepG2细胞株, 在转染后24 h消化细胞, 以2000个/孔的细胞密度接种于96孔板中, 每孔加入100 μL培养液, 各组设6个复孔, 37 ℃ 5%CO_2培养箱培养; 分别于培养12、24、36、48 h的时间点, 每孔加入5 g/L的MTT溶液50 μL, 在37 ℃, 5%CO_2培养箱内继续孵育4 h后, 弃上清, 加入150 μL DMSO溶解; 490 nm测定吸光度(A)值.

统计学处理 采用SPSS17.0统计软件对数据进行统计分析, 数据以mean±SD表示, 均数间的比较采用t检验. $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 miR-130a在肝癌细胞系和肝癌组织中的表达 qRT-PCR结果表明, miR-130a在肝癌组织中的表达显著高于对应的癌旁组织($P<0.01$); 同时, miR-130a在肝癌细胞系中的表达也明显高于正常肝细胞($P<0.01$), 差异有统计学意义(图1).

2.2 生物信息学预测miR-130a靶向*CYLD*基因3'UTR区域 我们通过Targetscan在线分析软件(www.targetscan.org)分析, hsa-miR-130a可特异结合*CYLD*基因3'UTR区域的190-196位碱基, 结合位点见图2.

2.3 miR-130a对*CYLD*基因的直接调控作用 为了进一步证明miR-130a对*CYLD*基因具有直接调控作用, 将*CYLD*基因WT3'UTR序列(包含软件预测的整段miR-130a结合位点)及*CYLD*基因mutant 3'UTR序列(删除了整段预测的miR-130a结合位点)克隆入双荧光素酶报告基因质粒psi-CHECK2(图2), 并通过测序鉴定正确. 双荧光素酶报告基因实验结果表明: miR-130a能通过CYLD-WT 3'UTR抑制荧光素酶的活性, 当miR-130a与psi-CHECK2 mutant 3'UTR共转染后, 则

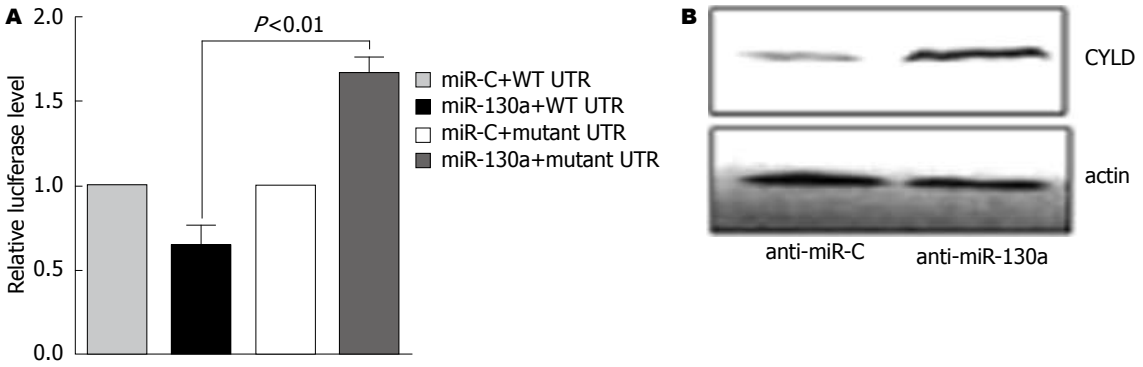


图 3 双荧光素酶报告基因实验验证miR-130a能特异结合CYLD-3'UTR, 并可以调控CYLD基因表达. A: 双荧光素酶报告基因实验验证miR-130a特异结合CYLD-3'UTR; B: Western blot验证miR-130a调控CYLD蛋白表达.

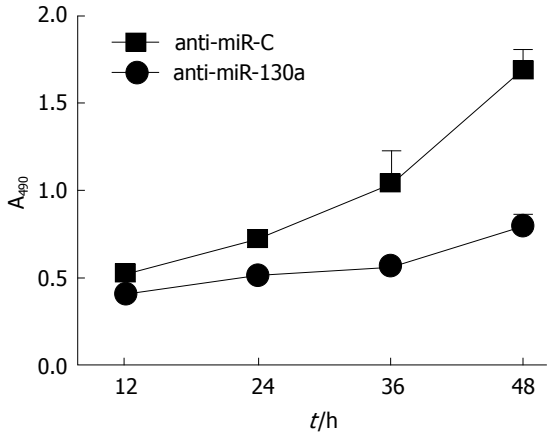


图 4 miR-130a下调对HepG2细胞增殖的影响.

不能对报告基因的活性产生抑制效应(图3A). Western blot实验结果发现: 转染miR-130a inhibitor能显著上调肝癌细胞中CYLD蛋白表达(图3B). 以上结果表明miR-130a对CYLD的表达具有直接调控作用.

2.4 miR-130a对肝癌细胞增殖的影响 MTT检测结果显示, 转染anti-miR-130a后的HepG2细胞生长速度较anti-miR-C对照组明显减慢($P<0.05$, 图4).

3 讨论

原发性肝癌是世界范围内高发的恶性肿瘤之一, 肝癌细胞具有易侵袭转移、高增殖性等恶性生物学行为, 这也是导致肝癌预后不良的主要原因. 近年来的研究表明: 癌基因的激活或抑癌基因的失活或突变参与肝癌等恶性肿瘤的发生发展, 如*p53*、*Her2*、*PTEN*及*CYLD*等基因表达异常或突变与多种肿瘤的发生发展密切相关[13-16]. CYLD是2003年*Nature*杂志报道的一个新的肿瘤抑制基因[17], 众多研究提示CYLD作为一种去泛素化酶, 其去泛素化活性可以抑制核因子(nuclear factor kappa B, NF-κB)、JNK、WNT/β-catenin等信号途径的激活, 在细胞周期的调控、介导细胞凋亡、抑制肿瘤发生等分子事件中有着重要的调控作用[18-23]. 已有的研究结果表明很多实体瘤或血液肿瘤细胞中存在*CYLD*基因的低表达或突变, 进而参与肿瘤的发生发展. 最新的研究显示, CYLD在肝癌的发生发展中也发挥着重要作用[24-29]. 然而, *CYLD*基因表达调控的机制还很不清楚.

近年来发现的microRNA, 是调控基因表达的重要分子, 某些表达失调的miRNA与恶性肿瘤的发生发展密切相关, 本研究报道的miR-130a, 其在肝癌中的作用知之甚少, 有研究报道miR-130a能够提高肝癌细胞对化疗药物顺铂的耐药性[30], 而我们的研究发现miR-130a在人肝癌细胞系以及原代的肝癌组织中高表达, 并首次通过双荧光素酶报告基因实验证实了*CYLD*是miR-130a的潜在靶基因, 也进一步证明了在肝癌细胞中下调miR-130a后, 可以促进抑癌基因*CYLD*蛋白的表达, 并且可以抑制肝癌细胞的增殖, 表明在肝癌细胞中, 可能由于miR-130a的高表达, 抑制了抑癌基因*CYLD*的表达, 低表达的肝癌细胞NF-κB等信号途径可能会异常活化, 而这些信号转导途径的异常活化与肝癌等肿瘤的增殖等恶性生物学行为呈正相关关系. 因此, miR-130a上调可能是肝癌恶性发展的机制之一, 这可能为肝癌的治疗提供新的靶点.

4 参考文献

1 El-Serag HB, Rudolph KL. Hepatocellular carcinoma: epidemiology and molecular carcinogenesis. *Gastroenterology* 2007; 132: 2557-2576 [PMID: 17570226]

2 Perz JF, Armstrong GL, Farrington LA, Hutin YJ, Bell BP. The contributions of hepatitis B virus and hepatitis C virus infections to cirrhosis and primary

■创新盘点

本研究报道的miR-130a, 其在肝癌中的作用鲜有研究报道, 我们首次通过双荧光素酶报告基因实验证实了*CYLD*是miR-130a的潜在靶基因, 并且证明在肝癌细胞中下调miR-130a后, 可以促进抑癌基因*CYLD*蛋白的表达, 并且可以抑制肝癌细胞的增殖, 表明在肝癌细胞中, 可能由于miR-130a的高表达, 抑制了抑癌基因*CYLD*的表达, 进而促进肝癌细胞的增殖等恶性生物学行为.

■应用要点
MiR-130a上调可能是肝癌恶性发展的机制之一, 这可能为肝癌的治疗提供新的靶点.

liver cancer worldwide. *J Hepatol* 2006; 45: 529-538 [PMID: 16879891]
3 Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 69-90 [PMID: 21296855 DOI: 10.3322/caac.20107]
4 Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell* 2004; 116: 281-297 [PMID: 14744438]
5 Cheng AM, Byrom MW, Shelton J, Ford LP. Antisense inhibition of human miRNAs and indications for an involvement of miRNA in cell growth and apoptosis. *Nucleic Acids Res* 2005; 33: 1290-1297 [PMID: 15741182]
6 Chen Y, Verfaillie CM. MicroRNAs: the fine modulators of liver development and function. *Liver Int* 2014 Feb 11. *[Epub ahead of print]* [PMID: 24517588 DOI: 10.1111/liv.12496]
7 Turato C, Simonato D, Quarta S, Gatta A, Pontisso P. MicroRNAs and SerpinB3 in hepatocellular carcinoma. *Life Sci* 2014; 100: 9-17 [PMID: 24496037 DOI: 10.1016/j.lfs.2014.01.073]
8 Hou W, Bonkovsky HL. Non-coding RNAs in hepatitis C-induced hepatocellular carcinoma: dysregulation and implications for early detection, diagnosis and therapy. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 7836-7845 [PMID: 24307777 DOI: 10.3748/wjg.v19.i44.7836]
9 Wang Z, Wu J, Zhang G, Cao Y, Jiang C, Ding Y. Associations of miR-499 and miR-34b/c Polymorphisms with Susceptibility to Hepatocellular Carcinoma: An Evidence-Based Evaluation. *Gastroenterol Res Pract* 2013; 2013: 719202 [PMID: 24194751]
10 Callegari E, Elamin BK, Sabbioni S, Gramantieri L, Negrini M. Role of microRNAs in hepatocellular carcinoma: a clinical perspective. *Onco Targets Ther* 2013; 6: 1167-1178 [PMID: 24039437]
11 Wong CM, Kai AK, Tsang FH, Ng IO. Regulation of hepatocarcinogenesis by microRNAs. *Front Biosci* (Elite Ed) 2013; 5: 49-60 [PMID: 23276969]
12 Giordano S, Columbano A. MicroRNAs: new tools for diagnosis, prognosis, and therapy in hepatocellular carcinoma? *Hepatology* 2013; 57: 840-847 [PMID: 23081718 DOI: 10.1002/hep.26095]
13 Sanefuji K, Taketomi A, Iguchi T, Sugimachi K, Ikegami T, Yamashita Y, Gion T, Soejima Y, Shirabe K, Maehara Y. Significance of DNA polymerase delta catalytic subunit p125 induced by mutant p53 in the invasive potential of human hepatocellular carcinoma. *Oncology* 2010; 79: 229-237 [PMID: 21372597 DOI: 10.1159/000322374]
14 Scaltriti M, Eichhorn PJ, Cortés J, Prudkin L, Aura C, Jiménez J, Chandarlapaty S, Serra V, Prat A, Ibrahim YH, Guzmán M, Gili M, Rodríguez O, Rodríguez S, Pérez J, Green SR, Mai S, Rosen N, Hudis C, Baselga J. Cyclin E amplification/overexpression is a mechanism of trastuzumab resistance in HER2+ breast cancer patients. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011; 108: 3761-3766 [PMID: 21321214 DOI: 10.1073/pnas.1014835108]
15 Wrighton KH. Cancer biology: Role of nuclear PTEN revealed. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2011; 12: 134 [PMID: 21326198 DOI: 10.1038/nrm3069]
16 Massoumi R. CYLD: a deubiquitination enzyme with multiple roles in cancer. *Future Oncol* 2011; 7: 285-297 [PMID: 21345146 DOI: 10.2217/fon.10.187]
17 Trompouki E, Hatzivassiliou E, Tsichritzis T, Farmer H, Ashworth A, Mosialos G. CYLD is a deubiquitinating enzyme that negatively regulates NF-kappaB activation by TNFR family members. *Nature* 2003; 424: 793-796 [PMID: 12917689]
18 Brummelkamp TR, Nijman SM, Dirac AM, Bernards R. Loss of the cylindromatosis tumour suppressor inhibits apoptosis by activating NF-kappaB. *Nature* 2003; 424: 797-801 [PMID: 12917690]
19 Zhang J, Stirling B, Temmerman ST, Ma CA, Fuss IJ, Derry JM, Jain A. Impaired regulation of NF-kappaB and increased susceptibility to colitis-associated tumorigenesis in CYLD-deficient mice. *J Clin Invest* 2006; 116: 3042-3049 [PMID: 17053834]
20 Xue L, Igaki T, Kuranaga E, Kanda H, Miura M, Xu T. Tumor suppressor CYLD regulates JNK-induced cell death in Drosophila. *Dev Cell* 2007; 13: 446-454 [PMID: 17765686]
21 Tauriello DV, Haegebarth A, Kuper I, Edelmann MJ, Henraat M, Canninga-van Dijk MR, Kessler BM, Clevers H, Maurice MM. Loss of the tumor suppressor CYLD enhances Wnt/beta-catenin signaling through K63-linked ubiquitination of Dvl. *Mol Cell* 2010; 37: 607-619 [PMID: 20227366 DOI: 10.1016/j.molcel.2010.01.035]
22 Sun SC. CYLD: a tumor suppressor deubiquitinase regulating NF-kappaB activation and diverse biological processes. *Cell Death Differ* 2010; 17: 25-34 [PMID: 19373246 DOI: 10.1038/cdd.2009.43]
23 Ye H, Liu X, Lv M, Wu Y, Kuang S, Gong J, Yuan P, Zhong Z, Li Q, Jia H, Sun J, Chen Z, Guo AY. MicroRNA and transcription factor co-regulatory network analysis reveals miR-19 inhibits CYLD in T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Nucleic Acids Res* 2012; 40: 5201-5214 [PMID: 22362744 DOI: 10.1093/nar/gks175]
24 Pannem RR, Dorn C, Ahlqvist K, Bosserhoff AK, Hellerbrand C, Massoumi R. CYLD controls c-MYC expression through the JNK-dependent signaling pathway in hepatocellular carcinoma. *Carcinogenesis* 2014; 35: 461-468 [PMID: 24104553 DOI: 10.1093/carcin/bgt335]
25 Gautheron J, Luedde T. A novel player in inflammation and cancer: the deubiquitinase CYLD controls HCC development. *J Hepatol* 2012; 57: 937-939 [PMID: 22878470 DOI: 10.1016/j.jhep.2012.07.039]
26 Font-Burgada J, Seki E, Karin M. CYLD and HCC: when being too sensitive to your dirty neighbors results in self-destruction. *Cancer Cell* 2012; 21: 711-712 [PMID: 22698394 DOI: 10.1016/j.ccr.2012.05.034]
27 Urbanik T, Köhler BC, Boger RJ, Wörns MA, Heeger S, Otto G, Hövelmeyer N, Galle PR, Schuchmann M, Waisman A, Schulze-Bergkamen H. Down-regulation of CYLD as a trigger for NF-κB activation and a mechanism of apoptotic resistance in hepatocellular carcinoma cells. *Int J Oncol* 2011; 38: 121-131 [PMID: 21109933]
28 Chu L, Gu J, He Z, Xiao T, Liu X. Adenoviral vector expressing CYLD augments antitumor activity of TRAIL by suppression of NF-kappaB survival signaling in hepatocellular carcinoma. *Cancer Biol Ther* 2006; 5: 615-622 [PMID: 16627981]
29 Hashimoto K, Mori N, Tamesa T, Okada T, Kawauchi S, Oga A, Furuya T, Tangoku A, Oka M, Sasaki K. Analysis of DNA copy number aberrations in hepatitis C virus-associated hepatocellular carcinomas by conventional CGH and array CGH. *Mod Pathol* 2004; 17: 617-622 [PMID: 15133472]

30 Xu N, Shen C, Luo Y, Xia L, Xue F, Xia Q, Zhang J. Upregulated miR-130a increases drug resistance by regulating RUNX3 and Wnt signaling in cisplatin-treated HCC cell. *Biochem Biophys Res Commun* 2012; 425: 468-472 [PMID: 22846564 DOI: 10.1016/j.bbrc.2012.07.127]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

■同行评价
本文的科学性、创新性和可读性较好地反映了该领域基础研究的先进水平.

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

• 消息 •

中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》影响因子0.873

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

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

世界华人消化杂志 2014年4月18日; 22(11): 1510-1517
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

基础研究 BASIC RESEARCH

黄芩苷减轻大鼠肠缺血再灌注损伤及对Nrf2、HO-1表达的影响

程风春, 耿 磊, 李 丽, 刘希杰, 郑步峰, 冯文玉, 张兴元, 傅廷亮

■背景资料
肠缺血再灌注损伤(intestinal ischemia reperfusion injury, IIRI)是临床上许多疾病共同的病理生理过程, 他不仅引起肠屏障功能障碍, 还可以导致远隔器官损伤、全身炎症反应综合征和多器官功能障碍综合征, 因此IIRI防治成为研究热点, 本实验探讨黄芩苷对大IIRI的保护作用及其机制.

程风春, 耿磊, 刘希杰, 郑步峰, 冯文玉, 傅廷亮, 滨州医学院附属医院儿外科 山东省滨州市 256603
李丽, 滨州市人民医院 山东省滨州市 256610
张兴元, 滨州医学院附属医院肝胆外科 山东省滨州市 256603
程风春, 在读硕士, 主要从事肠道屏障功能的研究.
山东省高等学校科技发展计划基金资助项目, No. J11LF99
山东省医药卫生科技发展计划基金资助项目, No. 2011HW005
滨州医学院科技重点计划基金资助项目, No. BY2012KJZD02
作者贡献分布: 程风春与耿磊对此文所作贡献均等; 此课题由张兴元与傅廷亮设计; 研究过程由程风春、耿磊及冯文玉操作完成; 数据分析由李丽、刘希杰及郑步峰完成; 本论文写作由傅廷亮与程风春完成.
通讯作者: 傅廷亮, 教授, 主任医师, 256603, 山东省滨州市黄河二路661号, 滨州医学院附属医院儿外科. drfutl@sina.com
电话: 0543-3258672
收稿日期: 2014-01-27 修回日期: 2014-03-04
接受日期: 2014-03-18 在线出版日期: 2014-04-18

Baicalin attenuates intestinal ischemia/reperfusion injury and alters intestinal expression of Nrf2 and HO-1 in rats

Feng-Chun Cheng, Lei Geng, Li Li, Xi-Jie Liu, Bu-Feng Zheng, Wen-Yu Feng, Xing-Yuan Zhang, Ting-Liang Fu

Feng-Chun Cheng, Lei Geng, Xi-Jie Liu, Bu-Feng Zheng, Wen-Yu Feng, Ting-Liang Fu, Department of Pediatric Surgery, Binzhou Medical University Hospital, Binzhou 256603, Shandong Province, China
Li Li, Department of Pediatrics, Binzhou People's Hospital, Binzhou 256610, Shandong Province, China
Xing-Yuan Zhang, Department of Hepatobiliary Surgery, Binzhou Medical University Hospital, Binzhou 256603, Shandong Province, China
Supported by: Shandong Provincial Higher Educational Science and Technology Program, No. J11LF99; Medical and Health Science and Technology Development Project of Shandong Province, No. 2011HW005; and Key Project of Science and Technology of Binzhou Medical University, No. BY2012KJZD02
Correspondence to: Ting-Liang Fu, Professor, Chief Physician, Department of Pediatric Surgery, Binzhou Medical University Hospital, 661 Huanghe Er Road, Binzhou 256603, Shandong Province, China. drfutl@sina.com
Received: 2014-01-27 Revised: 2014-03-04
Accepted: 2014-03-18 Published online: 2014-04-18

Abstract

AIM: To investigate the protective effects of baicalin against intestinal ischemia-reperfusion (IIR) injury in rats.

METHODS: Thirty-two male Wistar rats were randomly and equally divided into four groups: control (SO), baicalin (BA), IIR, and baicalin + IIR (BA + IIR). IIR was induced by clamping the superior mesenteric artery (SMA) for 60 min and restoring blood supply for two hours. The rats in the SO and BA groups underwent a laparotomy, and the SMA was separated without occlusion. The rats in the BA and BA + IIR groups were given baicalin (100 mg/kg, 1 mL) by intraperitoneal injection 30 min before model creation. The rats in the SO and IIR groups were given normal saline (1 mL). Intestinal histopathologic changes were examined. Serum superoxide dismutase (SOD) and malondialdehyde (MDA) levels were determined by WST and thiobarbituric acid method, respectively, and plasma D-lactic acid level was assayed by ELISA. The expression of NF-E2-related factor 2 (Nrf2) and heme oxygenase 1 (HO-1) in intestinal tissues was determined by immunohistochemistry (IHC) and Western blot (WB).

RESULTS: In the IIR group, the Chiu's score (3.99 ± 0.24 *vs* 0.30 ± 0.08, $P < 0.01$), serum MDA level (3.41 ± 0.23 *vs* 1.59 ± 0.25, $P < 0.01$) and plasma D-lactic acid level (174.27 ± 33.84 *vs* 52.40 ± 12.12, $P < 0.01$) were significantly higher than those in the SO group. Nrf2 and HO-1 expression in intestinal tissues in the IIR group was significantly higher than that in the SO group (IHC: 0.326 ± 0.024 *vs* 0.289 ± 0.041, 0.298 ± 0.025 *vs* 0.258 ± 0.027, $P < 0.05$; WB: 1.062 ± 0.056 *vs* 0.584 ± 0.048, 1.019 ± 0.041 *vs* 0.592 ± 0.037, $P < 0.01$). In the IIR group, serum SOD activity decreased significantly compared with the SO group (100.08 ± 3.20 *vs* 136.88 ± 5.93, $P < 0.01$). In the BA group, Nrf2 and HO-1 expression in intestinal tissues increased significantly in comparison with the SO group (IHC: 0.322 ± 0.028 *vs* 0.289 ± 0.041, 0.284 ± 0.009 *vs* 0.258 ± 0.027, $P < 0.05$; WB: 1.077 ± 0.038 *vs* 0.584 ± 0.048, 1.027 ± 0.042 *vs* 0.592 ± 0.037, $P < 0.01$). Compared with the IIR group, intestinal

■同行评议者
门秀丽, 教授, 河北联合大学(原华北煤炭医学院)病理生理学教研室

tissue injury was significantly reduced (2.95 ± 0.26 *vs* 3.99 ± 0.24, $P < 0.01$), serum MDA level (3.09 ± 0.15 *vs* 3.41 ± 0.23, $P < 0.01$) and plasma D-lactic acid decreased significantly (108.04 ± 20.19 *vs* 174.27 ± 33.84, $P < 0.01$), and serum SOD activity (116.11 ± 4.12 *vs* 100.08 ± 3.20, $P < 0.01$) and expression of Nrf2 and HO-1 in intestinal tissues increased significantly (IHC: 0.371 ± 0.024 *vs* 0.326 ± 0.024, 0.336 ± 0.031 *vs* 0.298 ± 0.025, $P < 0.01$; WB: 1.541 ± 0.100 *vs* 1.062 ± 0.056, 1.458 ± 0.071 *vs* 1.019 ± 0.041, $P < 0.01$) in the IIR + BA group.

CONCLUSION: Our data suggest that baicalin alleviates IIR injury possibly by activating the Nrf2-ARE pathway.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Baicalin; Intestinal ischemia reperfusion injury; Nrf2; HO-1

Cheng FC, Geng L, Li L, Liu XJ, Zheng BF, Feng WY, Zhang XY, Fu TL. Baicalin attenuates intestinal ischemia/reperfusion injury and alters intestinal expression of Nrf2 and HO-1 in rats. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(11): 1510-1517 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1510.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i11.1510

摘要

目的: 研究黄芩苷对大鼠肠缺血再灌注(intestinal ischemia-reperfusion, IIR)损伤的保护作用及机制.

方法: ♂ Wistar大鼠32只, 随机分为假手术(sham-operated, SO)组、黄芩苷(baicalin, BA)组、肠缺血再灌注(IIR)组、黄芩苷+肠缺血再灌注(BA+IIR)组. BA组和BA+IIR组于造模前30 min腹腔注射黄芩苷100 mg/kg体质量, SO组和IIR组注射等量生理盐水. 再灌注2 h后取材, HE染色观察小肠组织损伤程度, 水溶性四唑盐1(water soluble tetrazolium salt 1, WST-1)法测定血清超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性, 硫代巴比妥酸法测定血清丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量, ELISA法检测血浆D-乳酸含量, 免疫组织化学(immunohistochemistry, IHC)和Western blot法检测核因子相关因子2(NF-E2-related factor 2, Nrf2)、血红素加氧酶1(heme oxygenase 1, HO-1)蛋白表达.

结果: IIR组与SO组比较, 小肠黏膜损伤Chiu氏评分升高(3.99±0.24 *vs* 0.30±0.08, $P<0.01$), 血清SOD活性降低(100.08 U/mL±3.20 U/mL *vs* 136.88 U/mL±5.93 U/mL, $P<0.01$), MDA含量增加(3.41 nmol/mL±0.23 nmol/mL *vs* 1.59 nmol/mL±0.25 nmol/mL, $P<0.01$), 血浆D-乳酸含量增多(174.27 ng/mL±33.84 ng/mL *vs* 52.40 ng/mL±12.12 ng/mL, $P<0.01$), 小肠组织中Nrf2、HO-1表达增加(IHC: 0.326±0.024 *vs* 0.289±0.041, 0.298±0.025 *vs* 0.258±0.027, $P<0.05$; WB: 1.062±0.056 *vs* 0.584±0.048, 1.019±0.041 *vs* 0.592±0.037, $P<0.01$). BA组小肠组织Nrf2、HO-1表达比SO组显著增加(IHC: 0.322±0.028 *vs* 0.289±0.041, 0.284±0.009 *vs* 0.258±0.027, $P<0.05$; WB: 1.077±0.038 *vs* 0.584±0.048, 1.027±0.042 *vs* 0.592±0.037, $P<0.01$). BA+IIR组与IIR组相比, 小肠黏膜损伤Chiu氏评分降低(2.95±0.26 *vs* 3.99±0.24, $P<0.01$), 血清SOD活性升高(116.11 U/mL±4.12 U/mL *vs* 100.08 U/mL±3.20 U/mL, $P<0.01$), MDA含量减少(3.09 nmol/mL±0.15 nmol/mL *vs* 3.41 nmol/mL±0.23 nmol/mL, $P<0.01$), 血浆D-乳酸含量减少(108.04 ng/mL±20.19 ng/mL *vs* 174.27 ng/mL±33.84 ng/mL, $P<0.01$), 小肠组织Nrf2、HO-1表达增加(IHC: 0.371±0.024 *vs* 0.326±0.024, 0.336±0.031 *vs* 0.298±0.025, $P<0.01$; WB: 1.541±0.100 *vs* 1.062±0.056, 1.458±0.071 *vs* 1.019±0.041, $P<0.01$).

结论: 黄芩苷对大鼠肠缺血再灌注损伤有良好的保护作用, 其机制可能是通过激活核因子相关因子2-抗氧化反应元件(NF-E2-related factor 2-antioxidant response element, Nrf2-ARE)通路进而增加抗氧化酶SOD、HO-1表达实现的.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 黄芩苷; 肠缺血再灌注损伤; 核因子相关性因子2; 血红素加氧酶1

核心提示: 大鼠肠缺血再灌注过程中存在氧化应激损伤, 黄芩苷可以通过激活核因子相关因子2-抗氧化反应元件(NF-E2-related factor 2-antioxidant response element)信号通路, 诱导抗氧化酶超氧化物歧化酶(superoxide dismutase)、血红素加氧酶1(heme oxygenase 1)表达, 提高机体清除氧自由基的能力, 减轻大鼠肠缺血再灌注损伤.

程风春, 耿磊, 李丽, 刘希杰, 郑步峰, 冯文玉, 张兴元, 傅廷亮. 黄芩苷减轻大鼠肠缺血再灌注损伤及对Nrf2、HO-1表达的影响. 世界华人消化杂志 2014; 22(11): 1510-1517 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1510.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i11.1510

■研发前沿

IRII是危急重症患者常见的病理生理过程之一, 在其发病机制中, 氧自由基起着关键作用, 黄芩苷具有抗氧化、清除氧自由基等药理活性, 可有效减轻脏器的缺血再灌注损伤, 核因子相关因子2(NF-E2-related factor 2, Nrf2)是一种重要的内源性抗氧化应激的调控因子, 当受到氧自由基和抗氧化剂等信号激活后可以诱导超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、血红素加氧酶1(heme oxygenase 1, HO-1)等抗氧化酶的表达.

■相关报道
Sun等研究表明, 人参皂苷Rb1可以激活Nrf2-ARE信号通路减轻小鼠IIR对肾脏的损伤.

0 引言

肠缺血再灌注损伤(intestinal ischemia reperfusion injury, IIRI)是临床上许多疾病共同的病理生理过程, 他不仅引起肠屏障功能障碍, 还可以导致远隔器官损伤、全身炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome, SIRS)和多器官功能障碍综合征(multiple organ dysfunction syndrome, MODS)[1]. 在IIRI发病机制中, 氧自由基可以引起肠道损伤, 与白细胞浸润、炎症介质的释放密切相关[2]. 研究发现, 核因子相关因子2(NF-E2-related factor 2, Nrf2)是一种重要的内源性抗氧化应激的调控因子. 当受到氧自由基和抗氧化剂等信号激活后, Nrf2诱导超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、血红素加氧酶1(heme oxygenase 1, HO-1)等抗氧化酶表达增加, 从而对抗氧自由基引起的氧化应激[3,4]. 黄芩苷(baicalin, BA)具有抗氧化、清除氧自由基等药理活性, 可有效减轻脏器的缺血再灌注损伤[5]. 本研究建立肠缺血再灌注模型, 观察黄芩苷对大鼠肠缺血再灌注损伤的作用及对Nrf2-ARE信号通路相关信号因子Nrf2、SOD、HO-1的影响, 旨在探讨黄芩苷对大鼠肠缺血再灌注损伤的保护作用及其机制.

1 材料和方法

1.1 材料 清洁级Wistar大鼠32只, 体质量250-300 g, 由山东大学实验动物中心[许可证号: SCXK(鲁)20090001]提供; 黄芩苷, 纯度≥98%, 购自上海博耀生物科技公司; Nrf2、HO-1抗体购自北京博奥森生物技术有限公司; 血清SOD、MDA检测试剂盒购自南京建成生物工程研究所; 血浆D-乳酸ELISA试剂盒购自武汉华美生物工程有限公司, Western blot检测试剂购自碧云天生物技术研究所. 石蜡切片机(MICROW Gmbh HM315R, 德国); 显微镜照像系统(OLYMPUS BX51T-32F01, 日本); 自动酶标仪(Bio-rad iMark, 美国); 垂直电泳仪(Bio-rad, 美国), 转膜仪(Bio-rad, 美国).

1.2 方法

1.2.1 动物分组及给药: 将大鼠随机分为假手术(sham-operated, SO)组、BA组、肠缺血再灌注(IIR)组、黄芩苷+肠缺血再灌注(BA+IIR)组, 每组8只. 将黄芩苷溶于生理盐水中, 浓度为50 mg/mL, 超滤除菌. BA组和BA+IIR组术前30 min腹腔注射黄芩苷100 mg/kg体质量. SO组和IIR组注射等量的生理盐水.

1.2.2 模型的建立: 大鼠术前禁食12 h, 自由饮水, 10%水合氯醛腹腔注射麻醉(3 mL/kg体质量). IIR组和BA+IIR组采用Megison[6]法建立肠缺血再灌注模型. 取上腹正中切口, 长约3.0 cm, 用温盐水纱布将肠管推向左侧腹, 暴露右肾内上方的肠系膜根部, 找到肠系膜上动脉(superior mesenteric artery, SMA)从根部用无创血管夹夹闭, 闭合腹部切口. SMA夹闭60 min后从原切口入腹, 松开无创血管夹再灌注2 h. SO组和BA组只分离SMA, 不夹闭. 大鼠在麻醉期间用加热灯维持体温, 并用肛温计监测体温. 再灌注2 h后, 经腹主动脉取血留样, 距回盲部5 cm处取回肠, 部分用4%甲醛固定, 其余部分-80 ℃冻存.

1.2.3 小肠黏膜损伤病理检查: 大鼠小肠组织经甲醛固定、脱水、透明、石蜡包埋后, 制成4 μm组织切片, 进行HE染色, 在显微镜下观察组织病理学改变, 用Chiu氏分级标准对小肠黏膜损伤进行评分[7].

1.2.4 血清中SOD与MDA检测: 血液标本静置后离心(4000 r/min)10 min, 取上层血清-80 ℃保存. 采用WST-1法测定SOD, 采用硫代巴比妥酸法进行MDA的测定. 按照试剂盒说明书操作步骤进行测定.

1.2.5 血浆D-乳酸含量测定: 血液标本用肝素钠抗凝离心(4000 r/min)10 min, 取上层血浆. 采用Elisa法测定血浆中D-乳酸含量, 按照试剂盒说明书操作步骤进行测定.

1.2.6 免疫组织化学检测小肠组织Nrf2、HO-1表达: 大鼠小肠组织经甲醛固定、脱水、透明、石蜡包埋后, 制成3 μm组织切片. 切片经二甲苯脱蜡、至水后, 3%过氧化氢室温孵育20 min, 去除内源性过氧化物酶, PBS洗涤5 min, 共3次, 枸橼酸盐缓冲液(pH 6.0)微波炉加热20 min抗原修复, 自然凉至室温, PBS洗涤5 min共3次, 滴加正常山羊血清封闭液, 室温孵育20 min, 倾去封闭液, 滴加Nrf2(PBS稀释浓度1∶100)和HO-1(PBS稀释浓度1∶100)一抗, 4 ℃过夜, PBS洗涤5 min共3次, 滴加生物素标记的二抗工作液37 ℃孵育20 min, PBS洗涤5 min共3次, 滴加辣根酶标记链霉卵白素工作液37 ℃孵育20 min, PBS洗涤5 min共3次, DAB显色, 苏木素复染、脱水、透明、封片. 阳性结果的判定: Nrf2在胞核和胞浆可见大量棕黄色颗粒, HO-1在胞浆中可见大量综黄色颗粒, 用平均光密度来表示表达结果, 平均光密度越大表示蛋白表达越强.

1.2.7 Western blot检测小肠组织中Nrf2、HO-1

表 1 大鼠肠黏膜Chiu氏损伤评分、血清SOD、MDA及血浆D-乳酸水平 (n = 8, mean ± SD)

分组	Chiu氏评分	血清SOD(U/mL)	血清MDA(nmol/mL)	血浆D-乳酸(ng/mL)
SO组	0.30 ± 0.08	136.88 ± 5.93	1.59 ± 0.25	52.40 ± 12.12
BA组	0.28 ± 0.15	134.09 ± 7.05	1.75 ± 0.26	55.35 ± 11.73
IIR组	3.99 ± 0.24[b]	100.08 ± 3.20[b]	3.41 ± 0.23[b]	174.27 ± 33.84[b]
BA+IIR组	2.95 ± 0.26[bd]	116.11 ± 4.12[bd]	3.09 ± 0.15[bd]	108.04 ± 20.19[bd]
F值	764.22	84.00	131.53	56.97
P值	0.00	0.00	0.00	0.00

[b]P<0.01 *vs* SO组; [d]P<0.01 *vs* IIR组. SOD: 超氧化物歧化酶; MDA: 丙二醛; SO: 假手术; BA: 黄芩苷; IIR: 肠缺血再灌注.

■创新盘点
本研究建立IIR模型, 观察黄芩苷对大鼠IIRI的作用及对Nrf2-ARE信号通路的影响, 旨在探讨黄芩苷对大鼠IIRI的保护作用及其机制.

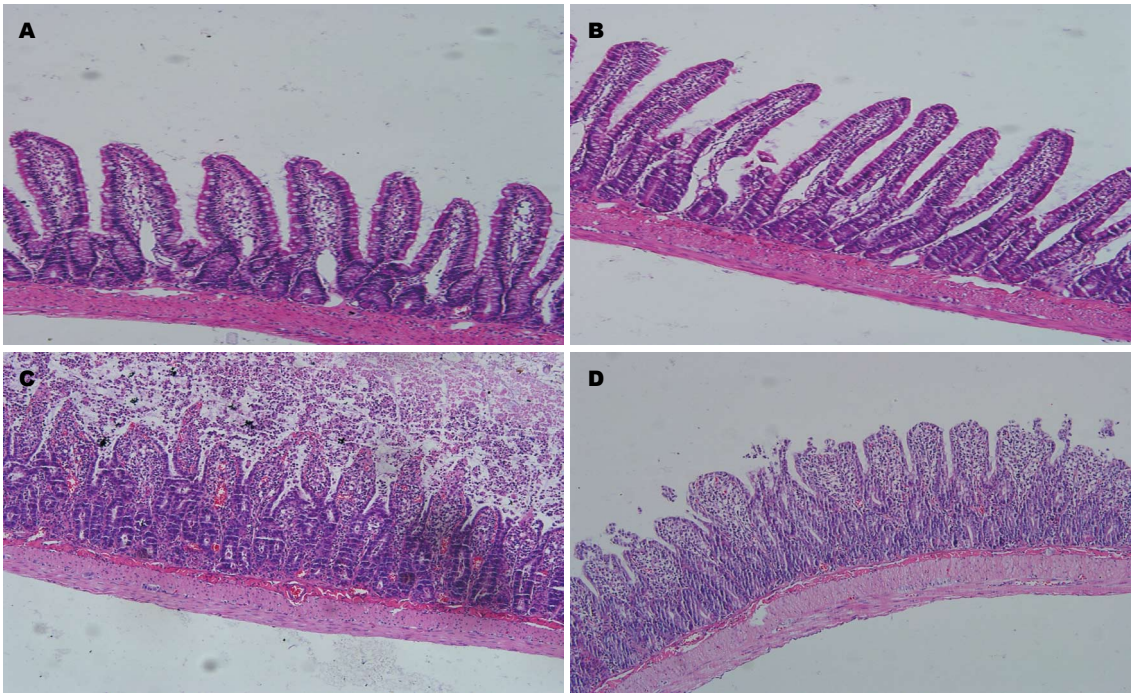


图 1 各组大鼠小肠组织病理改变(HE × 100). A: 假手术(SO)组; B: 黄芩苷(BA)组; C: 肠缺血再灌注(IIR)组; D: 黄芩苷+肠缺血再灌注(BA+IIR)组.

的表达: 取小肠组织按蛋白提取试剂盒说明书操作, 提取小肠组织总蛋白. 用BCA法测定蛋白浓度. 取40 μg蛋白在5%的浓缩胶和10%的分离胶中电泳, 然后采用湿法转膜, 使蛋白转到硝酸纤维素(NC)膜上, 加入Western封闭液室温封闭90 min, 加入Nrf2(1∶100)、HO-1(1∶100)和β-actin(1∶4000)一抗, 4 ℃孵育过夜, TBST洗涤10 min共3次, 加入IgG-HRP二抗(1∶10000), 室温孵育1 h, TBST洗涤10 min共3次, 加ECL曝光成像. QuantityOne软件分析测定结果, 目的蛋白相对含量 = 目的蛋白灰度值/β-actin灰度值.

统计学处理 采用SPSS19.0软件进行统计学分析, 计量结果采用mean±SD表示, 各组之间采用单因素方差分析(ANOVA)进行比较, P<0.05为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 小肠组织病理学变化 大体标本观察: SO组和BA组小肠组织未见明显改变; IIR组小肠明显扩张, 呈暗红色, 存在散在的出血点; BA+IIR组小肠组织轻度扩张, 暗红色, 偶见散在出血点. HE染色镜下观察: SO组和BA组小肠黏膜结构正常, 未见明显损伤; IIR组小肠黏膜损伤严重, 上皮细胞脱落, 黏膜出现水肿、出血、炎症细胞浸润、缺损断裂; BA+IIR组小肠黏膜损伤相对较轻, 可见轻度充血水肿, 偶见黏膜上皮坏死脱落. IIR组大鼠小肠黏膜Chiu氏评分明显高于SO组, 差异具有统计学意义(P<0.01); BA+IIR组评

■应用要点
本研究表明, 黄芩苷可以减轻大鼠IIRI, 抑制肠道通透性增加, 其机制可能是通过激活Nrf2-ARE信号通路, 诱导抗氧化酶SOD、HO-1表达实现的. 为黄芩苷的临床应用和IIRI的防治提供了理论指导.

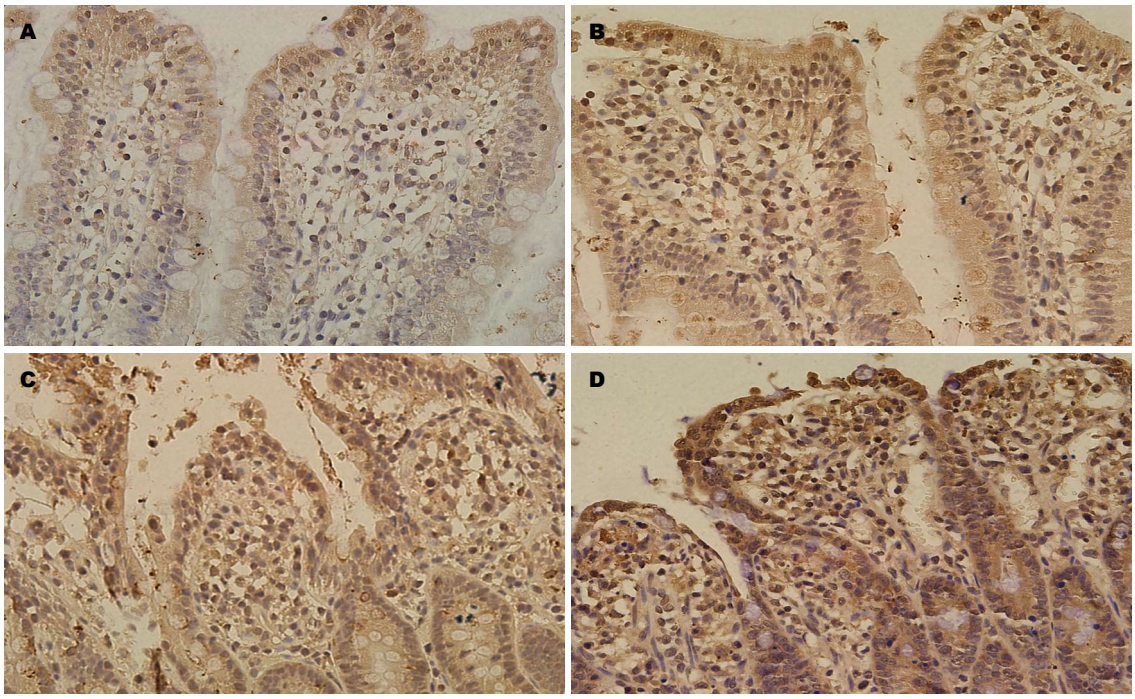


图 2 各组大鼠小肠组织Nrf2表达(DAB × 400). A: 假手术(SO)组; B: 黄芩苷(BA)组; C: 肠缺血再灌注(IIR)组; D: 黄芩苷+肠缺血再灌注(BA+IIR)组.

表 2 各组大鼠小肠组织Nrf2、HO-1蛋白表达 (n = 8, mean ± SD)

分组	Nrf2(IHC)	HO-1(IHC)	Nrf2 (WB)	HO-1(WB)
SO组	0.289 ± 0.041	0.258 ± 0.027	0.584 ± 0.048	0.592 ± 0.037
BA组	0.322 ± 0.028[a]	0.284 ± 0.009[a]	1.077 ± 0.038[b]	1.027 ± 0.042[b]
IIR组	0.326 ± 0.024[a]	0.298 ± 0.025[a]	1.062 ± 0.056[b]	1.019 ± 0.041[b]
BA+IIR组	0.371 ± 0.024[d]	0.336 ± 0.031[d]	1.541 ± 0.100[d]	1.458 ± 0.071[d]
F值	10.195	14.064	286.315	403.491
P值	0.000	0.000	0.000	0.000

[a]P<0.05, [b]P<0.01 *vs* SO组; [d]P<0.01 *vs* IIR组. SO: 假手术; BA: 黄芩苷; IIR: 肠缺血再灌注; Nrf2: 核因子相关因子2; HO-1: 血红素加氧酶1; IHC: 免疫组织化学.

分低于IIR组, 差异具有统计学意义(P<0.01), BA组与SO组比较, 差异无显著性(图1, 表1).

2.2 血清中SOD和MDA含量 与SO组相比, IIR组血清SOD、MDA含量分别出现明显下降和升高, 差异具有统计学意义(均P<0.01); BA组血清SOD、MDA水平与SO组相比无显著差异; BA+IIR组血清SOD、MDA水平分别高于低于IIR组, 差异具有统计学意义(均P<0.01)(表1).

2.3 血浆中D-乳酸含量 IIR组血浆D-乳酸含量与SO组相比明显升高, 差异具有统计学意义(P<0.01); 与IIR组相比, BA+IIR组血浆D-乳酸含量降低, 差异具有统计学意义(P<0.01); BA组与SO组相比无显著差异(表1).

2.4 免疫组织化学检测小肠组织中Nrf2、HO-1蛋白表达 SO组大鼠小肠组织Nrf2在细胞核中表达很少或不表达; BA组和IIR组Nrf2表达呈阳性, 胞浆及胞核中均可见棕黄色颗粒, 与SO组相比差异具有统计学意义(P<0.05); BA+IIR组Nrf2表达呈强阳性, 胞浆和胞核中均可见大量棕黄色和褐色颗粒, 与IIR组相比差异具有统计学意义(P<0.01). HO-1在SO组表达为阴性或弱阳性, 胞浆呈淡黄色; BA组和IIR组HO-1表达为阳性, 胞浆中可见棕黄色颗粒, 与SO组相比差异具有统计学意义(P<0.05); BA+IIR组HO-1表达为强阳性, 胞浆中可见大量棕黄色颗粒, 与IIR组相比差异具有统计学意义(P<0.01), (表2, 图2, 3).

2.5 Western blot检测大鼠小肠组织中Nrf2、HO-1蛋白表达 Western blot检测结果显示, BA

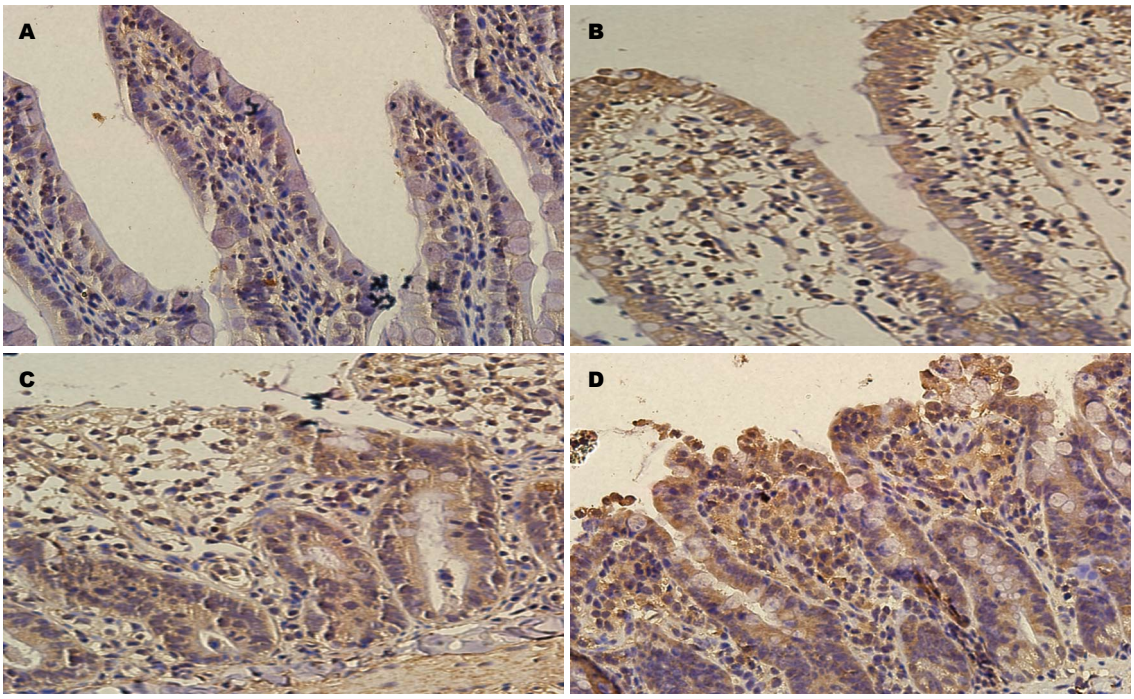


图 3 各组大鼠小肠组织HO-1表达(DAB × 400). A: 假手术(SO)组; B: 黄芩苷(BA)组; C: 肠缺血再灌注(IIR)组; D: 黄芩苷+肠缺血再灌注(BA+IIR)组.

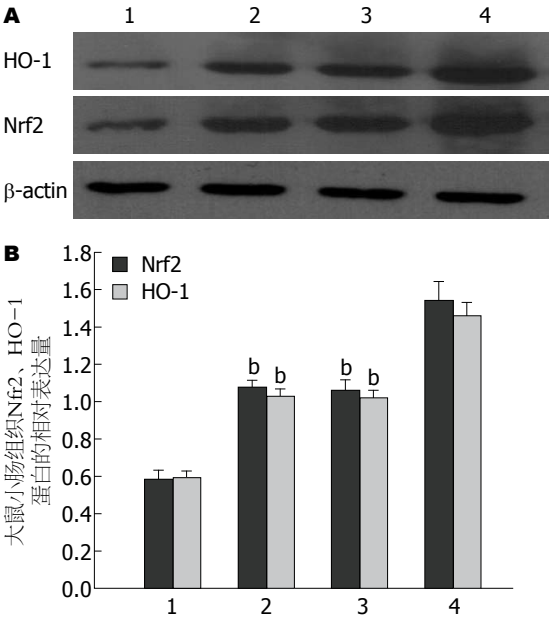


图 4 各组大鼠小肠组织Nrf2、HO-1蛋白表达的变化. A: Western blot; B: 各组大鼠小肠组织Nrf2、HO-1蛋白的相对表达量. $^{b}P<0.01$ *vs* SO组; $^{d}P<0.01$ *vs* IIR组. 1: 假手术(SO)组; 2: 黄芩苷(BA)组; 3: 肠缺血再灌注(IIR)组; 4: 黄芩苷+肠缺血再灌注(BA+IIR)组. Nrf2: 核因子相关因子2, HO-1: 血红素加氧酶1.

组和IIR组与SO组比较, 肠组织Nrf2表达量明显增加, 差异具有统计学意义(均$P<0.01$); BA+IIR组Nrf2表达量明显高于IIR组, 差异具有统计学意义($P<0.01$). 与SO组比较, BA组和IIR组肠组织HO-1表达明显增多, 差异具有统计学意义($P<0.01$), BA+IIR组肠组织HO-1表达量比IIR组明显增加, 差异具有统计学意义($P<0.01$)(表2, 图4).

3 讨论

临床上, IRII是危急重症患者常见的病理生理过程之一, 见于各种类型的休克复苏治疗后及各种原因的急性肠缺血灌流恢复后[8]. IIRI造成肠黏膜屏障结构的完整性破坏, 导致肠屏障功能障碍, 肠道细菌及内毒素移位, 严重者导致多器官功能障碍综合征[9,10].

黄芩苷是从黄芩根中提取分离出来的一种黄酮类化合物, 具有抗氧化、抗炎、抗病毒、抗肿瘤及免疫调节等生物学活性[5]. 研究表明, 黄芩苷通过抗氧化、抗炎和抗凋亡作用减轻大鼠肝脏[11]、脑[12]、心肌、肾脏等重要器官的缺血再灌注损伤[11-14]. 本实验结果显示IIR组Chiu氏肠黏膜损伤评分明显高于SO组, BA+IIR组Chiu评分明显低于IIR组评分, 表明黄芩苷可以显著减轻肠缺血再灌注损伤, 对肠黏膜结构具有保护作用.

IIRI过程中肠黏膜屏障损害导致肠道通透性增加, 肠道内细菌产生的D-乳酸可通过受损黏膜进入血液. Murray等[15]报道大鼠肠缺血

■同行评价
IIRI是临床上常见的病理过程, 探讨IIRI的可能机制与保护措施有一定的临床指导价值.

5 min时, 循环血液中D-乳酸水平开始升高, 随肠缺血时间延长, D-乳酸水平持续升高. 本实验结果显示IIR组血浆D-乳酸水平明显升高, BA+IIR组血浆D-乳酸水平明显降低, 表明黄芩苷可以减轻大鼠IIRI导致的肠黏膜损伤, 从而抑制IIRI导致的肠道通透性增加.

研究表明IIRI过程中通过黄嘌呤氧化酶途径产生大量活性氧[16-18], 引起脂质过氧化、蛋白氧化失活、DNA断裂, 细胞发生凋亡和坏死[19]. SOD将机体内产生的氧自由基转化成活性低的H_2O_2, H_2O_2再经过过氧化氢酶或谷胱甘肽过氧化物酶转化成O_2和H_2O. 在肠缺血及再灌注期产生的氧自由基消耗机体内大量的SOD, 作为氧自由基诱导的脂质过氧化产物MDA含量增多[20-22]. 本实验结果显示, IIR组血清SOD活性明显下降、MDA含量明显增多. BA+IIR组血清SOD活性升高, MDA含量减少. 表明黄芩苷具有抗氧化、清除自由基的作用, 能够减轻肠缺血再灌注过程中自由基造成肠道损伤.

Nrf2是一种重要的内源性抗氧化应激调控因子, 生理状态下位于胞浆内. 当受到活性氧刺激时, Nrf2进入细胞核内, 与ARE结合, 上调其下游的抗氧化因子基因如*SOD*、*HO-1*等表达[23-26]. 研究表明, Nrf2的激活对肝脏、肾脏、心脏的缺血再灌注损伤具有保护作用[27-29]. Nrf2还可以被一些中药单体激活, 人参皂苷Rb1可以激活Nrf2-ARE信号通路减轻小鼠肠缺血再灌注对肾脏的损伤[30]. Ungvari等[31]研究证实, 白藜芦醇可以激活Nrf2-ARE信号通路, 上调HO-1、苯醌还原酶的表达, 对细胞氧化应激具有显著的抑制作用. 本实验结果显示, IIR组小肠组织中Nrf2、HO-1蛋白表达均明显高于SO组, 说明肠缺血再灌注使活性氧增加, 激活Nrf2-ARE信号通路, 但不足以对抗损伤过程. BA组较SO组小肠组织Nrf2、HO-1蛋白表达升高, BA+IIR小肠组织Nrf2、HO-1表达明显高于IIR组, 表明黄芩苷可以激活Nrf2-ARE信号通路, 诱导HO-1表达增加, 增强组织抗氧化和清除自由基的能力, 减轻肠缺血再灌注损伤.

总之, 大鼠肠缺血再灌注过程中存在氧化应激损伤, 黄芩苷可以减轻大鼠肠缺血再灌注损伤, 抑制肠道通透性增加, 其机制可能是通过激活Nrf2-ARE信号通路, 诱导抗氧化酶SOD、HO-1表达, 提高机体清除氧自由基的能力, 从而对肠缺血再灌注损伤起到保护作用. 但黄芩苷激活Nrf2-ARE信号通路的机制还不明确, 临床效果和安全性还有待于进一步研究.

4 参考文献

1 Mallick IH, Yang W, Winslet MC, Seifalian AM. Ischemia-reperfusion injury of the intestine and protective strategies against injury. *Dig Dis Sci* 2004; 49: 1359-1377 [PMID: 15481305 DOI: 10.1023/B:DDAS.0000042232.98927.91]

2 Sasaki M, Joh T. Oxidative stress and ischemia-reperfusion injury in gastrointestinal tract and antioxidant, protective agents. *J Clin Biochem Nutr* 2007; 40: 1-12 [PMID: 18437208 DOI: 10.3164/jcbn.40.1]

3 Li W, Kong AN. Molecular mechanisms of Nrf2-mediated antioxidant response. *Mol Carcinog* 2009; 48: 91-104 [PMID: 18618599 DOI: 10.1002/mc.20465]

4 Kaspar JW, Niture SK, Jaiswal AK. Nrf2: INrf2 (Keap1) signaling in oxidative stress. *Free Radic Biol Med* 2009; 47: 1304-1309 [PMID: 19666107 DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2009.07.035]

5 Srinivas NR. Baicalin, an emerging multi-therapeutic agent: pharmacodynamics, pharmacokinetics, and considerations from drug development perspectives. *Xenobiotica* 2010; 40: 357-367 [PMID: 20230189 DOI: 10.3109/00498251003663724]

6 Megison SM, Horton JW, Chao H, Walker PB. A new model for intestinal ischemia in the rat. *J Surg Res* 1990; 49: 168-173 [PMID: 2381206 DOI: 10.1016/0022-4804(90)90257-3]

7 Chiu CJ, McArdle AH, Brown R, Scott HJ, Gurd FN. Intestinal mucosal lesion in low-flow states. I. A morphological, hemodynamic, and metabolic reappraisal. *Arch Surg* 1970; 101: 478-483 [PMID: 5457245 DOI: 10.1001/archsurg.1970.01340280030009]

8 Okudan N, Belviranlı M, Gökbel H, Oz M, Kumak A. Protective effects of curcumin supplementation on intestinal ischemia reperfusion injury. *Phytomedicine* 2013; 20: 844-848 [PMID: 23647746 DOI: 10.1016/j.phymed.2013.03.022]

9 Yuan Y, Guo H, Zhang Y, Zhou D, Gan P, Liang DM, Chen JY. Protective effects of L-carnitine on intestinal ischemia/reperfusion injury in a rat model. *J Clin Med Res* 2011; 3: 78-84 [PMID: 21811534 DOI: 10.4021/jocmr540w]

10 Vollmar B, Menger MD. Intestinal ischemia/reperfusion: microcirculatory pathology and functional consequences. *Langenbecks Arch Surg* 2011; 396: 13-29 [PMID: 21088974 DOI: 10.1007/s00423-010-0727-x]

11 Kim SJ, Moon YJ, Lee SM. Protective effects of baicalin against ischemia/reperfusion injury in rat liver. *J Nat Prod* 2010; 73: 2003-2008 [PMID: 21087019 DOI: 10.1021/np100389z]

12 Cao Y, Mao X, Sun C, Zheng P, Gao J, Wang X, Min D, Sun H, Xie N, Cai J. Baicalin attenuates global cerebral ischemia/reperfusion injury in gerbils via anti-oxidative and anti-apoptotic pathways. *Brain Res Bull* 2011; 85: 396-402 [PMID: 21600966 DOI: 10.1016/j.brainresbull.2011.05.002]

13 Wang X, He F, Liao Y, Song X, Zhang M, Qu L, Luo T, Zhou S, Ling Y, Guo J, Chen A. Baicalin pretreatment protects against myocardial ischemia/reperfusion injury by inhibiting mitochondrial damage-mediated apoptosis. *Int J Cardiol* 2013; 168: 4343-4345 [PMID: 23725813 DOI: 10.1016/j.ijcard.2013.05.077]

14 Lin M, Li L, Li L, Pokhrel G, Qi G, Rong R, Zhu T. The protective effect of baicalin against renal ischemia-reperfusion injury through inhibition of inflammation and apoptosis. *BMC Complement Altern Med* 2014; 14: 19 [PMID: 24417870 DOI: 10.1186/1472-6882-14-19]

15 Murray MJ, Barbose JJ, Cobb CF. Serum D(-)-lactate levels as a predictor of acute intestinal ischemia in a rat model. *J Surg Res* 1993; 54: 507-509 [PMID: 8361176 DOI: 10.1006/jsre.1993.1078]

16 Yao JH, Zhang XS, Zheng SS, Li YH, Wang LM, Wang ZZ, Chu L, Hu XW, Liu KX, Tian XF. Prophylaxis with carnosol attenuates liver injury induced by intestinal ischemia/reperfusion. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 3240-3245 [PMID: 19598299 DOI: 10.3748/wjg.15.3240]

17 Hou CW, Lee YC, Hung HF, Fu HW, Jeng KC. Longan seed extract reduces hyperuricemia via modulating urate transporters and suppressing xanthine oxidase activity. *Am J Chin Med* 2012; 40: 979-991 [PMID: 22928829 DOI: 10.1142/S0192415X12500723]

18 Abramov AY, Scorziello A, Duchen MR. Three distinct mechanisms generate oxygen free radicals in neurons and contribute to cell death during anoxia and reoxygenation. *J Neurosci* 2007; 27: 1129-1138 [PMID: 17267568 DOI: 10.1523/JNEUROSCI.4468-06.2007]

19 Li C, Jackson RM. Reactive species mechanisms of cellular hypoxia-reoxygenation injury. *Am J Physiol Cell Physiol* 2002; 282: C227-C241 [PMID: 11788333 DOI: 10.1152/ajpcell.00112.2001]

20 Röth E, Hejjel L, Jaberansari M, Jancso G. The role of free radicals in endogenous adaptation and intracellular signals. *Exp Clin Cardiol* 2004; 9: 13-16 [PMID: 19641690]

21 Gutteridge JM, Halliwell B. The measurement and mechanism of lipid peroxidation in biological systems. *Trends Biochem Sci* 1990; 15: 129-135 [PMID: 2187293 DOI: 10.1016/0968-0004(90)90206-Q]

22 Yang X, Bai H, Cai W, Li J, Zhou Q, Wang Y, Han J, Zhu X, Dong M, Hu D. Lycium barbarum polysaccharides reduce intestinal ischemia/reperfusion injuries in rats. *Chem Biol Interact* 2013; 204: 166-172 [PMID: 23743330 DOI: 10.1016/j.cbi.2013.05.010]

23 Kobayashi M, Yamamoto M. Molecular mechanisms activating the Nrf2-Keap1 pathway of antioxidant gene regulation. *Antioxid Redox Signal* 2005; 7: 385-394 [PMID: 15706085 DOI: 10.1089/ars.2005.7.385]

24 Jeong WS, Jun M, Kong AN. Nrf2: a potential molecular target for cancer chemoprevention by natural compounds. *Antioxid Redox Signal* 2006; 8: 99-106 [PMID: 16487042 DOI: 10.1089/ars.2006.8.99]

25 Thimmulappa RK, Mai KH, Srisuma S, Kensler TW, Yamamoto M, Biswal S. Identification of Nrf2-regulated genes induced by the chemopreventive agent sulforaphane by oligonucleotide microarray. *Cancer Res* 2002; 62: 5196-5203 [PMID: 12234984]

26 王豫萍, 程明亮. Nrf2-Keap1抗氧化系统与肝脏疾病. 世界华人消化杂志 2010; 18: 1907-1911

27 Kudoh K, Uchinami H, Yoshioka M, Seki E, Yamamoto Y. Nrf2 Activation Protects the Liver From Ischemia/Reperfusion Injury in Mice. *Ann Surg* 2013 Dec 23. *[Epub ahead of print]* [PMID: 24368646]

28 Liu M, Reddy NM, Higbee EM, Potteti HR, Noel S, Racusen L, Kensler TW, Sporn MB, Reddy SP, Rabb H. The Nrf2 triterpenoid activator, CDDO-imidazolide, protects kidneys from ischemia-reperfusion injury in mice. *Kidney Int* 2014; 85: 134-141 [PMID: 24088953 DOI: 10.1038/ki.2013.357]

29 Katsumata Y, Shinmura K, Sugiura Y, Tohyama S, Matsuhashi T, Ito H, Yan X, Ito K, Yuasa S, Ieda M, Urade Y, Suematsu M, Fukuda K, Sano M. Endogenous prostaglandin D2 and its metabolites protect the heart against ischemia-reperfusion injury by activating Nrf2. *Hypertension* 2014; 63: 80-87 [PMID: 24101662 DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.113.01639]

30 Sun Q, Meng QT, Jiang Y, Xia ZY. Ginsenoside Rb1 attenuates intestinal ischemia reperfusion induced renal injury by activating Nrf2/ARE pathway. *Molecules* 2012; 17: 7195-7205 [PMID: 22692243 DOI: 10.3390/molecules17067195]

31 Ungvari Z, Bagi Z, Feher A, Recchia FA, Sonntag WE, Pearson K, de Cabo R, Csiszar A. Resveratrol confers endothelial protection via activation of the antioxidant transcription factor Nrf2. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2010; 299: H18-H24 [PMID: 20418481 DOI: 10.1152/ajpheart.00260.2010]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年4月18日; 22(11): 1518-1524
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

肝细胞癌患者血浆CDK5测定的临床意义

吴 晨, 杨玉秀, 白阳秋, 张立达

■背景资料
肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)今年来成为世界范围, 特别是我国的常见肿瘤类型, 并以其发现较晚、难以根治、预后较差为主要特点. 现在临床常通过检测甲胎蛋白(alpha-fetoprotein, AFP)及影像学检查来早期诊断HCC, 但仍有较高的假阴性率.

吴晨, 杨玉秀, 白阳秋, 张立达, 郑州大学人民医院消化内科 河南省郑州市 450003
吴晨, 在读硕士, 主要从事消化系肿瘤的研究.
河南省重点科技攻关基金资助项目, No. 132102310444
作者贡献分布: 此课题由杨玉秀、吴晨及白阳秋设计; 杨玉秀校审; 标本收集由吴晨、白阳秋及张立达完成; 研究过程、数据分析及论文写作由吴晨完成.
通讯作者: 杨玉秀, 教授, 主任医师, 博士生导师, 450003, 河南省郑州市纬五路7号, 郑州大学人民医院消化内科.
yangyuxiu55@126.com
电话: 0317-65580767
收稿日期: 2014-01-17 修回日期: 2014-02-24
接受日期: 2014-03-04 在线出版日期: 2014-04-18

Clinical significance of detection of plasma CDK5 in patients with hepatocellular carcinoma

Chen Wu, Yu-Xiu Yang, Yang-Qiu Bai, Li-Da Zhang

Chen Wu, Yu-Xiu Yang, Yang-Qiu Bai, Li-Da Zhang, Department of Gastroenterology and Hepatology, the People's Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450003, Henan Province, China
Supported by: Key Scientific and Technological Research Project of Henan Province, No. 132102310444
Correspondence to: Yu-Xiu Yang, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Henan Provincial People's Hospital, 7 Weiwu Road, Zhengzhou 450003, Henan Province, China. yangyuxiu55@126.com
Received: 2014-01-17 **Revised:** 2014-02-24
Accepted: 2014-03-04 **Published online:** 2014-04-18

Abstract

AIM: To detect the plasma contents of cyclin-dependent kinase 5 (CDK5) protein and mRNA in patients with hepatocellular carcinoma (HCC), and to analyze the association between CDK5 and HCC, as well as the diagnostic value of CDK5.

METHODS: Plasma samples were collected from 60 patients with HCC and 40 healthy controls. Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) and real-time fluorescence quantitative PCR were used to measure the expression levels of CDK5 protein and mRNA in plasma, respectively.

RESULTS: The median content of CDK5 protein in plasma of HCC patients was significantly higher than that in healthy controls [12.21 ng/mL (1.03-29.26 ng/mL) *vs* 1.83 ng/mL (0.26-10.26 ng/mL), $P < 0.05$). Plasma levels of CDK5 mRNA also differed significantly between the two groups ($\chi^2 = 11.247$, $P < 0.05$). The median content of CDK5 protein in plasma of HCC patients with AFP < 200 ng/mL [17.095 ng/mL (7.40-28.37 ng/mL)] was also significantly than that in healthy controls ($Z = -7.363$, $P < 0.05$). CDK5 expression was significantly correlated with TNM stage ($P < 0.05$), but not with sex, age, hepatitis virus infection status, differentiation degree, or tumor size ($P > 0.05$ for all).

CONCLUSION: CDK5 showed a high corrleation with HCC and TNM stage. CDK5 protein had a significant increase in HCC patients with AFP < 200 ng/mL, suggesting that CDK5 may be used as an auxiliary index for diagnosis of AFP-negative HCC.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Hepatocellular carcinoma; Plasma; CDK5; ELISA; Real time fluorescence quantitative PCR

Wu C, Yang YX, Bai YQ, Zhang LD. Clinical significance of detection of plasma CDK5 in patients with hepatocellular carcinoma. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(11): 1518-1524
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1518.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i11.1518

摘要

目的: 检测肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)患者血浆中周期素依赖性激酶5(cyclin-dependent kinase 5, CDK5)蛋白及mRNA水平, 研究CDK5与HCC的相关性, 探索其临床诊断价值.

方法: 收集40例健康人和60例HCC患者血浆, 应用ELISA及荧光定量PCR技术测定血浆中CDK5蛋白及mRNA含量. 数据采用SPSS17.0软件统计分析.

结果: CDK5蛋白在HCC患者血浆的中位数为12.21 ng/mL(1.03-29.26 ng/mL), 与正常对

■同行评议者
孙星, 副教授, 副主任医师, 上海交通大学附属第一人民医院普外科

照组1.83 ng/mL(0.10-10.26 ng/mL)相比呈明显升高(Z = -6.695, P<0.05); CDK5 mRNA在HCC与正常人血浆中表达差异也有统计学意义(χ^2 = 11.247, P<0.05). HCC甲胎蛋白(alpha-fetoprotein, AFP)<200 ng/mL患者血浆中CDK5蛋白中位数为17.095 ng/ mL(7.40-28.37 ng/mL), 与正常对照组相比有显著升高(Z = -7.363, P<0.05). CDK5表达与性别、年龄、病毒感染情况、肿瘤大小、HCC组织的分化程度无关(P>0.05), 与TNM分期呈现显著相关(P<0.05).

结论: CDK5在HCC患者血浆中显著升高, 其幅度与HCC TNM分期相关; CDK5蛋白在AFP<200 ng/mL的HCC患者血浆中明显升高, 提示CDK5可能作为AFP阴性HCC辅助诊断的血浆中的标志物.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 肝细胞癌; 血浆; CDK5; ELISA; 实时荧光定量PCR

核心提示: 通过对肝癌患者周期素依赖性激酶5(cyclin-dependent kinase 5, CDK5)表达的研究, 对照甲胎蛋白(alpha-fetoprotein, AFP)表达水平, 发现AFP阴性肝癌患者血清中CDK5可作为肝癌早期诊断的重要指标, 可作为AFP假阴性时早期肝细胞癌的辅助诊断方法, 并且对比CDK5与其他相关因子的相关性, 发现其较不易受年龄、性别等因素影响.

吴晨, 杨玉秀, 白阳秋, 张立达. 肝细胞癌患者血浆CDK5测定的临床意义. 世界华人消化杂志 2014; 22(11): 1518-1524 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1518.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i11.1518

0 引言

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC), 简称肝癌, 是世界第6大常见肿瘤, 全世界每年新发病例749000例, 占所有恶性肿瘤的7%, 因肝癌死亡病例每年约692000例, 被列为最常见的癌症死因第3位[1]. 肝癌发生的主要危险因素包括慢性乙型或丙型肝炎病毒感染、大量饮酒、黄曲霉毒素暴露以及遗传性疾病如Wilson病、血色病等[2]. 肝癌的发生与抑癌基因失活、癌基因的异常扩增表达、多基因网络式调控异常等明显相关[3]. 就目前情况看, 外科切除仍是较好的治疗肝细胞癌的方法, 但大多临床确诊的肝癌患者已失去手术的机会, 能接受手术的不超过30%[4]. 即使行根治性手术切除, 中晚期肝癌的肝内和肝外复发仍然频繁出现[5]. 甲胎蛋白(alpha-fetoprotein, AFP)作为肝癌的肿瘤标志物, 联合腹部超声已广泛使用在临床实践中. 在肝癌患者中AFP存在高达30%-40%的假阴性[6], 迫切需要其他辅助的肿瘤标志物以更早的做出诊断. 在前期相关实验中我们已应用含有19378个已知基因的寡核苷酸芯片筛选出肝癌差异基因表达谱, 发现周期素依赖性激酶5(cyclin-dependent kinase 5, *CDK5*)是一个明显高表达的基因[7], 并与肝癌病理分级、分化程度有着密切的关系[8]. 从各种人癌组织如乳腺癌[9]、结直肠癌[10]和多发性骨髓瘤[11]等的研究中获得很多关于CDK5肿瘤细胞生物学的相关信息. 而现有的文献中关于肝癌患者血浆CDK5的表达情况鲜有报道. 本研究应用ELISA以及荧光定量PCR技术, 检测CDK5蛋白及mRNA在肝癌及正常人群血浆中的浓度变化, 探讨其对肝癌的诊断价值.

■研发前沿
HCC早期事件可能与某些信号转导通路和相关因子及激酶的激活有关. 通过小鼠肿瘤模型试验, 发现Ras-Raf-MAPKK-MAPK通路与HCC早期发生、增殖等有密切联系.

1 材料与方法

1.1 材料 2012-03/2012-11河南省人民医院肝胆外科60例住院肝癌患者为研究组, 男性39例, 女性21例, 年龄35-78岁, 收集样本前未经相关治疗, 患者均经血液生化检查、腹部超声, 并行肝脏细针穿刺活检或手术后病理证实. 随机选择河南省人民医院体检中心经体检后未发现任何相关疾病的体检人员40例作为正常对照组. 本试验经医院伦理委员会批准, 所有患者均签署知情同意书.

1.2 方法

1.2.1 标本采集: 抽取受试者晨起空腹外周静脉血3 mL, 置于EDTA抗凝的无菌试管中, 室温3500 r/min离心15 min, 收集血浆, 置于-80 ℃保存待测定.

1.2.2 CDK5蛋白浓度测定: CDK5蛋白浓度测定应用人CDK5 ELISA试剂盒(BIO-RAD公司), 按照制造商说明书操作. 应用96孔酶标仪(Bio-Rad公司)于波长450 nm检测蛋白质水平. CDK5蛋白的浓度通过计算比较样品的光密度值(A), 应用Excel软件绘制标准曲线. 实验重复进行2次, 得出CDK5蛋白的平均水平. 血浆AFP水平的测定, 采用市售的人AFP ELISA试剂盒(BIO-RAD公司).

1.2.3 CDK5 mRNA水平测定: (1)总RNA的提取及纯度检测: 按照TRIzol(Invitrogen)说明书提取血浆中总RNA, 注入20 μL无核酶去离子水溶解

■相关报道
近年来多项研究表明, 周期素依赖性激酶5(cyclin-dependent kinase 5, CDK5)在多种肿瘤如前列腺癌、甲状腺癌、乳腺癌等的发生发展治疗机制的研究中起重要作用.

表 1 荧光定量PCR引物序列

目的基因	序列	产物长度(bp)
CDK5	上游引物5'-GATGACGATGATGAGGGTGTG-3'	90
GAPDH	下游引物5'-ATGAAGCCTGACGATGTTCTTGT-3'	138

CDK5: 周期素依赖性激酶5; GAPDH: 3-磷酸甘油醛脱氢酶.

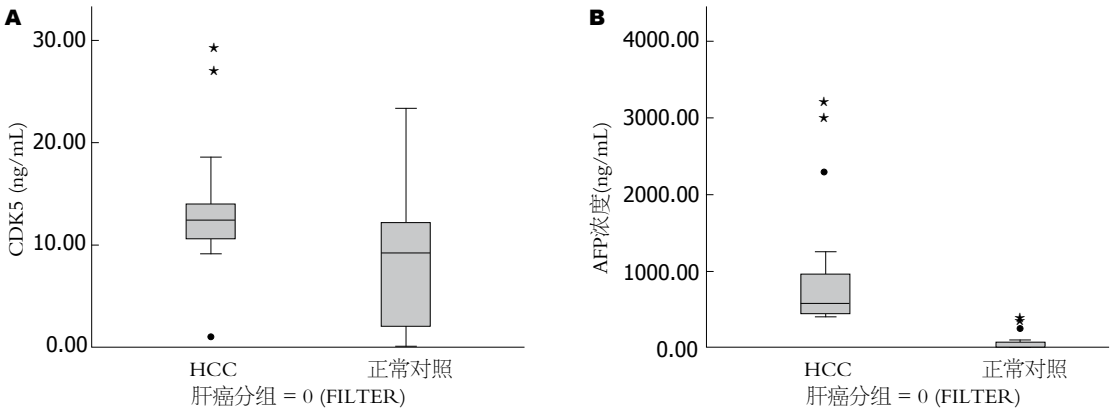


图 1 肝癌组与正常对照组CDK5蛋白水平、AFP水平对比. *: 为在箱型区域之外的浓度数值. HCC: 肝细胞癌; AFP: 甲胎蛋白; CDK5: 周期素依赖性激酶5.

后, 应用1%琼脂糖凝胶电泳(150 V, 15 min)检测总RNA 28S和18S比例, 评估总RNA的完整性, 并用紫外分光光度计以$A_{260/280}$测定总RNA吸光度, 计算总RNA的纯度; (2)引物的设计与合成: 目的基因引物由上海生物工程有限公司设计合成(表1), 应用*GAPDH*作为内参基因, 由宝生物工程(大连)有限公司购得, 其产物长度为138 bp; (3)逆转录合成cDNA: 按照逆转录试剂盒(大连宝生物公司, code No. DRR047A)说明书步骤进行, 分别行基因组DNA的除去反应和逆转录反应. 反应体系分别为10 μL和20 μL, 反应条件分别为42 ℃ 2 min和37 ℃ 15 min, 85 ℃ 5 s; (4)荧光定量PCR: 按照RT-PCR试剂盒(大连宝生物公司, code No. RR820A)说明书操作, PCR反应体系为20 μL. PCR扩增条件为95 ℃ 30 s, 95 ℃ 5 s, 60 ℃ 31 s; 进行40个PCR循环. 所用扩增仪型号为ABI7300(美国Applied Biosystems公司); (5)mRNA扩增结果分析: 应用BIO-RAD Gel Doc XR凝胶成像系统(美国BIO-RAD公司)进行扫描和分析, 比较4%琼脂糖凝胶电泳(150 V, 45 min)检测CDK5 DNA扩增产物的正确性, 计算PCR $2^{-\Delta\Delta Ct}$表示样品中CDK5初始cDNA的相对表达量. 重复3遍取平均值. [ΔCt = 样品Ct-内参Ct, ΔΔCt = ΔCt-(随机阴性对照样品Ct均值-该样品的内参Ct均值)].

统计学处理 使用SPSS17.0软件, 采用Kruskal-Wallis、Mann-Whitney、Spearman、χ^2检验、Fisher's精确概率检验、非参数检验等统计学方法处理, $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 血浆中CDK5蛋白及AFP测量结果 肝癌患者血浆中CDK5蛋白和AFP含量与正常对照组相比均升高, 与健康对照组表达均有明显差异(Z_{CDK5} = -6.695; Z_{AFP} = -7.944; $P<0.05$). 肝癌组血浆中CDK5蛋白浓度中位数为12.21 ng/mL(1.03-29.26 ng/mL), AFP血浆中浓度中位数为89.46 ng/mL(5.98-3214.3 ng/mL); 正常对照组CDK5血浆中浓度中位数为1.83 ng/mL(0.10-10.26 ng/mL), AFP血浆中浓度中位数为14.84 ng/mL(2.98-87.94 ng/mL)(图1).

2.2 总RNA提取及PCR扩增结果 1%琼脂糖电泳结果可见28S、18S二条清晰的条带和稍欠清晰的5S条带, 证实提取的是完整的RNA; 总RNA的吸光度$A_{260/280}$值均在1.6-2.0, 证明符合纯度要求. 样本中内参基因扩增曲线均呈典型S型, 融解曲线分析可见单峰, 可见cDNA较完整. 各组Ct≤32时, CDK5扩增曲线均为S型, 融解曲线为单峰, 融解温度与目的基因产物相一致, 排除二聚体及其他产物. Ct>32时, 为一条不规则波浪线, 故

表 2 肝癌患者血浆中CDK5蛋白及mRNA与年龄等影响因子的相关性

影响因子	*n*	CDK5蛋白浓度中位数(ng/mL)	CDK5蛋白浓度范围(ng/mL)	*P*值	CDK5 mRNA扩增阳性例数	CDK5 mRNA扩增阳性率(%)	*P*值
年龄(岁)				0.616[1]			0.575
≤50	37	12.15	1.03–26.35			26/37	70.27
>50	23	12.43	7.99–29.26		14/23	60.86	
性别				0.810[1]			0.775
男	39	12.15	7.99–26.35		27/39	69.23	
女	21	12.27	1.03–29.26		13/21	61.90	
肝炎病毒感染				0.333[2]			0.420
HBV	30	12.68	2.40–29.26		22/30	73.33	
HCV	19	11.74	8.20–26.35		11/19	57.89	
无	11	10.35	1.03–18.03		7/11	63.63	
肿瘤大小(cm)				0.584[1]			0.783
≤5	37	12.71	1.03–26.35			24/37	64.86
>5	23	11.44	2.40–29.26			16/23	69.56
分化程度				0.563[2]			0.165
高	17	11.31	7.99–23.37		13/17	76.47	
中	18	11.56	8.20–26.35		11/18	61.11	
低	25	13.49	1.03–29.26		16/25	64.00	
TNM分期				<0.01[2]			0.019
I +II	11	9.16	1.03–9.43		5/11	45.45	
III	17	10.97	9.53–15.43		10/17	58.82	
IV	32	15.55	11.44–29.26		25/32	78.13	

[1]Mann–Whitney U test; [2]Kruskal–Wallis test. CDK5: 周期素依赖性激酶5.

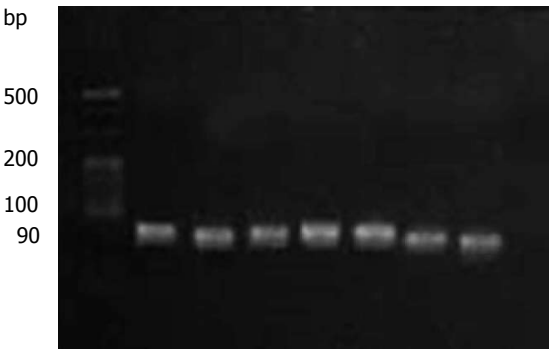


图 2 CDK5 PCR产物凝胶电泳结果. CDK5: 周期素依赖性激酶5.

以Ct≤32表示CDK5 mRNA阳性表达. 4%琼脂糖电泳证实CDK5 DNA及GAPDH DNA扩增产物单一, 且符合目的基因DNA大小, 分别为90 bp及138 bp. 扩增产物条带清晰(图2, 3).

2.3 CDK5 mRNA在肝癌患者组间比较结果 肝癌组CDK5 mRNA扩增阳性率为72%(40/60), 健康对照组为21.7%(13/40). 两组间差异有统计学意义($\chi^2 = 11.247$, $P<0.05$).

2.4 CDK5蛋白、mRNA的表达与相关因素关联性比较 肝癌患者血浆中CDK5蛋白、mRNA的表达与年龄、性别、病毒感染情况、肿瘤大小、肿瘤分化程度无明显相关(表2), 与肝细胞癌TNM分期明显相关($P<0.05$)(图4).

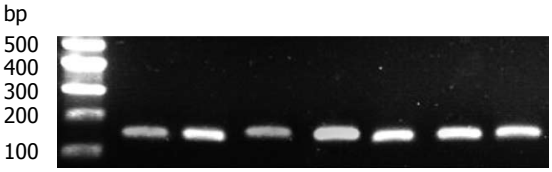


图 3 内参基因*GAPDH* PCR产物凝胶电泳结果.

2.5 CDK5与AFP诊断效果比较 对所有样本血浆中CDK5蛋白与AFP水平ROC曲线进行比较分析, 发现CDK5蛋白曲线下面积为0.970、AFP曲线下面积为0.896, 具有统计学意义, 表明在所有样本中CDK5的诊断效果要好于AFP诊断效果(图5). 对AFP<200 ng/mL样本血浆中CDK5蛋白与AFP水平应用ROC曲线分析, 发现CDK5蛋白曲线下面积为0.977、AFP曲线下面积为0.845, 具有统计学意义, 表明在AFP<200 ng/mL情况下, CDK5的肝癌检出效果较明显(图6). 若将肝癌组AFP<200 ng/mL样本设为AFP阴性组, 200 ng/mL≤AFP<400 ng/mL为AFP疑似阳性组, AFP

■创新盘点

本文从蛋白水平和mRNA水平上, 对CDK5的表达进行测量评估, 对AFP的应用与CDK5的应用范围进行比较, 并对CDK5表达与各种相关因子的相关性进行对比, 明确CDK5的应用前景和价值.

■应用要点
CDK5在肝癌发生发展中其相当重要的作用, 且在AFP阴性肝癌患者血清中CDK5显著表达, 可考虑作为肝细胞癌早期诊断的血清学标志物, 辅助进行AFP阴性肝癌患者的筛查.

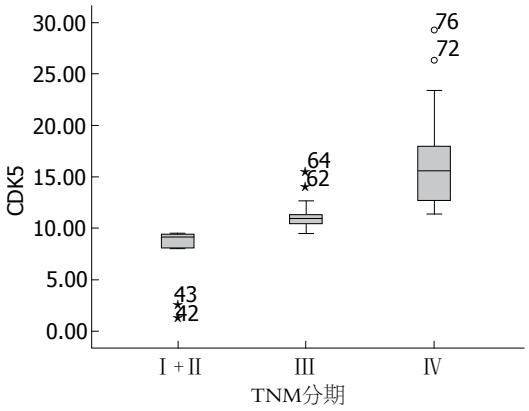


图 4 肝癌患者血浆中CDK5蛋白水平与TNM分期相关性. CDK5: 周期素依赖性激酶5.

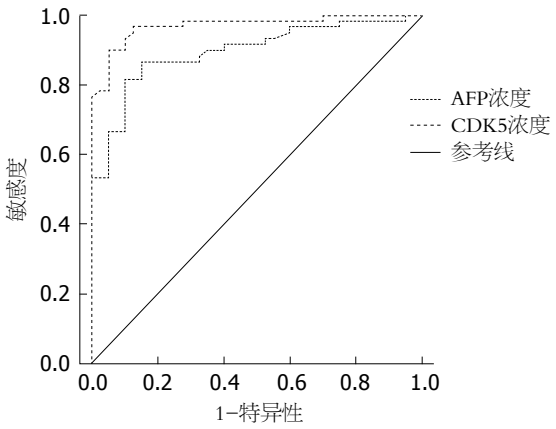


图 5 肝癌组血浆CDK5蛋白水平与AFP水平ROC曲线. CDK5: 周期素依赖性激酶5; AFP: 甲胎蛋白.

≥400 ng/mL为阳性组, 对其各组CDK5蛋白浓度进行分析统计, 进行两两组间比较发现HCC AFP阴性组血浆中CDK5蛋白与正常对照组相比有明显差异(Z = -7.363, P<0.05). HCC AFP阴性组中HCC患者血浆中CDK5蛋白中位数为17.095 ng/mL(7.40-28.37 ng/mL), 显著高于正常对照组.

3 讨论

肝癌在中国的发病率约35例/10万, 每年大致40%的全球新发肝癌确诊病例来自我国[12]. 美国胃肠病协会的报告估计肝癌后期总成本为1.3亿美元, 包括每年14000个住院日和98000 d的护理[13]. 肝癌已成为严重危害人民健康及社会经济发展的重要疾病. CDK家族的表达及活性改变常决定着细胞周期进程, 调控细胞生长、分化、运动、凋亡等机制[14-16].

*CDK5*基因长3.95 kb, 位于7q36的DNA序列, 含外显子12个, 调控987 bp转录, 蛋白分子量为33 kDa[17]. 其基因序列在不同种属之间高度保守, 是一种以在其上游特定区域对脯氨酸残基进行磷酸化为目的的丝氨酸/苏氨酸激酶. 他包含有CDK家族所共有的PSTAIRE结构域, 虽与Cdc2和CDK2同源性高达60%[18], 但由其他非细胞周期蛋白活化剂激活, 不需要磷酸化激活循环的参与, 在功能和调控上具有与其他细胞周期素依赖性激酶家族成员不同的特殊性. 在CDK5研究最广泛的神经系统中, 其功能表现为控制神经元迁移、细胞黏附、轴突引导、突触结构、内吞作用及细胞凋亡等. 研究发现, 在一些病理条件中, CDK5不再与p35、p39等其正常情况下的激活因子结合以发挥正常生理作用, p35和p39会被某些蛋白水解酶剪切, 使p25和p29这种半衰期更长更稳定的激活因子过度表达, 引起CDK5活动增强, 进而导致其活动失常, 引起相关疾病发生[18-20]. CDK5也与一些肿瘤细胞的生物学行为有关. 在浸润性乳腺癌细胞中CDK5蛋白可以调控其癌细胞增殖[21]. 在Hela细胞和人成胶质细胞瘤细胞系(H4)中, CDK5使在调控包括胞吞和自噬的膜转运中起重要作用的Vps34在Thr159位点磷酸化, 在有丝分裂过程中与自噬基因*Beclin-1*相互作用, 进而解除自噬[22]. 推测CDK5可能主要通过在细胞增殖和凋亡过程中发挥作用.

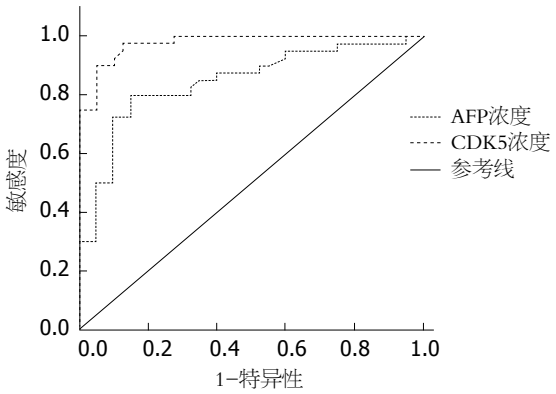


图 6 AFP<200 ng/mL样本CDK5蛋白水平与AFP水平的ROC曲线. CDK5: 周期素依赖性激酶5; AFP: 甲胎蛋白.

有研究认为HCC发生的早期事件可能与信号转导和转录激活因子3(signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)的激活和丝裂原活化蛋白激酶(mitogenactivated protein kinases, MAPK)相关[23-25]. 已证实CDK5被激活后, 使STAT-3在Ser727磷酸化. 通过选择性抑制剂降低CDK5/p35的核分布, 发现磷酸化STAT-3的水平降低, 使小鼠模型中肿瘤细胞生长受限[26]. 多方面研究均验证指出, CDK5/STAT-3致癌通路

在DNA修复基因的表达中起核心作用[27]. 有报告称在诱导肝细胞癌变中, Ras的激活通过Ras-Raf-MAPKK-MAPK通路传递, 该通路异常激活所导致的细胞增殖与肝癌的发生、进展及预后密切相关[25]. CDK5在Ras下游被认定为一个重要的中间信号, 抑制CDK5而使被激活的RalA-和RalB-GTP明显减少, 同时体外肿瘤细胞的迁移及生长和异种移植模型形成均减少[28]. 也有研究称, CDK5通过抑制NOXA磷酸化以抑制肿瘤细胞的凋亡[29]. NOXA是Bcl-2家族的一员, 被认为具有强大的促细胞凋亡作用. 另有研究发现CDK5在肿瘤细胞DNA损伤应答中起重要作用[30]. CDK5对于DNA损伤S和G_2/M期的插入点起重要作用, 在DNA损伤和自发形成的DNA双链断裂(double-strand breaks, DSB)后被激活, 但对于DSB修复并不被需要.

本次实验中发现CDK5在肝癌患者血浆中呈现高表达, 与肝癌TNM分期具有相关性. 这与我们前期的研究结果相一致. 对这种现象的机制尚不明确, 可能由于*CDK5*基因发生突变导致其表达异常, 在细胞内堆积, 经由特殊机制释放入血. 临床上常用AFP>400 ng/mL或者AFP>200 ng/mL持续8 wk作为肝癌的血清学诊断指标. 本次实验通过对CDK5蛋白与AFP在<200 ng/mL、>400 ng/mL的分层样本进行检测分析, 发现CDK5在AFP<200 ng/mL时有显著表达, 对于AFP不能确诊的肝癌患者, CDK5有可能作为对肝癌诊断的辅助标志物. 但其实际应用价值还需行大规模临床验证.

4 参考文献

1 Eggert T, McGlynn KA, Duffy A, Manns MP, Greten TF, Altekruse SF. Epidemiology of fibrolamellar hepatocellular carcinoma in the USA, 2000-10. *Gut* 2013; 62: 1667-1668 [PMID: 23708586 DOI: 10.1136/gutjnl-2013-305164]

2 Farazi PA, DePinho RA. Hepatocellular carcinoma pathogenesis: from genes to environment. *Nat Rev Cancer* 2006; 6: 674-687 [PMID: 16929323 DOI: 10.1038/nrc1934]

3 Lemmer ER, Friedman SL, Llovet JM. Molecular diagnosis of chronic liver disease and hepatocellular carcinoma: the potential of gene expression profiling. *Semin Liver Dis* 2006; 26: 373-384 [PMID: 17051451 DOI: 10.1055/s-2006-951604]

4 Bruemmer D, Yin F, Liu J, Berger JP, Sakai T, Blaschke F, Fleck E, Van Herle AJ, Forman BM, Law RE. Regulation of the growth arrest and DNA damage-inducible gene 45 (GADD45) by peroxisome proliferator-activated receptor gamma in vascular smooth muscle cells. *Circ Res* 2003; 93: e38-e47 [PMID: 12881480 DOI: 10.1161/01.RES.0000088344.15288.E6]

5 Masuda T, Beppu T, Ishiko T, Horino K, Baba Y, Mizumoto T, Hayashi H, Okabe H, Horlad H, Doi K, Okabe K, Takamori H, Hirota M, Iyama K, Baba H. Intrahepatic dissemination of hepatocellular carcinoma after local ablation therapy. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2008; 15: 589-595 [PMID: 18987928 DOI: 10.1007/s00534-007-1288-4]

6 Farinati F, Marino D, De Giorgio M, Baldan A, Cantarini M, Cursaro C, Rapaccini G, Del Poggio P, Di Nolfo MA, Benvegnù L, Zoli M, Borzio F, Bernardi M, Trevisani F. Diagnostic and prognostic role of alpha-fetoprotein in hepatocellular carcinoma: both or neither? *Am J Gastroenterol* 2006; 101: 524-532 [PMID: 16542289 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2006.00443.x]

7 丁光伟, 徐秋霞, 杨玉秀, 李伟伟, 徐存拴. 肝细胞癌多基因表达异常的初步研究. 中华肝脏病杂志 2007: 15: 304-305

8 董贾中, 杨玉秀, 白阳秋, 张立达. CDK5在肝细胞癌中的异常表达. 世界华人消化杂志 2010; 18: 1010-1015

9 Chin K, DeVries S, Fridlyand J, Spellman PT, Roydasgupta R, Kuo WL, Lapuk A, Neve RM, Qian Z, Ryder T, Chen F, Feiler H, Tokuyasu T, Kingsley C, Dairkee S, Meng Z, Chew K, Pinkel D, Jain A, Ljung BM, Esserman L, Albertson DG, Waldman FM, Gray JW. Genomic and transcriptional aberrations linked to breast cancer pathophysiologies. *Cancer Cell* 2006; 10: 529-541 [PMID: 17157792 DOI: 10.1016/j.ccr.2006.10.009]

10 Martinez-Cardús A, Martinez-Balibrea E, Bandrés E, Malumbres R, Ginés A, Manzano JL, Taron M, Garcia-Foncillas J, Abad A. Pharmacogenomic approach for the identification of novel determinants of acquired resistance to oxaliplatin in colorectal cancer. *Mol Cancer Ther* 2009; 8: 194-202 [PMID: 19139129 DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-08-0659]

11 Zhu YX, Tiedemann R, Shi CX, Yin H, Schmidt JE, Bruins LA, Keats JJ, Braggio E, Sereduk C, Mousses S, Stewart AK. RNAi screen of the druggable genome identifies modulators of proteasome inhibitor sensitivity in myeloma including CDK5. *Blood* 2011; 117: 3847-3857 [PMID: 21289309 DOI: 10.1182/blood-2010-08-304022]

12 Parkin DM. Global cancer statistics in the year 2000. *Lancet Oncol* 2001; 2: 533-543 [PMID: 11905707 DOI: 10.1016/S1470-2045(01)00486-7]

13 Kim WR, Brown RS, Terrault NA, El-Serag H. Burden of liver disease in the United States: summary of a workshop. *Hepatology* 2002; 36: 227-242 [PMID: 12085369 DOI: 10.1053/jhep.2002.34734]

14 Liu L, Schwartz B, Tsubota Y, Raines E, Kiyokawa H, Yonekawa K, Harlan JM, Schnapp LM. Cyclin-dependent kinase inhibitors block leukocyte adhesion and migration. *J Immunol* 2008; 180: 1808-1817 [PMID: 18209078]

15 Shapiro GI. Cyclin-dependent kinase pathways as targets for cancer treatment. *J Clin Oncol* 2006; 24: 1770-1783 [PMID: 16603719 DOI: 10.1200/JCO.2005.03.7689]

16 Cai D, Latham VM, Zhang X, Shapiro GI. Combined depletion of cell cycle and transcriptional cyclin-dependent kinase activities induces apoptosis in cancer cells. *Cancer Res* 2006; 66: 9270-9280 [PMID: 16982772 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-06-1758]

17 Dhariwala FA, Rajadhyaksha MS. An unusual member of the Cdk family: Cdk5. *Cell Mol Neurobiol*

■同行评价

本文通过CDK5及其mRNA的测定, 证实CDK5在肝癌的早期诊断, 尤其是AFP阴性的肝癌中具有一定的临床价值, 且其不受年龄、病毒感染、肿瘤大小、分化程度影响, 但还需进行更大样本研究.

2008; 28: 351-369 [PMID: 18183483 DOI: 10.1007/s10571-007-9242-1]
18 Tarricone C, Dhavan R, Peng J, Areces LB, Tsai LH, Musacchio A. Structure and regulation of the CDK5-p25(nck5a) complex. *Mol Cell* 2001; 8: 657-669 [PMID: 11583627 DOI: 10.1016/S1097-2765(01)00343-4]
19 Lee MS, Kwon YT, Li M, Peng J, Friedlander RM, Tsai LH. Neurotoxicity induces cleavage of p35 to p25 by calpain. *Nature* 2000; 405: 360-364 [PMID: 10830966 DOI: 10.1038/35012636]
20 Mazanetz MP, Fischer PM. Untangling tau hyperphosphorylation in drug design for neurodegenerative diseases. *Nat Rev Drug Discov* 2007; 6: 464-479 [PMID: 17541419 DOI: 10.1038/nrd2111]
21 Goodyear S, Sharma MC. Roscovitine regulates invasive breast cancer cell (MDA-MB231) proliferation and survival through cell cycle regulatory protein cdk5. *Exp Mol Pathol* 2007; 82: 25-32 [PMID: 17081516 DOI: 10.1016/j.yexmp.2006.09.002]
22 Furuya T, Kim M, Lipinski M, Li J, Kim D, Lu T, Shen Y, Rameh L, Yankner B, Tsai LH, Yuan J. Negative regulation of Vps34 by Cdk mediated phosphorylation. *Mol Cell* 2010; 38: 500-511 [PMID: 20513426 DOI: 10.1016/j.molcel.2010.05.009]
23 Yu XT, Zhu SN, Xu ZD, Hu XQ, Zhu TF, Chen JQ, Lu SL. Roles of EGFR-Stat3 signal pathway in carcinogenesis of experimental hepatoma in rats. *J Cancer Res Clin Oncol* 2007; 133: 145-152 [PMID: 17031671 DOI: 10.1007/s00432-006-0139-z]
24 Feng DY, Zheng H, Tan Y, Cheng RX. Effect of phosphorylation of MAPK and Stat3 and expression of c-fos and c-jun proteins on hepatocarcinogenesis and their clinical significance. *World J Gastroenterol* 2001; 7: 33-36 [PMID: 11819729]
25 秦建民、王红阳、吴孟超, 生物信号转导异常在肝癌发生发展中的作用. 世界华人消化杂志 2001; 9: 1061-1065
26 Lin H, Chen MC, Chiu CY, Song YM, Lin SY. Cdk5 regulates STAT3 activation and cell proliferation in medullary thyroid carcinoma cells. *J Biol Chem* 2007; 282: 2776-2784 [PMID: 17145757]
27 Courapied S, Sellier H, de Carné Trécesson S, Vigneron A, Bernard AC, Gamelin E, Barré B, Coqueret O. The cdk5 kinase regulates the STAT3 transcription factor to prevent DNA damage upon topoisomerase I inhibition. *J Biol Chem* 2010; 285: 26765-26778 [PMID: 20516069 DOI: 10.1074/jbc.M109.092304]
28 Liebl J, Fürst R, Vollmar AM, Zahler S. Twice switched at birth: cell cycle-independent roles of the "neuron-specific" cyclin-dependent kinase 5 (Cdk5) in non-neuronal cells. *Cell Signal* 2011; 23: 1698-1707 [PMID: 21741478 DOI: 10.1016/j.cellsig.2011.06.020]
29 Lin H, Juang JL, Wang PS. Involvement of Cdk5/p25 in digoxin-triggered prostate cancer cell apoptosis. *J Biol Chem* 2004; 279: 29302-29307 [PMID: 15123618]
30 Turner NC, Lord CJ, Iorns E, Brough R, Swift S, Elliott R, Rayter S, Tutt AN, Ashworth A. A synthetic lethal siRNA screen identifying genes mediating sensitivity to a PARP inhibitor. *EMBO J* 2008; 27: 1368-1377 [PMID: 18388863 DOI: 10.1038/emboj.2008.61]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2014年4月18日; 22(11): 1525-1530
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

文献综述 REVIEW

肠内营养的研究进展

孙晋洁, 徐旭娟

孙晋洁, 南通大学护理学院 江苏省南通市 226001
孙晋洁, 南通大学第二附属医院胃肠外科 江苏省南通市 226001
徐旭娟, 南通大学附属医院护理部 江苏省南通市 226001
孙晋洁, 主要从事营养支持管理的研究.
作者贡献分布: 本文综述由孙晋洁完成; 徐旭娟审校.
通讯作者: 徐旭娟, 副教授, 主任护师, 226001, 江苏省南通市西寺路20号, 南通大学附属医院护理部. xxj_1124@126.com
电话: 0513-85052080
收稿日期: 2014-01-05 修回日期: 2014-02-25
接受日期: 2014-03-04 在线出版日期: 2014-04-18

Advances in enteral nutrition research

Jin-Jie Sun, Xu-Juan Xu

Jin-Jie Sun, Nursing School Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China
Jin-Jie Sun, Department of Gastrointestinal Surgery, Second Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China
Xu-Juan Xu, Department of Nursing, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China
Correspondence to: Xu-Juan Xu, Associate Professor, Chief Nurse, Department of Nursing, Affiliated Hospital of Nantong University, 20 Xisi Road, Nantong 226001, Jiangsu Province, China. xxj_1124@126.com
Received: 2014-01-05 Revised: 2014-02-25
Accepted: 2014-03-04 Published online: 2014-04-18

Abstract
Enteral nutrition (EN) has some advantages in maintaining physiological function in surgical patients, and gets more and more extensive applications. This paper carries out a comprehensive analysis of enteral nutrition in terms of evaluation before applying EN, the selection of application methods, application duration, the selection of preparations, and safety. The improvement measures are finally put forward.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Enteral nutrition; Nutrition support

Sun JJ, Xu XJ. Advances in enteral nutrition research. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(11): 1525-1530
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1525.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i11.1525

摘要
肠内营养(enteral nutrition, EN)在维护生理功能方面具有优势, 在患者中应用越来越广泛. 现就EN的相关概念, EN使用前评估、EN途径的选择、EN开始时间的选择、EN制剂的选择、安全保障5方面进行综合分析, 提出改进措施.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 肠内营养; 营养支持

核心提示: 肠内营养(enteral nutrition, EN)作为研究的热点, 越来越受到临床的重视, 但部分医护人员仍然停留在根据经验使用的阶段. 如何合理评估营养状况, 选择合适的EN配方、途径、选择开始时机并安全, 仍存在认识的误区, 本文通过综述国内外文献对上述问题进行了探讨.

孙晋洁, 徐旭娟. 肠内营养的研究进展. 世界华人消化杂志 2014; 22(11): 1525-1530 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1525.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i11.1525

0 引言
肠内营养(enteral nutrition, EN)是指经口摄入或管饲途径补充各种营养素以满足患者代谢需要. EN可提供营养物质, 保护肠黏膜完整性, 防止肠源性感染, 促进胃肠道激素分泌, 对维护生理功能具有重要意义[1], 且具有经济、并发症少等特点, 运用越来越广泛. 但如何应用EN, EN能否安全、有效、规范应用, 如何处理EN的并发症, 仍是经常面临的问题. 以下就对相关情况的研究进展作一综述.

1 肠内营养使用前的评估
EN的目的包括营养支持和营养治疗. 营养支持的目的是保持机体瘦肉体, 纠正营养不良和代谢紊乱. 而营养治疗的目的更侧重于器官功能的保护, 减轻高分解代谢, 防治细胞损伤, 维持机体免疫功能, 调节免疫和炎性反应等[2]. 基于EN目的的不同, 需要使用不同的EN方案, 并进

■背景资料
肠内营养(enteral nutrition, EN)是指经口摄入或管饲途径补充各种营养素以满足患者代谢需要. 近年来对胃肠道结构和功能的研究不断深入, 逐渐认识到胃肠道除作为消化器官外, 还有重要的免疫功能, 在此背景下, EN由于符合生理特点, 具有肠外营养方式无可替代的优势而日益成为研究热点.

■同行评议者
郭长江, 研究员, 军事医学科学院卫生学环境医学研究所营养研究室

■研发前沿
本文通过对国内外文献的综述来探讨EN的相关概念、使用前评估、EN途径的选择、EN开始时机、EN制剂的选择、安全保障等内容，为临床研究提供一定的理论依据.

行专业的评估, 欧美的营养指南均指出, 患者入院后24 h内需进行专业的营养评估. 但临床上仅凭直觉、感觉或视觉等便给患者使用EN的不规范现象很普遍[3]. 对不存在营养不足或营养风险的患者进行营养支持, 有增加感染性并发症、加重疾病和经济的双重负担、浪费医疗资源等多重恶果[4].

要进行规范的营养评估, 合适的营养评估工具必不可少. 目前临床上常用的营养筛查工具主要有4种: (1)营养风险筛查(nutritional risk screening 2002, NRS 2002): 由丹麦肠内肠外营养协会开发, 并为欧洲肠外肠内营养学会(European Society of Parenteral and Enteral Nutrition, EPSEN)推荐, 是适合于住院患者的营养筛查方法[5], 其基于循证理念, 目前已在欧洲广泛应用[6]; (2)主观全面评定 (subjective globe assessment, SGA): 由美国肠外肠内营养学会(American Society of Parenteral and Enteral Nutrition, APSEN)推荐的临床营养评估工具, 内容包括详尽的病史和身体评估参数, 适用于已经发现营养不足的现象存在, 但没有疾病对营养和对结局的权重, 偏向于医师的主观分析[7]; (3)营养不良通用筛查工具(malnutrition universal screening tool, MUST), 是英国肠内肠外营养协会多学科营养不良咨询小组开发, 适用于对社区人群的营养筛查, 主要用于评定因功能受损所致的营养不足[5]; (4)微营养评定量表(mini nutritional assessment, MNA), 主要用于65岁以上老人的营养风险筛查[8,9]. 其中, NRS 2002经循证医学证明在预测营养风险和临床结局方面具有明显优势, 现阶段中华医学会肠外肠内营养分会(Chinese Society of Parenteral and Enteral Nutrition, CSPEN)推荐“NRS 2002”为住院患者营养风险评定的首选工具[10]. 但其他营养评估工具也各有其适用范围, 临床应该根据患者的具体情况选择合适的营养评估工具.

2 肠内营养途径的选择

肠内营养的补充可经口服和/或管饲, 需根据患者的具体情况选择合适的途径. 口服是最安全的EN途径, 如口服达不到需要总量的50%, 则需要管饲[11]. ESPEN指南指出, 对存在营养风险或营养不良的老年患者, 口服营养补充(oral nutritional supplements, ONS)对其生理和心理康复均有益处, 可维持或改善营养状况, 提高生存率, 并将其作为A级推荐条款[12,13].

对口服不能满足能量需要的, 管饲也是必不可少的选择. 根据置管的头端位置不同可分为胃内置管和肠内置管. 胃内置管包括徒手置管、手术胃造瘘、经皮内镜下胃造口术(percutaneous endoscopic gastrostomy, PEG)、经皮影像下胃造口术(percutaneous radiologic gastrostomy, PRG)等[14], 是临床上较为常用的EN支持途径, 适用于胃排空功能正常的患者, 常作为短期EN的选择, 操作较为简单. 留置鼻胃管可能增加鼻窦炎和上呼吸道感染的风险, 同时存在返流、误吸的风险, PEG和PRG技术可较好地避免普通鼻胃管带来的反流和误吸风险, 置管成功率亦高达95%-99%. 一项来自法国的临床研究提示[15], PRG的成功率为100%, 而PEG的成功率为85.7%, 但置管术后的疼痛发生率在PRG为81.8%, 在PEG为57.1%, PRG比PEG更有效和更好的耐受性, 其重要原因是PRG较PEG对呼吸的影响更小. 2010年, 中华医学会肠内营养管饲途径指南[16]建议, PEG和PRG主要适用于中枢神经系统疾病导致的吞咽障碍, 有正常胃肠功能但摄入不足的患者, 部分慢性疾病患者. 但对预期只能短期生存的患者, 以及不能行消化内镜、各种原因导致的胃前壁不能贴近腹壁的患者等则视为禁忌症.

肠内置管是将鼻肠管或其他特殊导管的管端置于十二指肠或空肠内, 适用于4 wk以上的中长期EN患者. 临床经验证实, 导管头端位于Treitz韧带下内将进一步降低误吸和返流的风险, 是实施EN的首选. 但如何将置管位于理想位置, 在实施方面存在一定的难度, 成为制约EN的难题. 目前临床上常用的肠内置管方法包括盲插置鼻肠管、被动等待法置鼻肠管、液囊空肠导管置管、手术中置鼻肠管、手术中空肠造口、内镜引导下置鼻肠管、X线透视下置鼻肠管、经皮内镜下空肠造口术(percutaneous endoscopic jejunostomy, PEJ)、经皮影像下空肠造口(percutaneous radiologic jejunostomy, PRJ)等途径[12]. 盲插置鼻肠管、被动等待法置鼻肠管、液囊空肠导管置管操作简单, 共同缺点是需要正常的胃肠动力, 成功率低, 导管头端到达理想位置时间过长等[17,18], PEJ、PRJ置管的成功率更高, 但增加了医疗成本, PRJ置管还需要医患双方较长时间的放射线暴露(平均9.8-10.0 min), 在置管中、置管后还应注意并发症[19,20].

3 肠内营养开始时间

外科患者根据具体情况将接受手术. 对择期、

限期手术, 需要在术前采用合适的营养评估工具评估患者的实际营养状况, 对需要的患者在术前开始营养支持, 并首选EN. 对外科手术尤其是腹部外科手术后何时开始EN以及是否EN仍然存在争议[21,22]. 基于循证医学, ESPEN2006版肠内营养指南建议, 对胆道和结直肠手术, 术后禁食、胃肠减压对患者无益, 亦不能降低吻合口并发症, 相反存在增加术后感染发生率和住院时间的风险, 此类患者特别是腹腔镜手术患者术后第1、2天就可给予肠道营养. 学者研究[23,24]提示, 近端胃肠道手术(如胃部手术、食道手术)后早期经空肠或经吻合口远端的营养管给予EN可行, 而且对患者有利. 对于血液动力学不稳定的外科危重患者, 强调有效充分复苏, 纠正内脏缺血缺氧, Melis等[25]研究提示在组织低灌注状态下实施EN, 易出现肠道不耐受, 甚至可致肠坏死等严重并发症. 基于多个临床荟萃[26-33], 充分复苏、血流动力学稳定后尽早(<48 h)给予足量EN, 对维护肠功能、改善重症患者的预后的重大意义得到了重视, 成人危重症患者营养支持与评估指南[34]于2009年明确提出, 早期肠内营养(early enteral nutrition, EEN)是危重症患者营养治疗的目标, 可改善患者的预后.

4 肠内营养制剂的选择

EN制剂包括匀浆膳和商品制剂. 匀浆膳由自然食物粉碎混合而成, 含食物天然营养素, 来源丰富, 价格低廉, 但易污染, 加之过于稠厚, 不易通过EN管路输注, 不适合外科患者临床实用, 使之应用范围受限. 商品EN制剂, 由于无菌、成分合理明确、便于通过细口径的EN管路输注, 逐渐被临床接受, 并在外科患者间得到广泛应用. 商品的EN制剂包括整蛋白型、短肽型、氨基酸型, 前者为非要素膳, 后两种为要素膳. 在为外科患者选择EN制剂时, 需要充分评估患者的胃肠功能, 根据评估结果选择EN制剂[35]. 对胃肠道功能正常者, 可选择以整蛋白为氮源的制剂, 不但具有价格便宜的优势, 且大分子物质刺激肠黏膜生长的作用优于小分子, 可以保护肠黏膜, 避免萎缩, 保护肠黏膜的生理屏障功能. 对胃肠道功能低下者(如短肠综合征、胰腺炎、炎性肠道疾病等), 则应选择氨基酸型或短肽型, 因为其易于吸收、无渣, 不会产生蛋白过敏, 肠管保留75 cm以下仍可靠吸收.

商品化EN制剂能保证机体对重要营养物质和某些微量营养素的需求, 但外科患者存在较大个体差异, 且不同的商品EN制剂配方不尽相同, 可能导致患者发生电解质紊乱微量元素缺乏, 应该充分了解产品特性, 严格监测患者的内环境, 适当添加营养素, 保障合理营养.

5 肠内营养的安全保障

肠内营养在使用过程中的优势越来越凸显, 安全性亦较PN为高, 但EN如果应用不当, 安全问题亦不容小觑. 国内外均报道[8,36]管饲时EN导管与静脉导管误连接致患者死亡的事件, 此外EN导管接入腹膜透析管、自动血压计的充气管道接到中心静脉导管以及静脉输液管与气管插管连接等错误也见诸报道, 此类事件的后果可想而知. 除连接错误外, EN时导管移位、误吸致吸入性肺炎甚至致死的报道亦常见. 杜桦等[37]报道, 对脑卒中患者实施EN时误吸的发生率为4.5%, 李静[38]报道, ICU机械通气患者实施EN时误吸率高达20.4%, 叶向红等[39]报道腹腔高压行机械通气患者应用EN时误吸率高达14.28%. 除机械原因外, 部分医护人员未切实落实规范也是影响EN安全的重要因素[40].

为推进EN的规范化使用, 提高EN的安全性, 2009年, ASPEN与雀巢公司联合推出了“ALERT”项目[8], 即EN配制过程中无菌操作(aseptic technique)、EN容器和输注管道明确的标识(label enteral equipment)、抬高床头(elevate head of bed)、输注之前仔细核对(right patient, right formula, right tube)以及确保导管连接正确(trace all lines and tube back to patient). 以此项目为临床指导, 切实落实核心条款, 可以保障EN安全.

6 肠内营养的并发症

EN的临床优势越来越被医护人员认识, 但基于多种原因, EN过程中仍可能出现喂养不耐受(feed intolerance, FE)、感染、代谢等多方面的并发症. 需要医护人员在EN管理中予以重视.

FE是指在EN中出现胃残余量增多、腹胀、腹泻、呕吐、反流和便秘, 是胃肠道并发症发生与否的前提和根本原因. 肠内营养出现FE时需要引起重视, 通过控制营养液的渗透压、输注速度、控制合适温度等措施进行及时处置, 多数患者可逐步耐受EN.

EN可合并多种感染并发症, 其中呼吸道感染最受重视, 包括误吸导致吸入性肺炎和呼吸机支持患者的呼吸机相关性肺炎(ventilator associated pneumonia, VAP)等, 是最危险的并发症. 有误吸病

■相关报道
腹部外科尤其是胃肠道外科术后是否适宜使用EN, 何时开展, 仍然存在争议. 国内学者秦环龙、杨俊研究认为术后早期开展EN将使患者获益. 国外学者Wernerman等同样建议合理评估患者的全身情况, 血液动力学稳定后尽早开展EN.

■创新盘点
本文回顾大量文献, 对EN的研究进展进行了较全面综述.

史、神志不清或使用镇静剂、机械通气、胃排空障碍、高龄等均是发生误吸的危险因素[41-45], 除选择头端位于屈氏韧带以下的置管方式外, 良好的护理管理措施在预防吸入性肺炎及VAP方面被认为具有非凡意义[46]. 抬高床头30-45度被认为是最简单有效的方法, 有利于食物通过幽门进入小肠, 减少胃内容物潴留, 可有效减少或避免返流与误吸, 并减少胃肠道细菌的逆向定植[47]. 间歇管饲喂养可以保持胃液pH值于正常范围, 可以有效减少胃内细菌逆向定植从而预防呼吸道感染[48], 然而此种方法喂养不当时易有返流、腹泻及腹痛等并发症发生的可能[49,50], 需根据患者的胃肠动力具体选择.

EN在营养支持的同时带来了水、电解质、糖等多种代谢紊乱的风险, 以高血糖最为常见. 高血糖与管饲液体含糖量过高、输注速度过快等有关, 也与危重患者自身存在的胰岛素抵抗有关. 不合理处置会导致管饲喂养不耐受、高渗性高血糖昏迷等严重后果[51]. 使用胰岛素严格控制血糖于正常水平, 能明显降低危重症患者并发症的发生, 但同时也增加了低血糖的风险[52-56], 需要在应用中加强监测.

7 结论

EN由于其无可替代的优势在患者中应用越来越广泛, 但不恰当的EN可能给患者带来伤害, 只有加强评估、严密观察、使用个性化的EN方案, 并在EN过程中加强监测、不断调整, 才能使患者受益最大化.

8 参考文献

1 周华, 许媛. 危重症病人营养支持指南解读. 中国实用外科杂志 2008; 28: 925-928
2 朱维铭. 临床营养角色的转变: 从营养支持到营养治疗. 肠内与肠外营养 2009; 16: 1-3
3 朱维铭. 肠内营养的规范化问题. 肠内与肠外营养 2013; 20: 193-195
4 Koretz RL, Lipman TO, Klein S. AGA technical review on parenteral nutrition. *Gastroenterology* 2001; 121: 970-1001 [PMID: 11606512 DOI: 10.1053/gast.2001.28031]
5 Kondrup J, Allison SP, Elia M, Vellas B, Plauth M. ESPEN guidelines for nutrition screening 2002. *Clin Nutr* 2003; 22: 415-421 [PMID: 12880610 DOI: 10.1016/S0261-5614(03)00098-0]
6 Lochs H, Pichard C, Allison SP. Evidence supports nutritional support. *Clin Nutr* 2006; 25: 177-179 [PMID: 16697085 DOI: 10.1016/j.clnu.2006.02.002]
7 Kyle UG, Genton L, Pichard C. Hospital length of stay and nutritional status. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2005; 8: 397-402 [PMID: 15930964]
8 Gazzotti C, Albert A, Pepinster A, Petermans J. Clinical usefulness of the mini nutritional assessment (MNA) scale in geriatric medicine. *J Nutr Health Aging* 2000; 4: 176-181 [PMID: 10936907]
9 Gazzotti C, Arnaud-Battandier F, Parello M, Farine S, Seidel L, Albert A, Petermans J. Prevention of malnutrition in older people during and after hospitalisation: results from a randomised controlled clinical trial. *Age Ageing* 2003; 32: 321-325 [PMID: 12720620]
10 韦军民. 欧美外科营养指南解读. 中国实用外科杂志 2012; 32: 107-108
11 Ukleja A, Freeman KL, Gilbert K, Kochevar M, Kraft MD, Russell MK, Shuster MH. Standards for nutrition support: adult hospitalized patients. *Nutr Clin Pract* 2010; 25: 403-414 [PMID: 20702847 DOI: 10.1177/0884533610374200]
12 Lochs H, Allison SP, Meier R, Pirlich M, Kondrup J, Schneider S, van den Berghe G, Pichard C. Introductory to the ESPEN Guidelines on Enteral Nutrition: Terminology, definitions and general topics. *Clin Nutr* 2006; 25: 180-186 [PMID: 16697086 DOI: 10.1016/j.clnu.2006.02.007]
13 Schütz T, Valentini L, Herbst B, Lochs H; European Society for Clinical Nutrition and Metabolism. [ESPEN guidelines on enteral nutrition--summary]. *Z Gastroenterol* 2006; 44: 683-684 [PMID: 16995289]
14 张先进, 陈伟焘, 林新峰. 肠内营养常用置管方法的评价. 肠内与肠外营养 2013; 20: 241-244
15 Blondet A, Lebigot J, Nicolas G, Boursier J, Person B, Laccoureye L, Aubé C. Radiologic versus endoscopic placement of percutaneous gastrostomy in amyotrophic lateral sclerosis: multivariate analysis of tolerance, efficacy, and survival. *J Vasc Interv Radiol* 2010; 21: 527-533 [PMID: 20172742 DOI: 10.1016/j.jvir.2009.11.022]
16 中华医学会. 肠内营养管饲途径临床诊疗指南肠外肠内营养学分册(2010版). 北京: 人民卫生出版社, 2010: 27-30
17 Lai CW, Barlow R, Barnes M, Hawthorne AB. Bedside placement of nasojejunal tubes: a randomised-controlled trial of spiral- vs straight-ended tubes. *Clin Nutr* 2003; 22: 267-270 [PMID: 12765666 DOI: 10.1016/S0261-5614(02)00210-8]
18 黄碧灵, 蓝惠兰, 谭杏飞, 廖游玩, 陈纯波, 叶珩. 危重病人采用被动等待法床边留置螺旋形鼻肠管的临床观察及护理. 护理研究 2009; 23: 37-38
19 Kim CY, Engstrom BI, Horvath JJ, Lungren MP, Suhocki PV, Smith TP. Comparison of primary jejunostomy tubes versus gastrojejunostomy tubes for percutaneous enteral nutrition. *J Vasc Interv Radiol* 2013; 24: 1845-1852 [PMID: 24094674 DOI: 10.1016/j.jvir.2013.08.012]
20 Kim YJ, Yoon CJ, Seong NJ, Kang SG, An SW, Woo YN. Safety and efficacy of radiological percutaneous jejunostomy for decompression of malignant small bowel obstruction. *Eur Radiol* 2013; 23: 2747-2753 [PMID: 23657289 DOI: 10.1007/s00330-013-2883-1]
21 秦环龙, 杨俊. 外科手术后肠内营养的时机途径和制剂选择. 中国实用外科杂志 2008; 28: 79-80
22 Wernerman J. Combined enteral and parenteral nutrition. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2012; 15: 161-165 [PMID: 22261951 DOI: 10.1097/MCO.0b013e32835036a9]
23 Weimann A, Braga M, Harsanyi L, Laviano A, Ljungqvist O, Soeters P, Jauch KW, Kemen M, Hiesmayr JM, Horbach T, Kuse ER, Vestweber KH. ESPEN Guidelines on Enteral Nutrition: Surgery including organ transplantation. *Clin Nutr* 2006; 25:

224-244 [PMID: 16698152]
24 Yu XB, Lin Q, Qin X, Ruan Z, Zheng J, Zhou JH, Zhou QJ. Efficacy of early postoperative enteral nutrition in supporting patients after esophagectomy. *Minerva Chir* 2014 Feb 7. *[Epub ahead of print]* [PMID: 24504222]
25 Melis M, Fichera A, Ferguson MK. Bowel necrosis associated with early jejunal tube feeding: A complication of postoperative enteral nutrition. *Arch Surg* 2006; 141: 701-704 [PMID: 16847244 DOI: 10.1001/archsurg.141.7.701]
26 Artinian V, Krayem H, DiGiovine B. Effects of early enteral feeding on the outcome of critically ill mechanically ventilated medical patients. *Chest* 2006; 129: 960-967 [PMID: 16608945 DOI: 10.1378/chest.129.4.960]
27 何振扬. 欧洲肠外肠内营养学会重症患者肠外肠内营养指南简介. 中华普通外科学文献(电子版) 2010; 4: 173-175
28 Mirtallo JM, Forbes A, McClave SA, Jensen GL, Waitzberg DL, Davies AR. International consensus guidelines for nutrition therapy in pancreatitis. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 2012; 36: 284-291 [PMID: 22457421 DOI: 10.1177/0148607112440823]
29 Wereszczynska-Siemiatkowska U, Swidnicka-Siergiejko A, Siemiatkowski A, Dabrowski A. Early enteral nutrition is superior to delayed enteral nutrition for the prevention of infected necrosis and mortality in acute pancreatitis. *Pancreas* 2013; 42: 640-646 [PMID: 23508012 DOI: 10.1097/MPA.0b013e318271bb61]
30 Singh A, Chen M, Li T, Yang XL, Li JZ, Gong JP. Parenteral nutrition combined with enteral nutrition for severe acute pancreatitis. *ISRN Gastroenterol* 2012; 2012: 791383 [PMID: 23304538 DOI: 10.5402/2012/791383]
31 Doig GS, Simpson F, Sweetman EA, Finfer SR, Cooper DJ, Heighes PT, Davies AR, O'Leary M, Solano T, Peake S. Early parenteral nutrition in critically ill patients with short-term relative contraindications to early enteral nutrition: a randomized controlled trial. *JAMA* 2013; 309: 2130-2138 [PMID: 23689848 DOI: 10.1001/jama.2013.5124]
32 Cahill NE, Murch L, Jeejeebhoy K, McClave SA, Day AG, Wang M, Heyland DK. When early enteral feeding is not possible in critically ill patients: results of a multicenter observational study. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 2011; 35: 160-168 [PMID: 21378245 DOI: 10.1177/0148607110381405]
33 Davies AR, Morrison SS, Bailey MJ, Bellomo R, Cooper DJ, Doig GS, Finfer SR, Heyland DK. A multicenter, randomized controlled trial comparing early nasojejunal with nasogastric nutrition in critical illness. *Crit Care Med* 2012; 40: 2342-2348 [PMID: 22809907 DOI: 10.1097/CCM.0b013e318255d87e]
34 McClave SA, Martindale RG, Vanek VW, McCarthy M, Roberts P, Taylor B, Ochoa JB, Napolitano L, Cresci G. Guidelines for the Provision and Assessment of Nutrition Support Therapy in the Adult Critically Ill Patient: Society of Critical Care Medicine (SCCM) and American Society for Parenteral and Enteral Nutrition (A.S.P.E.N.). *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 2009; 33: 277-316 [PMID: 19398613 DOI: 10.1177/0148607109335234]
35 郭松, 陈强辅. 梗阻性黄疸的肠内营养. 中华全科医学 2013; 11: 1100-1101
36 蒋洋洋, 许勤, 宋燕波. 危重患者肠内营养安全实施流程的构建. 护理学杂志 2012; 27: 81-83
37 杜桦, 钟洁, 樊欣. 重症脑卒中患者肠内营养误吸的护理干预. 中国实用神经疾病杂志 2012; 23: 80-82
38 李静. ICU机械通气患者肠内营养误吸的原因分析及护理. 当代护士 2013; 2: 147-149
39 叶向红, 彭南海, 倪元红, 王新颖, 李维勤. 腹腔高压行机械通气患者肠内营养期间微误吸的预防. 解放军护理杂志 2011; 28: 21-24
40 Tho PC, Mordiffi S, Ang E, Chen H. Implementation of the evidence review on best practice for confirming the correct placement of nasogastric tube in patients in an acute care hospital. *Int J Evid Based Healthc* 2011; 9: 51-60 [PMID: 21332663 DOI: 10.1111/j.1744-1609.2010.00200.x]
41 Iyer KR, Crawley TC. Complications of enteral access. *Gastrointest Endosc Clin N Am* 2007; 17: 717-729 [PMID: 17967377]
42 Metheny NA. Preventing aspiration in older adults with dysphagia. *ORL Head Neck Nurs* 2011; 29: 20-21 [PMID: 21902108]
43 Metheny NA, Mills AC, Stewart BJ. Monitoring for intolerance to gastric tube feedings: a national survey. *Am J Crit Care* 2012; 21: e33-e40 [PMID: 22381994 DOI: 10.4037/ajcc2012647]
44 Metheny NA, Stewart BJ, McClave SA. Relationship between feeding tube site and respiratory outcomes. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 2011; 35: 346-355 [PMID: 21527596 DOI: 10.1177/0148607110377096]
45 Palmer JL, Metheny NA. Preventing aspiration in older adults with dysphagia. *Am J Nurs* 2008; 108: 40-48; quiz 49 [PMID: 18227668 DOI: 10.1097/01.NAJ.0000308961.99857.33]
46 Elorza Mateos J, Ania González N, Agreda Sádaba M, Del Barrio Linares M, Margall Coscojuela MA, Asiain Erro MC. [Nursing care in the prevention of ventilator-associated pneumonia]. *Enferm Intensiva* 2011; 22: 22-30 [PMID: 21296017 DOI: 10.1016/j.enfi.2010.11.006]
47 Vinagre Gaspar R, Morales Sánchez C, Frade Mera MJ, Zaragoza García I, Guirao Moya A, Cuenca Solanas M, García Fuentes C, Alted López E. [Evaluation of the compliance of semirecumbent position between 30-45° in intubated patients]. *Enferm Intensiva* 2011; 22: 117-124 [PMID: 21269856 DOI: 10.1016/j.enfi.2010.11.005]
48 Chen YC, Wu LF, Mu PF, Lin LH, Chou SS, Shie HG. Using chest vibration nursing intervention to improve expectoration of airway secretions and prevent lung collapse in ventilated ICU patients: a randomized controlled trial. *J Chin Med Assoc* 2009; 72: 316-322 [PMID: 19541567 DOI: 10.1016/S1726-4901(09)70378-8]
49 Bonten MJ, Gaillard CA, van der Hulst R, de Leeuw PW, van der Geest S, Stobberingh EE, Soeters PB. Intermittent enteral feeding: the influence on respiratory and digestive tract colonization in mechanically ventilated intensive-care-unit patients. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 154: 394-399 [PMID: 8756812]
50 Spilker CA, Hinthorn DR, Pingleton SK. Intermittent enteral feeding in mechanically ventilated patients. The effect on gastric pH and gastric cultures. *Chest* 1996; 110: 243-248 [PMID: 8681634 DOI: 10.1378/chest.110.1.243]
51 陆军, 赵滋苗, 王飞, 丁月平, 马丹女, 叶肖琳, 宋希玲. 高膳食纤维肠内营养改善危重症患者营养状况及耐受. 中华危重症医学杂志(电子版) 2011; 4: 300-305

■应用要点

本文通过对国内外文献的综述, 为在临床工作中应用EN提出了一定的理论依据.

■同行评价
文章内容比较全面的综述了国内外文献, 可供临床医师加深对EN的认识, 为临床应用提供理论依据.

52 唐少秋, 虞文魁, 李维勤, 朱维铭, 燕晓雯. 用胰岛素控制血糖于不同水平对危重症病人影响的临床研究. 肠内和肠外营养 2008; 15: 274-278
53 Cochran A, Davis L, Morris SE, Saffle JR. Safety and efficacy of an intensive insulin protocol in a burn-trauma intensive care unit. *J Burn Care Res* 2008; 29: 187-191 [PMID: 18182920 DOI: 10.1097/BCR.0b013e318160d066]
54 van den Berghe G, Wouters P, Weekers F, Verwaest C, Bruyninckx F, Schetz M, Vlasselaers D, Ferdinande P, Lauwers P, Bouillon R. Intensive insulin therapy in critically ill patients. *N Engl J Med* 2001; 345: 1359-1367 [PMID: 11794168 DOI: 10.1056/NEJMoa011300]
55 Cordingley JJ, Vlasselaers D, Dormand NC, Wouters PJ, Squire SD, Chassin LJ, Wilinska ME, Morgan CJ, Hovorka R, Van den Berghe G. Intensive insulin therapy: enhanced Model Predictive Control algorithm versus standard care. *Intensive Care Med* 2009; 35: 123-128 [PMID: 18661120 DOI: 10.1007/s00134-008-1236-z]
56 Van den Berghe G, Wilmer A, Milants I, Wouters PJ, Bouckaert B, Bruyninckx F, Bouillon R, Schetz M. Intensive insulin therapy in mixed medical/surgical intensive care units: benefit versus harm. *Diabetes* 2006; 55: 3151-3159 [PMID: 17065355]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊

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

世界华人消化杂志 2014年4月18日; 22(11): 1531-1536
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

研究快报 RAPID COMMUNICATION

胃癌细胞的无血清悬浮培养与初步鉴定

吴丽霞, 王绪明, 张尚昆, 刘丽江

吴丽霞, 武汉大学基础医学院病理学与病理生理学教研室 湖北省武汉市 430071
王绪明, 张尚昆, 刘丽江, 江汉大学医学院病理学教研室 湖北省武汉市 430056
吴丽霞, 在读硕士, 主要从事胃癌发病机制的研究.
国家自然科学基金资助项目, Nos. 81272754, 30870981
作者贡献分布: 此课题的设计方案与研究所用试剂由刘丽江提供; 研究过程由吴丽霞、王绪明及张尚昆操作完成; 数据分析与论文撰写由吴丽霞与刘丽江完成.
通讯作者: 刘丽江, 教授, 430056, 湖北省武汉市经济技术开发区学府路8号, 江汉大学医学院病理学教研室.
liulijiang@163.com
电话: 027-84226503
收稿日期: 2014-01-16 修回日期: 2014-02-26
接受日期: 2014-02-28 在线出版日期: 2014-04-18

Serum-free culture and preliminary identification of gastric cancer cells

Li-Xia Wu, Xu-Ming Wang, Shang-Kun Zhang, Li-Jiang Liu

Li-Xia Wu, Department of Pathology and Pathophysiology, School of Basic Medical Sciences, Wuhan University, Wuhan 430071, Hubei Province, China
Xu-Ming Wang, Shang-Kun Zhang, Li-Jiang Liu, Department of Pathology, School of Medicine, Jianghan University, Wuhan 430056, Hubei Province, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, Nos. 81272754 and 30870981
Correspondence to: Li-Jiang Liu, Professor, Department of Pathology, School of Medicine, Jianghan University, 8 Xuefu Road, Economic and Technological Development Zone, Wuhan 430056, 8 Xuefu Road, Jingji Jishu Kaifaqu, Hubei Province, China. liulijiang@163.com
Received: 2014-01-16 Revised: 2014-02-26
Accepted: 2014-02-28 Published online: 2014-04-18

Abstract

AIM: To conduct the serum-free culture and preliminary identification of gastric cancer cells.

METHODS: We used serum-free DMEM/F12 medium to culture gastric cancer cell line SGC7901 and screened the stem cells of gastric cancer cell line. Tumorospheres were counted by random counting method. $CD24^+$, $CD44^+$ and $Snail^+$ cells in tumorosphere were detected by flow cytometry, and expression of Snail protein in tumorospheres was detected by Western blot.

RESULTS: After gastric cancer cell line SGC7901 was maintained in serum-free medium for about a week, the largest number of tumorospheres formed. The numbers of $CD24^+$, $CD44^+$ and $Snail^+$ cells in tumorospheres were significantly more than those in the control cells ($P < 0.05$). Snail protein was highly expressed in tumorospheres.

CONCLUSION: Serum-free suspension culture method allows to obtain gastric tumorospheres. $Snail^+$ cells and expression of Snail significantly increased in tumorospheres in which the number of $CD24^+/CD44^+$ cells has a remarkable increase.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: CD24; CD44; Snail protein; Cancer stem cells; Tumorospheres

Wu LX, Wang XM, Zhang SK, Liu LJ. Serum-free culture and preliminary identification of gastric cancer cells. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(11): 1531-1536
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1531.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i11.1531

摘要

目的: 探讨胃癌细胞的无血清悬浮培养与初步鉴定.

方法: 应用无血清DMEM/F12培养基悬浮培养胃癌细胞系SGC7901, 通过随机计数法计数不同时间窗形成的肿瘤细胞球数. 应用流式细胞技术检测肿瘤细胞球中$CD24^+$、$CD44^+$和$Snail^+$细胞的含量及Western blot技术检测Snail蛋白在肿瘤细胞球中的表达.

结果: 胃癌细胞系SGC7901在无血清悬浮培养大约1 wk时形成肿瘤细胞球且数量最多, 肿瘤细胞球中$CD24^+$、$CD44^+$和$Snail^+$细胞含量明显高于对照组的贴壁培养细胞($P<0.05$), 并且Snail蛋白在肿瘤细胞球中高表达.

结论: 胃癌细胞在无血清悬浮培养下可形成

■背景资料
胃癌是我国消化系最常见的恶性肿瘤之一, 预后差. 近年有关胃癌肿瘤干细胞的研究虽有报道, 但如何获得和鉴定胃癌干细胞及胃癌肿瘤细胞球仍是实验研究所面临的问题.

■同行评议者
唐世刚, 教授, 湖南省人民医院

■研发前沿
在体外更好的培养和分离纯化胃癌肿瘤细胞球是进行肿瘤干细胞研究的主要步骤, 将为进一步探索胃癌侵袭转移的机制提供帮助.

肿瘤细胞球, 这类$CD24^+/CD44^+$细胞含量明显增多的肿瘤细胞球中$Snail^+$细胞的含量及其Snail蛋白的表达较对照细胞均有显著升高.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: CD24; CD44; Snail; **肿瘤干细胞; 肿瘤细胞球**

核心提示: 应用无血清培养基以及超低吸附培养皿悬浮培养胃癌细胞, 可以稳定有效的获得高表达CD24/CD44及Snail的肿瘤细胞球.

吴丽霞, 王绪明, 张尚昆, 刘丽江. 胃癌细胞的无血清悬浮培养与初步鉴定. 世界华人消化杂志 2014; 22(11): 1531-1536
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1531.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i11.1531

0 引言

胃癌为我国消化系最常见的恶性肿瘤之一, 一经发现多为进展期, 常伴有淋巴结及远处转移, 5年生存率低[1]. 肿瘤干细胞(cancer stem cells, CSCs)是指具有自我更新能力且可不定向分化的肿瘤细胞[2], 是存在于肿瘤组织中的少量恶性细胞, 与干细胞有着许多相似的特征[3]. 最近的研究证实, 形成球型集落的肿瘤干细胞具有更强的转移及侵袭能力[4]. Mani等[5]研究发现高表达Snail的细胞可通过促进上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT), 使肿瘤细胞具有更强的致瘤性、并表现出干细胞样的特性. 近年研究发现, 人胃癌细胞株(MKN-45、MKN-74、NCI-87、AGS、HGC-27、MGC-803)中存在胃癌干细胞[6-8]. 但是, 如何获得更多的胃癌干细胞, 如何鉴定胃癌干细胞仍是实验研究所面临的问题. 为进一步探索胃癌的侵袭和转移以及肿瘤干细胞的作用机制, 我们应用无血清悬浮培养的方法, 并对肿瘤细胞球进行鉴定, 以期在体外得到比较多的具有胃癌干细胞特性的肿瘤细胞, 为深入研究打下基础.

1 材料和方法

1.1 材料 人胃癌细胞系SGC7901(由华中科技大学同济医学院免疫学教研室馈赠). 优质胎牛血清、DMEM和DMEM/F12培养基均购自Hyclone公司; EGF购自Gali-Bio公司; 碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)购自PeproTech公司; B27购自Gibco公司; 氢化可的松购自Sigma公司; 超低吸附培养皿100 mm购自Corning公司; Snail抗体购自Abcam公司; CD24、CD44购自BD公司; FITC-标记山羊抗兔购自Thermo公司; β-actin购自Santa Cruz公司; 山羊抗小鼠IgG/辣根酶和山羊抗兔IgG/辣根酶购自Jackson公司.

1.2 方法

1.2.1 细胞系和培养基: 细胞系为人胃癌细胞系SGC7901. 含血清培养基(Serum containing medium, SSM)为含有10%胎牛血清的DMEM. 无血清培养基(serum free medium, SFM)为含有2%B27、0.5 μg/mL氢化可的松, 20 ng/mL的EGF和20 ng/mL bFGF的DMEM/F12(1∶1).

1.2.2 肿瘤细胞球培养: 取长至培养瓶80%的SSM中培养的SGC-7901细胞, 用1×PBS洗涤2次后, 经胰酶-EDTA消化至轻轻晃动细胞可完全脱落再放置1 min后, 加入SSM终止消化, 机械吹打数次收集细胞1200 r/min离心3 min, 去上清后加入SFM轻轻吹打成单细胞悬液. 取100 μL细胞悬液加900 μL 1×PBS稀释, 用血球计数板计数后重悬于SFM中, 以5×10^3/mL接种于100 mm超低吸附培养皿中, 补充SFM至总培养液体积为10 mL. 放入37 ℃、5%CO_2、95%湿度的培养箱中培养至第4天换液.

1.2.3 肿瘤细胞球的收集与鉴定: 当培养皿中形成肿瘤细胞球后, 计数并在倒置显微镜下拍照. 收集细胞球, 低速离心去上清液, 加入新鲜配制的4%多聚甲醛固定30 min, 涂在事先用0.5%明胶处理好的载玻片上, 自然晾干. 滴加适量hoechst33258(Beyotime)染色10 min, 1×PBS洗3遍, 每次5 min后于荧光显微镜下拍照.

1.2.4 流式细胞仪检测肿瘤细胞球的干细胞标志物: 无血清悬浮培养1 wk的肿瘤细胞球收集后经胰酶-EDTA消化成单细胞悬液, 以10^6个/100 μL浓度准备5组细胞样品. 于空白管和同型对照管加入20 μL细胞洗液(含2%BSA的PBS), 待测管分别加入浓度为20 μL/mL的CD24、CD44和Snail抗体, 4 ℃孵育30 min, 加入细胞洗液, 1200 r/min离心10 min, 反复洗涤2次. 于空白管加入细胞洗液, 同型对照管及待测管中加入浓度为20 μL/mL的荧光素FITC标记的二抗, 4 ℃避光孵育30 min后洗涤2次, 控干后加入1%多聚甲醛的PBS混匀后上流式细胞仪检测. 取对照的贴壁培养细胞, 用同样的方法检测$CD24^+$、$CD44^+$和$Snail^+$细胞含量.

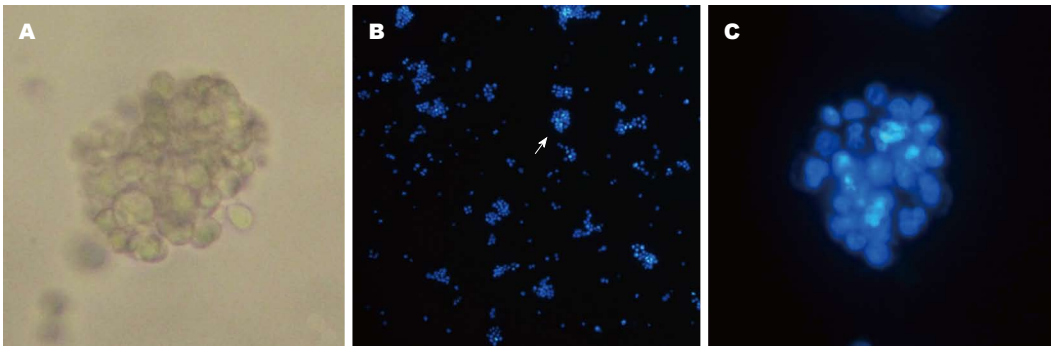


图 1 肿瘤细胞球. A: 悬浮培养的肿瘤细胞球镜下为50−100个细胞聚集成立体的球型, 边界清楚(×40); B: 培养1 wk细胞球涂片用hoechst33258染色的肿瘤细胞球(×10); C: 图1B中箭头所指hoechst33258染色高倍镜下肿瘤细胞球(×40).

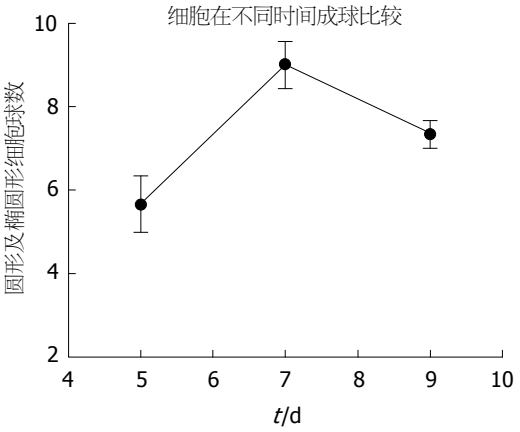


图 2 悬浮培养胃癌肿瘤细胞形成圆形及椭圆形肿瘤细胞球数. 第7天的肿瘤细胞球数量最多.

1.2.5 Western blot检测肿瘤细胞球中Snail的表达: 无血清悬浮培养1 wk的肿瘤细胞球收集后, 使用含1%PMSF的细胞裂解液(Thermo)冰上提取蛋白. 使用BCA蛋白浓度试剂盒(Thermo), 酶标仪A_{492}波长测定蛋白浓度, 加入6×Loading buffer, 混匀煮沸8 min. 将蛋白上样于10%SDS-PAGE胶孔中, 每孔上样60 μg, 边缘孔中加入1×Loading buffer. 40 V电泳30 min后120 V电泳1 h. PVDF膜450 mA转膜, 70 min. 5%脱脂奶粉37 ℃封闭1 h. 由牛奶封闭液稀释的一抗(Snail 1∶500; β-actin 1∶1000)4 ℃孵育过夜. 牛奶封闭液稀释的二抗(1∶1000), 37 ℃孵育1 h. 显影液(TianGEN)于暗室中显影. 采用Biostep Photoimpact凝胶分析系统软件测量各组Snail与β-actin条带的平均光密度值, 计算两者的比值, 进行相对定量.

统计学处理 采用SPSS17.0统计软件对全部数据进行统计分析, $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 肿瘤细胞球 利用随机计数法计数第5、7、9天肿瘤细胞成球情况. 肿瘤细胞球为约50-100个细胞聚集成球型, 边界清楚(图1). 悬浮培养后第7天的肿瘤细胞球数量最多(图2).

2.2 肿瘤细胞球中CD24$^+$、CD44$^+$细胞含量 取SFM悬浮培养1 wk的肿瘤细胞球, 检测CD24$^+$、CD44$^+$细胞含量, 分别为23.5%和15.9%(图3A), 明显高于对照的贴壁培养的细胞(9.8%和6.4%)($P<0.05$)(图3B, C).

2.3 肿瘤细胞球中Snail$^+$细胞含量及Snail蛋白的表达 应用流式细胞仪检测中无血清悬浮培养的细胞和对照的贴壁培养的肿瘤细胞中Snail$^+$细胞含量, 发现悬浮培养中的Snail$^+$细胞数量为40.1%, 明显高于对照的贴壁培养的细胞(0.3%)(图4A, B), 两者比较差异有统计学意义($P<0.05$)(图4B). 提取悬浮培养和对照的贴壁培养的细胞, 应用Western blot技术检测发现, 悬浮培养的肿瘤细胞球中Snail蛋白的表达, 明显高于对照的贴壁培养的细胞($P<0.05$)(图4C, D).

3 讨论

1959年Makino等[9]首次指出肿瘤可能由肿瘤干细胞产生, 提出了肿瘤干细胞的假说. 1997年Bonnet等[10]首次在人急性髓性白血病的细胞中证实了CSCs的存在. 之后, 在许多实体肿瘤中也证实了CSCs的存在. 近年胃癌干细胞的研究也取得了一定进展, Takaishi等[6]发现在人胃癌细胞株(MKN-45、MKN-74、NCI-87)中存在干细胞特性的胃癌干细胞. 然而, 在体外如何获得更多的胃癌干细胞, 是研究胃癌重要生物学行为所面临的实际问题.

我们在乳腺癌MCF7细胞中获得肿瘤干细胞样细胞培养的经验[11], 应用无血清以及超低吸附培养皿悬浮培养胃癌细胞系SGC7901, 形成肿瘤细胞球的成球最佳时间大约在1 wk左右. 通过对

■相关报道
从胃癌细胞AGS中获取CD24$^+$、CD44$^+$细胞, 并将其接种到裸鼠体内, 发现具有较强的致瘤性.

■创新盘点

本研究应用无血清超低吸附悬浮培养的方法, 可稳定获得胃癌肿瘤细胞球. 联合应用CD24/CD44/Snail鉴定肿瘤细胞球, 未见相关文献的报道.

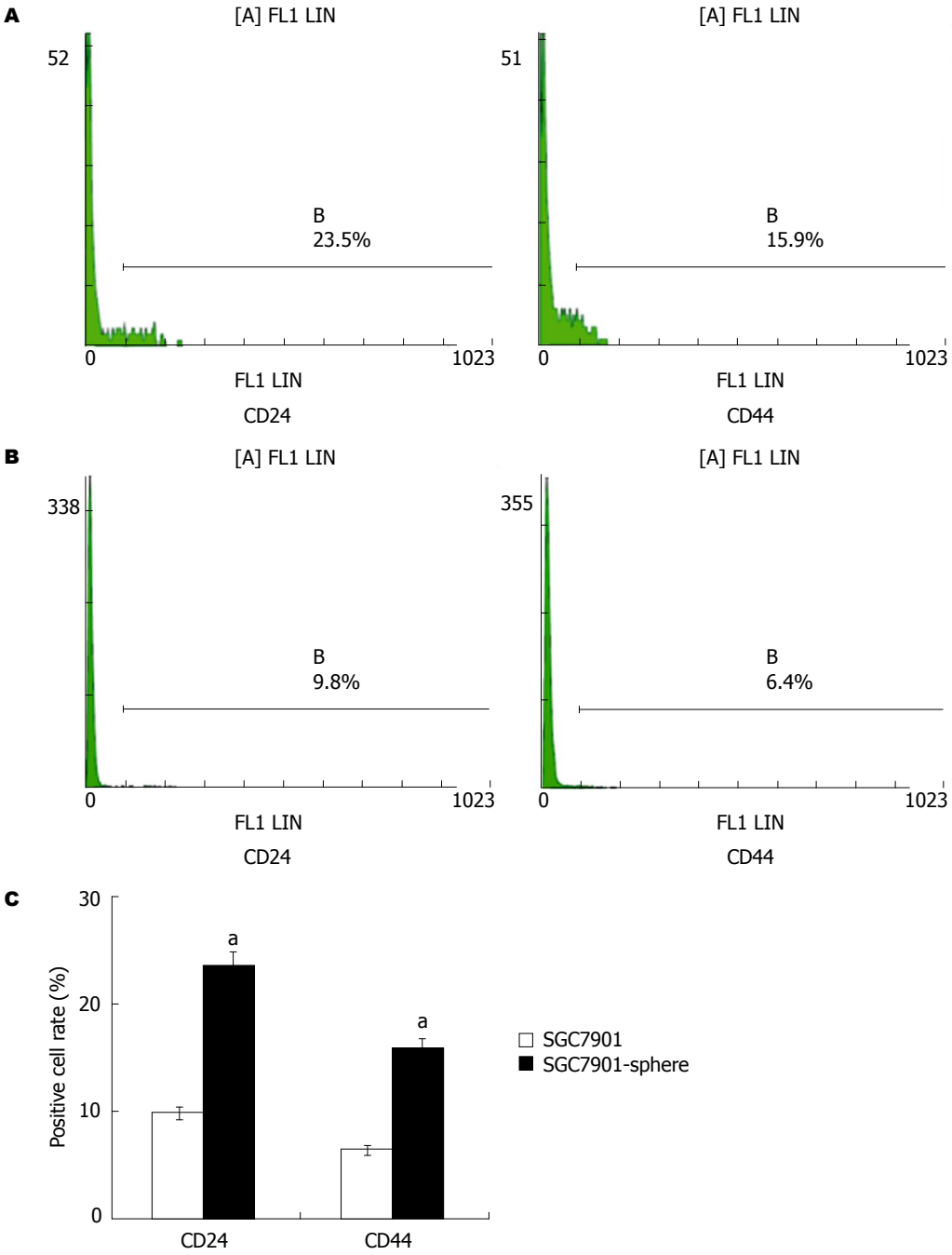


图 3 肿瘤细胞球中CD24$^+$、CD44$^+$细胞含量. A: 悬浮培养肿瘤细胞球中CD24$^+$、CD44$^+$细胞含量; B: 对照的贴壁培养细胞中CD24$^+$、CD44$^+$细胞含量; C: 悬浮培养的肿瘤细胞球中CD24$^+$、CD44$^+$细胞含量和对照的贴壁培养细胞的比较, $^aP<0.05$ *vs* SGC7901 control.

肿瘤细胞球的检测发现, 肿瘤细胞球中CD24$^+$、CD44$^+$细胞含量与对照的贴壁细胞中CD24$^+$、CD44$^+$细胞含量比较差异有统计学意义.

Zheng等[12]同样用无血清培养法在胃癌细胞系SGC7901中分选出悬浮细胞, 检测结果发现CD44在悬浮细胞与贴壁细胞中的表达没有明显的统计学差异. 而Zhang等[7]在胃癌细胞系AGS中证实CD24$^+$/CD44$^+$细胞植入NOD/SCID鼠体内具有较强的致瘤性以及Song等[8]在HGC-27、MGC-803和MKN-45这3种细胞系中的研究, 结果发现CD24$^+$/CD44$^+$在悬浮细胞球中高表达. 与此相一致, 我们的结果显示, 胃癌肿瘤细胞球中CD24$^+$和CD44$^+$的细胞数量明显高于对照的贴壁生长的细胞. 与乳腺癌不同(CD24$^-$/CD44$^+$)[11]. 因此, 我们认为CD24$^+$和CD44$^+$可作为鉴定胃癌肿瘤干细胞的标志之一.

另外, 我们还应用流式细胞仪检测胃癌肿瘤细胞球中的Snail, 发现Snail$^+$细胞含量明显增

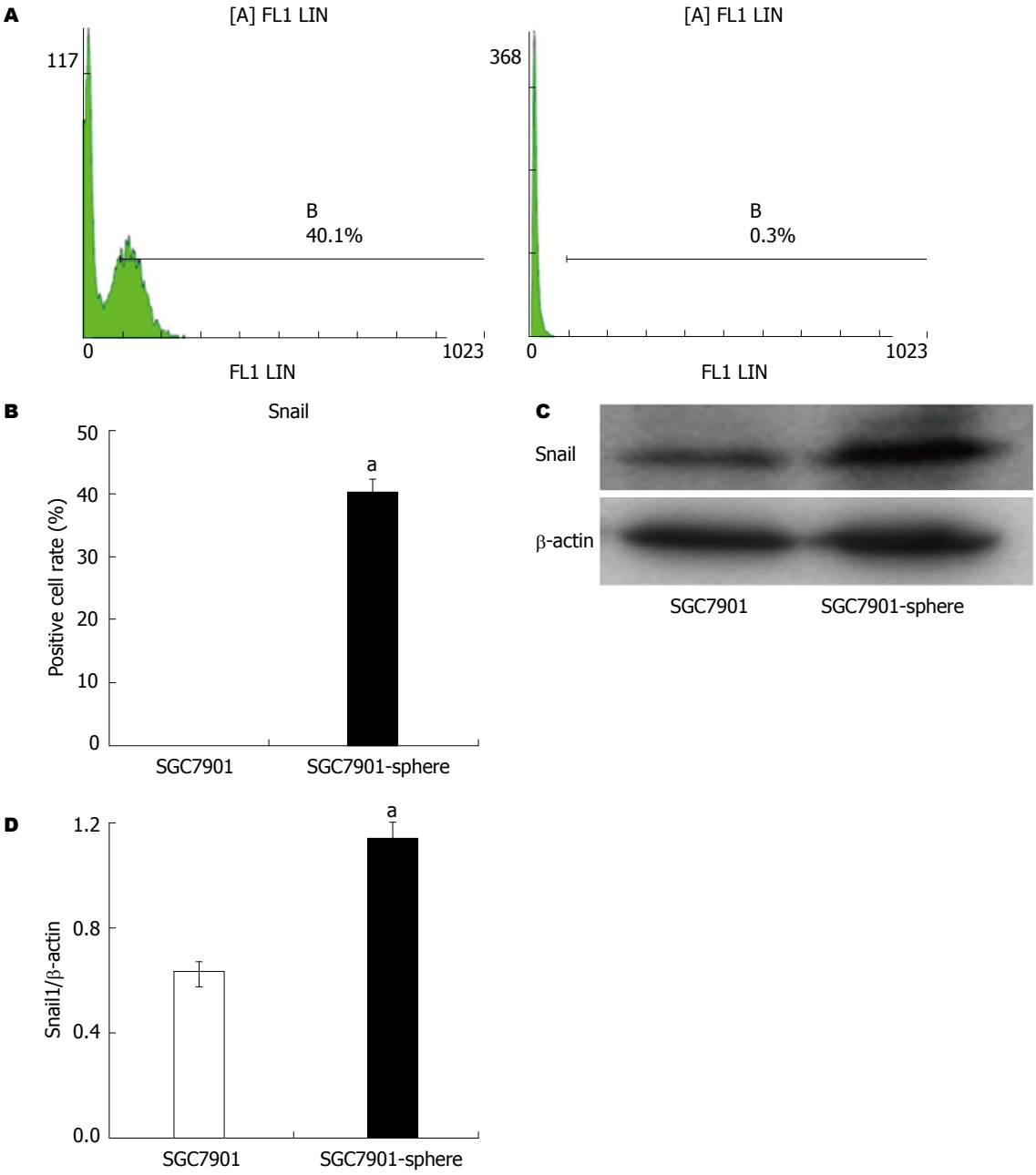


图 4 肿瘤细胞球中Snail⁺细胞含量及Snail蛋白的表达. A: 左: 悬浮培养肿瘤细胞球中Snail⁺细胞含量; 右: 对照的贴壁培养细胞中Snail⁺细胞含量; B: 悬浮培养肿瘤细胞球中和对照的贴壁培养细胞中Snail⁺细胞含量比较, $^aP<0.05$ *vs* SGC7901 control; C: Western blot分析Snail蛋白在肿瘤细胞球及对照组中的表达; D: Snail蛋白在肿瘤细胞球以对照组的比较, $^aP<0.05$ *vs* SGC7901 control.

高, 与贴壁细胞中Snail⁺细胞含量比较具有差异性. 同时, 我们检测两者中Snail蛋白的表达, 也存在统计学差异. Snail为锌指蛋白超家族的第一个成员, 在转录调控、形成抑制性染色质结构、细胞信号和发育过程中发挥积极作用. 同时, Snail可促使EMT及E-cadherin和桥粒芯糖蛋白的降解[13,14], 被认为是促进肿瘤侵袭转移的重要因素之一[15]. 有研究发现Snail通过调节IL-8和其他基因的表达, 以诱导肿瘤干细胞的活性[16]. 由此我们推测, Snail可能也可作为胃癌肿瘤干细胞的标志物, 与CD24/CD44一起鉴定肿瘤细胞球细胞. Snail蛋白作为参与肿瘤侵袭与转移的重要分子, 其在胃癌细胞中的侵袭与转移中的作用及机制有待进一步研究.

同行评价
本文在肿瘤的发生机制的研究方面有一定的实际意义.

4 参考文献

1 Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2013. *CA Cancer J Clin* 2013; 63: 11-30 [PMID: 23335087 DOI: 10.3322/caac.21166]
2 Clarke MF, Dick JE, Dirks PB, Eaves CJ, Jamieson CH, Jones DL, Visvader J, Weissman IL, Wahl GM. Cancer stem cells--perspectives on current status

and future directions: AACR Workshop on cancer stem cells. *Cancer Res* 2006; 66: 9339-9344 [PMID: 16990346 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-06-3126]
3 钱波, 蔡寒青, 冯洁. 干细胞、肿瘤干细胞与肿瘤发生. 世界华人消化杂志 2007; 15: 1526-1531
4 刘龚玫子, 周錞, 谢川, 杨桢, 吕农华. 胃癌干细胞的研究进展. 世界华人消化杂志 2012; 20: 574-579
5 Mani SA, Guo W, Liao MJ, Eaton EN, Ayyanan A, Zhou AY, Brooks M, Reinhard F, Zhang CC, Shipitsin M, Campbell LL, Polyak K, Brisken C, Yang J, Weinberg RA. The epithelial-mesenchymal transition generates cells with properties of stem cells. *Cell* 2008; 133: 704-715 [PMID: 18485877 DOI: 10.1016/j.cell.2008.03.027]
6 Takaishi S, Okumura T, Tu S, Wang SS, Shibata W, Vigneshwaran R, Gordon SA, Shimada Y, Wang TC. Identification of gastric cancer stem cells using the cell surface marker CD44. *Stem Cells* 2009; 27: 1006-1020 [PMID: 19415765 DOI: 10.1002/stem.30]
7 Zhang C, Li C, He F, Cai Y, Yang H. Identification of CD44+CD24+ gastric cancer stem cells. *J Cancer Res Clin Oncol* 2011; 137: 1679-1686 [PMID: 21882047 DOI: 10.1007/s00432-011-1038-5]
8 Song Z, Yue W, Wei B, Wang N, Li T, Guan L, Shi S, Zeng Q, Pei X, Chen L. Sonic hedgehog pathway is essential for maintenance of cancer stem-like cells in human gastric cancer. *PLoS One* 2011; 6: e17687 [PMID: 21394208 DOI: 10.1371/journal.pone.0017687]
9 Makino S. The role of tumor stem-cells in regrowth of the tumor following drastic applications. *Acta Unio Int Contra Cancrum* 1959; 15(Suppl 1): 196-198 [PMID: 14420161]
10 Bonnet D, Dick JE. Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell. *Nat Med* 1997; 3: 730-737 [PMID: 9212098 DOI: 10.1038/nm0797-730]
11 陈琼霞, 李艳, 邓昊, 刘丽江. 去胰岛素的乳腺癌干细胞培养及雌激素诱导作用. 中国病理生理杂志 2013; 29: 2297-2300
12 Zheng Q, Gong F, Xu Y, Zheng T, Ying M. Floating cells with stem cell properties in gastric cell line SGC-7901. *Tumori* 2011; 97: 393-399 [PMID: 21789022 DOI: 10.1700/912.10040]
13 Wu Y, Zhou BP. Snail: More than EMT. *Cell Adh Migr* 2010; 4: 199-203 [PMID: 20168078 DOI: 10.4161/cam.4.2.10943]
14 Kume K, Haraguchi M, Hijioka H, Ishida T, Miyawaki A, Nakamura N, Ozawa M. The transcription factor Snail enhanced the degradation of E-cadherin and desmoglein 2 in oral squamous cell carcinoma cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2013; 430: 889-894 [PMID: 23261431 DOI: 10.1016/j.bbrc.2012.12.060]
15 Naber HP, Drabsch Y, Snaar-Jagalska BE, ten Dijke P, van Laar T. Snail and Slug, key regulators of TGF-β-induced EMT, are sufficient for the induction of single-cell invasion. *Biochem Biophys Res Commun* 2013; 435: 58-63 [PMID: 23618854 DOI: 10.1016/j.bbrc.2013.04.037]
16 Hwang WL, Yang MH, Tsai ML, Lan HY, Su SH, Chang SC, Teng HW, Yang SH, Lan YT, Chiou SH, Wang HW. SNAIL regulates interleukin-8 expression, stem cell-like activity, and tumorigenicity of human colorectal carcinoma cells. *Gastroenterology* 2011; 141: 279-291, 291.e1-e5 [PMID: 21640118 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.04.008]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年4月18日; 22(11): 1537-1541
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

研究快报 RAPID COMMUNICATION

雌激素在衣霉素诱导的内质网应激调控胃癌细胞侵袭力中的作用及机制

付政祺, 邹 丰, 李 艳, 刘丽江

付政祺, 邹丰, 刘丽江, 江汉大学医学院病理学与病理生理学教研室 湖北省武汉市 430056
付政祺, 李艳, 刘丽江, 江汉大学病理诊断所 湖北省武汉市 430056
付政祺, 讲师, 主要从事胃肠道肿瘤病理学的研究及病理学与病理生理学的教学.
国家自然科学基金资助项目, Nos. 30870981, 81272754
湖北省自科基金青年基金资助项目, No. 2013CFB215
江汉大学博士科研启动基金资助项目, No. 2010023
作者贡献分布: 此课题由付政祺与刘丽江设计; 研究过程由付政祺、邹丰及李艳操作完成; 研究所用试剂由刘丽江提供; 数据分析由付政祺完成; 本论文写作由付政祺完成.
通讯作者: 刘丽江, 教授, 430056, 湖北省武汉市经济技术开发区, 江汉大学医学院病理学与病理生理学教研室.
liulijiang@163.com
电话: 027-84226503
收稿日期: 2014-01-22 修回日期: 2014-02-22
接受日期: 2014-02-28 在线出版日期: 2014-04-18

Involvement of estrogen in gastric cancer cell invasion regulated by tunicamycin induced-endoplasmic reticulum stress

Zheng-Qi Fu, Feng Zou, Yan Li, Li-Jiang Liu

Zheng-Qi Fu, Feng Zou, Li-Jiang Liu, Department of Pathology and Pathophysiology, School of Medicine, Jianghan University, Wuhan 430056, Hubei Province, China
Zheng-Qi Fu, Yan Li, Li-Jiang Liu, Jiangda Pathology Institute, Jianghan University, Wuhan 430056, Hubei Province, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, Nos. 30870981 and 81272754; the Natural Science Foundation of Hubei Province, No. 2013CFB215; and the Jianghan University Doctor Foundation, No. 2010023
Correspondence to: Li-Jiang Liu, Professor, Department of Pathology and Pathophysiology, School of Medicine, Jianghan University, Jingji Jishu Kaifaqu, Wuhan 430056, Hubei Province, China. liulijiang@163.com
Received: 2014-01-22 Revised: 2014-02-22
Accepted: 2014-02-28 Published online: 2014-04-18

Abstract

AIM: To investigate the involvement of estrogen in gastric cancer cell invasion regulated by tunicamycin (TM) induced-endoplasmic reticulum stress and to explore the possible mechanism involved.

METHODS: TM (3 μmol/L) alone or in combination with 17β-estradiol (E2, 10^{-9} mol/L) was incubated with SGC7901 cells for 24 h, with the same concentrations of DMSO and alcohol used as vehicle controls. After treatment, the invasion of gastric cancer cells was evaluated by Transwell chamber assays. The expression of phosphorylated protein kinase RNA-like endoplasmic reticulum kinase (pPERK) and phosphorylated glycogen synthase kinase-3β (GSK-3β) at Ser9 were examined by Western blot analysis.

RESULTS: TM induced-endoplasmic reticulum stress, which was demonstrated by increased pPERK, decreased the invasion ability of gastric cancer SGC7901 cells and the phosphorylation of GSK-3β at Ser9. However, simultaneous treatment with E2 increased the invasion of gastric cancer cells by counteracting the activating effect of TM on GSK-3β, causing an increase in the phosphorylation of Ser9-GSK-3β.

CONCLUSION: Estrogen may counteract endoplasmic reticulum stress-induced activation of GSK-3β and increase the invasion of gastric cancer cells.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: 17β-estradiol; Endoplasmic reticulum stress; Tunicamycin; Gastric cancer; GSK-3β; Tumor invasion

Fu ZQ, Zou F, Li Y, Liu LJ. Involvement of estrogen in gastric cancer cell invasion regulated by tunicamycin induced-endoplasmic reticulum stress. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(11): 1537-1541 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1537.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i11.1537

摘要

目的: 探讨雌激素在衣霉素(tunicamycin, TM)诱导的内质网应激对胃癌细胞侵袭力的影响及机制.

■背景资料
雌激素及其信号通路在胃癌细胞的侵袭中发挥重要作用, 但其机制尚不完全清楚. 研究发现, 雌激素处理胃癌细胞SGC7901, 可通过雌激素受体-α36 (ER-α36)/MMP途径促进胃癌细胞侵袭. 低浓度雌激素处理胃癌细胞可促进内质网陪伴分子GRP94和ER-α36蛋白的表达. TM诱导的内质网应激, 可通过激活糖原合成激酶-3β(glycogen synthase kinase-3β, GSK-3β), 明显降低胃癌细胞的侵袭力.

■同行评议者
陈凛, 教授, 中国人民解放军总医院普通外科

■研发前沿
本文发现雌激素可通过降低内质网跨膜蛋白PERK的磷酸化水平，升高GSK-3β的Ser9位点磷酸化，抑制GSK-3β活性，从而明显增强胃癌细胞的侵袭力. 但雌激素通过降低内质网应激调控GSK-3β表达，进而影响细胞侵袭的机制有待进一步研究.

方法：以浓度为3 μmol/L的TM单独及联合运用浓度为10^{-9} mol/L的17β-雌二醇(17β-estradiol, E2)处理胃癌SGC7901细胞24 h, Transwell侵袭实验检测细胞侵袭能力，并应用Western blot检测pPERK和糖原合成激酶-3β(glycogen synthase kinase-3β, GSK-3β)蛋白Ser9位点的表达.

结果：Transwell侵袭实验显示，联合运用TM+E2处理胃癌SGC7901细胞24 h，可明显改善TM所诱导的内质网应激对细胞侵袭性力的影响. Western blot结果显示，相对于对照组，TM处理组pPERK蛋白的表达明显升高，而Ser9-GSK-3β蛋白的表达明显降低. 联合运用TM+E2，可明显降低TM所致的pPERK蛋白的表达，升高Ser9-GSK-3β蛋白的表达，差异均有统计学意义(P<0.01).

结论：雌激素可通过改善内质网应激，升高GSK-3β的Ser9位点磷酸化，抑制GSK-3β活性，从而明显增强胃癌细胞的侵袭力.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词：17β-雌二醇; 内质网应激; 衣霉素; 胃癌; 糖原合成激酶-3β; 肿瘤侵袭

核心提示：雌激素可通过降低内质网跨膜蛋白PERK的磷酸化水平，升高糖原合成激酶-3β(glycogen synthase kinase-3β, GSK-3β)的Ser9位点磷酸化，抑制GSK-3β活性，从而明显增强胃癌细胞的侵袭力.

付政祺，邹丰，李艳，刘丽江. 雌激素在衣霉素诱导的内质网应激调控胃癌细胞侵袭力中的作用及机制. 世界华人消化杂志 2014; 22(11): 1537-1541 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1537.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i11.1537

0 引言

胃癌是我国乃至全世界常见的恶性肿瘤之一，易发生侵袭转移. 前期研究发现，雌激素及其信号通路在胃癌细胞的生长与侵袭中发挥重要作用. 低浓度雌激素处理胃癌细胞SGC7901可促进胃癌细胞生长与侵袭[1]. 在细胞侵袭和裸鼠移植瘤的实验中发现，高表达雌激素受体-α36(estrogen receptor-α36, ER-α36)的SGC7901细胞组比低表达ER-α36的SGC7901细胞组具有更强的侵袭能力[2,3]. 肿瘤细胞侵袭(Transwell小室)实验结果显示，高表达ER-α36胃癌细胞组侵袭细胞数量明显高于低表达ER-α36组(P<0.05)[2]. 但雌激素参与胃癌细胞侵袭的作用机制尚不完全清楚.

内质网应激在肿瘤发生、侵袭转移中的研究，近年来备受关注. 在胃癌裸鼠移植瘤模型中，敲除内质网陪伴分子葡萄糖调节蛋白78(glucose-regulated protein, GRP78)可抑制体外肿瘤细胞的侵袭生长与转移[4]. 本课题组前期研究发现，内质网应激诱导剂衣霉素(tunicamycin, TM)可通过激活糖原合成激酶-3β(glycogen synthase kinase-3β, GSK-3β)，降低胃癌细胞的侵袭力. 低浓度雌激素处理胃癌细胞可促进内质网陪伴分子GRP94和ER-α36的蛋白表达，进而促进细胞侵袭[1,5]. 为了进一步明确雌激素是否参与调控内质网应激，进而介导胃癌细胞的侵袭及其作用机制，本研究拟给予内质网应激特异性诱导剂TM及联合运用雌激素处理胃癌细胞系SGC7901，通过检测内质网跨膜蛋白pPERK蛋白表达的变化及其与胃癌细胞侵袭力改变的关系，明确雌激素在内质网应激调控胃癌细胞侵袭中的作用. 并通过检测GSK-3β蛋白Ser9位点表达的改变情况，探讨GSK-3β途径在雌激素介导的内质网应激调控胃癌细胞侵袭中的作用.

1 材料和方法

1.1 材料 人胃癌细胞系SGC7901由华中科技大学同济医学院免疫学系惠赠，为本实验室保存. TM购自Alexis，溶于DMSO以3 mmol/L浓度-20 ℃保存. 17β-雌二醇(17β-estradiol, E2)和DM1A抗体购自Sigma; pPERK(Thr 981)抗体购自Santa Cruz; Transwell侵袭试剂盒购自Millipore; Bicinchoninic acid(BCA)蛋白测定试剂盒购自Pierce.

1.2 方法

1.2.1 细胞培养及药物处理：SGC7901细胞接种在含10%小牛血清的RMPI 1640培养基中，置于37 ℃，5%CO_2培养箱中培养，每2-3 d换1次液. 细胞增长至约70%-80%左右融合时胰酶消化传代. TM处理细胞的浓度为3 μmol/L，时间为24 h. 运用E2与TM共同处理细胞，E2的浓度为10^{-9} mol/L，时间为24 h[6].

1.2.2 Transwell侵袭实验：向侵袭小室(Transwell chamber)中加入制备好的密度为(0.5-1.0)×10^9/L的无血清SGC7901细胞悬液，将小室置于含10%胎牛血清培养基的24孔板内培养24 h. 用棉签轻轻刮除小室内未侵袭的细胞后，将小室底部置于试剂盒中的染色液里染色20 min，漂洗数次、

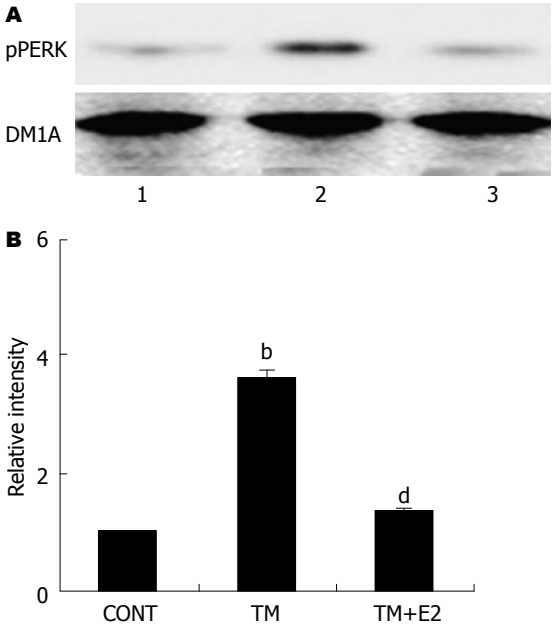


图 1 Western blot方法检测TM及联合运用TM+E2处理胃癌细胞SGC7901, pPERK蛋白的表达. A: Western blot图. 1: 对照组; 2: TM处理组; 3: TM+E2处理组. B: 统计图. [b]P<0.01 *vs* 对照组; [d]P<0.01 *vs* TM组. TM: 衣霉素; E2: 17β-雌二醇.

风干. 在显微镜下观察, 细胞计数.

1.2.3 Western blot技术检测[6]: SGC7901细胞收集后, BCA法测蛋白, 进行SDS-PAGE电泳, 电泳后湿转至PVDF膜, 含5%脱脂奶粉的TBS-T(含0.05%Tween-20的TBS)37 ℃封闭60 min, 加1∶1000稀释的抗pPERK(Thr 981)和DM1A抗体4 ℃孵育过夜. TBS-T漂洗5 min×3次, 加入1∶4000稀释的辣根过氧化物酶标记的羊抗兔和羊抗鼠IgG 37 ℃孵育45 min. TBS-T漂洗5 min×3次, ECL化学发光试剂检测.

统计学处理 全部数据经SPSS13.0统计学软件处理, 数据均采用mean±SD表示, 相关因素分析采用Spearman等级相关分析. P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 E2可明显改善TM处理SGC7901细胞所诱导的内质网应激 Western blot结果显示, TM处理SGC7901细胞24 h后, pPERK蛋白的表达明显高于对照组, 联合运用E2, pPERK蛋白的表达明显下降, 低于TM组(图1), 提示E2可明显改善TM所诱导的内质网应激.

2.2 E2可明显降低内质网应激对SGC7901细胞侵袭性的抑制作用 与对照组相比, TM处理组的SGC7901细胞的侵袭性明显减弱, 联合运用E2, SGC7901细胞的侵袭性明显增强, 高于TM组(图2).

2.3 E2通过GSK-3β途径改善内质网应激对SGC7901细胞侵袭性的影响 胃癌细胞SGC7901经TM处理24 h后, Ser9-GSK-3β蛋白表达下降, 联合运用E2, Ser9-GSK-3β蛋白表达升高, 高于TM组(图3), 提示E2通过增加GSK-3β在Ser9位点的磷酸化水平, 降低了TM通过内质网应激对胃癌细胞侵袭力的影响.

3 讨论

内质网是真核细胞内蛋白质合成、折叠和分泌的重要场所. 但当各种原因所致的细胞内环境发生改变, 未折叠/错误折叠蛋白聚集, 将导致内质网应激. 此时, 未折叠蛋白反应(unfolded protein response, UPR)被激活. 非应激状态下, 与内质网跨膜蛋白PERK、IRE-1和ATF-6相结合的内质网陪伴分子GRP78发生解离, 通过与未折叠/错误折叠蛋白结合, 参与维持细胞内环境的稳定. 被暴露的跨膜蛋白PERK、IRE-1和ATF-6被激活, 通过一系列级联反应, 最终决定细胞的命运, 适应还是凋亡[6,7]. 研究发现, 内质网应激在肿瘤的发生、侵袭、转移中发挥重要作用. 内质网陪伴分子GRP78和GRP94在人胃癌组织中高表达, 且与肿瘤大小、侵袭深度和淋巴结转移等相关[5,8,9]. 内质网应激诱导剂TM可通过降低KL-6 mucin的表达, 降低RBE细胞的侵袭力[10]. 本课题组前期研究发现TM诱导的内质网应激可降低胃癌细胞的侵袭力.

胃癌是我国常见的恶性肿瘤. 流行病研究发现: 胃癌发病男性居多, 男女之比约为2-3∶1, 而绝经期后女性发病率明显上升, 与男性基本相同[11]. 前列腺癌切除术后接受雌激素治疗的患者, 其胃癌发病率明显低于对照组[12]. 上述研究的结果提示雌激素在非性激素依赖的肿瘤发生中发挥作用. 本课题组前期研究发现, 雌激素可通过雌激素受体-α36(ER-α36)发挥作用, 用雌激素处理胃癌细胞SGC7901, 可通过ER-α36/ERK途径、ER-α36/Src/CyclinD1途径以及ER-α36/MMP途径促进胃癌细胞生长与侵袭[1-3,13]. 在细胞侵袭和裸鼠移植瘤的实验中发现, 高表达ER-α36的SGC7901细胞组比低表达ER-α36的SGC7901细胞组具有更强的侵袭能力, 高表达ER-α36组肿瘤细胞几乎不表达E-cadherin蛋白[2,3]. 肿瘤细胞侵袭(Transwell小室)实验结果显示, 高表达ER-α36组侵袭细胞数量明显高于低表达ER-α36组(P<0.05)[2]. 进一步证实了雌激

■相关报道
雌激素参与调控胃癌细胞侵袭力的机制尚不完全清楚. 本研究发现, 雌激素可通过降低内质网应激, 抑制GSK-3β活性, 从而明显增强胃癌细胞的侵袭力.

■应用要点
探讨雌激素在内质网应激调控胃癌细胞侵袭中的作用及机制，此成果将对胃癌发生、发展的理论研究以及胃癌治疗新靶点的选择方面，产生重要的影响.

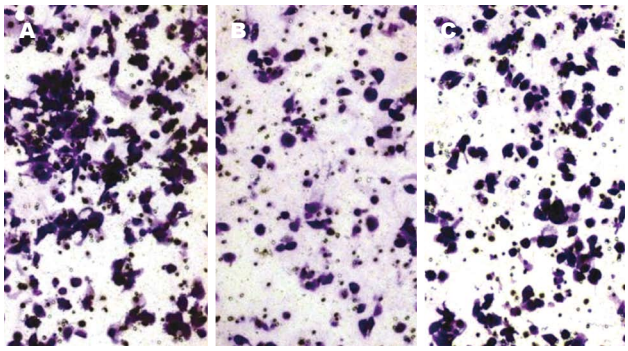


图 2 TM及联合运用TM+E2处理胃癌SGC7901细胞后侵袭能力的改变. A: 对照组; B: TM处理组; C: TM+E2处理组. TM: 衣霉素; E2: 17β-雌二醇.

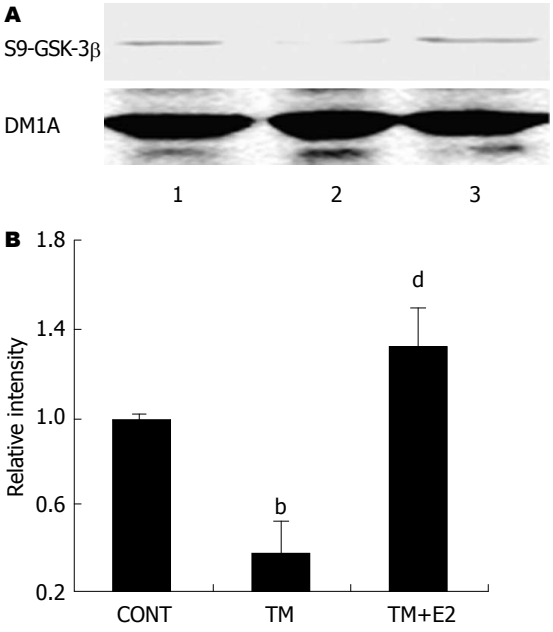


图 3 Western blot方法检测TM及联合运用TM+E2处理胃癌细胞SGC7901, S9-GSK-3β蛋白的表达. A: Western blot图. 1: 对照组, 2: TM处理组, 3: TM+E2处理组. B: 统计图. $^{b}P<0.01$ *vs* 对照组, $^{d}P<0.01$ *vs* TM组. TM: 衣霉素; E2: 17β-雌二醇; GSK-3β: 糖原合成激酶-3β.

素及其信号通路在胃癌细胞的生长与侵袭中发挥重要作用. 另外, 在胃癌细胞中,下调ER-α36的表达, GRP94蛋白表达下降, 反之亦然[5]. 在高表达ER-α的高、中分化子宫内膜癌组织细胞中, GRP78高表达[14]. 雌激素(10 nmol/L)处理子宫内膜癌细胞(Ishikawa细胞和HHUA细胞)48 h, 可诱导GRP78 mRNA和蛋白表达, 同时促进细胞生长[14]. 提示, 雌激素信号通路可能通过影响内质网应激相关蛋白的表达介导细胞的生长与侵袭. 本研究发现, 雌激素可通过降低内质网跨膜蛋白PERK的磷酸化水平, 明显增强SGC7901细胞的侵袭力.

GSK-3β是一种丝/苏氨酸蛋白激酶, 活性受Ser9位点(抑制性)和Tyr216位点(活性)的磷酸化水平调节. 研究发现, GSK-3β在细胞增殖与分化、肿瘤的发生、侵袭转移等方面起着重要的调节作用. 抑制GSK-3β表达, 可促进胃癌细胞SGC7901的迁移能力[15,16]. TM诱导的内质网应激, 可通过激活GSK-3β[17], 明显降低胃癌细胞的侵袭力. 雌激素/ASPP049处理MC3T3-E1细胞, 可通过抑制GSK-3β的活性, 促进细胞增殖[18]. 腹腔注射E2可通过抑制GSK-3β活性, 明显改善缺血再灌注损伤对大鼠肝功能的损害及肝细胞的凋亡[19]. 本研究发现, E2可降低内质网跨膜蛋白PERK的磷酸化水平, 通过抑制GSK-3β的活性, 增强SGC7901细胞的侵袭力. 但E2通过内质网应激调控GSK-3β活性, 影响胃癌细胞侵袭的机制有待进一步研究.

总之, 雌激素可通过降低内质网跨膜蛋白PERK的磷酸化水平, 升高GSK-3β的Ser9位点磷酸化, 抑制GSK-3β活性, 从而明显增强胃癌细胞的侵袭力.

4 参考文献

1 Wang X, Deng H, Zou F, Fu Z, Chen Y, Wang Z, Liu L. ER-α36-mediated gastric cancer cell proliferation via the c-Src pathway. *Oncol Lett* 2013; 6: 329-335 [PMID: 24137325]
2 邹丰, 王绪明, 刘丽江. ER-α 36和miR-143介导胃癌细胞的侵袭. 中国病理生理杂志 2012; 28: 2167-2171
3 王绪明, 刘晶晶, 邓昊, 陈莹, 刘丽江. ER-α36对胃癌SGC7901细胞在裸鼠体内生长的影响. 世界华人消化杂志 2011; 19: 2919-2924
4 Zhang J, Jiang Y, Jia Z, Li Q, Gong W, Wang L, Wei D, Yao J, Fang S, Xie K. Association of elevated GRP78 expression with increased lymph node metastasis and poor prognosis in patients with gastric cancer. *Clin Exp Metastasis* 2006; 23: 401-410 [PMID: 17187227]
5 Fu Z, Deng H, Wang X, Yang X, Wang Z, Liu L. Involvement of ER-α36 in the malignant growth of gastric carcinoma cells is associated with GRP94 overexpression. *Histopathology* 2013; 63: 325-333 [PMID: 23829397 DOI: 10.1111/his.12171]
6 Fu Z, Zou F, Deng H, Zhou H, Liu L. Estrogen protects SGC7901 cells from endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis by the Akt pathway. *Oncol Lett* 2014; 7: 560-564 [PMID: 24396487]
7 Akazawa Y, Isomoto H, Matsushima K, Kanda

T, Minami H, Yamaghchi N, Taura N, Shiozawa K, Ohnita K, Takeshima F, Nakano M, Moss J, Hirayama T, Nakao K. Endoplasmic Reticulum Stress Contributes to Helicobacter Pylori VacA-Induced Apoptosis. *PLoS One* 2013; 8: e82322 [PMID: 24349255 DOI: 10.1371/journal.pone.0082322]

8 Zheng HC, Takahashi H, Li XH, Hara T, Masuda S, Guan YF, Takano Y. Overexpression of GRP78 and GRP94 are markers for aggressive behavior and poor prognosis in gastric carcinomas. *Hum Pathol* 2008; 39: 1042-1049 [PMID: 18482745 DOI: 10.1016/j.humpath.2007.11.009]

9 Zhengqi Fu, Hao Deng, Ying Chen, Lijiang Liu. The involvement of GRP78 on estrogen signaling in gastric cancer. The 2012 International Conference on Biomedical Engineering and Biotechnology, ICBEB 2012; 1125-1128

10 Xu HL, Inagaki Y, Seyama Y, Sugawara Y, Kokudo N, Nakata M, Wang FS, Tang W. Expression of KL-6 mucin, a human MUC1 mucin, in intrahepatic cholangiocarcinoma and its potential involvement in tumor cell adhesion and invasion. *Life Sci* 2009; 85: 395-400 [PMID: 19631667 DOI: 10.1016/j.lfs.2009.07.004]

11 Sipponen P, Correa P. Delayed rise in incidence of gastric cancer in females results in unique sex ratio (M/F) pattern: etiologic hypothesis. *Gastric Cancer* 2002; 5: 213-219 [PMID: 12491079 DOI: 10.1007/s101200200037]

12 Lindblad M, Ye W, Rubio C, Lagergren J. Estrogen and risk of gastric cancer: a protective effect in a nationwide cohort study of patients with prostate cancer in Sweden. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2004; 13: 2203-2207 [PMID: 15598781]

13 Deng H, Huang X, Fan J, Wang L, Xia Q, Yang X, Wang Z, Liu L. A variant of estrogen receptor-alpha, ER-alpha36 is expressed in human gastric cancer and is highly correlated with lymph node metastasis. *Oncol Rep* 2010; 24: 171-176 [PMID: 20514458]

14 Luvsandagva B, Nakamura K, Kitahara Y, Aoki H, Murata T, Ikeda S, Minegishi T. GRP78 induced by estrogen plays a role in the chemosensitivity of endometrial cancer. *Gynecol Oncol* 2012; 126: 132-139 [PMID: 22543280 DOI: 10.1016/j.ygyno.2012.04.025]

15 Liu J, Zhang Y, Xu R, Du J, Hu Z, Yang L, Chen Y, Zhu Y, Gu L. PI3K/Akt-dependent phosphorylation of GSK3β and activation of RhoA regulate Wnt5a-induced gastric cancer cell migration. *Cell Signal* 2013; 25: 447-456 [PMID: 23123500 DOI: 10.1016/j.cellsig.2012.10.012]

16 Ryu YK, Lee YS, Lee GH, Song KS, Kim YS, Moon EY. Regulation of glycogen synthase kinase-3 by thymosin beta-4 is associated with gastric cancer cell migration. *Int J Cancer* 2012; 131: 2067-2077 [PMID: 22328534 DOI: 10.1002/ijc.27490]

17 Fu ZQ, Yang Y, Song J, Jiang Q, Lin ZC, Wang Q, Zhu LQ, Wang JZ, Tian Q. LiCl attenuates thapsigargin-induced tau hyperphosphorylation by inhibiting GSK-3β in vivo and in vitro. *J Alzheimers Dis* 2010; 21: 1107-1117 [PMID: 21504119]

18 Bhukhai K, Suksen K, Bhummaphan N, Janjorn K, Thongon N, Tantikanlayaporn D, Piyachaturawat P, Suksamrarn A, Chairoungdua A. A phytoestrogen diarylheptanoid mediates estrogen receptor/Akt/glycogen synthase kinase 3β protein-dependent activation of the Wnt/β-catenin signaling pathway. *J Biol Chem* 2012; 287: 36168-36178 [PMID: 22936801 DOI: 10.1074/jbc.M112.344747]

19 Yang X, Qin L, Liu J, Tian L, Qian H. 17β-Estradiol protects the liver against cold ischemia/reperfusion injury through the Akt kinase pathway. *J Surg Res* 2012; 178: 996-1002 [PMID: 22835949 DOI: 10.1016/j.jss.2012.07.007]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

■同行评价

本文学术价值较好, 具有一定指导意义.

世界华人消化杂志 2014年4月18日; 22(11): 1542-1546
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

研究快报 RAPID COMMUNICATION

薏苡附子败酱散对TNBS结肠炎模型大鼠Treg/Th17的影响

张双喜, 史仁杰

■背景资料
溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是一种原因不明的非特异性的炎症性肠病, 病程漫长、易复发, 预后较差, 同时与大肠癌的发病存在一定关系, 被世界卫生组织列为现代难治病之一. 目前UC病因尚不明确, 免疫因素是临床及实验研究共同关注的焦点.

张双喜, 南京中医药大学 江苏省南京市 210046
张双喜, 河南中医学院第一附属医院 河南省郑州市 450000
史仁杰, 江苏省中医院肛肠科 江苏省南京市 210029
张双喜, 在读博士, 主要从事中医药治疗肛肠疾病的研究.
江苏省2013年度研究生创新计划立项基金资助项目, No. CXZZ13_0612
作者贡献分布: 此课题由张双喜与史仁杰设计; 研究过程由张双喜操作完成; 数据分析由张双喜与史仁杰完成; 本论文写作由张双喜完成; 史仁杰审校.
通讯作者: 史仁杰, 主任医师, 博士研究生导师, 210029, 江苏省南京市汉中路155号, 江苏省中医院肛肠科. docdou@163.com
收稿日期: 2014-01-13 修回日期: 2014-02-23
接受日期: 2014-02-28 在线出版日期: 2014-04-18

Effect of Yiyi Fuzi Baijiang powder on Treg/Th17 in rats with TNBS-induced colitis

Shuang-Xi Zhang, Ren-Jie Shi

Shuang-Xi Zhang, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, Jiangsu Province, China
Shuang-Xi Zhang, the First Affiliated Hospital of Henan University of TCM, Zhengzhou 450000, Henan Province, China
Ren-Jie Shi, Department of Coloproctology, Jiangsu Provincial Hospital of TCM, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China
Supported by: the 2013 Graduate Innovation Program of Jiangsu Province, No. CXZZ13_0612
Correspondence to: Ren-Jie Shi, Chief Physician, Department of Coloproctology, Jiangsu Provincial Hospital of TCM, 155 Hanzhong Road, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China. docdou@163.com
Received: 2014-01-13 Revised: 2014-02-23
Accepted: 2014-02-28 Published online: 2014-04-18

Abstract

AIM: To observe the changes of Treg/Th17 in rats with ulcerative colitis (UC) and the effects of Yiyi Fuzi Baijiang powder (YFB) on Treg/Th17.

METHODS: UC was induced in rats with trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS). The rats were randomly divided into four groups: a normal group, a model group, a YFB group, and a mesalazine SR granules (5-ASA) group. Fourteen days after treatment, the rats were killed to take colonic and serum samples. Mucosal injury and microscopic morphological changes were measured. The levels of IL-17 and IL-10 in serum were determined by ELISA, and the mRNA expression of RORγt and Foxp3 was determined by RT-PCR.

RESULTS: Compared with the normal group, the model group showed significant adhesion, expansion, edema, hyperemia and ulceration. Light microscopic analysis showed mucosal congestion, necrosis, granulation tissue formation, crypt loss and inflammatory cell infiltration in the model group. Compared with the model group, the microscopic pathology scores in the YFB group and 5-ASA group were significantly lower (3.00 ± 0.82, 8.00 ± 0.82 *vs* 12.50 ± 1.29, $P < 0.05$ for both) and serum levels of IL-17 and IL-10 were significantly altered (22.26 ± 3.95, 39.62 ± 4.26 *vs* 53.86 ± 2.51, 48.72 ± 1.05, 44.16 ± 1.90 *vs* 38.88 ± 0.80, $P < 0.05$ for all). YFB significantly reduced the levels of IL-17 and increased the levels of IL-10 compared with the 5-ASA group ($P < 0.05$ for both). The mRNA expressions of RORγt and Foxp3 in the YFB group and 5-ASA group were significantly different compared with the model group (1.29 ± 0.05, 1.32 ± 0.87 *vs* 1.80 ± 0.54; 2.81 ± 0.17, 2.00 ± 0.20 *vs* 0.47 ± 0.04, $P < 0.05$ for all). Compared with the 5-ASA group, RORγt mRNA level decreased significantly ($P < 0.05$) and Foxp3 mRNA level increased significantly ($P < 0.05$) in the YFB group.

CONCLUSION: YFB can improve the symptoms of inflammation and reduce the expression of RORγt mRNA in colon tissue and the level of IL-17 in serum in rats with UC. In addition, YFB can increase the expression of Foxp3 mRNA and IL-10 and affect the number and function of Treg and Th17, which may be one of the mechanisms responsible for the therapeutic effects of YFB against UC.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Yiyi Fuzi Baijiang powder; Ulcerative colitis; Treg; Th17

Zhang SX, Shi RJ. Effect of Yiyi Fuzi Baijiang powder on Treg/Th17 in rats with TNBS-induced colitis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(11): 1542-1546 URL:

■同行评议者
李康, 副教授, 广东药学院药科学院药物分析教研室

http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1542.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i11.1542

摘要

目的: 观察溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)大鼠Treg/Th17细胞的变化特点及薏苡附子败酱散对Treg/Th17的影响.

方法: 采用2,4,6-三硝基苯磺酸(2,4,6-trinitrobenzenesulfonic acid solution, TNBS)法制作UC大鼠模型, 随机分为4组: 正常组、模型组、薏苡附子败酱散(Fuzi Baijiang powder, YFB)组、阳性药美沙拉嗪缓释颗粒(positive drug mesalazine SR Granules, 5-ASA)组. 治疗14 d后取标本, 观察肉眼形态学改变及显微镜下黏膜损伤情况, 采用ELISA法测定血清中白介素-17(interleukin-17, IL-17)、IL-10活性; 采用实时荧光定量PCR法检测结肠组织中RORγt、Foxp3 mRNA的表达.

结果: 与正常组相比, 模型组大鼠结肠黏连伴肠腔扩张, 肠壁增厚, 组织水肿、充血, 有溃疡形成. 病理切片HE染色后在光镜下观察, 部分黏膜出现充血坏死, 肉芽组织形成, 隐窝丢失, 炎症细胞浸润. 与模型组相比, YFB组及5-ASA组镜下病理组织评分明显降低(3.00±0.82 *vs* 8.00±0.82 *vs* 12.50±1.29, 均$P<0.05$), 血清IL-17、IL-10含量有显著差异(22.26±3.95 *vs* 39.62±4.26 *vs* 53.86±2.51, 48.72±1.05 *vs* 44.16±1.90 *vs* 38.88±0.80, 均$P<0.05$), YFB及5-ASA组间比较, YFB能显著降低IL-17含量, 增加IL-10含量(均$P<0.05$). YFB及5-ASA组结肠组织RORγt、Foxp3 mRNA含量与模型组对比有显著差异(1.29±0.05 *vs* 1.32±0.87 *vs* 1.80±0.54; 2.81±0.17 *vs* 2.00±0.20 *vs* 0.47±0.04, 均$P<0.05$), 且与5-ASA组比较, YFB组RORγt mRNA含量明显下降($P<0.05$), Foxp3 mRNA含量显著增加($P<0.05$).

结论: 应用TNBS法成功建立了UC的大鼠模型. YFB能改善UC模型大鼠的炎症症状, 能明显的降低结肠组织中RORγt mRNA的表达, 降低血清IL-17的含量, 提高Foxp3 mRNA的表达, 增加IL-10的含量, YFB影响Treg/Th17细胞数量及功能是其发挥治疗溃疡性结肠炎大鼠炎症作用的机制之一.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 薏苡附子败酱散; 溃疡性结肠炎; Treg细胞; Th17细胞

核心提示: 溃疡性结肠炎多属本虚标实、寒热错杂之证, 薏苡附子败酱散方证兼顾了寒、湿、热、瘀、阳虚、脾虚等多种证候要素, 具有补虚泻实、寒热同调之功效, 与溃疡性结肠炎之矛盾病机特点相适应, 正是其能够临床用来治疗溃疡性结肠炎并取得良效的原因.

张双喜, 史仁杰. 薏苡附子败酱散对TNBS结肠炎模型大鼠Treg/Th17的影响. 世界华人消化杂志 2014; 22(11): 1542-1546
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1542.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i11.1542

■研发前沿
溃疡性结肠炎传统药物包括SASP、糖皮质激素和免疫抑制剂等, 虽然有效, 但存在不良反应多和患者依从性差等缺点. 生物制剂如英夫利昔单抗等治疗IBD有效, 但价格昂贵, 难以推广应用.

0 引言

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是一种原因不明的非特异性的炎症性肠病, 病程漫长、易复发, 预后较差, 同时与大肠癌的发病存在一定关系, 被世界卫生组织列为现代难治病之一. 目前UC病因尚不明确, 免疫因素是临床及实验研究共同关注的焦点. 临床治疗UC的药物普遍存在副作用较大、疗效不肯定的特点, 具有免疫调节功效的中药方剂是临床研究的热点. 薏苡附子败酱散出自《金匮要略·疮痈肠痈浸淫病脉证并治第十八》, "肠痈之为病, 其身甲错, 腹皮急, 按之濡, 如肿状, 腹无积聚, 身无热, 脉数, 此为腹内有痈脓, 薏苡附子败酱散主之." 研究显示[1-4], 薏苡附子败酱散具有良好的抗炎, 抗肿瘤疗效, 也被广泛用于UC的治疗, 但缺乏具体作用机制的研究. 基于以上研究基础, 本实验将观察薏苡附子败酱散(Fuzi Baijiang powder, YFB)对UC模型大鼠Treg/Thl7细胞的影响, 并探讨其可能的作用机制.

1 材料和方法

1.1 材料 Wistar大鼠, SPF级, 体质量200 g±20 g, 雌雄各半, 济宁鲁抗医药公司; 薏苡附子败酱散(薏苡仁30 g、附子6 g、败酱草15 g), 由河南中医学院第一附属医院药剂科提供; 美沙拉嗪缓释颗粒, 500 mg/袋, 10袋/盒, 法国爱的发制药公司; TNBS, Sigma公司; 大鼠白介素-17(interleukin-17, IL-17)、IL-10 ELISA试剂盒, RNA柱式提取试剂盒、逆转录试剂盒, 上海生工生物有限公司, SYBR Green Ⅰ, 北京康为世纪公司; 引物合成: 上海生工生物工程技术公司.

1.2 方法

1.2.1 实验动物模型的制备: 采用TNBS/乙醇法构建结肠炎大鼠模型. 大鼠适应性饲养1 wk后,

■相关报道
《金匮要略》: “肠痈之为病, 其身甲错, 腹皮急, 按之濡, ……此为腹内有痈脓, 薏苡附子败酱散主之.” 研究显示, 薏苡附子败酱散具有良好的抗炎, 抗肿瘤疗效, 也被广泛用于UC的治疗, 但缺乏具体作用机制的研究.

表 1 结肠组织病理学评分标准

项目	0	1	2	3
上皮损伤	无	0–5%	5%–10%	>10%
腺体损伤	无	0–10%	10%–20%	>20%
杯状细胞破坏	无	轻度	中度	重度
炎细胞浸润	无	黏膜层	黏膜下层	结肠全层
溃疡深度	无	上皮层	黏膜固有层	黏膜肌层

禁食不禁水24 h, 100 g/L水合氯醛3 mL/kg腹腔注射, 麻醉后, 倒悬位, 取12 cm长聚丙烯管(直径2 mm), 剪侧孔数处, 并由肛门插入8 cm达结肠部位, 快速注入药液(100 mg TNBS/kg+50%乙醇0.25 mL)后, 再注入约0.4 mL的空气, 以使聚丙烯管中的药液全部注入肠腔, 捏紧肛门, 提取大鼠尾巴保持倒立1 min, 以防注入液倒流, 并使药液与结肠充分接触, 待麻醉清醒后正常喂养. 以大便带血(或隐血阳性)、稀便或体质量减轻之一作为造模成功的标志.

1.2.2 实验药物配制: 薏苡附子败酱散: 先将药物浸泡30 min, 按照常规中草药煎煮方法, 煎煮提取2次, 过滤后合并提取液, 浓缩为生药浓度为0.6 g/mL的中药原液, 冷却后装入灭菌玻璃药瓶, 置于4 ℃冰箱保存备用. 美沙拉嗪缓释颗粒: 100袋溶于500 mL蒸馏水中, 配成浓度为0.l g/mL的混悬液备用.

1.2.3 实验分组及给药方式: 实验分组: 造模24 h后开始药物干预, 治疗组按成人剂量的7倍为有效剂量. 正常组: 生理盐水2 mL灌胃; 模型组: 生理盐水2 mL灌胃; YFB组: 6 g/(kg·d)灌胃; 阳性药美沙拉嗪缓释颗粒(positive drug mesalazine SR Granules, 5-ASA)组: 美沙拉嗪0.5 g/(kg·d)灌胃.

1.2.4 标本采集: 各组大鼠于造模14 d末, 禁食不禁水24 h, 腹腔注射100 g/L水合氯醛3 mL/kg, 麻醉后, 剖腹暴露腹主动脉, 负压管采取血液, 2000 r/min, 离心5 min后, 取血清, -80 ℃保存. 游离结肠组织, 沿肠系膜纵轴剖开, 冰生理盐水清洗, 取距肛门8 cm处组织, 一部分用10%甲醛固定, 常规石蜡包埋, 切片, 用于观察结肠组织病理学变化, 另一部分迅速投入液氮中, 后转入-80 ℃冰箱中保存.

1.2.5 结肠组织病理观察: 取全段结肠, 剪开, 生理盐水洗净, 平铺于白板上置于放大镜下肉眼观察结肠大体形态、结肠黏膜损伤情况; 将取出的新鲜结肠组织用4%中性甲醛固定、石蜡包埋、HE染色, 在显微镜下观察结肠组织的结构变化、炎症活动情况. 参照Iba等[5]的标准(表1)并作适当修改进行结肠组织病理学评分.

1.2.6 ELISA法测定血清中IL-17、IL-10活性: 具体操作方法按照试剂盒说明书进行.

1.2.7 实时荧光定量PCR检测结肠组织中RORγt、Foxp3 mRNA的表达: 按RNA柱式提取试剂盒说明书提取结肠组织中的总RNA, 测定RNA 的浓度及纯度. 将提取的总mRNA逆转录为cDNA, 收集数据, 确定每个样品管中荧光强度增加到某一特定阈值时的扩增循环数(Ct值), 进行分析绘制每一反应管的扩增动力学曲线, 根据Ct值与标准模板初始拷贝的对数值作图, 得到该样品的标准曲线. rat actin上游引物: 5'-TTTAAT-GTCACGCACGATTTC-3', 下游引物: 5'- TGAC-GTGGACATCCGCAAAG-3'. Foxp3上游引物: 5'-TTCACCTATGCCACCCTCAT-3', 下游引物: 5'-ACTGCTCCCTTCTCACTCTCC-3'. RORγt上游引物: 5'-TACTGAAAGCAGGAGCAATGG-3', 下游引物: 5'-GCTGAGGAAGTGGGAAAAGTC-3'. 扩增条件为: 94 ℃ 2 min, 94 ℃ 20 s, 54 ℃ 20 s, 74 ℃ 20 s, 共45个循环.

统计学处理 数据以mean±SD表示, 运用SPSS19.0统计分析软件, 采用单因素方差分析, $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 大鼠结肠组织病理情况 正常组肠壁黏膜及杯状细胞存在, 腺体结构正常, 无炎性细胞浸润; 模型组肠壁增厚水肿, 溃疡灶形成, 黏膜缺失, 腺体中断、破坏, 杯状细胞消失, 大量炎性细胞浸润至肌层, 肉芽肿形成; YFB组及5-ASA组肠壁稍水肿, 黏膜腺体未见明显破坏, 仅见散在的炎性细胞浸润, 无明显肉芽肿形成(图1). 模型组组织病理学评分显著高于正常组($P<0.01$), YFB组及5-ASA组结肠组织病理学评分显著低于模型组($P<0.05$)(表2).

2.2 大鼠血清IL-17、IL-10的含量 YFB及5-ASA组血清IL-17含量显著低于模型组($P<0.05$), 但与正常组相比均无明显差异; IL-10含量显著高于模型组和正常组($P<0.05$); YFB及5-ASA组间比较, YFB能显著降低IL-17含量, 增加IL-10含量, 差异均有统计学意义($P<0.05$)(表2).

2.3 大鼠结肠组织RORγt、Foxp3 mRNA的表达 YFB及5-ASA组结肠组织RORγt、Foxp3 mRNA含量与模型组对比有显著差异($P<0.05$), 且与5-ASA组比较, YFB组RORγt mRNA含量

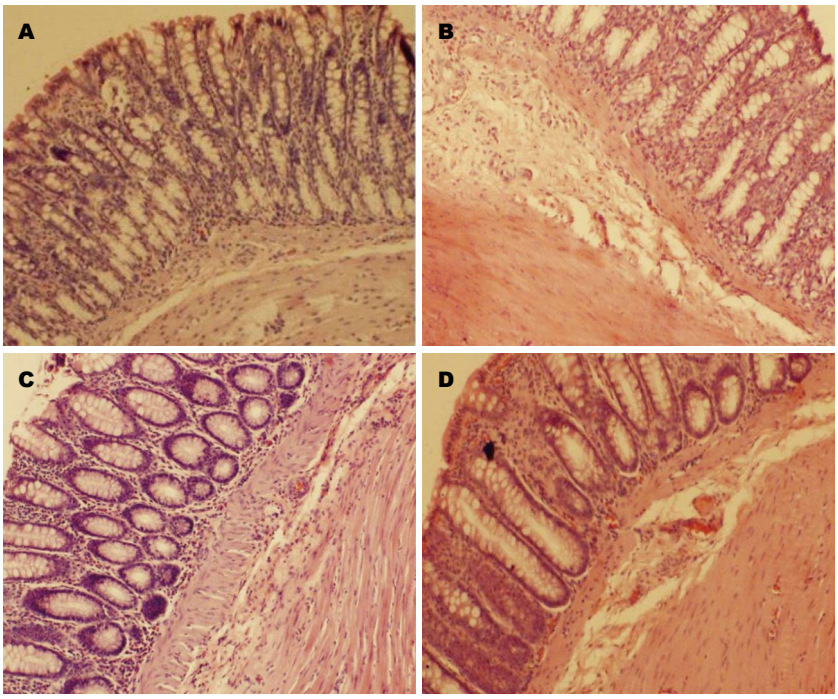


图 1 大鼠结肠组织切片图(HE染色 × 100). A: 正常组; B: 模型组; C: 5-ASA组; D: YFB组.

■创新盘点

本文在实验性结肠炎的基础上, 应用薏苡附子败酱散进行干预, 并与5-ASA作比较, 选取Th17及Treg细胞相关细胞因子IL-17、IL-10及转录因子RORγt和Foxp3等指标, 从免疫学角度评价薏苡附子败酱散的疗效, 更具有科学性.

表 2 YFB对大鼠病理积分、IL-17、IL-10、RORγt、Foxp3 mRNA的影响 (mean ± SD, n = 10)

分组	病理积分	IL-17(pg/mL)	IL-10(pg/mL)	RORγt mRNA	Foxp3 mRNA
YFB组	3.00 ± 0.82^{ace}	22.26 ± 3.95^{ace}	48.72 ± 1.05^{ace}	1.29 ± 0.05^{ac}	2.81 ± 0.17^{ace}
5-ASA组	8.00 ± 0.82^{ac}	39.62 ± 4.26^{c}	44.16 ± 1.90^{ac}	1.32 ± 0.87^{ac}	2.00 ± 0.20^{ac}
模型组	12.50 ± 1.29^{a}	53.86 ± 2.51^{a}	38.88 ± 0.80^{a}	1.80 ± 0.54^{a}	0.47 ± 0.04^{a}
正常组	0.32 ± 0.07	36.05 ± 1.84	87.89 ± 1.88	1.01 ± 0.02	1.12 ± 0.24

^{a}P<0.05 *vs* 正常组; ^{c}P<0.05 *vs* 模型组; ^{e}P<0.05 *vs* 5-ASA组. YFB: 薏苡附子败酱散; 5-ASA: 阳性药美沙拉嗪缓释颗粒; IL-17: 白介素.

明显下降(P<0.05), Foxp3 mRNA含量显著增加(P<0.05)(表2).

3 讨论

黏膜免疫系统的功能紊乱在UC的发病机制中发挥了重要的作用. 黏膜CD4$^+$ T细胞通过释放前体炎症细胞因子在慢性炎症的持续和效应阶段起主导作用, 其在UC中的作用已得到公认. 传统的CD4$^+$辅助性T细胞主要分为两个亚群: Th1细胞亚群和Th2细胞亚群. 既往认为Th1细胞和Th2细胞失衡是造成UC发病的主要原因[6-8], 但是还是有许多令人无法解释的现象. Thl7细胞亚群是近几年获广泛肯定的一类CD4$^+$ T细胞亚群, 调节T细胞(regulatory T cell, Treg)是功能强大的专职抑制性T细胞, Th17和Treg细胞的分化相互抑制, 并且在功能上负性调节, 其动态平衡是维持免疫稳定的重要机制, 纠正Th17/Treg失衡将对肠道炎症起到抑制作用[9].

正常结肠黏膜结构完整, 黏膜壁及杯状细胞存在, 腺体结构正常, 无炎性细胞; 而UC黏膜缺失, 腺体中断, 杯状细胞消失, 大量炎性细胞浸润, 和本研究结果一致. TNBS大鼠出现便血、稀便等一系列症状, 显微镜下观察大量炎细胞浸润, 溃疡形成, 病理积分和正常组相比差异显著, 提示TNBS是UC大鼠造模的有效方法. 实验表明YFB可显著改善病理积分, 抑制炎症反应, 促进结肠黏膜损伤修复, 恢复结肠黏膜的分泌功能.

Th17细胞以分泌IL-17而得名, Fujino等[10]发现相对于正常人结肠黏膜或缺血性结肠炎患者的结肠黏膜, UC患者的炎性肠黏膜含有较高水平的Th17细胞及IL-17. RORγt是控制Th17细胞分化的特异性转录因子. 在动物实验中发现, 缺乏RORγt转录因子的小鼠体内几乎没有Th17细胞的存在, 这些资料暗示了RORγt转录因子对

■同行评价
本文设计合理, 数据可靠, 统计方法准确, 对溃疡性结肠炎的致病机制及防治有一定的指导意义.

Th17细胞分化的重要性[11]. 本实验发现, 模型组同正常组相比, IL-17蛋白及RORγt mRNA显著升高, 推测可能由于转录因子RORγt的作用, 进而影响到Th17细胞的分化, 从而促进细胞因子IL-17的分泌, 引起炎性浸润, 溃疡形成. 而YFB组能明显改善RORγt mRNA的表达, 抑制IL-17的产生, 从而改善免疫损伤, 促进结肠黏膜的修复.

Foxp3是$CD4^+CD25^+$ Treg细胞的特异性转录因子和表面标记[12], Hori等[13]证实正常人类和小鼠胸腺及外周血中$CD4^+CD25^+$ T调节细胞特异性表达Foxp3, 逆转录该基因可以转化初始型T细胞, 使其成为具有调节功能的T调节细胞. Maul等[14]采用流式细胞术和real-time PCR分析$CD4^+CD25^+$ T调节细胞、Foxp3表达水平, 结果表明炎症性肠病患者外周血中$CD4^+CD25^+$ T调节细胞保持了他们的抑制活性, 疾病活动期$CD4^+CD25^+$调节细胞和Foxp3下降. IL-10是公认的抗炎因子, Treg细胞可通过细胞-细胞间直接接触并释放细胞因子如IL-10等抑制自身反应性T细胞的增值活化[15], 本实验发现YFB组Foxp3 mRNA及IL-10表达水平均上升, 而RORγt mRNA及IL-17表达水平下降, 从TH17和Treg细胞相互制衡的关系推断, YFB有可能是通过上调转录因子Foxp3的基因表达, 抑制RORγt mRNA的产生, 从而释放抑炎因子IL-10对抗促炎因子IL-17, 减轻黏膜的损伤.

本研究中, 证实YFB能够改善UC模型的黏膜损伤, 促进溃疡修复, 纠正Treg/Th17的失衡状态, 其机制可能与上调*Foxp3*基因表达及IL-10蛋白表达, 抑制RORγt mRNA及IL-17蛋白表达水平有关. 从YFB对UC模型大鼠的黏膜病理学影响、调控相关转录因子及细胞因子方面, 为临床应用薏苡附子败酱散治疗溃疡性结肠炎提供了客观的实验依据.

4 参考文献

1 张学洁, 杨强. 薏苡附子败酱散加减治疗溃疡性结肠炎. 吉林中医药 2012; 32: 983-984
2 曹景龙. 薏苡附子败酱散加味灌肠治疗溃疡性结肠炎. 中国民族民间医药 2010; 21: 103
3 韩亮, 刘昌辉. 败酱草提取物对三硝基苯磺酸诱导的大鼠结肠炎组织的保护作用. 广东药学院学报 2013; 29: 1-3
4 彭金咏. 薏苡附子败酱散的药效物质基础、制备工艺及药效学研究. 第二军医大学, 2006
5 Iba Y, Sugimoto Y, Kamei C, Masukawa T. Possible role of mucosal mast cells in the recovery process of colitis induced by dextran sulfate sodium in rats. *Int Immunopharmacol* 2003; 3: 485-491 [PMID: 12689654]
6 Berrebi D, Besnard M, Fromont-Hankard G, Paris R, Mougenot JF, De Lagausie P, Emilie D, Cezard JP, Navarro J, Peuchmaur M. Interleukin-12 expression is focally enhanced in the gastric mucosa of pediatric patients with Crohn's disease. *Am J Pathol* 1998; 152: 667-672 [PMID: 9502407]
7 Parronchi P, Romagnani P, Annunziato F, Sampognaro S, Becchio A, Giannarini L, Maggi E, Pupilli C, Tonelli F, Romagnani S. Type 1 T-helper cell predominance and interleukin-12 expression in the gut of patients with Crohn's disease. *Am J Pathol* 1997; 150: 823-832 [PMID: 9060820]
8 Heller F, Florian P, Bojarski C, Richter J, Christ M, Hillenbrand B, Mankertz J, Gitter AH, Bürgel N, Fromm M, Zeitz M, Fuss I, Strober W, Schulzke JD. Interleukin-13 is the key effector Th2 cytokine in ulcerative colitis that affects epithelial tight junctions, apoptosis, and cell restitution. *Gastroenterology* 2005; 129: 550-564 [PMID: 16083712]
9 Dang EV, Barbi J, Yang HY, Jinasena D, Yu H, Zheng Y, Bordman Z, Fu J, Kim Y, Yen HR, Luo W, Zeller K, Shimoda L, Topalian SL, Semenza GL, Dang CV, Pardoll DM, Pan F. Control of T(H)17/T(reg) balance by hypoxia-inducible factor 1. *Cell* 2011; 146: 772-784 [PMID: 21871655 DOI: 10.1016/j.cell.2011.07.033]
10 Fujino S, Andoh A, Bamba S, Ogawa A, Hata K, Araki Y, Bamba T, Fujiyama Y. Increased expression of interleukin 17 in inflammatory bowel disease. *Gut* 2003; 52: 65-70 [PMID: 12477762]
11 Ivanov II, McKenzie BS, Zhou L, Tadokoro CE, Lepelley A, Lafaille JJ, Cua DJ, Littman DR. The orphan nuclear receptor RORgammat directs the differentiation program of proinflammatory IL-17+ T helper cells. *Cell* 2006; 126: 1121-1133 [PMID: 16990136]
12 Ramsdell F. Foxp3 and natural regulatory T cells: key to a cell lineage? *Immunity* 2003; 19: 165-168 [PMID: 12932350]
13 Hori S, Nomura T, Sakaguchi S. Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3. *Science* 2003; 299: 1057-1061 [PMID: 12522256]
14 Maul J, Loddenkemper C, Mundt P, Berg E, Giese T, Stallmach A, Zeitz M, Duchmann R. Peripheral and intestinal regulatory CD4+ CD25(high) T cells in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2005; 128: 1868-1878 [PMID: 15940622]
15 Quentin J, Vicente R, Martire D, Mausset-Bonnefont AL, Jorgensen C, Louis-Plence P. A8.26 Inducible IL-10 secreting CD49b+Treg cells as cell based-therapy for rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2014; 73 Suppl 1: A86 [PMID: 24489331 DOI: 10.1136/annrheumdis-2013-205124.200]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年4月18日; 22(11): 1547-1551
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

急性非静脉曲张性上消化道出血内镜下治疗失败的危险因素

梁冬红, 车筑平, 许良璧

梁冬红, 车筑平, 许良璧, 贵阳医学院附属医院内镜中心 贵州省贵阳市 550004
梁冬红, 在读硕士, 主要从事消化内镜诊疗技术的研究.
作者贡献分布: 此课题由许良璧、车筑平及梁冬红共同设计; 资料收集整理由梁冬红完成; 研究过程由许良璧、梁冬红及车筑平实施完成; 数据分析由梁冬红完成; 本论文撰写由梁冬红、许良璧及车筑平共同完成.
通讯作者: 许良璧, 副主任医师, 550004, 贵州省贵阳市贵医街28号, 贵阳医学院附属医院消化内镜中心.
1147562130@qq.com
收稿日期: 2014-01-13 修回日期: 2014-02-25
接受日期: 2014-02-28 在线出版日期: 2014-04-18

Risk factors associated with failure of endoscopic therapy for acute non-variceal upper gastrointestinal bleeding

Dong-Hong Liang, Zhu-Ping Che, Liang-Bi Xu

Dong-Hong Liang, Zhu-Ping Che, Liang-Bi Xu, Digestive Endoscopy Center, Affiliated Hospital of Guiyang Medical College, Guiyang 550004, Guizhou Province, China
Correspondence to: Liang-Bi Xu, Associate Chief Physician, Digestive Endoscopy Center, Affiliated Hospital of Guiyang Medical College, Guiyang 550004, Guizhou Province, China. 1147562130@qq.com
Received: 2014-01-13 Revised: 2014-02-25
Accepted: 2014-02-28 Published online: 2014-04-18

Abstract

AIM: To determine risk factors associated with failure of endoscopic therapy for acute non-variceal upper gastrointcstinal bleeding (ANVUGIB).

METHODS: This was a retrospective cohort study of 52 patients with acute ANVUGIB who were admitted to the Affiliated Hospital of Guiyang Medical College from January 2010 to October 2013. Based on the therapeutic effect after first endoscopic therapy, the patients were divided into either a success or a failure group. Data including age, sex, bleeding history, chronic disorder history, non-steroidal anti-inflammatory drug history, time from bleeding to endoscope examination, blood transfusion, shock index, hemoglobin, blood routine examination, liver and renal function examination, parameter of anticoagulative system, causes and type of bleeding, lesion size, Rockall and Blatchford grade were compared between the two groups to find the variables with a significant difference. Risk factors for treatment failure were identified using multivariable logistic regression.

RESULTS: Therapeutic failure rate was 23.7% (12/52). The two groups had significant differences in age, blood transfusion, BUN, CHE, ALB, and PT. Logistic regression analysis revealed that age (OR = 1.076, 95%CI: 1.009-1.147) and PT (OR = 1.684, 95%CI: 1.053-2.693) were independent risk factors.

CONCLUSION: ANVUGIB patients with old age or long PT have a higher risk of failure of endoscopic therapy and should be given interventional therapy or surgery when necessary.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Acute non-variceal upper gastrointestinal bleeding; Endoscopic hemostasis; Risk factors

Liang DH, Che ZP, Xu LB. Risk factors associated with failure of endoscopic therapy for acute non-variceal upper gastrointestinal bleeding. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(11): 1547-1551 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1547.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i11.1547

摘要

目的: 急性非静脉曲张性上消化道出血(acute nonvariceal upper gastrointcstinal bleeding, ANVUGIB)内镜下止血治疗回顾性分析, 寻找内镜治疗失败的相关危险因素, 早期识别再出血及死亡的高危患者, 探讨其临床应用的价值.

方法: 收集2010-01/2013-10因ANVUGIB并行内镜下止血在贵阳医学院附属医学院住院的患者为研究对象, 共52例, 其中男41例, 女11例. 按首次内镜下止血治疗后成功与否, 分为

■背景资料
急性非静脉曲张性上消化道出血(acute nonvarieeal upper gastrointestinal bleeding, ANVUGIB)内镜下止血治疗在消化界已达成共识为消化道出血首选治疗方法, 但经过内镜下止血治疗后患者预后情况的随访, 和再出血的进一步治疗的相关文献较少, 故本文对ANVUGIB内镜下止血治疗后回顾性分析, 寻找内镜治疗失败的危险因素, 早期识别再出血及死亡危险性高的患者, 探讨其可能的临床价值.

■同行评议者
郭晓钟, 教授, 沈阳军区总医院消化内科

■研发前沿
对于ANVUGIB患者采用内镜下治疗时，应密切关注影响疗效的危险因素，有利于改善患者预后，提高患者的临床疗效.

成功组和失败组. 分别通过对一般情况、临床情况、出血至内镜下止血时间、实验室检查、内镜下表现、Rockall评分、Blatchford评分进行统计学分析, 寻找有差异的变量. 以差异有统计学意义的因素为自变量, 以内镜成功与否为应变量, 进行多因素Logistic回归分析, 寻找内镜治疗失败的危险因素, P<0.05为差异有统计学意义. 均采用SPSS18.0统计软件包进行统计分析.

结果: 年龄、输血情况、尿素氮、胆碱酯酶、白蛋白、凝血酶原时间在内镜下止血成功组与失败组结果比较差异均有统计学意义(P<0.05); 性别、出血史、慢性病史、非甾体药物史、出血至内镜下止血时间、休克指数、血红蛋白、血小板计数、红细胞压积、谷丙转氨酶、谷草转氨酶、总胆红素、直接胆红素、间接胆红素、肌酐、活化部分凝血活酶时间、纤维蛋白原、术前用药、出血部位、出血程度分级、病变大小、Rockall评分、Blatchford评分在内镜下止血成功组与失败组结果差异无统计学意义(P>0.05); 用向后删除法进行Logistic回归分析, 年龄(OR = 1.076, 95%CI: 1.009-1.147)、凝血酶原时间有统计学意义(OR = 1.684, 95%CI: 1.053-2.693), 是初次内镜下止血失败, 需要介入、外科治疗或死亡的危险因素.

结论: 对年龄较大、凝血酶原时间延长的非静脉曲张性上消化道出血患者, 进行首次内镜下止血失败的危险性较高, 可能需要进一步介入治疗、外科手术治疗, 或死亡的危险性增高. 对于胆碱酯酶<5000 U/L、血尿素氮异常、白蛋白显著下降、有输血史的患者, 需警惕再次出血的可能.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 急性非静脉曲张上消化道出血; 胃镜及内镜下止血; 危险因素

核心提示: 急性非静脉曲张性上消化道出血(acute nonvarieeal upper gastrointestinal bleeding)经内镜下治疗后的年龄较大、凝血酶原时间延长的非静脉曲张性上消化道出血患者, 进行首次内镜下止血失败的危险性较高, 可能需要进一步介入治疗、外科手术治疗, 或死亡的危险性增高. 对于胆碱酯酶<5000 U/L、白蛋白显著下降、有输血史的患者, 需警惕再次出血的可能.

梁冬红, 车筑平, 许良璧. 急性非静脉曲张性上消化道出血内镜下治疗失败的危险因素. 世界华人消化杂志 2014; 22(11): 1547-1551 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1547.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i11.1547

0 引言

急性非静脉曲张性上消化道出血(acute nonvarieeal upper gastrointestinal bleeding, ANVUGIB)系指屈氏韧带以上消化道非静脉曲张性疾患引起的出血, 年发病率为(50-150)/10万, 病死率为6%-10%[1,2]. 急性非静脉曲张性上消化道出血内镜下止血治疗具有方便快捷、创伤性小、安全有效, 比传统内科止血治疗有效率及再次出血率明显下降的特点, 这在消化界已达成共识为消化系出血首选治疗方法, 但经过内镜下止血治疗后患者预后情况的随访, 和再出血的进一步治疗的相关文献较少, 故本文进行回顾性分析研究经过内镜下止血治疗的ANVUGIB患者, 寻找内镜治疗失败的危险因素, 早期识别再出血及死亡危险性高的患者, 探讨其可能的临床价值.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2010-01/2013-10在贵阳医学院附属医院住院, 并接受内镜止血治疗的急性非静脉曲张性上消化道出血患者52例作为研究对象. 入院患者同时符合亚太地区非静脉曲张性上消化道出血专家共识意见的标准. 2009年亚太地区急性非静脉曲张性上消化道出血诊治指南, 诊断标准为: (1)症状与体征, 患者出现呕血和黑便症状可伴有头晕、面色苍白、心率增快、血压降低等周围循环衰竭征象, 急性上消化道出血诊断基本可成立; (2)内镜检查: 无食管胃底静脉曲张并在上消化道发现有出血病灶, ANVUGIB诊断可确立. 排除标准: (1)排除以下情况: 某些口、鼻、咽部或呼吸道病变出血被吞入食管, 服某些药物(如铁剂、铋剂等)和食物(如动物血等)引起粪便发黑. 对可疑患者行胃液、呕吐物或粪便隐血试验; (2)排除非静脉曲张性上消化道出血, 仅进行内镜下喷洒药物治疗的患者; (3)所有患者均为住院治疗患者, 排除门诊及留观患者(因这部分患者资料不全, 随访困难), 排除住院但相关资料不全者.

首次内镜下成功止血, 并且在住院期间未发生再出血分为内镜治疗成功组. 再出血评价标准[3]: 经初次止血治疗, 呕血停止后再发呕血, 或

表 1 内镜治疗失败与内镜治疗成功组间有统计学意义的结果

因素	成功组	失败组
n	40	12
年龄	58.77 ± 15.32	68.08 ± 9.11[a]
白蛋白	34.33 ± 8.45	28.16 ± 10.27[a]
尿素氮	11.49 ± 5.83	8.16 ± 3.27[a]
凝血酶原时间	13.75 ± 1.65	15.37 ± 2.39[a]
输血情况*n*(%)		
有	25(67.6)	12(32.4)[a]
无	15(100.0)	0(0.0)[a]
胆碱酯酶*n*(%), U/L]		
≥5000	15(100.0)	0(0.0)[a]
<5000	25(67.6)	12(32.4)[a]

[a]*P*<0.05 *vs* 成功组.

黑便转为暗红色或鲜红色血便, 或大便转黄后再发黑便, 或经大量补液及输血治疗血压短时间稳定后再次出现血压下降, 或通过内镜或外科手术证实再出血为治疗失败归为失败组. 对收治的所有患者按上述分类分为成功组(40例)和失败组(12例).

1.2 *方法* 对患者的住院资料进行回顾性调查分析, 比较内镜治疗失败组与成功组患者的临床指标以及内镜下表现的差异, 记录患者的一般资料(性别、年龄、既往出血史、慢性病史、非甾体类药物用药史等), 实验室检查(血红蛋白、红细胞压积、血小板计数、谷丙转氨酶、谷草转氨酶、总胆红素、直接胆红素、白蛋白、胆碱酯酶(serum cholinesterase, CHE)、肌酐、尿素氮、凝血酶原时间、部分活化凝血活酶时间、纤维蛋白原) , 临床资料(出血至内镜下治疗时间、有无呕血、黑便、输血情况、休克指数、止血术前用药处理、出血部位、出血分级、溃疡直径、Rockall评分、Blatchford评分等进行比较.

统计学处理 应用SPSS18.0软件对数据进行统计分析, 正态分布的计量资料采用独立样本*t*检验比较治疗结局不同组间差异, 非正态分布的计量资料选用秩和检验, 计数资料则采用χ^2检验. 将上述检验结果显示为差异有统计学意义的指标, 将单因素分析中差异有统计学意义的因素作自变量, 以ANVUGIB内镜治疗成功与否为因变量, 用向后删除法进行Logistic回归分析. 寻找内镜治疗失败的危险因素, 设定$\alpha = 0.05$, *P*<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 *一般情况* 52例接受内镜治疗的ANVUGIB患者中男41例、女11例, 年龄20-89岁, 平均年龄60.9岁±14.6岁. 首次内镜止血成功为40例(76.9%, 40/52), 首次内镜止血失败12例(23%, 12/52). 其中1例急诊手术(1.92%), 2例保守治疗好转(3.84%); 1例经再次内镜止血成功(1.92%); 3例死亡(5.76%); 5例经介入治疗成功(9.6%), 其中胃溃疡11例(21.1%, 11/52), 吻合口溃疡3例(5.76%, 3/52), 十二指肠溃疡28例(53.8%, 28/52), Dieulafoy病2例(3.8%, 2/52), 其他病因8例(15.3%, 8/52).

2.2 *两组间的比较* 成功组与失败组两组比较以*P*<0.05为差异有统计学意义. 两组患者在性别、既往出血史、慢性病史、非甾体类药物用药史、血红蛋白、红细胞压积、血小板计数、谷丙转氨酶、谷草转氨酶、总胆红素、直接胆红素、肌酐、部分活化凝血活酶时间、纤维蛋白原、出血至内镜下治疗时间、有无呕血、黑便、休克指数、止血术前用药处理、出血部位、出血类型、溃疡直径、Rockall评分、Blatchford评分的比较上无统计学意义(*P*>0.05), 而在年龄、输血情况、胆碱酯酶、凝血酶原时间、白蛋白、尿素氮等比较具有统计学意义(*P*<0.05)(表1).

2.3 *内镜治疗失败的危险因素* 将单因素分析中差异有统计学意义的年龄、输血情况、胆碱酯酶值、凝血酶原时间、白蛋白、尿素氮, 用向后删除法进行Logistic回归分析, 结果显示有影响因素的为年龄(OR = 1.076, 95%CI: 1.009-1.147)、凝血酶原时间(OR = 1.684, 95%CI: 1.053-2.693)差异有统计学意义(*P*<0.05), 确认为消化道出血的独立危险因素(表2).

3 讨论

ANVUGIB是临床常见急症, 消化性溃疡仍是非门静脉高压所致消化系大出血的主要原因. 其中部分ANVUGIB患者出血是自限性的, 不需要内镜止血即可自行停止, 胡宇宏[4]文献报道有75%-80%的ANVUGIB患者经过抑酸等内科治疗能自行止血, 因此本次研究剔除出血量较少, 经内镜下喷洒药物出血停止的患者.

Elmunzer等[5]报道消化性溃疡出血患者初次内镜止血成功率为92.3%, 内镜治疗后再出血率为16.4%, 死亡率为6.4%. 本研究患者内镜治疗的止血成功率为76.9%, 初次止血失败

■相关报道
Elmunzer等报道内镜治疗后再出血的独立危险因素包括血流动力学不稳定、合并其他疾病、活动性出血、巨大溃疡、十二指肠后壁溃疡以及胃小弯侧溃疡.

■创新盘点
关于ANVUGIB内镜下治疗的研究比较多, 但对其治疗预后的随访报道较少, 本文追踪随访寻找治疗失败相关危险因素.

表 2 内镜治疗失败的危险因素Logistic回归分析

自变量	回归系数	*P*值	比数比(OR)	OR值的95%CI
年龄	0.073	0.025	1.076	1.009–1.147
输血情况	–20.267	0.998	0.000	0.000
凝血酶原时间	0.521	0.030	1.684	1.053–2.693

为17.3%, 再次止血成功为5.76%, 介入治疗为9.6%, 外科手术率1.9%, 死亡率5.7%, 内镜下止血率及再出血率与文献报道有差异, 分析原因为本研究的患者都为出血程度较重, 剔除内镜下出血程度轻, 仅经药物喷洒即止血的患者, 且相对于门诊患者, 本组患者年龄偏大, 病情较重有关.

本研究中失败组患者年龄显著高于成功组, 回归分析显示其为首次内镜下止血失败的危险因素(OR = 1.076, 95%CI: 1.009-1.147). 老年患者消化性溃疡高发的原因考虑胃黏膜呈退行性病变, 防御能力差, 更易受损害; 同时, 动脉硬化等可引起胃黏膜血流量减少, 加之患者心功能下降, 胃黏膜淤血、缺氧, 影响黏膜的再生修复[6]. 此外, 老年人心脑血管疾病发病率高, 服用非甾体类药对胃黏膜有明显损害, 破坏胃黏膜屏障, 抑制前列腺素合成, 加重或促进消化性溃疡的形成, 这些是老年人消化性溃疡和出血的重要诱因. 因此, 对于年龄较大的ANVUGIB患者, 临床需要高度重视.

凝血酶原时间(prothrombin time, PT)延长见于先天性因子Ⅱ、Ⅴ、Ⅶ、Ⅹ缺乏症或获得性凝血因子缺乏等本研究显示两组结局下PT之间差异有统计学意义(P = 0.025<0.05), 回归分析显示PT延长为首次内镜下止血失败的危险因素(OR = 1.684, 95%CI: 1.053-2.693). 肝脏是凝血因子形成的主要场所, 当肝功受损时凝血因子不能正常合成, 导致PT偏高延长, 但造成PT偏高, 凝血酶原时间延长的因素有很多, 但其根本原因是凝血因子的缺失, 一切导致凝血因子减少的原因都可能导致PT延长[7,8]. 另外本研究患者年龄偏大, 老年人多在一定程度上存在动脉硬化, 血管收缩不良, 毛细血管脆性增加, 并可能伴随有凝血机制障碍. 另外反复或大量出血时凝血因子消耗, 也可以使PT延长. 本次研究显示, PT延长是首次内镜治疗的失败率危险因素越高. 而且随着PT延长, DIC的发生率、再出血发生率及病死率可能随之升高.

本研究两组间的血清白蛋白差异有统计学意义(P<0.05). 但回归结果并未显示血清白蛋白下降是首次内镜治疗失败的危险因素. 低白蛋白血症在多种慢性疾病中较为常见, 另外在肝硬化食管胃底静脉曲张所致的上消化道出血中, 低白蛋白血症也较为常见. 本研究选择非静脉曲张性上消化道出血为研究对象, 发现内镜治疗失败组的患者有显著地低白蛋白血症, 考虑其与出血所致的白蛋白丢失有关. 近期研究显示ICU的出血患者ALB低于30 g/L为再出血的危险因素[9,10]. 而González-González等[11]报道ALB≤2.6 g/L有可能是预测非静脉曲张出血死亡相关的危险因素. 本研究提示当临床出现低白蛋白血症时, 内镜治疗效果可能欠佳, 需引起我们的警惕和重视. 今后应该对ANVUGIB患者中低蛋白血症与再出血之间的关系进行更进一步的研究.

血清CHE下降, 常见于与肝硬化有关的上消化道出血, 如静脉曲张所致的上消化道出血[12], 但目前国内外均未见ANVUGIB患者的出血危险性与CHE关系的研究. 考虑到CHE波动范围较大, 结合本次研究中CHE检测方法, 把CHE≥5000 U/L为正常, <5000 U/L为异常. 失败组CHE均<5000 U/L(占100%), 两组结局下CHE之间差异有统计学意义(P = 0.012<0.05), 但回归分析并未显示其为首次内镜下治疗失败的危险因素. 分析ANVUGIB患者CHE下降可能为上消化道大出血时, 由于组织缺血、缺氧、酸中毒和炎症因子调节紊乱等因素[13,14], 肝脏代偿能力减退, CHE合成受影响. CHE的正常值分布范围较宽, 但个体酶活力较恒定, 所以应连续动态观察对于ANVUGIB预后判断意义更大, 因此就CHE水平下降与ANVUGIB间的关系, 还需进一步研究. 在临床工作中分析患者再出血风险因素时应高度关注CHE值的变化.

本研究中BUN在两组中均有升高, 但在成功组中升高更为明显, 查找原因分析为成功组有例慢性肾功能不全的患者, BUN升高达(35.39

mmol/L). 故本研究认为BUN升高不是ANVUGIB首次内镜治疗失败的危险因素, 另外本研究显示成功组有输血的25例(62.5%), 失败组有输血的为12例(100%), 两组结局下输血情况之间差异有统计学意义(P = 0.012<0.05). 但回归结果并未显示其为首次内镜治疗失败的危险因素. 分析原因为本次研究的对象病情普遍较重有关, 而我们分组中仅按是否输血进行分组, 未对输血量进行进一步研究.

本研究可能还存在着一些缺陷, 本研究为回顾性分析研究, 在病例的选择上我们选的是住院治疗的患者, 通常住院的患者都是相对严重的出血多伴有生命体征不稳定. 文献报道[1,5,15]既往有消化道出血史、休克、血小板数量低、合并其他疾病、出血病变较大和内镜下喷射样出血表现的ANVUGIB患者进行内镜治疗失败的风险较高, 这与本研究的结果不同. 可能是由于本次研究中病例的病变较为单一, 主要是良性消化性溃疡为主, 其他病因如肿瘤、血管畸形、憩室所致的出血较少有关, 这可能是由于地区人种差异造成.

据我们的研究显示: 急性非静脉曲张性出血内镜下止血对高危患者的影响需要进一步研究, 除了要扩大病例数, 还需要强化多学科合作的效率, 有必要建立相关的预案机制, 根据病情风险分类启动不同分级预案.

总之, 急性非静脉曲张性上消化道出血病因众多, 临床表现复杂, 病情重, 早期及时的诊断对出血部位的确定、病因的诊断及对患者的治疗和预后有重要意义, 因此, 我们要高度重视风险的评估, 以及治疗后的结局.

4 参考文献

1 中华内科杂志编委会, 中华消化杂志编委会, 中华消化内镜杂志编委会. 急性非静脉曲张性上消化道出血诊治指南(2009, 杭州). 中华消化杂志 2009; 48: 891-894

2 Kim Y, Kim SG, Kang HY, Kang HW, Kim JS, Jung HC, Song IS. [Effect of after-hours emergency endoscopy on the outcome of acute upper gastrointestinal bleeding]. *Korean J Gastroenterol* 2009; 53: 228-234 [PMID: 19381055]

3 林三仁. 临床实用消化病学. 第1版. 北京: 科学技术文献出版社, 2007: 293

4 胡宇宏. 急诊胃镜对上消化道出血诊断和治疗分析. 中国现代药物应用 2011; 5: 79-80

5 Elmunzer BJ, Young SD, Inadomi JM, Schoenfeld P, Laine L. Systematic review of the predictors of recurrent hemorrhage after endoscopic hemostatic therapy for bleeding peptic ulcers. *Am J Gastroenterol* 2008; 103: 2625-232; quiz 2633 [PMID: 18684171 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2008.02070.x]

6 雷天霞, 史美娜, 雷晓毅, 徐桂华, 黄玉林. 老年上消化道出血210例. 世界华人消化杂志 2012; 20: 3164-3166

7 黄璐, 袁秋影. 术中大量输血对患者凝血功能和电解质平衡的影响. 广东医学院学报 2007; 25: 169-171

8 角述兰, 陈晴莎, 杜斌. 大量输血后纤维蛋白原和血小板的临床观察. 当代医学 2010; 16: 29-30

9 Cheon JH, Kim JS, Ko SJ, Ye BD, Kim SG, Jung HC, Song IS. Risk factors for upper gastrointestinal rebleeding in critically ill patients. *Hepatogastroenterology* 2007; 54: 766-769 [PMID: 17591058]

10 Tung CF, Chow WK, Chang CS, Peng YC, Hu WH. The prevalence and significance of hypoalbuminemia in non-variceal upper gastrointestinal bleeding. *Hepatogastroenterology* 2007; 54: 1153-1156 [PMID: 17629059]

11 González-González JA, Vázquez-Elizondo G, García-Compeán D, Gaytán-Torres JO, Flores-Rendón ÁR, Jáquez-Quintana JO, Garza-Galindo AA, Cárdenas-Sandoval MG, Maldonado-Garza HJ. Predictors of in-hospital mortality in patients with non-variceal upper gastrointestinal bleeding. *Rev Esp Enferm Dig* 2011; 103: 196-203 [PMID: 21526873]

12 刘沛, 寿松涛. 多器官功能障碍综合征患者血清胆碱酯酶变化的临床意义. 中华临床医师杂志 2010; 4: 438-442

13 包国祥, 李涛. 血尿素氮/肌酐变化曲线在急性上消化道出血患者出血量估算中的应用. 中国全科医学 2011; 14: 3476-3477

14 罗招云, 邱炼灼, 陈伟立. BUN和Cr及其比值对诊断消化道出血的临床意义.中国误诊学杂志 2006; 6: 1834-1836

15 张佳莹, 王晔, 张静, 丁士刚, 周丽雅, 林三仁. 急性非静脉曲张性上消化道出血内镜治疗失败的危险因素分析. 北京大学学报(医学版) 2010; 6: 703-707

16 da Silveira EB, Lam E, Martel M, Bensoussan K, Barkun AN. The importance of process issues as predictors of time to endoscopy in patients with acute upper-GI bleeding using the RUGBE data. *Gastrointest Endosc* 2006; 64: 299-309 [PMID: 16923473]

■同行评价
本文选题较好, 有一定的临床指导意义.

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年4月18日; 22(11): 1552-1558
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

超声内镜在消化系隆起性病变诊断中的价值及误诊

陈明锴, 刘云燕, 丁百静, 李 生, 戴 敏, 何千榆

■背景资料
普通内镜检查能够发现消化系隆起性病变, 但普通内镜对于消化系黏膜下隆起性病变价值价值有限, 超声内镜由于将内镜和超声的有点合二为一, 对消化系隆起性病变有很好的诊断价值, 因而探讨如何提高超声内镜诊断消化系隆起性病变准确率, 减少误诊有良好的实践意义.

陈明锴, 刘云燕, 何千榆, 武汉大学人民医院消化内科 湖北省武汉市 430060
丁百静, 李生, 芜湖市第二人民医院消化内科 安徽省芜湖市 241000
戴敏, 芜湖市第二人民医院病理科 安徽省芜湖市 241000
陈明锴, 博士, 主要从事胆胰疾病的内镜诊疗.
作者贡献分布: 陈明锴与刘云燕对此文所作贡献均等; 课题设计、数据整理及分析、文章撰写由陈明锴与刘云燕共同完成; 超声内镜操作有丁百静与李生完成; 文章修改和审阅由丁百静完成; 病理及免疫组织化学读片由戴敏完成; 临床资料整理由何千榆完成.
通讯作者: 丁百静, 副教授, 241000, 安徽省芜湖市镜湖区九华中路263号, 芜湖市第二人民医院消化内科. baijingd@sina.com
电话: 0553-3907346
收稿日期: 2014-01-08 修回日期: 2014-02-24
接受日期: 2014-03-04 在线出版日期: 2014-04-18

Diagnostic value of endoscopic ultrasonography in detection of gastrointestinal protuberant lesions and reasons for misdiagnosis

Ming-Kai Chen, Yun-Yan Liu, Bai-Jing Ding, Sheng Li, Min Dai, Qian-Yu He

Ming-Kai Chen, Yun-Yan Liu, Qian-Yu He, Department of Gastroenterology, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, Hubei Province, China
Bai-Jing Ding, Sheng Li, Department of Gastroenterology, the Second People's Hospital of Wuhu, Wuhu 241000, Anhui Province, China
Min Dai, Department of Pathology, the Second People's Hospital of Wuhu, Wuhu 241000, Anhui Province, China
Correspondence to: Bai-Jing Ding, Associate Professor, Department of Gastroenterology, the Second People's Hospital of Wuhu, 263 Jiuhua Road, Jinghu District, Wuhu 241000, Anhui Province, China. baijingd@sina.com
Received: 2014-01-08 Revised: 2014-02-24
Accepted: 2014-03-04 Published online: 2014-04-18

Abstract

AIM: To evaluate the value of endoscopic ultrasonography (EUS) in the diagnosis of gastrointestinal protuberant lesions and to figure out the reasons for misdiagnosis.

METHODS: A total of 202 cases of gastrointestinal protuberant lesions were detected and collected from May 2012 to November 2013, of which EUS findings and pathological characteristics were studied retrospectively.

RESULTS: EUS revealed 44 cases of stromal tumors, 47 cases of leiomyomas, 23 cases of external pressure, 28 cases of polyps, 11 cases of lipomas, 9 cases of heterotopic pancreas, 17 cases of inflammatory changes, 19 cases of cysts and 4 cases of phlebangioma. Of 127 cases that underwent pathological examinations, 118 were diagnosed correctly and 9 were misdiagnosed by EUS. Of the 9 misdiagnosed cases, 5 were misdiagnosed as stromal tumors (2 were gastric leiomyomas, 2 were gastric heterotopic pancreas and 1 was gastric leiomyoma with lipoma), 3 were misdiagnosed as leiomyomas (1 was gastric glomus tumor, 1 was gastric inflammatory myofibroblastic tumor and 1 was esophageal fibrovasular polyp), and 1 case of duodenal heterotopic pancreas was misdiagnosed as leiomyoma or neuroendocrine tumor.

CONCLUSION: EUS plays a critical role in the diagnosis of gastrointestinal protuberant lesions; however, the value of EUS still needs to be further improved for some rare or atypical cases.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Endoscopic ultrasonography; Gastrointestinal; Diagnosis; Misdiagnosis; Protuberant lesions

Chen MK, Liu YY, Ding BJ, Li S, Dai M, He QY. Diagnostic value of endoscopic ultrasonography in detection of gastrointestinal protuberant lesions and reasons for misdiagnosis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(11): 1552-1558 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1552.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i11.1552

摘要

目的: 探讨超声内镜(endoscopic ultrasonography, EUS)在消化系隆起性病变诊断中的价值及误判原因.

方法: 回顾性分析我院2012-05/2013-11经EUS发现202例消化系隆起性病变, 通过与病理结果比较分析EUS的诊断价值及误判的原因.

结果: EUS诊断间质瘤44例、平滑肌瘤47例、

■同行评议者
李健丁, 教授, 山西医科大学第一医院放射科CT室

外压23例、息肉28例、脂肪瘤11例、异位胰腺9例、炎性改变17例、囊肿19例, 静脉瘤4例; 其中127例送病理, 118例符合超声内镜诊断, 误诊9例(2例胃平滑肌瘤, 2例胃异位胰腺和1例胃平滑肌瘤伴脂肪瘤均误诊为间质瘤; 1例胃血管球瘤, 1例胃炎性肌纤维母细胞瘤和1例食管纤维血管性息肉均误诊为平滑肌瘤; 1例十二指肠异位胰腺误诊为平滑肌瘤或神经内分泌瘤), 符合率为92.9%.

结论: 应用超声内镜检查对于判断消化系隆起性病变具有重要的诊断价值, 但对一些少见、不典型疾病的诊断还有待进一步提高.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 超声内镜; 消化系; 诊断; 误诊; 隆起病变

核心提示: 本研究中, 分别比较超声内镜对消化系各种隆起性病变的诊断与病理结果的符合率, 探寻误诊病例的原因, 结果表明超声内镜对消化系隆起性病变有独特的诊断价值, 但对一些不典型、少见的疾病的诊断价值还有待提高.

陈明锴, 刘云燕, 丁百静, 李生, 戴敬, 何千榆. 超声内镜在消化系隆起性病变诊断中的价值及误诊. 世界华人消化杂志 2014; 22(11): 1552-1558 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1552.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i11.1552

0 引言

常规普通内镜检查能够发现消化系统隆起性病变, 但只能对部分隆起性病变作出明确诊断, 消化系黏膜下隆起性病变常常起源于黏膜层以下, 而普通胃、肠镜活检组织较浅, 很难取得满意的样本组织, 因此普通胃、肠镜对诊断大多数黏膜下的隆起性病变的价值有限, 尤其是对黏膜下病变很难作出明确诊断[1]. 近年来随着内镜技术的发展, 超声内镜(endoscopic ultrasonography, EUS)由于不仅能显示消化管壁的层次结构, 还能显示肿物的边界、大小、包膜、有无浸润征象及消化系腔外压迫引起的消化系隆起性病变, 因而在诊断消化系隆起性病变中具有独特的价值, 并为进一步评估内镜下治疗提供有力依据[2]. 本文就此探讨超声内镜在消化系隆起性病变中的诊断价值.

1 材料和方法

1.1 材料 收集我院2012-05/2013-11经常规胃镜或肠镜发现消化系隆起性病变202例, 均接受EUS检查, 其中男性98例, 中位年龄58岁; 女性104例, 中位年龄56岁. 超声内镜操作由我院两位经验丰富的内镜医师, 胃镜、肠镜采用日本Olympus Q260J, EUS设备采用日本Olympus α5、EUME-1及环扫UE260、线阵UCT240、微探头UM 2R频率12 MHz, UM 3R频率20 MHz, Erbe公司生产的VI 200D高频电切装置, KD-620LR型钩形刀及KD-610L型IT刀, Cook EUSN-1型22 G穿刺针.

1.2 方法 EUS检查前准备同常规胃、肠镜, 于内镜检查同时行EUS检查, 采用充水法进行超声扫描, 估计病变直径<2 cm选用微探头, 病变直径≥2 cm或食管上段病变、怀疑血管压迫均选择环扫或线阵内镜, 拟行超声内镜下细针穿刺活检术(EUS guided fine needle aspiration, EUS-FNA)选择线阵内镜; 根据术前评估病变, 不接受内镜下及外科手术治疗建议, 直径≤2.5 cm者行内镜黏膜下剥离术(endoscopic submucosal dissection, ESD)或内镜黏膜切除术(endoscopic mucosal resection, EMR)切除病变. 本组病例通过活检、内镜下高频电切除、EMR、ESD、外科手术切除等能获得标本者均行组织学病理及免疫组织化学检查, 总结其中经病理证实的临床资料, 分析EUS图像特征, 对误诊的病例回顾分析其超声图像, 探讨其误诊原因.

2 结果

2.1 EUS结果 202例病变分别为间质瘤、平滑肌瘤、息肉、炎性改变、异位胰腺、脂肪瘤、腔外压迫、囊肿及静脉瘤. 食管以平滑肌瘤多见, 胃以间质瘤多见, 占胃隆起性病变34.6%; 十二指肠以息肉和囊肿多见, 大肠以脂肪瘤多见(表1).

2.2 病理结果 202例患者行病理及免疫组织化学检查127例, EUS与病理符合118例(表2), 9例不符合病理诊断(表3), 部分典型病例如图1-5, 符合率为92.9%.

3 讨论

普通内镜通常能发现消化系统隆起性病变, 但对大多数黏膜下的隆起性病变或腔外压迫所致消化系隆起性病变不能做出明确诊断. 近年来, 随着内镜技术的不断发展, EUS将内镜和超声的优点合二为一, 可在直接观察病变的形态的同时获得管壁层次的组织学声像特征和周围邻

■研发前沿
超声内镜最初设想是用于发现胆胰系统早期的恶性肿瘤, 但随着内镜技术的不断发展, 其在消化系隆起性病变的诊断价值更高、更实用.

■相关报道
丁向萍等对于超声内镜诊治的118例上消化道良性隆起型病变的分析, 阐明了不同类型的隆起性病变采取不同的内镜治疗, 对临床有一定的指导意义, 但对于超声内镜误诊的病理未予以具体分析.

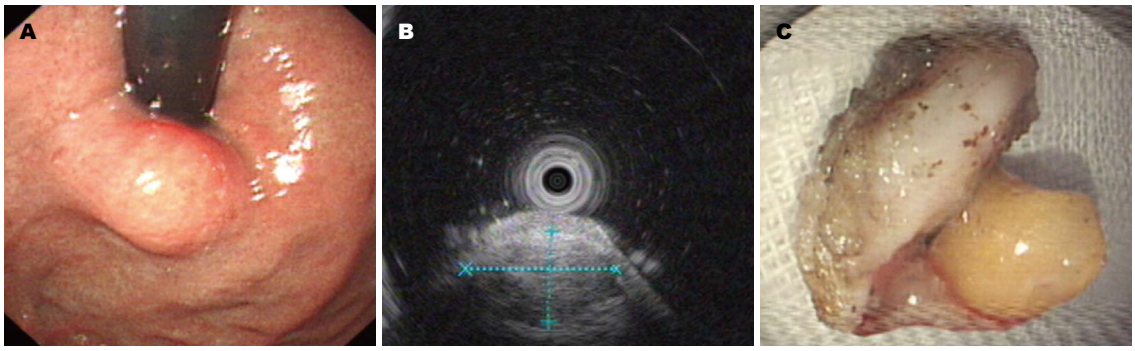


图 1 EUS将一处平滑肌瘤伴脂肪瘤误诊为间质瘤. A: 贲门下方可见一半球状隆起, 表面光滑; B: EUS示见一约1.4 cm×0.9 cm低回声团块, 内部回声尚均匀, 起源于固有肌层, 向腔内生长; C: ESD术后剥离两枚瘤体, 经病理证实, 一枚为平滑肌瘤, 另一枚为脂肪瘤. EUS: 超声内镜; ESD: 内镜黏膜下剥离术.

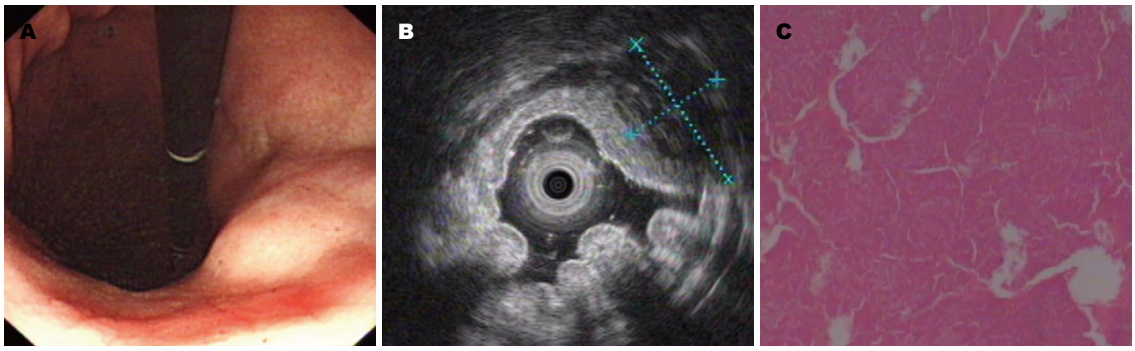


图 2 EUS将胃体异位胰腺误诊为间质瘤. A: 胃体小弯侧近胃角处可见一扁平隆起, 表面光滑; B: 探头置于胃隆起处, 局部胃壁一低回声肿块, 大小约1.3 cm×0.8 cm, 内部回声均匀, 边界清晰. 考虑间质瘤, 起源于固有肌层, 胃壁结构无破坏, 向腔内生长; C: 病理示异位胰腺. EUS: 超声内镜.

表 1 超声内镜示消化系隆起性病变分布部位

	n	食管	胃	十二指肠	大肠
间质瘤	44	2	37	3	2
平滑肌瘤	47	41	6	0	0
息肉	28	2	22	4	0
炎性改变	17	1	16	0	0
异位胰腺	9	0	8	1	0
腔外压迫	23	10	12	1	0
脂肪瘤	11	0	6	1	4
囊肿	19	2	5	12	0
静脉瘤	4	4	0	0	0
合计	202	62	112	22	6

近脏器的超声图像, 还可以通过超声引导下进行组织学活检及细胞学检查, 并对制定治疗决策有重要价值. EUS能清晰显示食管、胃肠壁的层次结构[3]. EUS临床诊断常根据病变部位、来源、回声来判断, 进一步经病理及免疫组织化学检查确诊, 我们EUS诊断的正确率是92.9%, 但存在7.1%的误诊.

本组9例EUS误诊病例中, 其中有2例EUS均探及来源于固有肌层的低回声团块, EUS诊断胃间质瘤, 经ESD术治疗后送病理及免疫组织化学检查均诊断为胃平滑肌瘤. 临床上间质瘤多起源于固有肌层, 呈低回声团块. 在本研究中, 良性间质瘤多起源于固有肌层, 呈低回声团块, 内部回声均匀, 边界清晰; 平滑肌瘤好发于食管, 以食管中段和下段较常见, 而间质瘤好发于胃底和胃体, 与既往文献报道[4]一致. 由于间质瘤和平滑肌瘤起源于肌层, 在超声下均表现为低回声团块, 边界清晰, 因此两者之间常常误诊, 尤其是平滑肌瘤和良性间质瘤之间. 由于食管间质瘤比胃间质瘤少, 因而在临床上, 对于起源于肌层的胃的均匀低回声团块, 当难以确定是平滑肌瘤还是间质瘤, 我们经常会根据临床经验诊断为胃间质瘤, 而造成了一部分胃平滑肌瘤的误诊. 同理, 对于起源于肌层的食管的均匀低回声团块, 我们在难以判断是平滑肌瘤还是间质瘤时, 倾向于作出食管平滑肌瘤的诊断. 在本研究中, 超声内镜诊断平滑肌瘤的病例中无1例误诊为间质瘤的, 这也许与病例数不够大有关.

此外, 还有1例EUS探及来源于固有肌层的

表 2 118例超声内镜与病理结果一致的病变的声像学特征

隆起性病变	超声内镜诊断	送病理诊断例数	病理诊断符合超声例数	符合率(%)	超声内镜符合病理诊断的病例声像学特征
间质瘤	44	36	31	86.1	起源于固有肌层, 低回声团块, 部分病例夹杂高回声, 回声均匀或欠均匀, 边界清晰, 向腔内外或腔内生长
平滑肌瘤	47	39	35	89.7	起源于黏膜肌层或黏膜下层, 低回声团块, 部分病例呈高回声改变, 回声均匀, 边界清晰, 向腔内生长
炎性改变	17	11	11	100.0	局部管壁黏膜层增厚, 呈偏高回声、正常回声或偏低回声, 边界清晰, 向腔内突出
息肉	28	22	22	100.0	起源于黏膜层, 高或偏高回声, 回声均匀, 部分内部回声不均匀, 边界清晰, 向腔内生长
脂肪瘤	11	10	10	100.0	起源于黏膜下层, 部分来源黏膜肌层, 高回声, 回声均匀, 边界清晰, 向腔内生长
异位胰腺	9	9	9	100.0	起源于黏膜下层, 可呈高回声、偏高回声、低回声团块, 部分夹杂管状无回声结构, 内部回声不均匀, 边界清晰, 向腔内生长

表 3 9例超声内镜误诊病变声像学特征

EUS诊断	病理诊断	*n*	超声来源(黏膜层次)
胃间质瘤	平滑肌瘤	2	固有肌层的均匀低回声团块, 向腔内生长
胃间质瘤	异位胰腺	2	固有肌层的均匀低回声团块, 向腔内生长
胃间质瘤	平滑肌瘤合并脂肪瘤	1	起源于固有肌层的约1.4 cm × 0.9 cm低回声团块, 内部回声尚均匀, 向腔内生长
胃平滑肌瘤	炎性肌纤维母细胞瘤	1	黏膜肌层的约1.3 cm × 0.7 cm低回声团块, 边界清晰, 内部回声均匀, 向腔内生长
胃平滑肌瘤	血管球瘤	1	黏膜下层的约1.5 cm × 1.0 cm偏高回声团块, 内部回声均匀, 边界清晰, 向腔内外生长
食管平滑肌瘤	食管纤维血管性息肉	1	黏膜肌层的低回声肿块, 切面大小约0.6 cm × 0.4 cm, 内部回声均匀, 边界清晰
十二指肠降部平滑肌瘤或神经内分泌瘤	异位胰腺	1	黏膜下层的约1.2 cm × 0.8 cm的偏低回声团块, 向腔内生长, 旁可见副乳头开口

低回声团块, 初步诊断为胃间质瘤, ESD术后发现2枚瘤体, 经病理证实为1枚平滑肌瘤和1枚脂肪瘤(图1). 因此对于一些消化系隆起性病变, EUS医师往往不能因为超声探及一处病变便浅尝辄止, 而需要多部位、多截面探查, 必要时可行三维超声内镜检查. 三维EUS不仅能够提供病灶的立体结构, 还可显示冠状、矢状及横断面的扫描图像[5].

本组误诊病例中另有2例胃体异位胰腺被误诊为间质瘤(图2)及1例十二指肠降部异位胰腺被超声内镜误诊为平滑肌瘤或神经内分泌瘤, 前者均起源于固有肌层, 呈均匀低回声团块状改变, 极易与胃间质瘤混淆; 后者起源于黏膜下层, 呈均匀低回声改变, 易误诊为神经内分泌瘤或平滑肌瘤. 异位胰腺是指存在于胰腺正常解剖位置以外与正常胰腺没有解剖和血管上联系的胰腺组织, 又称为迷走胰腺、副胰腺. 异位胰腺可发生于整个消化系, 也可见于颅腔、腹腔、纵膈、肝脏、胆囊等胃肠道以外, 最常见部位为胃、十二指肠、空肠[6]. 典型的异位胰腺可以出现特征性的管状结构样回声[7]. 本组病例中有9例EUS诊断为异位胰腺, 均经病理得到证实. 其中8例发生于胃窦, 1例发生于十二指肠球降交界. 有研究报道[8]异位胰腺和间质瘤病变部位有差异, 异位胰腺大部分位于胃窦, 小部分位于胃底和胃体; 间质瘤主要位于胃体, 其次为胃窦和胃底. 此外, 两者在起源层次上也有差别, 异位胰腺最常起源于黏膜下层, 少数可起源于肌层、浆膜层和黏膜层, 而间质瘤常起源于固有肌层和黏膜肌层. 异位胰腺常以低回声、中等回声或混合回声为主, 部分可出现特征性的管状结构样回声; 间质瘤多数呈均匀低回声改变. 因此对于典型的异位胰腺通常情况下超声内镜不会误诊, 由于胃体的异位胰腺较间质瘤

■创新盘点
超声内镜对于消化系隆起性病变的诊断有独特的价值, 尤其是黏膜下隆起性病变, 本研究对于超声内镜的误诊病例作了详细的分析, 对于消化系不典型、少见的隆起性病变有一定借鉴意义.

■应用要点
对于一些消化系隆起性病变，内镜医师往往不能因为超声探及一处病变便浅尝辄止，而需要多部位、多截面探查，必要时可行三维超声内镜检查. 三维EUS不仅能够提供病灶的立体结构，还可显示冠状、矢状及横断面的扫描图像.

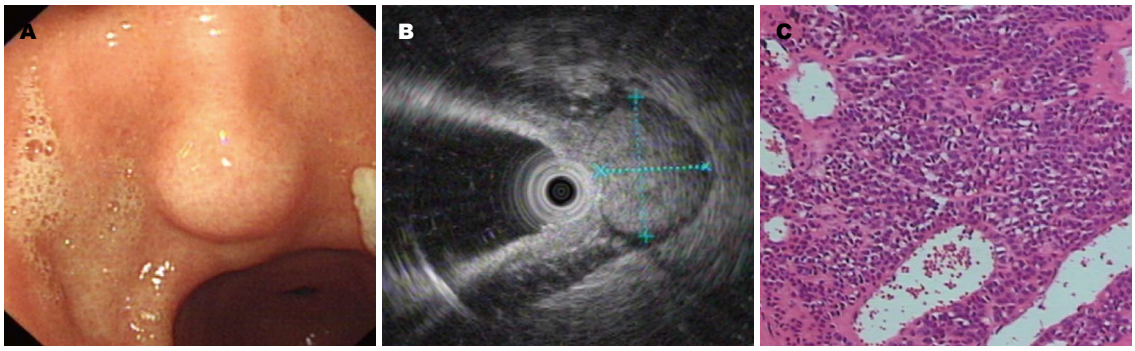


图 3 EUS将胃窦血管球瘤误诊为平滑肌瘤. A: 胃窦小弯侧可见一半球状隆起，表面光滑; B: 探头置于胃隆起处可见一大小约1.5 cm×1.0 cm偏高回声团块，内部回声均匀，边界清晰，起源于第三层，向腔内外生长; C: 病理考虑血管球瘤，免疫组织化学caldesmon(+), CD31(−), CD34(−), CgA(−), CK(−), D2−40(−), Desmin(−), EMA(−), Ki−67(+), SMA(+++), Syn(++), NSE(−), Dog−1(−), CD117(−), Collagen Ⅳ(+++). EUS: 超声内镜.

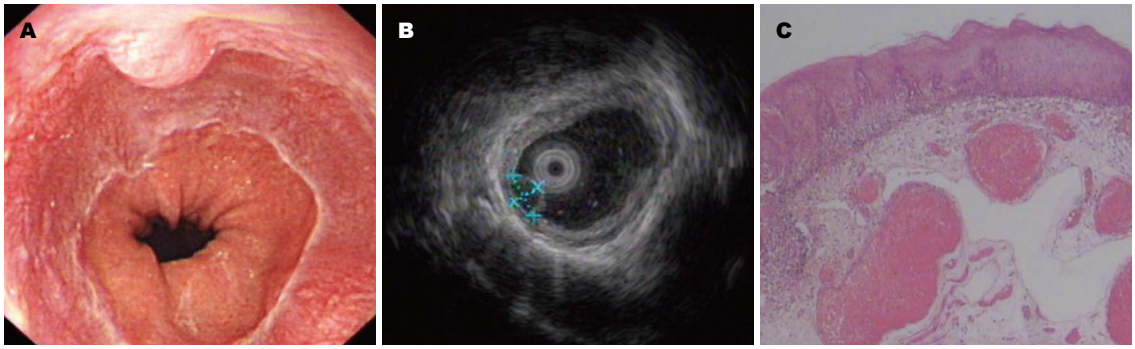


图 4 EUS将食管纤维血管性息肉误诊为平滑肌瘤. A: 食管距齿状线上方2 cm处可见一半球状隆起，表面光滑; B: 探头置于食管隆起处扫查，所见食管壁超声第二层结构内低回声肿块，切面大小约6 mm×4 mm，内部回声均匀，边界清晰，食管壁其余结构未见破坏; C: 病理示食管纤维血管性息肉. EUS: 超声内镜.

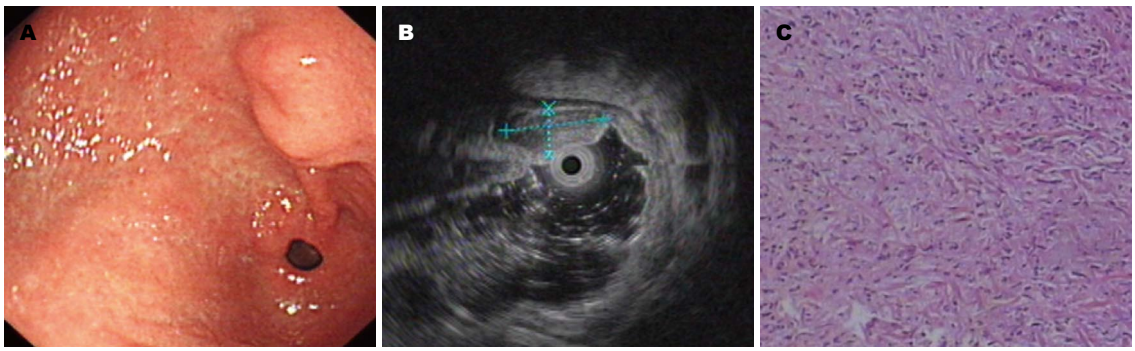


图 5 EUS将胃窦炎性肌纤维母细胞瘤误诊为平滑肌瘤. A: 胃窦小弯侧可见一粗大黏膜皱襞向幽门管延伸，其上缘可见一广基隆起，表面略凹陷; B: 探头置于胃窦隆起处可见一大小约1.3 cm×0.7 cm低回声团块，边界清晰，内部回声均匀，起源于第二层，向腔内生长; C: 免疫组织化学示ALK(−), CD117(−), CD34(+), Desmin(+), Ki−67(个别细胞+), SMA(+)，病理结合免疫组织化学示胃窦炎性肌纤维母细胞瘤. EUS: 超声内镜.

发生率低，加上间质瘤多起源于黏膜肌层或固有肌层，因此当遇到一些不典型、超声图像类似于间质瘤的起源于黏膜肌层或固有肌层的胃异位胰腺，我们常常会做出胃间质瘤的判断; 由于异位胰腺的异常回声亦可起源于黏膜下层、肌层和浆膜层，且可不出现典型的管状结构样回声，因此有时对于不典型的病例，EUS可能会误判为神经内分泌瘤或平滑肌瘤. 这3例被误诊的病例提示我们，一些发生部位及形态不典型的异位胰腺与胃间质瘤、平滑肌瘤或神经内分泌瘤有时很难区别，有时需要多截面观察超声图像，除考虑平滑肌瘤、神经内分泌瘤及间质瘤并且排除恶性以外也要排除是否存在胃异位胰腺的可能，必要时可在超声引导下细针穿刺

抽吸得到病理明确诊断.

另1例经EUS探及来源于黏膜下层偏高回声团块, 初步诊断为胃平滑肌瘤, 经病理及免疫组织化学诊断为胃窦血管球瘤(图3). 血管球瘤是血管周围球体细胞的肿瘤性增生, 属于一种表型转化的特殊平滑肌细胞[9]. 血管球瘤罕见, 占软组织肿瘤的不到2%, 可在全身均可发生, 主要好发于手指、足趾的甲床区、腕部及前臂, 但发生在胃的非常少[10]. 由于临床上、内镜下及超声可类似于平滑肌瘤及间质瘤, 确诊有赖于病理检查. 胃血管球瘤手术完全切除后通常胃良性临床表现, 预后较好[11].

此外, 2例EUS探及来源于黏膜肌层的低回声团块, 均考虑平滑肌瘤, 经病理及免疫组织化学检查诊断为1例食管纤维血管性息肉(图4)和1例胃炎性肌纤维母细胞瘤(图5). 食管纤维血管性息肉是一种少见的食管腔内生长的良性肿瘤, 临床上常因缺乏特征性表现而被漏诊, 但有时可因巨大息肉反流引起窒息、猝死等严重并发症[12,13]. 食管纤维血管性息肉通常起源于颈段食管邻近环咽肌的黏膜下层, 由纤维组织、脂肪组织及血管等构成, 在生长过程中受到食管蠕动挤压而形成长条状带蒂中区, 表面为分化正常的鳞状上皮覆盖[14], 其所含的纤维和脂肪组织的比例可有很大程度的差异, 既往曾被称为纤维瘤、纤维上皮息肉、带蒂脂肪瘤、纤维脂肪瘤、黏液纤维瘤等[13]. 1990年WHO国际肿瘤组织学分类将其统一称为纤维血管性息肉. 本病虽然是良性疾病, 但随着息肉的生长可引起患者吞咽困难、消瘦甚至窒息、猝死等严重并发症, 且有恶变可能, 故一旦发现, 应尽快治疗[15]. WHO软组织肿瘤国际组织学分类定义炎性肌纤维母细胞瘤为“由分化的肌纤维母细胞性梭形细胞组成的, 常伴大量浆细胞和/或淋巴细胞的一种肿瘤”, 目前确切病因不明, 他是一种少见的独特的间叶性肿瘤, 常发生于肺、腹腔脏器及上颌窦, 极少发生于消化系[16-18]. 病变以单发或多灶性发生, 局部浸润性生长, 侵犯血管, 可局部复发. 据报道[19]内镜下炎性肌纤维母细胞瘤瘤体大小表现不同, 小的似常见的平滑肌瘤样. 偏大的凸向官腔生长, 表面形态不一、不光滑, 可见多个小如蚕豆大至鸡蛋大小的结节、质硬的隆起性肿物. 超声内镜图像为低回声团块, 可起源于黏膜肌层, 也可起源于固有肌层.

本组病例中, EUS诊断为脂肪瘤、炎性改变及息肉, 其中经病理检查者, 无一例误诊, 可能本组研究的病例数不够大有关. 本研究中由于误诊例数较少, 对其超声图像特征归纳有一定局限性, 此外, 超声内镜的误诊还有一重要的主观因素, 即诊断的局限性还与操作者的经验密切相关. 因此对于EUS超声内镜对消化系隆起性病变, 尤其是黏膜下隆起具有良好的诊断价值, 但对于不典型的、少见的消化系隆起性病变的诊断还有待提高.

■同行评价

本文通过对照分析消化系隆起性病变的EUS诊断与病理结果符合率, 得出EUS对于消化系隆起性病变具有良好的诊断价值, 并详细分析了各类病变的起源部位, EUS表现及误诊原因, 为鉴别诊断提供了一定的参考.

4 参考文献

1 Kaneko E, Kumagai J, Honda N, Nakamura S, Kino I. Evaluation of the new giant-biopsy forceps in the diagnosis of mucosal and submucosal gastric lesions. *Endoscopy* 1983; 15: 322-326 [PMID: 6628343 DOI: 10.1055/s-2007-1021545]

2 杨建荣, 刘锦涛, 徐碧霞. 超声内镜检查在消化道隆起性病变诊治中的价值. 中国医师进修杂志 2010; 33: 45-47

3 Wiech T, Walch A, Werner M. Histopathological classification of nonneoplastic and neoplastic gastrointestinal submucosal lesions. *Endoscopy* 2005; 37: 630-634 [PMID: 16010607 DOI: 10.1055/s-2005-870127]

4 卢光荣, 陈武杰, 王晨, 叶晓华, 吴明, 黄智铭. 超声内镜对上消化道黏膜下隆起性病变的诊断价值. 温州医学院学报 2013; 43: 530-534

5 赵韫嘉, 沈镭, 薛寒冰, 李晓波, 戴军, 高云杰, 戈之铮. 三维超声内镜评估直肠癌浸润深度的临床研究. 中华消化内镜杂志 2008; 25: 626-629

6 Ormarsson OT, Gudmundsdottir I, Mårvik R. Diagnosis and treatment of gastric heterotopic pancreas. *World J Surg* 2006; 30: 1682-1689 [PMID: 16902740 DOI: 10.1007/s00268-005-0669-6]

7 Polkowski M. Endoscopic ultrasound and endoscopic ultrasound-guided fine-needle biopsy for the diagnosis of malignant submucosal tumors. *Endoscopy* 2005; 37: 635-645 [PMID: 16010608 DOI: 10.1055/s-2005-861422]

8 卢光荣, 叶晓华, 陈武杰, 王晨, 吴明, 黄智铭. 胃异位胰腺超声内镜误诊为胃间质瘤7例临床分析. 中华消化内镜杂志 2013; 30: 164-166

9 Debol SM, Stanley MW, Mallery S, Sawinski E, Bardales RH. Glomus tumor of the stomach: cytologic diagnosis by endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration. *Diagn Cytopathol* 2003; 28: 316-321 [PMID: 12768637 DOI: 10.1002/dc.10294]

10 赖日权. 对7种软组织肿瘤良、恶性诊断标准的探讨. 诊断病理学杂志 2009; 16: 246-250

11 马洪军, 李开智, 李磊, 崔文, 张仁亚. 胃血管球瘤3例临床病理学观察及文献复习. 济宁医学院学报 2009; 32: 338-340

12 Sargent RL, Hood IC. Asphyxiation caused by giant fibrovascular polyp of the esophagus. *Arch Pathol Lab Med* 2006; 130: 725-727 [PMID: 16683893 DOI: 10.1043/1543-2165(2006)130]

13 Lee SY, Chan WH, Sivanandan R, Lim DT, Wong WK. Recurrent giant fibrovascular polyp of the esophagus. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 3697-3700 [PMID: 19653354 DOI: 10.3748/wjg.15.3697]

14 Levine MS, Buck JL, Pantongrag-Brown L, Buetow

PC, Hallman JR, Sobin LH. Fibrovascular polyps of the esophagus: clinical, radiographic, and pathologic findings in 16 patients. *AJR Am J Roentgenol* 1996; 166: 781-787 [PMID: 8610549 DOI: 10.2214/ajr.166.4.8610549]
15 范虹, 张毅, 钱成. 食管巨大纤维血管性息肉3例及文献复习. 中国临床医学 2008; 15: 791-792
16 曹海光, 刘素香. 炎性肌纤维母细胞瘤. 中国肿瘤临床杂志 2007; 34: 776-779
17 张华, 庄恒国. 炎症性肌纤维性母细胞瘤临床病理学因素分析. 南方医科大学学报 2009; 29: 1080-1082
18 王林省, 宋光义, 韩丹, 邓亚敏, 沈剑. 食管炎性肌纤维母细胞瘤一例. 中华放射学杂志 2008; 42: 46
19 唐岚, 王智昊, 李星花, 王英凯, 徐红. 食管巨大炎性肌纤维母细胞瘤一例. 中华消化内镜杂志 2012; 29: 711-712

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费

本刊讯 为了方便作者来稿, 保证稿件尽快公平、公正的处理, 《世界华人消化杂志》编辑部研究决定, 从2011年开始对所有来稿不再收取审稿费. 审稿周期及发表周期不变. (《世界华人消化杂志》编辑部)

世界华人消化杂志 2014年4月18日; 22(11): 1559-1563
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

食管、贲门癌切除胃食管吻合口处理方法的临床对比

李 鑫, 张海平, 张力为, 伊力亚尔•夏合丁, 张 铸, 伊地力斯•阿吾提

李鑫, 张海平, 张力为, 伊力亚尔•夏合丁, 张铸, 伊地力斯•阿吾提, 新疆医科大学第一附属医院胸外科 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830054
李鑫, 主要从事胸外科疾病的诊断.
作者贡献分布: 本文设计、研究过程由李鑫、张海平、张力为、伊力亚尔•夏合丁、张铸及伊地力斯•阿吾提操作完成; 数据收集与分析由李鑫完成; 本论文写作由李鑫、张海平及伊地力斯•阿吾提完成.
通讯作者: 伊地力斯•阿吾提, 副教授, 副主任医师, 硕士生导师, 830054, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市鲤鱼山路137号, 新疆医科大学第一附属医院胸外科. edrs5@yahoo.com
电话: 0991-4361528
收稿日期: 2014-01-10 修回日期: 2014-02-24
接受日期: 2014-02-28 在线出版日期: 2014-04-18

Clinical analysis of embedding treatment for gastroesophageal anastomotic stoma during resection of esophageal and esophagogastric junction cancer

Xin Li, Hai-Ping Zhang, Li-Wei Zhang, Ilyar•Sheyhidin, Zhu Zhang, Idiris•Awut

Xin Li, Hai-Ping Zhang, Li-Wei Zhang, Ilyar•Sheyhidin, Zhu Zhang, Idiris•Awut, Department of Thoracic Surgery, First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China
Correspondence to: Idiris•Awut, Associate Professor, Associate Chief Physician, Department of Thoracic Surgery, First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, 137 Liyushan Road, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. edrs5@yahoo.com
Received: 2014-01-10 Revised: 2014-02-24
Accepted: 2014-02-28 Published online: 2014-04-18

Abstract

AIM: To evaluate the necessity of the embedding treatment for anastomotic stoma during resection of esophageal and cardiac carcinoma.

METHODS: From March 2012 to August 2013, 244 patients underwent the resection of esophageal and cardiac carcinoma at the Department of Thoracic Surgery, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University. These patients were divided into two groups: a control group and an experimental group. The control group (n = 166) underwent surgery with embedding treatment for anastomotic stoma, while the experimental group (n = 78) underwent simple anastomosis. Postoperative parameters were compared between the two groups.

RESULTS: The rate of anastomotic leakage was 1.28% (1/78) in the experimental group and 5.42% (9/166) in the control group (P = 0.24). The anastomotic diameter was 13.23 ± 2.93mm in the experimental group and 10.91 ± 2.80mm in the control group (P = 0.00). The rate of anastomotic stricture was 5.26% (4/76) in the experimental group and 17.42% (27/155) in the control group (P = 0.01). The dysphagia score in the experimental group was significantly lower than that in the control group (P = 0.02), while the reflux score between the two groups showed no statistically significant difference (P = 0.50).

CONCLUSION: The embedding treatment for gastroesophageal anastomotic stoma can not effectively prevent the formation of the anastomotic leakage and the occurrence of reflux esophagitis but increases the incidence of anastomotic stricture.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Esophageal and cardiac cancer; Embedding treatment; Anastomosis; Postoperative complications; Prevention

Li X, Zhang HP, Zhang LW, Ilyar•Sheyhidin, Zhang Z, Idiris•Awut. Clinical analysis of embedding treatment for gastroesophageal anastomotic stoma during resection of esophageal and esophagogastric junction cancer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(11): 1559-1563 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1559.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i11.1559

摘要

目的: 探讨食管、贲门癌切除胃食管吻合, 吻合口浆肌层内翻缝合包埋处理的必要性.

方法: 选取2012-03/2013-08在新疆医科大学第

■背景资料
食管癌是我国最常见的消化系恶性肿瘤, 其发病率和死亡率均居世界首位. 目前食管癌治疗采用以手术治疗为主, 放疗、化疗、免疫靶向治疗为辅的综合性治疗. 手术虽为主要治疗手段, 但食管胃吻合术后的3大并发症: 吻合口瘘、吻合口狭窄、返流性吻合口炎及食管炎的发生率仍然较高, 严重危及患者的生命及术后生活质量.

■同行评议者
黄颖秋, 教授, 本溪钢铁(集团)总医院消化内科

■研发前沿
食管、贲门癌切除后胃食管吻合术是手术的关键步骤，国内外胸外科医师采取一系列措施不断改进胃食管吻合技巧和方法，包括吻合口浆肌层内翻缝合包埋、大网膜包绕吻合口等，以期降低术后并发症的发生. 但是效果如何仍存较大争议. 因此，如何预防和减少术后并发症发生以及如何提高术后生存质量是目前亟待解决的关键问题.

一附属医院胸外科行食管、贲门癌切除、胃食管吻合术并符合条件的患者244例，其中实验组78例实施单纯胃食管吻合，而对照组166例在胃食管吻合基础上行吻合口浆肌层内翻缝合包埋处理. 对两组患者的手术效果和术后并发症进行比较分析.

结果: 术后实验组和对照组的吻合口瘘发生率分别为1.28%(1/78)、5.42%(9/166)，差异无统计学意义(P = 0.24)；吻合口内径分别为13.23 mm±2.93 mm、10.91 mm±2.80 mm，差异有统计学意义(P = 0.00)；吻合口狭窄发生率分别为5.26%(4/76)和17.42%(27/155)差异有统计学意义(P = 0.01)；实验组吞咽困难评分低于对照组，差异有统计学意义(P = 0.02)；实验组和对照组术后返流反酸评分差异无统计学意义(P = 0.50).

结论: 传统的胃食管吻合口浆肌层内翻缝合包埋处理对预防吻合口瘘的发生无实际意义，无法减少术后返流性胃食管吻合口炎的发生，并且增加术后吻合口狭窄的发生率.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 食管与贲门癌; 吻合口包埋; 术后并发症; 预防并发症

核心提示: 本文通过对比分析两种不同术式术后吻合口瘘和吻合口狭窄发生率、吞咽困难程度及返流反酸评分，表明传统的胃食管吻合口浆肌层内翻缝合包埋处理对预防吻合口瘘的发生无实际意义，无法减少术后返流性胃食管吻合口炎的发生，并且增加术后吻合口狭窄的发生率. 因此有理由认为食管、贲门癌切除术中，没有必要行吻合口内翻缝合包埋处理.

李鑫, 张海平, 张力为, 伊力亚尔•夏合丁, 张铸, 伊地力斯•阿吾提. 食管、贲门癌切除胃食管吻合口处理方法的临床对比. 世界华人消化杂志 2014; 22(11): 1559-1563 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1559.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i11.1559

0 引言

食管癌是常见的消化系恶性肿瘤. 我国食管癌的发病率和死亡率居世界首位[1]. 目前食管癌治疗采用以手术治疗为主，放疗、化疗、免疫靶向治疗为辅的综合性治疗. 手术虽为主要治疗手段，但术后并发症的发生率较高，严重影响了患者术后生活质量. 目前国内外文献报道食管癌术后吻合口瘘的发生率为3%-17%[2-4]、吻合口狭窄发生率为18%-31%[4,5]、返流性吻合口炎及食管炎发生率为27%-35%[6]. 如何预防和减少术后并发症发生以及如何提高术后生存质量是目前亟待解决的关键问题. 食管、贲门癌切除后胃食管吻合术是手术的关键步骤，国内外胸外科医师采取一系列措施不断改进胃食管吻合技巧和方法，包括吻合口浆肌层内翻缝合包埋、大网膜包绕吻合口等[7-11]，以期降低术后并发症的发生. 但是效果如何仍存较大争议. 目前国内外尚无关于术中吻合口浆肌层内翻缝合包埋处理与单纯胃食管吻合处理的对比性研究文献报道. 本研究通过对比分析两种不同术式术后吻合口瘘和吻合口狭窄发生率、吞咽困难程度及返流反酸评分，来探讨食管、贲门癌切除术中吻合口行吻合口浆肌层内翻缝合包埋处理的必要性.

1 材料和方法

1.1 材料 收集2012-03/2013-08新疆医科大学第一附属医院胸外科行食管、贲门癌切除术中对胃食管吻合口进行浆肌层内翻缝合包埋处理的166例患者作为对照组，其中男性122例，女性44例，年龄38-83岁，平均年龄62.6岁；同期仅行胃食管单纯吻合的78例患者作为实验组，其中，男性57例，女性21例，年龄38-88岁，平均年龄61.8岁(表1). 手术后病理分期根据国际抗癌联盟(Union for International Cancer Control, UICC)和美国癌症分期联合委员会(American Joint Committee on Cancer, AJCC)共同制定的食管、贲门癌TNM分期标准(第7版)进行分期.

1.2 方法

1.2.1 比较指标及评价: 两组比较指标为术后吻合口瘘的发生率、术后1 mo经食管钡餐检查测定吻合口内径来确定吻合口狭窄率、吞咽困难程度评分和返流反酸评分. 判别标准如下: (1)吻合口狭窄的分级: 0.7-0.8 cm为轻度狭窄; 0.4-0.6 cm为中度狭窄; ≤0.3 cm为重度狭窄[12,13]; (2)吞咽困难评分分级: 0-进普食无梗阻; 1-进普食梗阻; 2-进半流质梗阻; 3-进流质梗阻; 4-不能进流质[13,14]; (3)返流反酸分级: 0-半卧位无反流; 1-半卧位餐后反流; 2-半卧位空腹反流; 3-立位餐后反流; 4-立位空腹反流[14,15].

1.2.2 手术: 两组手术人员均有数十年行食管、贲门癌根治手术经验，术式按肿瘤位置不同分别采用左胸一切口手术，右胸和腹部正中切口手术(Ivor-Luwis)，右胸、腹部正中和左侧颈部

表 1 食管癌患者临床病例资料

临床资料	实验组	对照组	*P*值
n	78	166	
年龄(岁)	61.8±9.6	62.6±9.97	0.52
性别(男/女)	57/21	122/44	0.95
肿瘤位置(*n*)			0.73
食管上段	2	3	
食管中段	33	62	
食管下段	21	56	
贲门	22	45	
吻合部位(*n*)			0.97
颈部	4	8	
胸膜顶	15	28	
主动脉弓上	24	55	
主动脉弓下	35	75	
TNM分期(*n*)			0.93
0	1	1	
ⅠA	3	8	
ⅠB	12	34	
ⅡA	26	46	
ⅡB	12	20	
ⅢA	18	43	
ⅢB	2	6	
ⅢC	4	8	
合并症(*n*)			
高血压	10	25	0.64
慢性阻塞性肺病	5	7	0.67
冠心病	7	10	0.40
糖尿病	4	12	0.54

三切口手术. 常规游离胃, 保留胃网膜右血管, 离断其向大网膜的分支、胃短血管及胃左血管. 自胃底至胃角用直线切割自动缝合器(美国强生公司)切除贲门及胃小弯部分胃组织制作管状胃, 保留管状胃直径约5-6 cm备用. 然后向上游离食管至相应水平, 食管中上段癌行左颈部吻合, 食管中下段癌行经食管床主动脉弓上或胸膜顶吻合, 贲门癌行胃食管主动脉弓下吻合, 清扫相应区域淋巴结. 将管状胃经食管床上提至相应部位行食管胃吻合, 均采用25 mm管状吻合器吻合(美国强生公司). 对照组在食管胃吻合后将吻合口上下0.5-1.0 cm处的胃浆肌层与食管外膜肌层内翻缝合包埋处理4针. 实验组仅行单纯吻合, 不做包埋处理. 留置胃肠减压管和十二指肠营养管.

统计学处理 采用SPSS19.0统计学软件进行数据分析, 计数资料的比较采用χ^2检验或精确概率法检验, 计量资料的比较采用*t*检验, $P<0.05$为差异有统计学意义.

表 2 两组患者手术并发症及疗效比较

	实验组	对照组	*P*值
n	78	166	
吻合口瘘	1	9	0.24
乳糜胸	1	3	1.00
肺部感染	5	15	0.49
切口感染	3	11	0.38
多脏器功能衰竭	4	15	0.29
喉返神经损伤	1	3	1.00
死亡	2	11	0.31
吻合口内径(mm)	13.23±2.9	10.91±2.8	0.00
吞咽困难评分			0.02
0	70	125	
1	4	18	
2	2	9	
3	0	3	
返流反酸评分			0.50
0	62	132	
1	9	15	
2	3	5	
3	2	3	
吻合口狭窄	4	27	0.01

2 结果

2.1 *术后并发症* 围手术期死亡13例, 实验组2例(其中吻合口瘘1例), 对照组11例(其中吻合口瘘9例). 两组患者术后各种并发症发生率的比较如表2.

2.2 *疗效比较* 所有患者术后1 mo均经门诊及住院进行随访并行食管钡餐造影检查, 测量吻合口直径. 对吞咽困难和反流反酸程度详细询问病史进行分级评分[13-15]并比较, 详细结果如表2.

3 讨论

目前手术治疗仍是食管、贲门癌的主要治疗手段, 食管、贲门癌多数患者年龄偏大, 伴有不同程度的合并症再加上手术创伤大等原因增加术后并发症的发生, 多数患者术后生活质量不够理想. 当前如何能预防和减少术后并发症发生、提高术后生活质量是摆在胸外科医师面前的重要课题. 目前国内外报道食管、贲门癌围手术期死亡率为3%-5%, 5年存活率20%-35%[14,16]. 本研究围手术期死亡患者13例(13/244), 其中实验组2例(吻合口瘘1例; 多器官功能脏器衰竭1例)死亡率为2.56%, 对照组11例(吻合口瘘9例; 多器官功能脏器衰竭1例; 肺栓塞1例), 死亡率为6.63%. 虽然实验组死亡率明显偏低, 但两组比较差异无显著意义($P = 0.31$), 后期

■相关报道

刘胜中等认为对食管、贲门癌患者行食管胃胸内器械吻合术治疗, 吻合口胃侧荷包缝合处理方法操作简单、安全, 不延长手术时间和住院时间, 也不增加手术风险, 可以有效减少食管胃胸内器械吻合术后吻合口瘘和吻合口狭窄的发生, 值得临床推广和应用.

■同行评价
本文资料详实, 写作规范, 结果可靠, 结论客观, 实用性、可读性较好, 对临床工作有一定参考价值.

需要扩大样本进一步验证.

吻合口瘘是食管、贲门癌切除术后最严重的并发症之一. 随着胃食管吻合技术的不断改进, 吻合口瘘的发生率正在不断下降. 吻合口瘘发生的原因复杂, 常见的原因包括: 吻合方法欠妥当、术中操作不当导致食管撕裂、食管游离过长、吻合口供血不良、胃扭转、吻合口张力过大、吻合器的操作不熟练、缝合钉脱落、缝合不严、术后减压引流不畅、更换气管插管时误入食管腔内以及术前合并糖尿病等[4,17-20]. 在本研究中吻合口瘘发生率为(11/244), 其中实验组1.28%(1/78); 对照组5.42%(9/166). 单纯吻合组吻合口瘘发生率低于包埋组, 但两组差异无统计学意义(P = 0.24). 可见食管胃吻合时胃浆肌层与食管外膜肌层内翻缝合包埋处理并没有有效降低吻合口瘘的发生率, 其可能的原因是包埋缝合减少了吻合口血液供应从而影响吻合口的愈合; 另外在缝合线打结过紧或者吻合口张力较大的情况下, 包埋缝合可能造成消化系管壁的割裂、撕脱, 增加了吻合口瘘的发生率. 从本研究结果可以看出单纯吻合组的吻合口瘘发生率明显低于包埋组, 因此可以认为吻合口内翻缝合包埋处理对吻合口瘘的发生无实际预防作用, 反而增加吻合口瘘的可能性.

吻合口狭窄是食管癌术后的常见并发症, 发生率仍然较高, 其造成患者吞咽困难的同时给患者带来了极大的心理负担, 加重了患者的痛苦, 降低患者术后的生活质量. 吻合口狭窄分良性狭窄和恶性狭窄两种. 一般良性吻合口狭窄主要与吻合方法、吻合器管径、术后并发吻合口瘘、吻合口包埋或套入过紧等因素有关; 恶性吻合口狭窄主要是由肿瘤组织复发引起[4,20-24]. 本研究中吻合口狭窄均为良性狭窄, 发生率为13.66%(31/231), 其中实验组5.26%(4/76), 对照组17.42%(27/155). 实验组吻合口狭窄发生率明显低于对照组, 两组间差异有统计学意义(P = 0.01). 同时, 两组患者术后1 mo吻合口内径(P = 0.00)、吞咽困难评分(P = 0.02)差异均有统计学意义. 分析原因可能包括: 吻合口内翻包埋缝合使周围重叠层次过多, 同时吻合口周围组织挤压使吻合口相对缩小, 此外吻合口在愈合过程中形成狭窄较小的瘢痕环一同导致了吻合口狭窄[24].

返流性胃食管吻合口炎为食管癌术后较常见的并发症. 主要是胃液返流所致, 临床表现为反酸、打嗝、胸骨后烧灼感或针刺样疼痛, 影响患者术后生活质量[25,26]. 本研究中, 实验组和对照组术后1-3 mo反流反酸评分的差异无统计学意义(P = 0.50), 因此吻合口内翻包埋缝合对返流性胃食管吻合口炎无有效的预防作用.

总之, 食管、贲门癌切除术中食管胃吻合口内翻缝合包埋处理, 增加手术步骤, 操作过程复杂, 对预防吻合口瘘的发生无实际意义, 对返流性胃食管吻合口炎无有效的预防作用, 并且增加术后吻合口狭窄的发生率. 因此有理由认为食管、贲门癌切除术中, 没有必要行吻合口内翻缝合包埋处理.

本研究的患者例数较少, 随访时间仅为1-3 mo, 尚缺乏远期疗效及其他生命质量指标的评价. 此外, 患者吞咽困难及反酸反流均为主观症状, 缺乏内镜下胃酸检测及食管动力检测的客观依据, 故需对大宗病例进行长期随访, 以及进一步建立客观指标来证实手术效果.

4 参考文献

1 乔保安. 食管手术并发症的原因及治疗分析. 中国实用医药 2010; 7: 65-66
2 Sarela AI, Tolan DJ, Harris K, Dexter SP, Sue-Ling HM. Anastomotic leakage after esophagectomy for cancer: a mortality-free experience. *J Am Coll Surg* 2008; 206: 516-523 [PMID: 18308224 DOI: 10.1016/j.jamcollsurg.2007.09.016]
3 Pines G, Buyeviz V, Machlenkin S, Klein Y, Laor A, Kashtan H. The use of circular stapler for cervical esophagogastric anastomosis after esophagectomy: surgical technique and early postoperative outcome. *Dis Esophagus* 2009; 22: 274-278 [PMID: 19431220 DOI: 10.1111/j.1442-2050.2008.00913.x]
4 李海波, 肖波, 方强, 任光国, 曹伯雄. 食管癌切除术颈部机械吻合与手工吻合的疗效分析. 中华消化外科杂志 2013; 12: 38-41
5 Toh Y, Sakaguchi Y, Ikeda O, Adachi E, Ohgaki K, Yamashita Y, Oki E, Minami K, Okamura T. The triangulating stapling technique for cervical esophagogastric anastomosis after esophagectomy. *Surg Today* 2009; 39: 201-206 [PMID: 19280278 DOI: 10.1007/s00595-008-3827-2]
6 陈文树, 付向宁, 徐澄澄, 张霓, 潘小杰, 刘曌宇. 管状胃对食管癌手术后胃食管反流的影响. 华中科技大学学报(医学版) 2011; 40: 593-596
7 侯建国, 赵现军, 管福顺, 方卫红, 连永丰. 包套式食管全层胃黏膜吻合技术在食管癌切除术中的应用. 中国实用医刊 2012; 39: 58-60
8 赵澜涛, 陈建海, 王永宏, 王亮. 带蒂大网膜对食管癌胸内吻合口瘘作用的临床分析. 临床外科杂志 2013; 21: 369-371
9 朱勇, 于海明, 张宇, 郑勇, 王相臣, 刘建华. 带蒂大网膜围领式包埋吻合口区预防食管胃连接部肿瘤术后吻合口瘘. 中国实用医药 2010; 5: 135-136
10 Asteriou C, Barbetakis N, Lalountas M, Kleontas A, Tsilikas C. Modified pleural tenting for prevention of anastomotic leak after Ivor Lewis esophagogastrectomy. *Ann Surg Oncol* 2011; 18: 3737-3742 [PMID: 21674267 DOI: 10.1245/s10434-011-1835-8]
11 Dai JG, Zhang ZY, Min JX, Huang XB, Wang JS.

Wrapping of the omental pedicle flap around esophagogastric anastomosis after esophagectomy for esophageal cancer. *Surgery* 2011; 149: 404-410 [PMID: 20850852 DOI: 10.1016/j.surg.2010.08.005]
12 魏小栋, 夏军, 罗彬, 黄杰, 吴晓健, 胡浩, 程邦昌. 食管胃器械吻合术后吻合口狭窄的原因及预防. 临床外科杂志 2012; 20: 118-119
13 马瑞东, 张文通, 许起荣, 陈龙奇. 食管胃侧侧吻合预防吻合口狭窄的临床随机对照研究. 中华外科杂志 2010; 48: 577-581
14 Nederlof N, Tilanus HW, Tran TC, Hop WC, Wijnhoven BP, de Jonge J. End-to-end versus end-to-side esophagogastrostomy after esophageal cancer resection: a prospective randomized study. *Ann Surg* 2011; 254: 226-233 [PMID: 21725230 DOI: 10.1097/SLA.0b013e31822676a9]
15 Xu QR, Wang KN, Wang WP, Zhang K, Chen LQ. Linear stapled esophagogastrostomy is more effective than hand-sewn or circular stapler in prevention of anastomotic stricture: a comparative clinical study. *J Gastrointest Surg* 2011; 15: 915-921 [PMID: 21484495 DOI: 10.1007/s11605-011-1490-1]
16 侯予龙, 赵建强, 郭伟, 臧豹, 唐德荣. 俯卧位和左侧卧位胸腔镜食管切除术治疗食管癌疗效比较. 中华胃肠外科杂志 2012; 15: 950-953
17 Migita K, Takayama T, Matsumoto S, Wakatsuki K, Enomoto K, Tanaka T, Ito M, Nakajima Y. Risk factors for esophagojejunal anastomotic leakage after elective gastrectomy for gastric cancer. *J Gastrointest Surg* 2012; 16: 1659-1665 [PMID: 22688419 DOI: 10.1007/s11605-012-1932-4]
18 Deguchi Y, Fukagawa T, Morita S, Ohashi M, Saka M, Katai H. Identification of risk factors for esophagojejunal anastomotic leakage after gastric surgery. *World J Surg* 2012; 36: 1617-1622 [PMID: 22415758 DOI: 10.1007/s00268-012-1559-3]
19 吴正国, 龚家权. 机械吻合和手工吻合在国人食管癌术后吻合口发生率的Meta分析. 肿瘤防治研究 2011; 38: 823-826
20 Raz DJ, Tedesco P, Herbella FA, Nipomnick I, Way LW, Patti MG. Side-to-side stapled intra-thoracic esophagogastric anastomosis reduces the incidence of leaks and stenosis. *Dis Esophagus* 2008; 21: 69-72 [PMID: 18197942 DOI: 10.1111/j.1442-2050.2007.00736.x]
21 van Heijl M, Gooszen JA, Fockens P, Busch OR, van Lanschot JJ, van Berge Henegouwen MI. Risk factors for development of benign cervical strictures after esophagectomy. *Ann Surg* 2010; 251: 1064-1069 [PMID: 20485137 DOI: 10.1097/SLA.0b013e3181deb4b7]
22 Wang WP, Gao Q, Wang KN, Shi H, Chen LQ. A prospective randomized controlled trial of semi-mechanical versus hand-sewn or circular stapled esophagogastrostomy for prevention of anastomotic stricture. *World J Surg* 2013; 37: 1043-1050 [PMID: 23381675]
23 曹伯雄, 任光国, 肖波, 方强, 李海波. 食管癌切除术后吻合口狭窄的原因. 中华胸心血管外科杂志 2013; 29: 138-139
24 郑衍洪, 黄厚沐, 马炳太, 陈少蓬, 丁永清. 食管癌术后吻合口狭窄的原因分析. 中国现代药物应用 2012; 6: 18-19
25 Ichikawa D, Komatsu S, Okamoto K, Shiozaki A, Fujiwara H, Otsuji E. Evaluation of symptoms related to reflux esophagitis in patients with esophagogastrostomy after proximal gastrectomy. *Langenbecks Arch Surg* 2013; 398: 697-701 [PMID: 22350615]
26 段红兵, 李敏杰, 康建乐. 管状胃成形对预防食管癌切除术后胃食管反流的作用. 中国胸心血管外科临床杂志 2010; 17: 417-419

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年4月18日; 22(11): 1564-1568
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

血浆内脏脂肪素与非酒精性脂肪性肝病患者内脏脂肪厚度的关系

蔡怀阳, 李运泽, 李 莉, 涂 强

■背景资料
近年来许多研究发现, 内脏脂肪素可能与肥胖、胰岛素抵抗和脂代谢密切相关. 经超声测量的内脏脂肪厚度不仅能评价内脏型肥胖, 还可以评价心血管病和代谢疾病的危险性.

蔡怀阳, 李运泽, 柳州市人民医院消化内科 广西壮族自治区柳州市 545006
李莉, 柳州市人民医院感染科 广西壮族自治区柳州市 545006
涂强, 柳州市人民医院体检部 广西壮族自治区柳州市 545006
蔡怀阳, 主治医师, 主要从事肝脏疾病的研究.
广西柳州市科学技术局健康安全技术开发与应用研究基金资助项目, No. 2008031423
作者贡献分布: 蔡怀阳与李运泽对此文所作贡献均等; 此课题由李运泽设计; 研究过程由李运泽、蔡怀阳、李莉及涂强共同完成; 数据分析由蔡怀阳与李运泽完成; 本论文写作由蔡怀阳与李运泽完成.
通讯作者: 李运泽, 教授, 545006, 广西壮族自治区柳州市文昌路8号, 柳州市人民医院消化内科. lyze@163.com
电话: 0772-2662775
收稿日期: 2014-02-16 修回日期: 2014-03-09
接受日期: 2014-03-13 在线出版日期: 2014-04-18

Relationship between plasma visfatin and visceral fat thickness measured by ultrasonography in nonalcoholic fatty liver disease

Huai-Yang Cai, Yun-Ze Li, Li Li, Qiang Tu

Huai-Yang Cai, Yun-Ze Li, Department of Gastroenterology, the People's Hospital of Liuzhou, Liuzhou 545006, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China
Li Li, Department of Infectious Diseases, the People's Hospital of Liuzhou, Liuzhou 545006, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China
Qiang Tu, Department of Physical Examination, the People's Hospital of Liuzhou, Liuzhou 545006, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China
Supported by: The Research Fund for Health Safty and Technological Development & Application of Liuzhou Administration of Science &Technology, No. 2008031423
Correspondence to: Yun-Ze Li, Professor, Department of Gastroenterology, the People's Hospital of Liuzhou, 8 Wenchang Road, Liuzhou 545006, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. lyze@163.com
Received: 2014-02-16 Revised: 2014-03-09
Accepted: 2014-03-13 Published online: 2014-04-18

Abstract

AIM: To investigate the relationship between plasma visfatin and visceral fat thickness measured by ultrasonography in nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD).

METHODS: One hundred and seventy subjects were enrolled in the study, including 110 patients with NAFLD and 60 healthy controls. Blood pressure (BP), height, weight, waist circumference (WC), hip circumference, body mass index (BMI), waist-hip ratio (WHR), triglyceride (TG), total cholesterol (TC), fasting blood glucose, liver function, fasting insulin and plasma visfatin were measured in each subject and the homeostasis model assessment of insulin resistance (HOMA-IR) was calculated according to the typical HOMA model. Visceral fat thickness was measured by ultrasonography.

RESULTS: Visceral fat thickness, BMI, WHR, HOMA-IR and plasma visfatin were significantly higher in NAFLD patients than in normal controls ($P < 0.05$ for all). Multiple linear regression analysis showed there was a significantly positive correlation between visceral fat thickness and plasma visfatin ($P < 0.05$). As NAFLD aggravated, the correlations became more significant ($r = 0.363, 0.687, 0.722$ respectively, $P < 0.05$ for all).

CONCLUSION: Plasma visfatin and visceral fat thickness are significantly higher in NAFLD patients than in normal controls. There is a significant correlation between visceral fat thickness and plasma visfatin.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Nonalcoholic fatty liver disease; Visceral fat thickness; Plasma visfatin

Cai HY, Li YZ, Li L, Tu Q. Relationship between plasma visfatin and visceral fat thickness measured by ultrasonography in nonalcoholic fatty liver disease. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(11): 1564-1568 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1564.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i11.1564

摘要

目的: 探讨血浆内脏脂肪素与非酒精性脂

■同行评议者
迟宝荣, 教授, 吉林大学第一医院消化内科

肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)患者内脏脂肪厚度的关系.

方法: 选择进行健康体检的人员共170例; 分成两组: 即NAFLD组110例(分轻度40例、中度40例和重度30例), 健康对照组60例, 入选者空腹检查血压、身高、体质量、臀围、腰围、甘油三脂、总胆固醇、血糖、肝功能、血浆胰岛素水平和血浆内脏脂肪素测定, 计算体质量指数(body mass index, BMI)、腰臀比(waist-hip ratio, WHR), 并用稳态模型评估的胰岛素抵抗指数(homeostasis model assessment, HOMA-IR), 超声测量内脏脂肪厚度.

结果: 健康对照组与NAFLD组的内脏脂肪厚度、BMI、WHR、HOMA-IR、内脏脂肪素等指标差异存在统计学意义(P<0.05), 多元线性回归分析显示, 内脏脂肪素与内脏脂肪厚度呈正相关(P<0.05). 其相关性随脂肪肝的加重而增强(r值依次为0.363, 0.687, 0.722, P<0.05).

结论: NAFLD患者血浆内脏脂肪素水平及超声测定的内脏脂肪厚度明显高于健康人群; 提示血浆内脏脂肪素水平与内脏脂肪厚度呈强烈相关性.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 非酒精性脂肪性肝病; 内脏脂肪素; 内脏脂肪厚度

核心提示: 本文通过比较内脏脂肪素与内脏脂肪厚度的关系, 提示内脏脂肪素与内脏脂肪厚度呈强烈相关性, 随脂肪肝的加重而增强, 而内脏脂肪素与皮下脂肪厚度的相关性则无明显变化.

蔡怀阳, 李运泽, 李莉, 涂强. 血浆内脏脂肪素与非酒精性脂肪性肝病患者内脏脂肪厚度的关系. 世界华人消化杂志 2014; 22(11): 1564-1568 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1564.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i11.1564

0 引言

内脏脂肪素是新近发现的一种由内脏脂肪细胞分泌的脂肪细胞因子. 近年来许多研究发现, 内脏脂肪素具有类胰岛素样作用, 还能促进脂肪的合成和聚集, 可能与肥胖、胰岛素抵抗和脂代谢密切相关. 国外的研究报道超声能够用来定量测定内脏脂肪和皮下脂肪, 用来评价内脏型肥胖, 而且和CT呈最好的相关性, 可以替代CT[1,2]. 经超声测量的内脏脂肪厚度可能与血浆内脏脂肪素水平以及非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)的发生有相关关系. 但国内在这方面的研究较少, 目前尚未见有相关文献报道. 本研究旨在探讨血浆内脏脂肪素水平与NAFLD患者内脏脂肪厚度的相关关系.

■研发前沿
内脏脂肪厚度可能与血浆内脏脂肪素水平以及非酒精性脂肪性肝病的发生有相关关系. 但国内在这方面的研究较少, 目前尚未见有相关文献报道.

1 材料和方法

1.1 材料 NAFLD的诊断标准采用2010年中华医学会肝脏病学分会脂肪肝和酒精性肝病学组制定的NAFLD诊断标准[3]. 选择柳州市人民医院体检部进行健康体检的人员共170例; 剔除过量饮酒(乙醇摄入量男性210 g/wk, 女性140 g/wk)、慢性病毒性肝炎、肝硬化、妊娠和哺期妇女、自身免疫性和遗传学性肝病及入选时已有多元代谢紊乱和心脑血管疾病的人群. 分成两组: 即NAFLD组110例(分轻度40例、中度40例和重度30例), 正常对照组60例.

1.2 方法

1.2.1 生理指标的测定: 采用台式水银血压计, 受检者坐位测量肱动脉压, 连续测量3次, 取平均值为个体血压值. 受检者空腹、免冠、脱鞋, 仅穿单衣测量其身高、体质量、腰围、臀围. 腰围: 取腋中线肋弓下缘至髂前上棘连线的中点水平面周径. 臀围: 取两侧股骨粗隆水平面周径. 体质量指数(body mass index, BMI) = 体质量(kg)/身高^2(m^2). 腰臀比(waist-hip ratio, WHR) = 腰围/臀围.

1.2.2 生化指标的测定: 抽取禁食12 h后的次日清晨空腹肘静脉血, 分离血清2 mL, 用酶联免疫法(日立7170-S全自动生化分析仪)测定甘油三脂、总胆固醇、血糖、肝功能等. 分离血清4 mL, 采用BL-9600化学发光分析仪(天津贝尔公司)测定血清空腹胰岛素水平. 稳态模型评估的胰岛素抵抗指数(homeostasis model assessment, HOMA-IR) = 空腹血糖(fasting blood glucose, FBG)×空腹胰岛素(fasting insulin, FINS)/22.5.

1.2.3 血浆内脏脂肪素的标本采集及测定: 采生化指标血样同时留取肘静脉血2 mL, EDTA抗凝, 室温静置30 min后, 离心机3000 r/min离心15 min, 分离血浆0.5 mL, -80 ℃保存待检. 试剂盒购自武汉博士公司, 采用酶联免疫吸附法(ELISA)测定血浆内脏脂肪素水平.

1.2.4 内脏脂肪厚度的测定: 先作B超检查, 所有受检者由同一人操作, 探头位于脐上1.0 cm, 探头频率7.5 MHz, 测量皮下脂肪厚度; 探头频率3.5 MHz测量内脏脂肪厚度, 内脏脂肪厚度为腹

■相关报道
目前有较多关于内脏脂肪素、内脏脂肪厚度与肥胖、代谢综合征等关系的文献报道, 但关于内脏脂肪素与超声测定的内脏脂肪厚度的关系尚未有文献发表.

表 1 对照组与各NAFLD组相关资料

相关资料	健康对照组	轻度脂肪肝组	中度脂肪肝组	重度脂肪肝组
男/女	35/25	24/16	30/10	22/8
年龄(岁)	47±13	49±11	49±14	43±13
身高(cm)	165.7±5.5	165.8±6.6	167.6±5.7	167.1±6.5
体质量(kg)	62.34±8.56	72.64±12.28^{b}	80.38±8.45^{bc}	81.78±12.49^{bc}
BMI(kg/m^2)	23.3±2.9	26.3±3.1^{b}	28.5±2.4^{bc}	28.6±3.2^{bc}
WHR	0.84±0.05	0.89±0.07^{b}	0.92±0.6^{b}	0.91±0.05^{b}
收缩压(mmHg)	129±13	135±12^{a}	139±16^{b}	141±12^{b}
舒张压(mmHg)	78±12	84±8^{a}	85±8^{b}	85±5^{b}
HOMA-IR	1.06±0.59	1.78±0.73^{b}	2.49±0.82^{bc}	2.64±1.37^{bc}
甘油三酯(mmol/L)	1.68±1.37	2.22±1.36	3.32±2.15^{bc}	2.22±1.19
胆固醇(mmol/L)	4.95±0.85	5.27±0.94	5.37±1.37	5.16±0.94
总胆红素(μmol/L)	13.70±3.36	13.91±3.25	16.16±7.41	16.19±4.21
直接胆红素(μmol/L)	4.31±1.38	4.14±1.50	4.24±1.95	4.73±1.15
间接胆红素(μmol/L)	9.39±2.22	9.78±2.21	11.92±5.77	11.50±3.48
白蛋白(g/L)	47.99±3.43	48.54±3.16	48.44±3.18	49.55±2.55
谷丙转氨酶(U/L)	21.6±10.7	25.2±10.7	39.2±19.3^{bc}	40.5±18.6^{bc}
谷草转氨酶(U/L)	23.3±8.3	22.3±5.6	28.3±8.6^{ac}	32.4±12.5^{bc}
内脏脂肪素(μg/L)	17.33±3.22	41.51±20.05^{b}	57.71±23.20^{bc}	58.96±23.27^{bc}
皮下脂肪厚度(mm)	21.3±6.2	29.7±6.3	29.0±5.6^{b}	29.3±5.8^{b}
内脏脂肪厚度(mm)	46.4±8.8	66.6±10.0^{b}	74.5±11.1^{bc}	83.5±12.7^{bce}

^{a}P<0.05, ^{b}P<0.01 *vs* 健康对照组; ^{c}P<0.05 *vs* 轻度脂肪肝组; ^{e}P<0.05 *vs* 中度脂肪肝组. BMI: 体质量指数; WHR: 腰臀比; HOMA-IR: 胰岛素抵抗指数.

直肌内缘到大动脉前壁的距离.

统计学处理 采用SPSS13.0统计软件包进行统计, 计数资料以率(%)表示, 采用χ^2检验; 所有计量资料以mean±SD表示, 各组之间比较均进行方差齐性检验, 两组间显著性比较用*t*检验. 多因素相关性用逐步法多元线性回归分析. P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 临床及实验室指标的比较 健康对照组与NAFLD组的性别构成、年龄、身高、总胆红素、直接胆红素、间接胆红素、白蛋白、胆固醇、甘油三酯比较差异均无统计学意义(P>0.05). 而体质量、BMI、WHR、内脏脂肪素、收缩压、舒张压、HOMA-IR、内脏脂肪厚度、皮下脂肪厚度等指标差异存在统计学意义(P<0.05或0.01). 内脏脂肪素在轻度、中度、重度NAFLD中依次升高, 轻度NAFLD组与中重度NAFLD组差异有统计学意义(P<0.05). 内脏脂肪厚度在轻度、中度、重度NAFLD各组中两两比较差异均有统计学意义(P<0.05)(表1).

2.2 相关分析 以内脏脂肪素为因变量, 内脏脂肪厚度、皮下脂肪厚度等为自变量进行逐步法多元线性回归分析, 结果显示内脏脂肪素与内脏脂肪厚度、皮下脂肪厚度呈正相关(表2). 在轻度、中度、重度脂肪肝组, 内脏脂肪素与内脏脂肪厚度的相关性随脂肪肝的加重而增强(*r*值依次为0.363、0.687、0.722), 而内脏脂肪素与皮下脂肪厚度的相关性则无明显变化(*r*值依次为0.414、0.426、0.451).

3 讨论

2005-01日本大阪大学的Fukuhara等[4]在内脏脂肪组织中发现一种高度表达的mRNA, 序列分析显示与前B细胞克隆增强因子结构一致, 临床试验及动物实验均发现其主要在内脏脂肪中高度表达与皮下脂肪组织关系不大, 故将其命名为内脏脂肪素. 荧光免疫原位杂交法显示其还主要在骨髓、肝脏、肌肉、淋巴组织及胎膜中表达[5]. 研究表明, 内脏脂肪素与肥胖、2型糖尿病、动脉粥样硬化、缺血性脑血管病等均有密切关系[6-9].

本研究结果显示, 血浆内脏脂肪素在NAFLD患者中表达增加, 且随着脂肪肝的加重,

表 2 血浆内脏脂肪素多元线性回归分析

变量	回归系数	标准误	标准化偏回归系数	t值	P值
轻度脂肪肝组					
皮下脂肪厚度	0.971	0.216	0.414	4.504	0.000
内脏脂肪厚度	0.468	0.121	0.363	3.862	0.000
中度脂肪肝组					
皮下脂肪厚度	1.493	0.321	0.426	4.656	0.000
内脏脂肪厚度	1.007	0.107	0.687	9.371	0.000
重度脂肪肝组					
皮下脂肪厚度	1.509	0.319	0.451	4.739	0.000
内脏脂肪厚度	0.851	0.087	0.722	9.796	0.000

■创新盘点

内脏脂肪素与内脏脂肪厚度的关系尚不清楚, 本文通过测定健康对照组与非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)组的内脏脂肪素与内脏脂肪厚度, 探讨血浆内脏脂肪素与NAFLD患者内脏脂肪厚度的关系.

血浆内脏脂肪素水平逐渐升高. 有研究表明, 在大鼠NAFLD模型中, 随着高脂饲料饲养大鼠NAFLD的逐渐形成, 在肝组织中内脏脂肪素表达逐渐升高, 内脏脂肪素的表达变化与肝脂肪变程度相一致[10]. 关于内脏脂肪素在NAFLD病理变化中的影响的研究结果显示肝组织活检的几种病理学改变可以用胰岛素浓度、胰岛素抵抗、脂肪量说明. 而且, 内脏脂肪素血浆浓度可预测NAFLD患者肝门炎症的存在[11].

经超声测量的内脏脂肪厚度是一项简便、可靠和实用的评价内脏性肥胖的指标. 经超声测量的内脏脂肪厚度不仅能评价内脏型肥胖, 还可以评价心血管病和代谢疾病的危险性[12]. 相关研究表明腹部内脏脂肪厚度与冠状动脉粥样硬化及代谢综合征密切相关[13,14]. 本研究结果显示, NAFLD患者与健康对照组比较, 超声测量的内脏脂肪厚度有统计学差异, 而且内脏脂肪厚度在轻度、中度、重度NAFLD各组中两两比较差异均有统计学意义. 相关分析表明在NAFLD组, 内脏脂肪厚度与BMI、腰臀比、胰岛素抵抗指数呈正相关. 这说明超声测量内脏脂肪厚度与NAFLD可能存在相关性, 并且有可能在一定程度上可以反映NAFLD的严重程度.

目前的研究表明, 血浆内脏脂肪素、内脏脂肪厚度与NAFLD关系密切, 可在一定程度上诊断NAFLD, 并反映NAFLD的严重程度. 但内脏脂肪素与内脏脂肪厚度的关系尚不明确, 相关研究甚少. Fukuhara等[4]对101例男性和女性受试者进行研究发现, 血浆内脏脂肪素浓度与内脏脂肪量成强烈的正相关($r = 0.68$, $P<0.001$), 而仅与皮下脂肪量有微弱的关系($r = 0.22$, $P>0.05$). 在6-12 wk内迅速肥胖的2型模型鼠的研究中发现, 在逐渐肥胖的过程中, 血浆内脏脂肪素显著升高, 内脏脂肪组织中内脏脂肪素mRNA表达水平也相应升高, 而皮下脂肪组织和肝脏中内脏脂肪素mRNA表达水平较低. 另有研究结果发现, 血浆内脏脂肪素浓度与内脏脂肪mRNA表达成正相关, 而与皮下脂肪表达成负相关[15]. 本研究结果表明, 内脏脂肪素与超声测定的内脏脂肪厚度及皮下脂肪厚度均呈正相关, 内脏脂肪素与内脏脂肪厚度相关性较皮下脂肪厚度更强烈. 在轻度、中度、重度脂肪肝组中, 内脏脂肪素与内脏脂肪厚度的相关性随脂肪肝的加重而增强, 而内脏脂肪素与皮下脂肪厚度的相关性则无明显变化.

总之, 血浆内脏脂肪素水平与NAFLD的发生、发展有关; 超声测定内脏脂肪厚度是评价NAFLD有效指标, 本研究发现内脏脂肪素与内脏脂肪厚度呈强烈相关性, 但其用于临床评价NAFLD尚需更多的研究证实.

4 参考文献

1 Iacobellis G, Ribaudo MC, Assael F, Vecci E, Tiberti C, Zappaterreno A, Di Mario U, Leonetti F. Echocardiographic epicardial adipose tissue is related to anthropometric and clinical parameters of metabolic syndrome: a new indicator of cardiovascular risk. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 5163-5168 [PMID: 14602744 DOI: 10.1210/jc.2003-030698]

2 Stolk RP, Meijer R, Mali WP, Grobbee DE, van der Graaf Y. Ultrasound measurements of intraabdominal fat estimate the metabolic syndrome better than do measurements of waist circumference. *Am J Clin Nutr* 2003; 77: 857-860 [PMID: 12663283]

3 中华医学会肝脏病学分会脂肪肝和酒精性肝病学组. 非酒精性脂肪性肝病诊疗指南. 中华肝病杂志 2010; 18: 163-166

4 Fukuhara A, Matsuda M, Nishizawa M, Segawa K, Tanaka M, Kishimoto K, Matsuki Y, Murakami M, Ichisaka T, Murakami H, Watanabe E, Takagi T, Akiyoshi M, Ohtsubo T, Kihara S, Yamashita S, Makishima M, Funahashi T, Yamanaka S, Hiramatsu R, Matsuzawa Y, Shimomura I. Visfatin:

■同行评价
国内外有内脏脂肪厚度、内脏脂肪素与肥胖、代谢综合征、动脉粥样硬化、2型糖尿病等的相关研究, 而作者研究的是NAFLD, 有一定的意义.

a protein secreted by visceral fat that mimics the effects of insulin. *Science* 2005; 307: 426-430 [PMID: 15604363 DOI: 10.1126/science.1097243]
5 Ognjanovic S, Bryant-Greenwood GD. Pre-B-cell colony-enhancing factor, a novel cytokine of human fetal membranes. *Am J Obstet Gynecol* 2002; 187: 1051-1058 [PMID: 12389004 DOI: 10.1067/mob.2002.126295]
6 Varma V, Yao-Borengasser A, Rasouli N, Bodles AM, Phanavanh B, Lee MJ, Starks T, Kern LM, Spencer HJ, McGehee RE, Fried SK, Kern PA. Human visfatin expression: relationship to insulin sensitivity, intramyocellular lipids, and inflammation. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92: 666-672 [PMID: 17090638 DOI: 10.1210/jc.2006-1303]
7 Dogru T, Sonmez A, Tasci I, Bozoglu E, Yilmaz MI, Genc H, Erdem G, Gok M, Bingol N, Kilic S, Ozgurtas T, Bingol S. Plasma visfatin levels in patients with newly diagnosed and untreated type 2 diabetes mellitus and impaired glucose tolerance. *Diabetes Res Clin Pract* 2007; 76: 24-29 [PMID: 16956691 DOI: 10.1016/j.diabres.2006.07.031]
8 Adya R, Tan BK, Chen J, Randeva HS. Nuclear factor-kappaB induction by visfatin in human vascular endothelial cells: its role in MMP-2/9 production and activation. *Diabetes Care* 2008; 31: 758-760 [PMID: 18184904 DOI: 10.2337/dc07-1544]
9 齐艳, 李东艳. 急性脑梗塞患者血清内脏脂肪素水平及其相关性. 兰州大学学报(医学版) 2010; 36: 54-57
10 杨丽, 陈东风. 内脏脂肪素在大鼠非酒精性脂肪性肝病模型中的变化及作用. 重庆医学 2008; 37: 1948-1955
11 Aller R, de Luis DA, Izaola O, Sagrado MG, Conde R, Velasco MC, Alvarez T, Pacheco D, González JM. Influence of visfatin on histopathological changes of non-alcoholic fatty liver disease. *Dig Dis Sci* 2009; 54: 1772-1777 [PMID: 19005759 DOI: 10.1007/s10620-008-0539-9]
12 Kim SK, Kim HJ, Hur KY, Choi SH, Ahn CW, Lim SK, Kim KR, Lee HC, Huh KB, Cha BS. Visceral fat thickness measured by ultrasonography can estimate not only visceral obesity but also risks of cardiovascular and metabolic diseases. *Am J Clin Nutr* 2004; 79: 593-599 [PMID: 15051602]
13 杨成宇. 超声检测内脏脂肪厚度与老年人动脉粥样硬化的相关关系. 临床和实验医学杂志 2011; 10: 412-414
14 李浙成, 胡智星, 童跃峰, 梅起化, 徐永远, 黄金莲, 吴青, 应显星, 胡江飚. 超声测量的内脏脂肪厚度和代谢综合征的关系. 中华高血压杂志 2006; 14: 874-878
15 Berndt J, Klöting N, Kralisch S, Kovacs P, Fasshauer M, Schön MR, Stumvoll M, Blüher M. Plasma visfatin concentrations and fat depot-specific mRNA expression in humans. *Diabetes* 2005; 54: 2911-2916 [PMID: 16186392 DOI: 10.2337/diabetes.54.10.2911]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年4月18日; 22(11): 1569-1573
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

聚乙二醇干扰素α-2b治疗慢性乙型肝炎的疗效

董格峰, 孙玉秋, 李 程, 解双双

董格峰, 孙玉秋, 李程, 解双双, 山东大学附属济南市传染病医院肝病科 山东省济南市 250021
董格峰, 主任医师, 主要从事重型肝炎与肝炎肝硬化、乙型肝炎联合抗病毒治疗的研究.
作者贡献分布: 本论文的课题设计与研究过程由董格峰完成; 试剂由李程与解双双的提供; 研究过程、论文写作及其他工作由孙玉秋完成.
通讯作者: 孙玉秋, 副主任医师, 250021, 山东省济南市市中区小梁庄街13号, 山东大学附属济南市传染病医院肝病科.
sunyq1018@163.com
电话: 0531-87935971-8017
收稿日期: 2014-02-25 修回日期: 2014-03-10
接受日期: 2014-03-13 在线出版日期: 2014-04-18

Efficacy of pegylated interferon α-2b in treatment of chronic hepatitis B

Ge-Feng Dong, Yu-Qiu Sun, Cheng Li, Shuang-Shuang Xie

Ge-Feng Dong, Yu-Qiu Sun, Cheng Li, Shuang-Shuang Xie, Department of Hepatology, Jinan Infectious Disease Hospital Affiliated to Shandong University, Jinan 250021, Shandong Province, China
Correspondence to: Yu-Qiu Sun, Associate Chief Physician, Department of Hepatology, Jinan Infectious Disease Hospital Affiliated to Shandong University, 13 Xiaoliangzhuang Street, Shizhong District, Ji'nan 250021, Shandong Province, China. sunyq1018@163.com
Received: 2014-02-25 Revised: 2014-03-10
Accepted: 2014-03-13 Published online: 2014-04-18

Abstract

AIM: To investigate the efficacy of pegylated interferon α-2b (PEG-IFN α-2b) in the treatment of chronic hepatitis B (CHB).

METHODS: Sixty hospitalized patients with CHB who were treated with PEG-IFN α-2b from June 2012 to June 2013 were included in this study. Changes in tumor necrosis factor-α (TNF-α), γ interferon (IFN-γ), interleukin-6 (IL-6), IL-8 and IL-10 were observed between before and after treatment. HBeAg/HBeAb status and HBV DNA levels were detected 3, 6 and 9 mo after treatment.

RESULTS: After treatment, TNF-α, IFN-γ, IL-6, IL-8 and IL-10 showed significant changes compared with pretreatment data ($P < 0.05$). Three months after treatment, ALT normalization was achieved in 11 (18.33%) cases, negative conversion of HBeAg in 7 (11.66%) cases, and negative conversion of HBV DNA in 15 (25.00%) cases. Six months after treatment, ALT normalization was achieved in 32 (53.33%) cases, negative conversion of HBeAg in 20 (33.33%) cases, and negative conversion of HBV DNA in 26 (43.33%) cases. Nine months after treatment, ALT normalization was achieved in 46 (76.6%) cases, negative conversion of HBeAg in 37 (61.6%) cases, and negative conversion of HBV DNA in 37 (61.6%) cases. The rates of liver function recovery, HBeAg seroconversion and negative conversion of HBV DNA were significantly different between before and 3, 6 and 9 mo after treatment ($P < 0.05$).

CONCLUSION: PEG-IFN α-2b is effective in the treatment of CHB.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Pegylated interferon; Chronic hepatitis B; Clinical efficacy

Dong GF, Sun YQ, Li C, Xie SS. Efficacy of pegylated interferon α-2b in treatment of chronic hepatitis B. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(11): 1569-1573 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1569.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i11.1569

摘要

目的: 探讨聚乙二醇干扰素α-2b(paginated interferon α-2b, PEG-IFN α-2b)在治疗慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)的疗效.

方法: 选择2012-06/2013-06入院接受治疗的CHB患者60例, 对其使用PEG-IFN α-2b进行治疗, 观察患者用药前后肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)、γ干扰素(interferon-γ, IFN-γ)、白介素-6(interleukin-6, IL-6)、IL-8和IL-10变化, 并分析治疗后3、6、9 mo不同阶段时患者HBeAg/HBeAb与HBV DNA水平变化.

■背景资料
慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)在临床中属于常见疾病, 临床中常常给予保守治疗, 而保守治疗的药物也比较多, 而干扰素是其中常见的药物之一, 能够有效的改善患者临床症状, 并提高生存率. 而聚乙二醇干扰素α-2b(paginated interferon α-2b, PEG-IFN α-2b)是干扰素中的典型代表, 文章重点分析其应用效果.

■同行评议者
杨江华, 副教授, 皖南医学院弋矶山医院感染科

■研发前沿
本次研究重点分析PEG-IFN α-2b在慢性肝炎中的应用效果, 分析其对细胞因子和免疫功能以及肝功能的分析, 重点分析治疗前后肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)、γ干扰素(interferon-γ, IFN-γ)、白介素-6(interleukin-6, IL-6)、IL-8和IL-10等变化, 进一步的观察HBeAg/HBeAb与HBV DNA变化. 文章的研究例数较少, 需要大量的研究进一步证实.

结果: 患者在接受治疗后的各个阶段内TNF-α、IFN-γ、IL-6、IL-8和IL-10均出现变化, 且数据的比较差异有统计学意义(P<0.05); 患者接受治疗3 mo后丙氨酸转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)复常患者有11例, 复常率为18.33%、HBeAg转阴患者7例, 转阴率11.66%、HBeAg转阴患者15例, 转阴率为25.00%. 患者接受治疗6 mo后ALT复常患者有32例, 复常率为53.33%、HBeAg转阴患者20例, 转阴率33.33%、HBeAg转阴患者26例, 转阴率为43.33%. 患者接受治疗9 mo后ALT复常患者有46例, 复常率为76.6%、HBeAg转阴患者37例, 转阴率61.6%、HBeAg转阴患者37例, 转阴率为61.6%. 患者接受治疗3、6、9 mo后肝功能恢复率、HBeAg转阴率和HBV-DNA转阴率均存在明显差异, 具有统计学意义(P<0.05).

结论: PEG-IFN α-2b治疗CHB具有一定的临床意义, 值得在临床上推广使用.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 聚乙二醇干扰素; 慢性乙型肝炎; 临床疗效

核心提示: 聚乙二醇干扰素α-2b(paginated interferon α-2b, PEG-IFN α-2b)在治疗慢性乙型肝炎能够产生较强的抗病毒疗效与免疫调节作用. 患者白细胞下降程度轻, 且整个治疗中不良反应少, 且临床用药安全. 临床中对于应用其他抗病毒药物治疗失败的患者, 可以选择PEG-IFN α-2b进行治疗.

董格峰, 孙玉秋, 李程, 解双双. 聚乙二醇干扰素α-2b治疗慢性乙型肝炎的疗效. 世界华人消化杂志 2014; 22(11): 1569-1573
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1569.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i11.1569

0 引言

慢性肝病是目前世界上一种比较常见的、非常广泛的、危害也比较严重的慢性疾病之一. 慢性肝病主要是由感染病毒、情志郁结、劳欲过度等引起的疾病, 从而对肝经与肝络造成了伤害[1]. 乙型肝炎慢性化是一个由多种免疫细胞与细胞因子共同进行的过程, 其机制尚未明确. 肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)、γ干扰素(interferon-γ, IFN-γ)、白介素-6(interleukin-6, IL-6)、IL-8和IL-10是一组在乙型肝炎病变中存在重要作用的细胞. 目前有一部分药物对慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)患者细胞因子的变化产生了一定的影响[2]. 本文研究采用聚乙二醇干扰素α-2b(paginated interferon α-2b, PEG-IFN α-2b)治疗CHB患者60例, 能够有效的改善患者免疫功能, 并且较好地纠正其病毒侵害, 现作报告如下.

1 材料和方法

1.1 材料 选择2012-06/2013-06入我院接受治疗CHB患者60例. 其中男性36例, 女性24例; 年龄范围为21-59岁, 平均年龄30.21岁±2.33岁. 60例患者临床诊断均符合中华医学会肝病学分会、中华医学会感染病学分会于2005-12联合发布的《慢性乙型肝炎防治指南》标准; 60例患者中15例曾使用过普通干扰素, 使用无效后已停止用药4 mo. 16例患者曾使用过PEG-IFN α-2a, 由于中性粒细胞低于标准值已停药4 mo. 10例患者曾使用拉米夫定治疗, 使用无效后已停止用药4 mo. 19例患者从未使用过抗病毒药物进行治疗. 60例患者与家属均了解PEG-IFN α-2b的疗效、不良反应、经济承担等情况, 并均签字同意.

1.2 方法

1.2.1 治疗: 对所有患者使用PEG-IFN α-2b, 1.5 μg/kg, 1 wk/次, 注射方法为皮下注射. 持续注射时间为36 wk.

1.2.2 检测: (1)患者接受治疗4 wk后开始进行血常规检测, 静脉采血2.0 mL, 并进行离心处理, 离心率为3500 r/min, 离心时间为5 min. 选取上层清液备用. 每2周进行1次检测; 接受治疗4 wk后每月进行血常规检测, 持续至治疗结束; (2)患者接受治疗4 wk后开始进行乙型肝炎E抗原(hepatitis B e antigen, HBeAg)、乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)DNA检测. 每3 mo进行一次检测; (3)患者每3 mo检测甲状腺功能、血糖以及对尿常规进行检测; (4)患者接受3 mo治疗后进行血清细胞因子检测.

1.2.3 疗效判定: 本次研究参照中华医学会感染病学分会和肝病学分会2005-12制定的CHB防治指南的标准. (1)完全应答: 36 wk治疗结束后, 肝功能恢复正常, HBeAg/乙型肝炎E抗体(hepatitis B e antibody, HBeAb)血清转换, HBV DNA<4000 copies/mL; (2)部分应答: 36 wk治疗结束后肝功能相对于治疗前明显好转, HBV DNA下降超过2log或阴转, 但未出现HBeAg/HBeAb血清转换; (3)无应答: 36 wk治疗结束后相对于治疗前未出现明显好转, HBV DNA无明显下降甚至升高, 未出现HBeAg/HBeAb血清转换.

统计学处理 研究中所得到的相关数据采

表 1 治疗效果与部分细胞因子变化 (mean ± SD, pg/mL)

治疗阶段	IL-6			IL-8			IL-10		
	完全应答	部分应答	无应答	完全应答	部分应答	无应答	完全应答	部分应答	无应答
治疗前	34.8 ± 10.1	32.8 ± 11.9	27.8 ± 10.1	27.9 ± 12.5	24.9 ± 12.0	22.9 ± 7.9	19.8 ± 8.9	21.7 ± 7.9	22.9 ± 10.2
治疗3 mo	72.9 ± 15.8[b]	67.2 ± 14.4[b]	63.1 ± 11.8[b]	64.4 ± 14.8[b]	56.7 ± 7.6[b]	53.1 ± 12.6[b]	12.9 ± 4.9[b]	10.6 ± 4.8[b]	14.8 ± 7.2[a]
治疗6 mo	48.7 ± 16.6[a]	48.1 ± 13.7	40.5 ± 14.7[a]	42.3 ± 14.7[b]	41.7 ± 12.0	34.8 ± 10.9[a]	14.8 ± 5.9[a]	16.9 ± 11.1[a]	17.2 ± 7.8
治疗9 mo	32.7 ± 11.1	28.8 ± 10.6	27.7 ± 10.2	27.1 ± 12.6	22.2 ± 8.7	21.8 ± 8.9	25.3 ± 6.9	26.8 ± 8.9	27.1 ± 9.1

[a]*P*<0.05, [b]*P*<0.01 *vs* 治疗前. IL: 白介素.

表 2 治疗效果与部分细胞因子变化表 (mean ± SD, pg/mL)

治疗阶段	TNF-α			IFN-γ		
	完全应答	部分应答	无应答	完全应答	部分应答	无应答
治疗前	52.8 ± 12.1	48.1 ± 12.4	33.1 ± 10.1[c]	48.1 ± 16.5	42.6 ± 14.2	38.9 ± 12.9
治疗3 mo	133.9 ± 35.5[b]	117.2 ± 31.4[b]	83.1 ± 17.8[bc]	91.4 ± 15.8[b]	73.7 ± 17.6[be]	54.1 ± 10.6[bc]
治疗6 mo	61.74 ± 14.4[a]	62.1 ± 13.1	44.5 ± 13.7[a]	62.3 ± 19.7[a]	41.7 ± 12.0	44.8 ± 17.1
治疗9 mo	47.7 ± 13.1	45.8 ± 11.6	31.7 ± 10.1	49.1 ± 16.6	42.2 ± 13.7	31.8 ± 9.7

[a]*P*<0.05, [b]*P*<0.01 *vs* 治疗前; [c]*P*<0.05 *vs* 部分应答; [e]*P*<0.05 *vs* 完全应答. TNF-α: 肿瘤坏死因子-α; IFN-γ: 干扰素γ.

用SPSS12.0统计学数据处理软件进行处理分析, 各项参数以mean±SD表示, 采用*t*和χ^2检验, 以*P*<0.05为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 治疗后细胞因子变化应答对比 所有患者在接受治疗3 mo后IFN-γ、TNF-α、IL-6和IL-8水平达到最高, 而后开始出现下降. 在接受治疗9 mo时, 患者的IL-6和IL-8水平降低至低于治疗前水平. 在接受治疗3 mo后有应答组的IFN-γ、TNF-α、IL-6和IL-8水平相对于治疗前存在显著差异, 具有统计学意义, *P*<0.05. 在接受治疗9 mo后细胞因子水平降低至治疗前水平, 但不存在显著差异, 无统计学意义, *P*>0.05(表1, 2).

2.2 疗效对比 患者接受治疗3 mo后丙氨酸转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)复常患者有11例, 复常率为18.33%、HBeAg转阴患者7例, 转阴率11.66%、HBeAg转阴患者15例, 转阴率为25.00%. 患者接受治疗6 mo后ALT复常患者有32例, 复常率为53.33%、HBeAg转阴患者20例, 转阴率33.33%、HBeAg转阴患者26例, 转阴率为43.33%. 患者接受治疗9 mo后ALT复常患者有46例, 复常率为76.6%、HBeAg转阴患者37例, 转阴率61.6%、HBeAg转阴患者37例, 转阴率为61.6%. 患者接受治疗3、6、9 mo后肝功能恢复率、HBeAg转阴率和HBV DNA转阴率均存在明显差异, 具有统计学意义(*P*<0.05, 表3).

2.3 不良反应 在接受治疗后7 d内所有患者均出现不同程度的发热、头痛、乏力等症状, 在针对症状进行治疗或处理后症状有所缓解. 接受治疗3 mo后, 患者的中性粒细胞与血小板均有不同程度的下降. 其中2例患者出现皮疹, 但是经过处理后出现好转; 3例患者甲状腺功能出现变化, 在未经过特殊处理的持续观察下在结束治疗后恢复正常状态. 2例患者在用药期间出现轻度精神抑郁状态, 在调整用药剂量后症状自行缓解或消失.

3 讨论

PEG-IFN α-2b是一种共价结合物, 是由重组人干扰素α-2b与单甲氧基聚乙二醇所组构而成的[3]. 干扰素通过与细胞表面特异性细胞膜受体结合而产生作用. 如果干扰素与细胞膜结合后可以产生腹胀的细胞过程, 从而引导酶进行一系列

■相关报道
临床中研究中, 常常以干扰素进行治疗成年患者. 而本次研究重点阐述PEG-IFN α-2b的临床应用, 且临床中也有相关资料显示PEG-IFN α-2b能够有效的改善患者的肝功能和HBV-M以及HBV DNA, 且降低不良反应. 这一结果与本次研究的比较相似, 且文章重点突出对细胞因子的影响.

■创新盘点

本研中重点分析对免疫细胞和炎性细胞因子的影响, 进一步的分析其作用机制. 在临床研究中, 这一观点呈现新颖. PEG-IFN α-2b治疗不仅能够有效的改善患者的临床症状, 改善肝功能, 重点得出能够这种治疗方法具有较强的抗病毒疗效与免疫调节作用.

表 3 治疗后不同阶段患者各项指标对比 [n = 60, n(%)]

治疗时间	肝功能恢复率	HBeAg转阴率	HBV DNA转阴率
3 mo	11(18.33)	7(11.66)	15(25.00)
6 mo	32(53.33)	20(33.3)	26(43.33)
9 mo	46(76.6)	37(61.6)	37(61.6)
*P*值	<0.05	<0.05	<0.05

表达[4]. 在已感染病毒的细胞中抑制其繁殖、复制, 同时加强巨噬细胞的活动, 增加淋巴细胞对靶细胞的免疫活动. 患者接受治疗3 mo后ALT复常率为18.33%、HBeAg转阴率11.66%、HBeAg转阴率为25.00%. 患者接受治疗6 mo后ALT复常率为53.33%、HBeAg转阴率33.33%、HBeAg转阴率为43.33%. 患者接受治疗9 mo后ALT复常率为76.6%、HBeAg转阴率61.6%、HBeAg转阴率为61.6%. 患者接受治疗3、6、9 mo后肝功能恢复率、HBeAg转阴率和HBV DNA转阴率均存在明显差异, 具有统计学意义(P<0.05). 以上数据可以表明PEG-IFN α-2b能够产生有效的抗病毒作用, 并且能够进行免疫性调节, 患者使用后复发率较低. 在接受治疗后7 d内所有患者均出现不同程度的发热、头痛、乏力等症状, 在针对症状进行治疗或处理后症状有所缓解. 接受治疗3 mo后, 患者的中性粒细胞与血小板均有不同程度的下降. 部分患者出现皮疹, 但是经过处理后消失快速好转; 部分状腺功能出现变化, 在未经过特殊处理的持续观察下恢复正常状态. 部分患者在用药期间出现轻度精神抑郁状态, 在调整用药剂量后症状自行缓解或消失, 本次研究未出现不耐受而停药患者.

近几年, 医学专家研究证明, Th1/Th2细胞功能失调是影响患者机体持续感染以及是否能够将病毒进行有效的清除[5]. Th1细胞主要释放IL-8、TNF-α、IFN-γ细胞因子, IL-8、TNF-α、IFN-γ细胞因子能够促进细胞的免疫力提高[6]; Th2主要释放IL-6、IL-10细胞因子. IL-6、IL-10细胞因子能够在与B细胞的结合下产生一定的抗体, 从而发挥体液的免疫功能[7]. 刘光俊等[8]对CHB研究后发现, 慢性肝炎或重型慢性肝炎可能会通过上调效应细胞IFN-γ受体表达, 从而强化IFN-γ参与病理的敏感性. 本次研究发现, 60例患者在接受PEG-IFN α-2b治疗后3 mo, 患者的IFN-γ、TNF-α、IL-6 以及IL-8细胞因子的水平达到最高峰, 在继续接受治疗后开始缓慢下降. 在治疗后9 mo发现其水平下降至低于治疗前的水平. 在治疗后3 mo时, 应答组患者血清IFN-γ、TNF-α、IL-6和IL-8的水平相对于治疗之间比较, 存在显著差异, 具有统计学意义(P<0.05). 在接受治疗9 mo后细胞因子水平降低至治疗前水平, 但不存在显著差异, 无统计学意(P>0.05). 从本次研究数据可以看出, PEG-IFN α-2b在治疗CHB初期对患者机体免疫产生了影响, 机体免疫应答开始激活[9]. 但随着持续用药与治疗应答的出现, 病毒载量开始出现持续下降, IFN-γ、TNF-α、IL-6和IL8细胞因子的水平缓慢下降. 肝脏炎症反应减弱, 肝功能逐渐恢复正常状态[10,11].

总之, PEG-IFN α-2b在治疗慢性乙型感应能够产生较强的抗病毒疗效与免疫调节作用. 患者白细胞下降程度轻, 不良反应低, 用药安全. 因此, 在治疗应用其他抗病毒药物失败的患者时, 可以选择PEG-IFN α-2b进行治疗.

4 参考文献

1 朱月永, 董青, 陈攸涛, 陈靖, 江家骥. e抗原定量对聚乙二醇干扰素治疗HBeAg阳性慢性乙型肝炎e抗原血清学转换的预测. 胃肠病学和肝病学杂志 2010; 19: 883-885

2 丁宁. 聚乙二醇干扰素α-2a联合胸腺肽α1治疗慢性乙型肝炎随机对照观察. 中国现代医生 2011; 49: 144-145

3 潘蕾, 魏欣, 谢玉梅, 郝春秋, 王九平, 贾战生, 白雪帆. 聚乙二醇干扰素α-2a治疗慢性丙型肝炎病毒/乙型肝炎病毒共感染临床疗效. 临床肝胆病杂志 2011; 27: 84-85

4 李旭红, 赖江琼, 李奕鑫, 杨怀文, 王崇国. 恩替卡韦片联合胸腺肽α1治疗HBeAg阳性乙型肝炎疗效分析. 传染病信息 2012; 25: 234-236

5 张颖, 李刚, 陈琳, 周立夫, 刘凤霞. 聚乙二醇干扰素α-2a与胸腺肽α1联合治疗慢性乙型肝炎的临床研究. 中国现代医生 2009; 47: 78-79

6 贾继东, 李兰娟. 慢性乙型肝炎防治指南. 临床肝胆病杂志 2011; 27: 113-128

7 中华医学会传染病与寄生虫病学分会, 肝病学分会. 病毒性肝炎防治方案. 中华传染病杂志 2011; 19: 59-61

8 刘光俊, 潘志敏, 王兴, 曹灵芝, 王军. IFNα-1b联合阿德福韦酯治疗慢性乙型病毒性肝炎疗效观察. 医学临床观察 2011; 28: 1488-1490

9 Chan HL, Wong VW, Chim AM, Wong GL, Chan HY, Sung JJ. Treatment of patients with chronic hepatitis B who have failed previous antiviral treat-

ment with pegylated interferon alpha2a (40 kda; PEGASYS). *Antivir Ther* 2008; 13: 555-562 [PMID: 18672534]
10 崔建军, 蒋小玲, 周伯平, 许诚, 何清, 王松. 聚乙二醇干扰素α-2a联合胸腺肽α1治疗HBeAg阳性慢性乙型肝炎. 中国医院药学杂志 2008; 28: 823-825
11 俞萍, 黄利华, 王娟华. 替比夫定与恩替卡韦用于慢性乙型肝炎初治者的疗效观察. 中西医结合肝病杂志 2010; 20: 117
12 丁洋, 吴发玲, 盛秋菊, 赵连荣, 夏婷婷, 王静艳, 石理兰, 王淑兰, 单红, 安萍, 段红岩, 窦晓光. 聚乙二醇干扰素α-2a联合阿德福韦酯对HBeAg阳性慢性乙型肝炎的治疗. 世界华人消化杂志 2012; 20: 2036-2042
13 Werle-Lapostolle B, Bowden S, Locarnini S, Wursthorn K, Petersen J, Lau G, Trepo C, Marcellin P, Goodman Z, Delaney WE, Xiong S, Brosgart CL, Chen SS, Gibbs CS, Zoulim F. Persistence of cccDNA during the natural history of chronic hepatitis B and decline during adefovir dipivoxil therapy. *Gastroenterology* 2004; 126: 1750-1758 [PMID: 15188170 DOI: 10.1053/j.gastro.2004.03.018]
14 Takkenberg B, Terpstra V, Zaaijer H, Weegink C, Dijkgraaf M, Jansen P, Beld M, Reesink H. Intrahepatic response markers in chronic hepatitis B patients treated with peginterferon alpha-2a and adefovir. *J Gastroenterol Hepatol* 2011; 26: 1527-1535 [PMID: 21557773 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2011.06766.x]
15 陈禄彪, 舒欣, 揭育胜, 杨小安, 张卡, 李刚, 徐启恒. 聚乙二醇干扰素α-2a加用阿德福韦酯治疗HBeAg阳性慢性乙肝的短期疗效观察. 中华实验和临床病毒学杂志 2010; 24: 39-41

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

■同行评价

本研究重点分析PEG-IFN α-2b在CHB中的应用效果, 采取的方法科学, 且研究具有前瞻性, 值得推广. 但是文章中的研究例数较少, 应进一步的大型临床研究证实, 从而得出更有力的结论.

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com
世界华人消化杂志 2014年4月18日; 22(11): 1574-1580
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

慢性丙型肝炎患者外周血髓系来源抑制细胞增加与病毒复制的相关性

金 磊, 张学秀, 曾庆磊, 冯国华, 张纪元, 陈黎明, 徐向升, 张 政, 王福生

金磊, 张纪元, 陈黎明, 徐向升, 张政, 王福生, 中国人民解放军第三〇二医院肝病生物治疗研究中心 北京市 100039
张学秀, 曾庆磊, 冯国华, 王福生, 北京大学解放军三〇二医院(教学医院)肝病生物治疗研究中心 北京市 100039
金磊, 解放军第三〇二医院主管技师, 主要从事传染病临床免疫学与免疫治疗研究.
国家自然科学基金资助项目, Nos. 81302593, 81271848
北京市科技新星基金资助项目, No. Z121107002512071
作者贡献分布: 金磊与张学秀对此文所作贡献均等; 本文由金磊、张纪元、张政及王福生设计; 实验操作由曾庆磊与冯国华完成; 陈黎明与徐向升提供了病例资料; 数据分析、论文写作及修改由张学秀、张纪元及王福生完成.
通讯作者: 王福生, 教授, 主任医师, 100039, 北京市丰台区西四环中路100号, 中国人民解放军第三〇二医院肝病生物治疗研究中心. fswang302@163.com
电话: 010-66933333
收稿日期: 2013-12-16 修回日期: 2014-02-12
接受日期: 2014-02-18 在线出版日期: 2014-04-18

■背景资料
丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)感染是肝硬化和肝癌的主要原因之一. 多数患者在感染HCV后转为慢性丙型肝炎(chronic hepatitis C, CHC). 在CHC患者, HCV特异性的CD8 T细胞应答明显减弱, 并常因病毒逃逸和突变而失去作用, 或被调节性T细胞或抑制分子所抑制, 但是尚不完全清楚造成CD8 T细胞功能失调的抑制机制. 目前研究发现, 髓系来源抑制细胞(myeloid-derived suppressor cells, MDSCs)对机体的抗病毒免疫应答有抑制作用, 但其在CHC中的特点尚不清楚.

Increased myeloid-derived suppressor cells correlate with viral persistence in patients with chronic hepatitis C

Lei Jin, Xue-Xiu Zhang, Qing-Lei Zeng, Guo-Hua Feng, Ji-Yuan Zhang, Li-Ming Chen, Xiang-Sheng Xu, Zheng Zhang, Fu-Sheng Wang

Lei Jin, Ji-Yuan Zhang, Li-Ming Chen, Xiang-Sheng Xu, Zheng Zhang, Fu-Sheng Wang, Liver Disease Research Center for Biological Therapy, Beijing 302 Hospital, Beijing 100039, China
Xue-Xiu Zhang, Qing-Lei Zeng, Guo-Hua Feng, Fu-Sheng Wang, Liver Disease Research Center for Biological Therapy, Beijing 302 Hospital, Peking University, Beijing 100039, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, Nos. 81302593 and 81271848; and Beijing Nova Program of China, No. Z121107002512071
Correspondence to: Fu-Sheng Wang, Professor, Chief Physician, Liver Disease Research Center for Biological Therapy, Beijing 302 Hospital, 100 4th Western Middle Ring Road, Beijing 100039, China. fswang302@163.com
Received: 2013-12-16 Revised: 2014-02-12
Accepted: 2014-02-18 Published online: 2014-04-18

Abstract

AIM: To investigate the characteristics and clinical significance of myeloid-derived suppressor cells (MDSCs) in patients with chronic hepatitis C (CHC).

METHODS: The frequencies and phenotypes of peripheral blood MDSCs were analyzed in 61 patients with CHC, including 14 rapid virological response (RVR) cases and 22 early virological response (EVR) cases, and 25 healthy controls (HC). The correlations between the characteristics of MDSCs and clinical markers were analyzed.

RESULTS: The frequencies of peripheral MDSCs in CHC patients at baseline were significantly higher than those in the HC group (1.33% *vs* 0.7%, $P < 0.001$), which were positively correlated with HCV RNA load ($r = 0.636$, $P < 0.001$). T cell receptor (TCR) ζ expression on CD8 T cells was negatively correlated with the frequencies of MDSCs in CHC patients at baseline ($r = 0.690$, $P < 0.001$), and could be restored by *L*-arginine *in vitro*. The frequencies of MDSCs decreased after antiviral therapy, which were higher in the RVR group than in the EVR group ($P = 0.024$). TCR ζ expression on CD8 T cells increased in both RVR and EVR cases.

CONCLUSION: In CHC patients, MDSCs may suppress immune response by down-regulating TCR ζ expression on CD8 T cells, resulting in viral persistence.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Hepatitis C; Myeloid-derived suppressor cells; Antiviral therapy

Jin L, Zhang XX, Zeng QL, Feng GH, Zhang JY, Chen LM, Xu XS, Zhang Z, Wang FS. Increased myeloid-derived suppressor cells correlate with viral persistence in patients with chronic hepatitis C. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(11): 1574-1580 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1574.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i11.1574

摘要

目的: 分析慢性丙型肝炎(chronic hepatitis C, CHC)患者外周血髓系来源抑制细胞(myeloid-derived suppressor cells, MDSCs)的特征及其与病毒复制的关系.

■同行评议者
陈汝福, 教授, 中山大学第二附属医院肝胆胰外科

方法: 采用流式细胞术检测了61例CHC患者[包括14例快速病毒学应答(rapid virological response, RVR)患者、22例早期病毒学应答患者(early virological response, EVR)]和25例健康对照(healthy control, HC)的外周血MDSCs频率, 并分析其与临床病毒载量和肝脏生化指标之间的相关性.

结果: 基线水平CHC组MDSCs的频率高于健康组(1.33% *vs* 0.7%, $P<0.001$), 且与HCV RNA载量呈正相关($r = 0.636$, $P<0.001$), 与谷丙转氨酶水平无关($r = 0.156$, $P = 0.229$); CD8 T细胞表面的T细胞受体(T cell receptor, TCR) ζ链表达降低与CHC组MDSCs频率升高呈负相关($r = 0.690$, $P<0.001$), 在体外加入*L*-精氨酸可使其恢复; 抗病毒治疗后, MDSCs频率呈下降趋势, 且RVR组基线水平的MDSCs频率高于EVR组($P = 0.024$).

结论: CHC患者外周血MDSCs频率升高可能通过下调CD8 TCR ζ链表达抑制机体的抗病毒应答, 从而引起病毒的复制, 抗病毒治疗可使CD8 TCR ζ链的表达部分恢复.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 丙型肝炎; 髓系来源抑制细胞; 抗病毒治疗

核心提示: 本文研究了慢性丙型肝炎(chronic hepatitis C)患者外周血髓系来源抑制细胞(myeloid-derived suppressor cells, MDSCs)与病毒复制及抗病毒应答的关系, 发现丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)感染者中MDSCs频率升高, 与HCV RNA载量呈线性正相关, 且快速病毒学应答(rapid virological response)组MDSCs基线频率高于早期病毒学应答患者(early virological response)组.

金磊, 张学秀, 曾庆磊, 冯国华, 张纪元, 陈黎明, 徐向升, 张政, 王福生. 慢性丙型肝炎患者外周血髓系来源抑制细胞增加与病毒复制的相关性. 世界华人消化杂志 2014; 22(11): 1574-1580 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1574.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i11.1574

0 引言

丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)感染严重威胁人类健康, 全球约有1.6亿例慢性丙型肝炎(chronic hepatitis C, CHC)患者, 是肝硬化和肝癌的主要原因之一[1]. 急性HCV感染患者能够产生功能完整、多特异性的免疫应答, 从而清除病毒; 但多数患者在感染HCV后转为慢性丙型肝炎, 而且HCV特异性CD8 T细胞应答明显减弱, 且常因病毒逃逸和突变而失去作用, 或被调节性T细胞或抑制分子所抑制[2-5].

髓系来源抑制细胞(myeloid-derived suppressor cells, MDSCs)是未成熟的髓系细胞亚群[6], 在人类常表达髓系标记CD11b和CD33, 但不表达人白细胞DR抗原(human leukocyte antigen-DR, HLA-DR)及CD3、CD19、CD56等淋巴细胞表面的分子[7,8]. 目前研究认为, MDSCs可抑制机体对肿瘤、病毒和细菌感染等疾病的免疫应答, 且主要通过半胱氨酸剥夺[9]、活性氧上调[10]、诱导调节性T细胞[11]和增加*L*-精氨酸的代谢[12]等途径发挥作用. 研究发现, HBV转基因小鼠肝脏中MDSCs频率明显高于健康小鼠, 这可抑制自身T细胞和乙型肝炎表面抗原(hepatitis B surface antigen, HBsAg)特异性淋巴细胞的增殖[13]. 在人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)感染患者中, MDSCs频率与HIV-1病毒载量呈正相关, 并可通过诱导精氨酸酶抑制CD8 T细胞的增殖[14,15]. 最近, 有研究提示MDSCs可能通过下调T细胞的功能而促进肝病的进展. 但是, MDSCs在CHC患者中的变化特点尚不清楚. 因此, 该研究选择CHC患者作为研究对象, 分析其外周血MDSCs的表达特点及其与临床指标的相关性.

■研发前沿
MDSCs在乙型肝炎病毒(hepatitis B virus)感染小鼠中频率升高, 并发现其可通过下调CD8 TCR ζ链的表达而促进病毒复制和肝病进展.

1 材料和方法

1.1 材料 选择我院2011-11/2012-11收治的CHC患者61例, 其中男38例, 女23例, 年龄19-70岁. 诊断符合2000年西安会议修订的《病毒性肝炎防治方案》标准和2004年中华医学会肝病学分会、传染病与寄生虫病学分会修订的《丙型肝炎防治指南》标准[16,17]. CHC患者均经血液感染, 入院前6 mo内未进行抗病毒治疗, 入院前1 mo内未进行保肝、降酶治疗, 临床检查排除其他类型病毒感染、自身免疫性疾病、酒精性肝病, 近期无外伤和感染性疾病等. 入院后接受聚乙二醇干扰素α/利巴韦林治疗, 其中14例发生快速病毒学应答(rapid virological response, RVR), 22例发生早期病毒学应答(early virological response, EVR). 此外, 同时纳入25例健康志愿者作为健康对照(healthy control, HC)组, 均身体健康, 既往无肝脏相关疾病, 近期无外伤、感染性疾病及自身免疫性疾病. HC组年龄、性别与CHC组均衡. CHC组患者和健康志愿者均签署知情同意书, 并获得本单位伦理委

■相关报道
MDSCs可抑制机体对肿瘤、病毒和细菌感染等疾病的免疫应答, 主要通过半胱氨酸剥夺、活性氧上调和增加L-精氨酸的代谢等来发挥作用.

表 1 各组患者基本资料

分组	*n*	性别(男/女)	年龄(岁)	ALT(U/L)	HCV RNA(×10^6 IU/mL)
HC	25	18/9	28(20-35)	ND	ND
CHC	61	38/23	45(19-70)	72(11-254)	5.975(0.003-47.980)
CHC-RVR	14	10/4	40(19-56)	86(27-193)	14.966(0.022-48.000)
CHC-EVR	22	13/9	42(20-63)	74(27-202)	3.710(0.028-11.570)

HC: 健康对照; CHC: 慢性丙型肝炎; RVR: 快速病毒学应答; EVR: 早期病毒学应答; ND: 未检测; ALT: 谷丙转氨酶.

员会批准. 研究对象基本资料如表1. 藻红蛋白(phycoerythrin, PE)标记的鼠抗人CD33抗体购自美国的PharMingen公司; PE标记的T细胞受体(T cell receptor, TCR)ζ抗体购自法国的Beckman Coulter Immunotech SAS公司; 异硫氰酸荧光素(fluorescein isothiocyanate, FITC)标记的鼠抗人CD3抗体购自中国的SungeneBiotect公司; 其余抗体购自美国BD公司; 髓系来源抑制细胞的表型为Lin-1$^-$HLA-DR$^-$CD33$^+$CD11c$^+$.

1.2 方法

1.2.1 外周血MDSCs的检测: 取全血200 μL置于流式管中, 加入FITC标记的鼠抗人Lin-1抗体、多甲藻黄素叶绿素蛋白(peridinin chlorophyll protein, PerCp)标记的鼠抗人HLA-DR抗体、别藻蓝蛋白(allophycocyanin, APC)标记的鼠抗人CD11b抗体和PE标记的鼠抗人CD33抗体, 避光孵育30 min后, 裂解红细胞, 用磷酸盐缓冲液(phosphate-buffered saline, PBS)洗涤2遍, 加入170 μL 1%多聚甲醛固定, 置于4 ℃冰箱保存, 24 h内经流式细胞仪检测.

1.2.2 CD8 T细胞TCR ζ链的检测: 取部分外周血单核细胞(peripheral blood mononuclear cells, PBMCs)加入FITC标记的鼠抗人CD3抗体和APC标记的鼠抗人CD8抗体, 混匀后分为2管, 避光孵育30 min后, PBS洗涤2遍; 固定破膜, 再分别加入PE标记的鼠抗人TCR ζ链抗体和同型对照, PBS洗涤2遍, 加入170 μL 1%多聚甲醛固定, 置于4 ℃冰箱保存, 24 h内经流式细胞仪检测.

1.2.3 细胞培养和CD8 T细胞TCR ζ链的检测: 按Das已报道的方案进行PBMCs培养, 取PBMCs置于96孔板, 加或不加*L*-精氨酸, 置于37 ℃, 5%CO_2温箱孵育1 h后, 加入阻断剂monensin (2 μmol/L), 再孵育10 h. 孵育结束后, 分别加入FITC标记的鼠抗人CD3抗体和APC标记的鼠抗人CD8抗体, 避光孵育30 min后, PBS洗涤2遍; 固定破膜, 再分别加入PE标记的鼠抗人TCR ζ抗体和同型对照, PBS洗涤2遍, 加入170 μL 1%多聚甲醛固定, 置于4 ℃冰箱保存, 24 h内经流式细胞仪检测.

统计学处理 采用SPSS16.0软件进行统计学分析, 2组资料比较用Mann-Whitney *U*检验, 多组间指标比较用Kruskal-Wallis秩和检验, 两个变量间相关性分析用Spearman秩相关性分析. $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 CHC组MDSCs基线频率 MDSCs圈门策略如图1A所示. 流式细胞仪检测结果显示, 与HC组比较, CHC组外周血MDSCs基线频率明显升高, 且有统计学差异($P<0.001$), 如图1B所示.

2.2 CHC组MDSCs基线频率与临床指标的相关性 临床上反映HCV感染疾病进程的2个重要指标是HCV RNA载量和转氨酶水平. 我们将CHC组MDSCs基线频率与HCV RNA载量和谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)水平进行了相关性分析. 结果提示, CHC组MDSCs基线频率与HCV RNA定量水平呈线性正相关($r = 0.636$, $P<0.001$), 而与基因分型无关, 如图2A所示; 与ALT水平无相关性($r = 0.156$, $P = 0.229$), 如图2B所示.

2.3 CHC组CD8 T细胞TCR ζ链的基线表达水平与MDSCs频率的相关性 CHC组和HC组CD8 T细胞TCR ζ链的圈门策略如图3A, CHC组CD8 T细胞TCR ζ链基线表达水平明显低于HC组($P<0.001$)(图3B), 而且与MDSCs频率呈负相关($r = 0.690$, $P<0.001$)(图3C); 抗病毒治疗后RVR组和EVR组MDSCs频率较基线水平增加($P = 0.016$, $P<0.001$)(图3B). 有报道称, *L*-精氨酸缺乏可下调CD8 T细胞TCR ζ链的表达, 因此我们对PBMCs加或不加精氨酸进行体外培养, 结果显示, 加入*L*-精氨酸后可使CD8 T细胞TCR ζ链的表达增加(图3D).

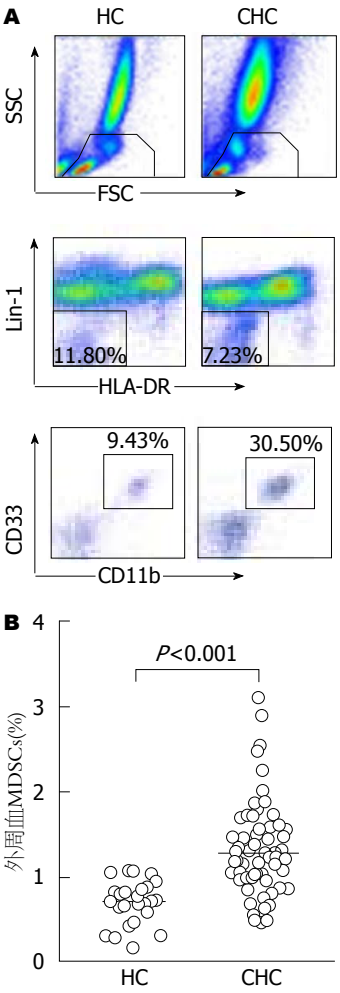


图 1 CHC组和HC组外周血MDSCs基线频率. A: MDSCs圈门策略; B: CHC组MDSCs频率高于HC组. HC: 健康对照; CHC: 慢性丙型肝炎; MDSCs: 髓系来源抑制细胞.

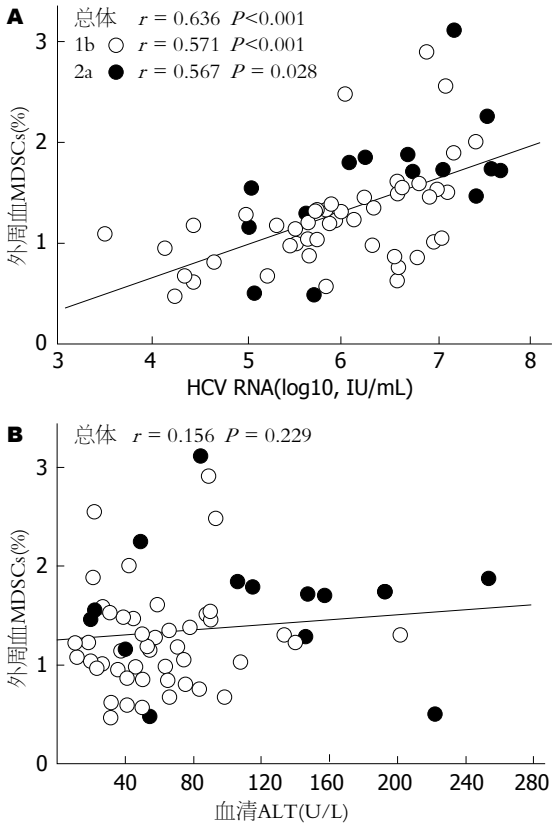


图 2 CHC患者MDSCs基线频率与HCV RNA载量和ALT水平的相关性. A: MDSCs基线频率与HCV RNA载量呈线性正相关, 与基因型无关; B: MDSCs基线频率与ALT水平无线性关系. MDSCs: 髓系来源抑制细胞; ALT: 谷丙转氨酶.

■创新盘点

本研究对CHC患者MDSCs频率升高与病毒复制及抗病毒应答的关系进行了研究, 结果发现MDSCs频率与HCV RNA载量呈线性正相关, 并可能与抗病毒应答相关.

2.4 CHC组MDSCs频率在抗病毒治疗后的变化特点 抗病毒治疗随访中, RVR组在抗病毒治疗第4周即检测不到HCV RNA, 而EVR组在第12周检测不到HCV RNA, 但ALT水平变化趋势在两组之间无统计学差异(图4A, B). RVR组MDSCs的基线频率高于EVR组(P = 0.024)(图4C), 在抗病毒治疗后两组间MDSCs频率均降低, 但无统计学差异; 两组CD8 T细胞TCR ζ链的表达水平在抗病毒治疗后呈上升趋势, 但无统计学差异(图4D).

3 讨论

MDSCs是免疫调节细胞, 可负性调节适应性免疫应答[10,18,19], 本研究的目的主要是了解其在CHC患者中的表达特点及其与病毒复制和抗病毒应答的关系. 有研究发现, MDSCs在HIV-1感染中的频率与高效抗逆转录病毒治疗的疗效密切相关: 在初治患者中, MDSCs频率与HIV-1病毒载量呈正相关, 在抗病毒治疗后, 其频率逐渐下降[15]. 本研究发现, CHC组MDSCs基线频率高于HC组, 且其水平与HCV RNA载量呈线性正相关; 在抗病毒治疗后, 随HCV RNA载量降低, MDSCs水平亦呈下降趋势. 在CHC患者抗病毒治疗中, EVR和RVR用来评价短期抗病毒效果: 抗病毒治疗4 wk检测不到HCV RNA(<100 IU/mL)定义为RVR, 提示实现持续病毒学应答(sustained virological response, SVR)的可能性较大; 抗病毒治疗12 wk血浆HCV RNA消失或与基线水平相比下降值≥2log定义为EVR[20], EVR是实现SVR最精确的预测指标[20]. 在本研究中, 我们发现MDSCs频率高低与CHC患者的抗病毒应答可能相关, RVR组MDSCs基线频率高于EVR组, 而且有效的抗病毒应答常伴随MDSCs频率的下降和CD8 T细胞TCR ζ链表达的恢复, 这提示较高频率的MDSCs可能有潜在预测SVR的价值, 但尚需大规模的研究来证实.

L-精氨酸代谢发生于MDSCs中, 其可通过

■应用要点

本研究发现CHC患者外周血MDSCs频率升高可能通过下调CD8 TCR ζ链表达抑制机体的抗病毒应答, 从而造成病毒的复制, 抗病毒治疗可部分恢复CD8 TCR ζ链的表达, 对临床预测CHC抗病毒应答有一定意义.

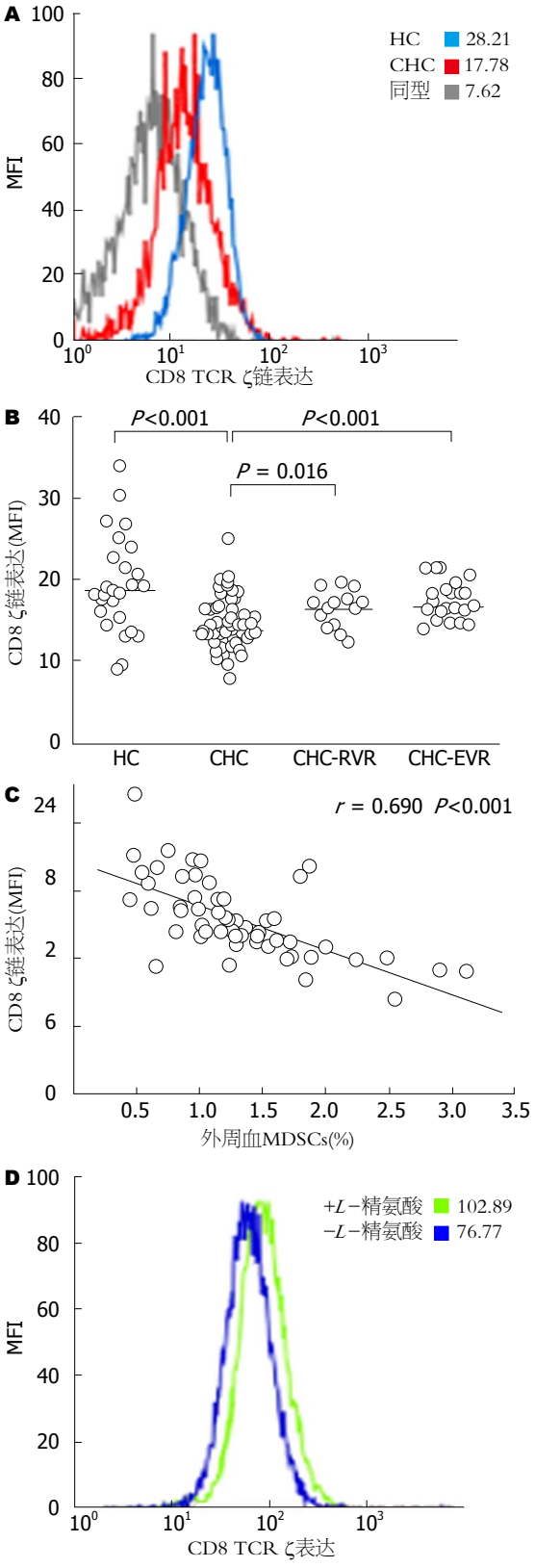


图 3 CHC患者外周血CD8 T细胞TCR ζ链的表达降低, 体外加入*L*-精氨酸可使其表达增加. A: CHC组CD8 T细胞TCR ζ链基线表达水平降低; B: 抗病毒治疗后, RVR和EVR组CD8 T细胞TCR ζ链水平较基线水平增加(P = 0.016, P<0.001); C: CHC组基线水平的CD8 T细胞TCR ζ链表达与MDSCs频率呈负相关; D: 体外培养补充*L*-精氨酸可恢复CD8 T细胞TCR ζ链的表达. HC: 健康对照; CHC: 慢性丙型肝炎; MDSCs: 髓系来源抑制细胞; MFI: 平均荧光强度.

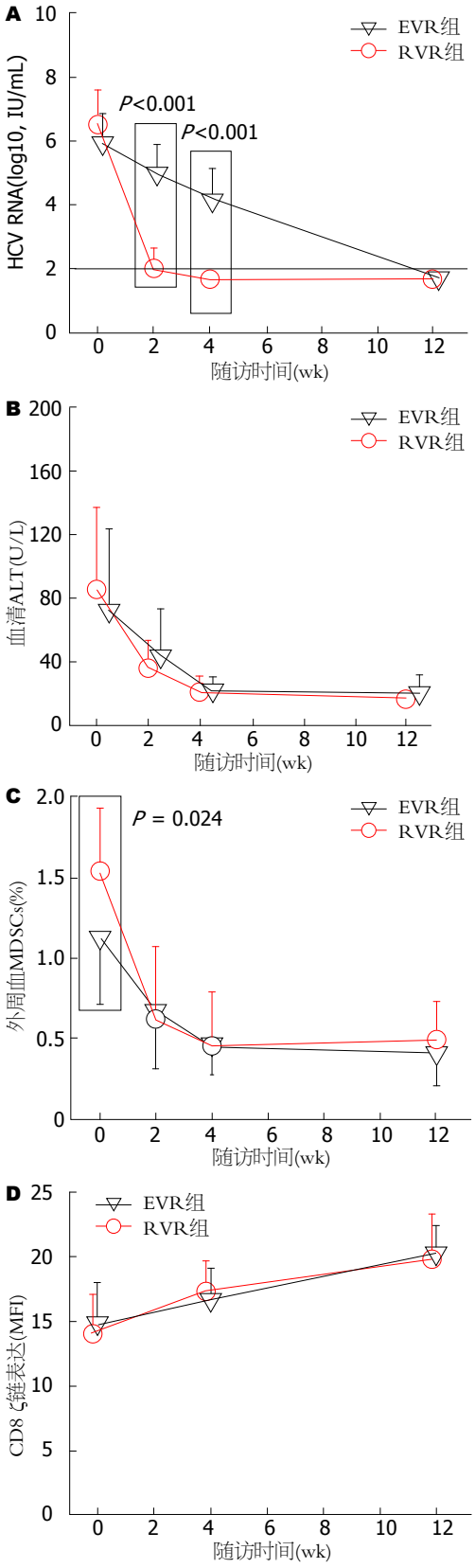


图 4 抗病毒治疗随访中EVR和RVR组各项指标的变化趋势. A: HCV RNA随抗病毒治疗呈下降趋势; B: ALT水平随抗病毒治疗逐渐恢复正常; C: MDSCs频率随抗病毒治疗呈下降趋势, 但RVR组MDSCs基线频率高于EVR组(P = 0.024); D: CD8 T细胞TCR ζ链随抗病毒治疗逐渐增加. EVR: 早期病毒学应答; RVR: 快速病毒学应答; MDSCs: 髓系来源抑制细胞; MFI: 平均荧光强度; ALT: 谷丙转氨酶.

下调CD8 T细胞TCR ζ链的表达来介导T细胞发挥抑制功能, 这是重要的抑制机制之一. 在本研究中, 我们检测了CD8 T细胞TCR ζ链的表达, 以评估在不同疾病阶段MDSCs的变化情况. 我们发现CHC患者中外周血CD8 T细胞TCR ζ链的表达低于健康人, 且与MDSCs频率呈负相关; 而且, CD8 T细胞TCR ζ链的降低通过补充*L*-精氨酸进行恢复. 重要的是, EVR和RVR患者中CD8 T细胞TCR ζ链的恢复与MDSCs的频率下降密切相关. 这些数据提示, MDSCs可能参与了HCV感染的发病过程. 最近的研究提示MDSCs主要通过诱导精氨酸酶清除*L*-精氨酸发挥抑制功能[19,21,22], 这可能有助于阐述MDSCs发挥作用的机制, 但需要进一步的研究去证实.

总之, CHC患者外周血中MDSCs频率升高与病毒复制相关, 并可能对抗病毒应答有一定的预测性, 对未来制定优化治疗方案有一定的参考价值.

4 参考文献

1 Lavanchy D. Evolving epidemiology of hepatitis C virus. *Clin Microbiol Infect* 2011; 17: 107-115 [PMID: 21091831 DOI: 10.1111/j.1469-0691.2010.03432.x]

2 Lechner F, Gruener NH, Urbani S, Uggeri J, Santantonio T, Kammer AR, Cerny A, Phillips R, Ferrari C, Pape GR, Klenerman P. CD8+ T lymphocyte responses are induced during acute hepatitis C virus infection but are not sustained. *Eur J Immunol* 2000; 30: 2479-2487 [PMID: 11009080 DOI: 10.1002/1521-4141(200009)30: 9<2479: : AID-IMMU2479>3.0.CO; 2-B]

3 Thimme R, Oldach D, Chang KM, Steiger C, Ray SC, Chisari FV. Determinants of viral clearance and persistence during acute hepatitis C virus infection. *J Exp Med* 2001; 194: 1395-1406 [PMID: 11714747 DOI: 10.1084/jem.194.10.1395]

4 Neumann-Haefelin C, Thimme R. Adaptive immune responses in hepatitis C virus infection. *Curr Top Microbiol Immunol* 2013; 369: 243-262 [PMID: 23463204 DOI: 10.1007/978-3-642-27340-7_10]

5 Lauer GM. Immune responses to hepatitis C virus (HCV) infection and the prospects for an effective HCV vaccine or immunotherapies. *J Infect Dis* 2013; 207 Suppl 1: S7-S12 [PMID: 23390305 DOI: 10.1093/infdis/jis762]

6 Young MR, Newby M, Wepsic HT. Hematopoiesis and suppressor bone marrow cells in mice bearing large metastatic Lewis lung carcinoma tumors. *Cancer Res* 1987; 47: 100-105 [PMID: 2947676]

7 Zea AH, Rodriguez PC, Atkins MB, Hernandez C, Signoretti S, Zabaleta J, McDermott D, Quiceno D, Youmans A, O'Neill A, Mier J, Ochoa AC. Arginase-producing myeloid suppressor cells in renal cell carcinoma patients: a mechanism of tumor evasion. *Cancer Res* 2005; 65: 3044-3048 [PMID: 15833831]

8 Filipazzi P, Valenti R, Huber V, Pilla L, Canese P, Iero M, Castelli C, Mariani L, Parmiani G, Rivoltini L. Identification of a new subset of myeloid suppressor cells in peripheral blood of melanoma patients with modulation by a granulocyte-macrophage colony-stimulation factor-based antitumor vaccine. *J Clin Oncol* 2007; 25: 2546-2553 [PMID: 17577033 DOI: 10.1200/JCO.2006.08.5829]

9 Srivastava MK, Sinha P, Clements VK, Rodriguez P, Ostrand-Rosenberg S. Myeloid-derived suppressor cells inhibit T-cell activation by depleting cystine and cysteine. *Cancer Res* 2010; 70: 68-77 [PMID: 20028852 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-09-2587]

10 Tacke RS, Lee HC, Goh C, Courtney J, Polyak SJ, Rosen HR, Hahn YS. Myeloid suppressor cells induced by hepatitis C virus suppress T-cell responses through the production of reactive oxygen species. *Hepatology* 2012; 55: 343-353 [PMID: 21953144 DOI: 10.1002/hep.24700]

11 Hoechst B, Ormandy LA, Ballmaier M, Lehner F, Krüger C, Manns MP, Greten TF, Korangy F. A new population of myeloid-derived suppressor cells in hepatocellular carcinoma patients induces CD4(+)CD25(+)Foxp3(+) T cells. *Gastroenterology* 2008; 135: 234-243 [PMID: 18485901 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.03.020]

12 Ochoa AC, Zea AH, Hernandez C, Rodriguez PC. Arginase, prostaglandins, and myeloid-derived suppressor cells in renal cell carcinoma. *Clin Cancer Res* 2007; 13: 721s-726s [PMID: 17255300 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-06-2197]

13 Chen S, Akbar SM, Abe M, Hiasa Y, Onji M. Immunosuppressive functions of hepatic myeloid-derived suppressor cells of normal mice and in a murine model of chronic hepatitis B virus. *Clin Exp Immunol* 2011; 166: 134-142 [PMID: 21762128 DOI: 10.1111/j.1365-2249.2011.04445.x]

14 Macatangay BJ, Landay AL, Rinaldo CR. MDSC: a new player in HIV immunopathogenesis. *AIDS* 2012; 26: 1567-1569 [PMID: 22810370 DOI: 10.1097/QAD.0b013e328355e682]

15 Vollbrecht T, Stirner R, Tufman A, Roider J, Huber RM, Bogner JR, Lechner A, Bourquin C, Draenert R. Chronic progressive HIV-1 infection is associated with elevated levels of myeloid-derived suppressor cells. *AIDS* 2012; 26: F31-F37 [PMID: 22526518 DOI: 10.1097/QAD.0b013e328354b43f]

16 中华医学会肝病学分会, 中华医学会传染病与寄生虫病学分会. 丙型肝炎防治指南. 中国预防医学杂志 2004; 38: 210-215

17 中华医学会传染病与寄生虫病学分会, 中华医学会肝病学分会. 病毒性肝炎防治方案. 传染病信息 2000; 13: 141-150

18 Yang B, Wang X, Ren X. Amino acid metabolism related to immune tolerance by MDSCs. *Int Rev Immunol* 2012; 31: 177-183 [PMID: 22587019 DOI: 10.3109/08830185.2012.679989]

19 Kong YY, Fuchsberger M, Xiang SD, Apostolopoulos V, Plebanski M. Myeloid derived suppressor cells and their role in diseases. *Curr Med Chem* 2013; 20: 1437-1444 [PMID: 23409714 DOI: 10.2174/092986731132011000 6]

20 European Association of the Study of the Liver. 2011 European Association of the Study of the Liver hepatitis C virus clinical practice guidelines. *Liver Int* 2012; 32 Suppl 1: 2-8 [PMID: 22212565 DOI:

■同行评价

本研究从MDSCs角度探讨其在CHC感染患者病毒复制和抗病毒治疗过程中的作用, 具有一定的创新性和潜在的临床应用价值. 研究设计合理, 实验方法应用得当, 实验数据可信度高.

10.1111/j.1478-3231.2011.02703.x]
21 Rodríguez PC, Ochoa AC. Arginine regulation by myeloid derived suppressor cells and tolerance in cancer: mechanisms and therapeutic perspectives. *Immunol Rev* 2008; 222: 180-191 [PMID: 18364002 DOI: 10.1111/j.1600-065X.2008.00608.x]
22 Sandalova E, Laccabue D, Boni C, Watanabe T, Tan A, Zong HZ, Ferrari C, Bertoletti A. Increased levels of arginase in patients with acute hepatitis B suppress antiviral T cells. *Gastroenterology* 2012; 143: 78-87. e3 [PMID: 22475535 DOI: 10.1053/j.gastro.2012.03.041]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

• 消息 •

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

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

世界华人消化杂志 2014年4月18日; 22(11): 1581-1586
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

MiRNA-146a rs2910164单核苷酸多态性与肝癌易感性的Meta分析

胡蓉蓉, 刘海燕

胡蓉蓉, 刘海燕, 郑州大学第一附属医院急诊外科 河南省郑州市 450000
胡蓉蓉, 郑州大学第一附属医院研究生, 主要从事急腹症的诊疗研究.
作者贡献分布: 此课题由刘海燕导师设计; 文献检索、数据搜集及分析过程由胡蓉蓉完成; 本论文写作由胡蓉蓉完成.
通讯作者: 刘海燕, 主任医师, 硕士生导师, 450000, 河南省郑州市建设东路1号, 郑州大学第一附属医院急救中心急诊外科.
liuhaiyan6@sina.com
电话: 0371-66969120
收稿日期: 2014-01-13 修回日期: 2014-02-20
接受日期: 2014-02-28 在线出版日期: 2014-04-18

Association between rs2910164, a single nucleotide polymorphism in miRNA-146a, and susceptibility to hepatocellular carcinoma: A Meta-analysis

Rong-Rong Hu, Hai-Yan Liu

Rong-Rong Hu, Hai-Yan Liu, Department of Emergency Surgery, The First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450000, Henan Province, China
Correspondence to: Hai-Yan Liu, Chief Physician, Department of Emergency Surgery,The First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, 1 Jianshe Road, Zhengzhou 450000, Henan Province, China. liuhaiyan6@sina.com
Received: 2014-01-13 Revised: 2014-02-20
Accepted: 2014-02-28 Published online: 2014-04-18

Abstract

AIM: To accurately evaluate the association between the miRNA-146a rs2910164 polymorphism and susceptibility to hepatocellular carcinoma by Meta-analysis.

METHODS: An electronic search of PubMed, Excerpta Medica Database (Embase), Chinese Biomedical Literature Database (CBM), the Cochrane Library, Weipu and Wanfang database for relevant articles was conducted. The difference of miRNA-146a rs2910164 genotypes (G *vs* C, GG *vs* CC, GG *vs* GC, GC *vs* CC, GG + GC *vs* CC, and GG *vs* GC + CC) between cases and controls was analyzed through Meta-analysis.

RESULTS: A total of 8 studies involving 5968 subjects were found to be eligible for our meta-analysis. There was evidence of association between miR-146a rs2910164 polymorphism and the risk of hepatocellular carcinoma in the overall analysis (GC *vs* CC: OR = 1.15; 95%CI: 1.02-1.92, *P* = 0.02; GG + GC *vs* CC: OR = 1.15; 95%CI: 1.03-1.29, *P* = 0.01). In the subgroup analysis by ethnicity, similar results could be found among Asians (GC *vs* CC: OR = 1.15, 95%CI = 1.02-1.29, *P* = 0.02).

CONCLUSION: Our Meta-analysis suggested that the rs2910164 polymorphism in miR-146a was more likely to be associated with hepatocellular carcinoma risk. Besides, the CC genotype of rs2910164 might be associated with a reduced risk for hepatocellular carcinoma.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Hepatocellular carcinoma; miRNA; Single nucleotide polymorphisms; Meta-analysis

Hu RR, Liu HY. Association between rs2910164, a single nucleotide polymorphism in miRNA-146a, and susceptibility to hepatocellular carcinoma: A Meta-analysis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(11): 1581-1586 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1581.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i11.1581

摘要

目的: 系统评价miRNA-146a rs2910164单核苷酸多态性与肝癌易感性的相关性.

方法: 全面检索Pubmed、Excerpta Medica Database (Embase)、Chinese Biomedical Literature Database (CBM)、the Cochrane Library、维普及万方数据库, 搜集关于miRNA-146a rs2910164单核苷酸多态性与肝癌易感性相关性的研究. 对miRNA-146a rs2910164 G/C各基因型比较模型(G *vs* C、GG *vs* CC、GG *vs* GC、GC *vs* CC、GG+GC *vs* CC、GG *vs* GC+CC)在病例组及对照组的分布情况进行定量综合分析.

■背景资料
肝癌是世界上恶性程度极高, 且预后极差的恶性肿瘤之一. 每年全球约有125万人患病. 我国属于肝癌高发地区. 遗传易感性与肝癌的发生发展密切相关. 位于miR-146a前体pre-miRNA的一个G/C单核苷酸多态性(rs2910164)可以导致miR-146a的表达异常, 进而导致肿瘤发生与发展.

■同行评议者
戴朝六, 教授, 中国医科大学第二临床学院(盛京医院)肝胆外科

■研发前沿
单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)是最常见的基因变异, 与种族差异、疾病易感性及药物反应差异有关. 位于miRNA相关基因的单核苷酸多态性可以改变miRNA的表达量及功能, 进而导致肿瘤等疾病的发生. 近年来, 关于miR-146a rs2910164基因多态性与肝癌易感性的单个研究及Meta分析结果不尽一致.

结果: 共纳入8篇文献, 共有肝癌患者及健康对照5968例. Meta分析结果显示, miRNA-146a rs2910164单核苷酸多态性与肝癌易感性之间具有相关性(GC *vs* CC: OR = 1.15; 95%CI: 1.02-1.92, *P* = 0.02; GG+GC *vs* CC: OR = 1.15; 95%CI: 1.03-1.29, *P* = 0.01). 亚组分析发现, 在亚洲人群中也有相似的结论(GC *vs* CC:OR= 1.15, 95%CI = 1.02-1.29, *P* = 0.02).

结论: 本研究发现miRNA-146a rs2910164单核苷酸多态性与肝癌易感性之间具有相关性, 并且miRNA-146a rs2910164单核苷酸多态性的CC基因型可能是肝癌的保护因素.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 肝癌; miRNA; 单核苷酸多态性; Meta分析

核心提示: 单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism)是最常见的基因变异, 他与种族差异、疾病易感性及药物反应差异有关. 本研究采用Meta分析的方法综合评价miR-146a rs2910164G/C基因多态性与肝癌易感性间的相关性, 研究发现miR-146a rs2910164G/C基因多态性与肝癌易感性间具有相关性.

胡蓉蓉, 刘海燕. MiRNA-146a rs2910164单核苷酸多态性与肝癌易感性的Meta分析. 世界华人消化杂志 2014; 22(11): 1581-1586 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1581.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i11.1581

0 引言

肝癌是世界上恶性程度极高, 且预后极差的恶性肿瘤之一. 每年全球约有125万人患病. 我国属于肝癌高发地区, 新发病例占全球的55%左右. 而死亡人数占全球肝癌死亡人数的45%. 流行病学调查显示: 肝癌的危险因素中, 慢性乙型肝炎及丙型肝炎病毒感染居首要地位[1,2]. 然而, 在有病毒感染的人群中也只有一小部分人罹患肝癌, 这表明, 肝癌的发生发展还需要有个体对肝癌的易感因素及其他危险因素的参与.

微小RNA(microRNA or miRNA)是存在于真核细胞当中具有进化保守性的一族非编码小片段单链RNA, 18-24 bp, 通过与目的基因的转录产物mRNA的碱基互补配对来影响mRNA的稳定性或抑制其翻译, 从而实现对蛋白表达的调控作用[3,4]. 研究发现, miRNA通过转录后水平调控人类约30%的基因转录体, 控制着细胞的分化、增殖和程序性细胞死亡等多种重要生理及病理过程[5,6]. 最近的研究发现, 约半数的miRNA基因定位于与癌症有关的基因区域, miRNA具有类似癌基因或抑癌基因的功能. miRNA与癌症的发生发展、侵袭转移密切相关[7-10]. 因此, miRNA对肿瘤的诊断、治疗及预后都有重要意义. 单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)是人类基因组中最常见的遗传变异, 他是指DNA序列上单个核苷酸的变异, 其在特定的人群中发生率至少为1%. 单核苷酸多态性与种族多样性、疾病易感性、药物反应差异等密切相关[11]. 位于miRNA前体(pri-miRNA或pre-miRNA)或成熟miRNA中的单核苷酸多态性会导致miRNA表达量或其功能的改变, 最终导致癌症等疾病的发生发展[12,13]. miRNA相关基因的单核苷酸多态性与癌症的相关性为人类研究癌症发生发展的分子机制提供了崭新的视角. 到目前为止, 许多研究报道了miRNA rs2910164单核苷酸多态性与肝癌易感性之间的相关性[14-21], 但是, 单个研究间结果不尽一致, 且目前相关的Meta分析结果也不一致[22-29]. 为此, 本文采用Meta分析的方法对目前所有的相关研究进行定量综合分析, 以期为miRNA rs2910164单核苷酸多态性是否与肝癌的易感性具有相关性的研究提供更可靠的结论.

1 材料和方法

1.1 材料 由2名独立的研究者对相关文献进行了系统的检索, 任何分歧都通过双方的讨论达成一致. 以“肝癌”“miR-146a”、“rs2910164”、“单核苷酸多态性”为主题词检索中国生物医学文献数据库(Chinese Biomedical Literature Database, CBM)、维普、谷歌学术、万方数据资源系统, 并以“hepatocellular cancer”、“liver cancer”、“hepatoma”、“miR-146a”、“rs2910164”、“mutation”“polymorphism”检索Pubmed、ExcerPta Medica Database (Embase)、the Cochrane Library等数据库, 辅以文献追溯和手工检索等方法. 未进行发表年份及语种的限定.

1.2 方法

1.2.1 文献纳入与排除标准: 纳入标准: (1)关于miR-146a rs2910164单核苷酸多态性与肝癌易感性之间相关性的研究; (2)基于人的病例对照研究; (3)文献提供完整的病例组及对照组miR-146a rs 2910164各基因型频数, 可供计算比值

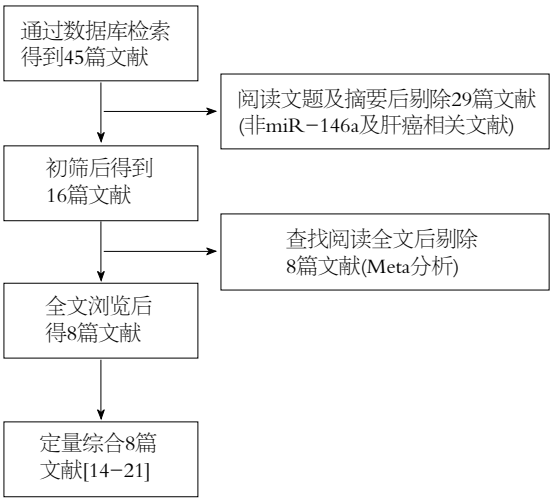


图 1 文献筛选流程图.

比(odds ratio, OR)及其95%可信区间(confidence interval, 95%CI). 排除标准: (1)综述、摘要、其他Meta分析; (2)非病例对照研究; (3)未提供充分原始数据的且索取无果; (4)对同一研究重复发表的文献报道, 只选取近期发表和结果最完整的文献.

1.2.2 *数据提取*: 由2名独立的研究者对纳入文献的数据进行提取并核对, 任何分歧都通过双方的讨论达成一致. 提取的主要内容包括第一作者姓名、文献发表年份、国家、种族、病例组及对照组的来源、病例组及对照组的样本量、标本来源、基因型分型的方法、等位基因及各基因型的分布频数等.

1.2.3 *质量评估*: 由2名研究者对纳入文献进行质量评估. 评估标准为一组预先设定的标准. 该标准是从前人研究中提取的[29]. 他从以下几个方面对文献的质量进行评估: (1)对照组来源情况; (2)病例组来源情况; (3)用于测定基因型的标本来源情况; (4)病例组及对照组的年龄及性别匹配情况; (5)对照组的H-W遗传平衡情况; (6)每个研究的总样本量. 每个研究的得分是介于0到18的整数. 等于或大于12分则表明该文献的质量较好.

统计学处理 首先, 对纳入研究的对照组人群基因型分布情况进行H-W遗传平衡检验, 计算卡方值, $P<0.05$为不符合H-W遗传平衡[30]. 然后, 定量合成各研究的OR及其95%CI, 以合并OR值及其95%CI评价miR-146a rs2910164单核苷酸多态性与肝癌易感性的相关性, 并对合并OR值进行Z检验, $P<0.05$为有统计学意义. 用Q检验和I^2检验探究各研究间的异质性, 若$PQ>0.10$, $I^2<50\%$, 说明各研究间不存在异质性, 用固定效应模型对数据进行合并; 反之, 则采用随机效应模型对数据进行合并[31,32]. 用Begg's漏斗图及Egger's线性回归分析估计潜在的发表偏倚, $P<0.05$为存在发表偏倚[33,34]. 为探究单个研究对合并OR值的影响, 对Meta分析的结果进行了敏感性分析, 通过依次排除单个研究后重新计算合并效应量, 探究各基因模型在病例组及对照组间的差异是否具有统计学意义.

2 结果

2.1 *纳入研究的基本情况* 初检出相关文献45篇, 阅读文题和摘要后, 剔除29篇文献(非研究miR-146a及肝癌), 进一步查找和阅读全文后, 剔除8篇文献(Meta分析), 最终纳入8篇文献[14-21]. 共有2851例病例及3117例健康对照. 在这8篇文献中, 1篇是关于高加索人种的研究[14], 其余7篇均为关于亚洲人种的研究[15-21]. 研究的发表年份为2008-2013年, 研究的样本量220-1815. 纳入研究的质量评分均>12, 表明纳入研究的质量较好. H-W遗传平衡检验结果显示对照组人群基因型分布均符合H-W遗传平衡定律. 纳入研究的一般情况如表1, 文献筛选流程如图1.

2.2 *Meta分析* 对纳入的研究进行定量综合分析, 各基因比较模型的合并OR及其95%CI结果如表2所示: 在总体分析中, miRNA-146a rs2910164单核苷酸多态性与肝癌易感性之间具有相关性(GC *vs* CC: OR = 1.15; 95%CI: 1.02-1.92, P = 0.02; GG+GC *vs* CC: OR = 1.15; 95%CI: 1.03-1.29, P = 0.01). 亚组分析发现, 在亚洲人群中也有相似的结论(GC *vs* CC: OR = 1.15, 95%CI = 1.02-1.29, P = 0.02). 为评估纳入文献的发表偏倚情况, 做了Begg's漏斗图(未将漏斗图纳入本研究)及Egger's线性回归分析(表3), miR-146a rs2910164 G/C各基因模型的Begg's漏斗图基本对称, 其Egger's线性回归分析结果的P值均大于0.05, 表明不存在发表偏倚. 为评估研究结果的可靠性, 对本次Meta分析进行敏感性分析. 结果发现, 本次Meta分析结果不稳定: 在GC *vs* CC的比较模型中, Huang、Li及Xu等的研究对合并效应量有较大影响, 依次剔除Huang、Li及Xu等的研究后, 合并OR值由1.15(95%CI: 1.02-1.29, P = 0.02)分别变为1.12(95%CI: 0.99-1.27, P = 0.07)、1.09(95%CI: 0.96-1.25, P =0.18)及1.13(95%CI: 0.99-1.29, P = 0.06); 而在GG+GC *vs* CC的比较模型中, 依次剔除Li及Xu等的研究后, 合并OR值由1.15(95%CI: 1.03-1.29, P = 0.01)

■相关报道
Ma等系统评价miR-146a rs2910164基因多态性与肿瘤易感性的相关性, 本篇报道广泛搜集相关文献, 所研究的肿瘤较全面.

■创新盘点

近年来, 关于miR-146a rs2910164基因多态性与肝癌易感性的单个研究及相关Meta分析结果不尽一致. 为此, 本文广泛搜集相关文献, 系统评价miR-146a rs2910164G/C单核苷酸多态性与肝癌易感性间的相关性.

表 1 纳入研究的基本情况

研究	发表年限	国家	种族	对照组来源	样本量		质量评分	HWE
					病例组	对照组		*P*值
Xu等[19]	2008	中国	亚洲人	PB	479	504	17	0.119
Akkiz等[14]	2011	土耳其	高加索人	PB	222	222	15	0.384
Zhang等[15]	2011	中国	亚洲人	PB	963	852	17	0.149
Kim等[16]	2012	韩国	亚洲人	PB	159	201	16	0.190
Zhou等[17]	2012	中国	亚洲人	PB	186	483	16	0.056
李玉春[21]	2012	中国	亚洲人	PB	560	560	17	0.090
黄琼华等[20]	2013	中国	亚洲人	PB	110	110	15	0.122
Shan等[18]	2013	中国	亚洲人	PB	172	185	15	0.560

PB: 人口抽查.

表 2 miR-146a单核苷酸多态性rs2910164与肝癌易感性的Meta分析结果

基因模型	分组	研究数量(*n*)	OR(95%CI)	*P*值	I^2(%)
G *vs* C	总体	8	1.00(0.82–1.21)	0.98	83
	亚洲	7	1.01(0.81–1.25)	0.95	85
GG *vs* CC	总体	8	1.16(0.90–1.51)	0.25	53
	亚洲	7	1.17(0.88–1.55)	0.27	59
GG *vs* GC	总体	8	1.04(0.91–1.20)	0.53	39
	亚洲	7	1.07(0.91–1.24)	0.41	43
GC *vs* CC	总体	8	1.15(1.02–1.29)	0.02	36
	亚洲	7	1.15(1.02–1.29)	0.03	45
GG *vs* GC+CC	总体	8	1.08(0.95–1.24)	0.25	47
	亚洲	7	1.12(0.97–1.29)	0.13	49
GG+GC *vs* CC	总体	8	1.15(1.03–1.29)	0.01	46
	亚洲	7	1.15(0.96–1.37)	0.14	54

表 3 Egger's线性回归检测发表偏倚结果

分组	*P*值					
	G *vs* C	GG *vs* CC	GG *vs* GC	GC *vs* CC	GG+GC *vs* CC	GG *vs* GC+CC
总体	0.356	0.489	0.494	0.924	0.434	0.819
亚洲	0.425	0.536	0.543	0.860	0.487	0.826

分别变为1.09(95%CI: 0.96-1.23, P = 0.18)、1.12(95%CI: 0.99-1.27, P = 0.07).

3 讨论

目前, 有多个报道研究了miRNA-146a rs2910164单核苷酸多态性与肝癌易感性之间的相关性, 包括原始研究及相关Meta分析. 但是, 这些研究间的结果不尽一致, 且Meta分析纳入的文献数量有限. 为此, 本文在全面搜集相关文献的基础上, 对miR-146a rs2910164单核苷酸多态性与肝癌易感性之间的相关性进行系统而全面的评价. 研究发现, 在总体分析中, miRNA-146a rs2910164单核苷酸多态性与肝癌易感性之间具有相关性(GC *vs* CC: OR = 1.15; 95%CI: 1.02-1.92, P = 0.02; GG+GC *vs* CC: OR = 1.15; 95%CI: 1.03-1.29, P = 0.01). 亚组分析发现, 在亚洲人群中也有相似的结论. 分析结果发现, miRNA-146a rs2910164单核苷酸多态性与肝癌易感性之间具有相关性, 并且miRNA-146a rs2910164单核苷酸多态性的CC基因型可能是肝癌的保护

因素. 发表偏倚检查中发现, 本研究纳入的文献不存在发表偏倚. 敏感性分析发现, 本次Meta分析结果不稳定.

个体易感性是指在相同的外部环境中, 不同个体对同一种疾病表现出不同的易感性. 与癌症相关的基因多态性, 尤其是单核苷酸多态性在个体易感性中具有重要作用[35]. 最近研究发现, miR-146a在多种实体瘤中表达异常, 位于miR-146a前体Pre-miRNA茎环结构区域的一个G/C单核苷酸多态性rs2910164可以导致miR-146a的表达异常, 进而导致肿瘤的发生发展[36,37]. 近年来, 国内外对miR-146a rs2910164单核苷酸多态性是否与肝癌的易感性有关进行了相关研究[14-21], 这些研究的结果并不相同, 部分研究尚未发现miR-146a rs2910164单核苷酸多态性与肝癌的易感性有关[14-18], 而其他研究则认为miR-146a rs2910164单核苷酸多态性与肝癌的易感性有关[19-21]. 为此, 本文采用Meta分析的方法定量综合相关文献, 以期得到更可靠的结论. 同所有的Meta分析一样, 本次Meta分析上存在以下不足: 首先, 在一些基因比较模型中, 研究间存在异质性; 并且, 敏感性分析发现, 在部分基因比较模型中合并OR值并不稳定, 这在一定程度上会影响本次Meta分析的可靠性; 其次, 本次研究纳入的文献多是关于亚洲人的研究, 对于其他种族的报道则较少, 由于不同的种族具有不同的遗传背景, 这在一定程度上会影响本次结果的稳定性及可靠性; 再次, 本次研究的样本含量仍然较少; 最后, 本次研究尚未考虑基因之间及基因与环境之间的相互作用的影响.

总之, 本研究发现miRNA-146a rs2910164单核苷酸多态性与肝癌易感性之间具有相关性, 并且miRNA-146a rs2910164单核苷酸多态性的CC基因型可能是肝癌的保护因素. 将来, 需要开展大样本、多中心、同质性的病例对照研究, 将研究结果纳入Meta分析, 以便对miR-146a rs2910164 G/C单核苷酸多态性与肝癌易感性的关系做出更合理、可靠的结论.

4 参考文献

1 El-Serag HB, Rudolph KL. Hepatocellular carcinoma: epidemiology and molecular carcinogenesis. *Gastroenterology* 2007; 132: 2557-2576 [PMID: 17570226]

2 Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 69-90 [PMID: 21296855 DOI: 10.3322/caac.20107]

3 Esquela-Kerscher A, Slack FJ. Oncomirs - microRNAs with a role in cancer. *Nat Rev Cancer* 2006; 6: 259-269 [PMID: 16557279]

4 Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell* 2004; 116: 281-297 [PMID: 14744438]

5 Ambros V. The functions of animal microRNAs. *Nature* 2004; 431: 350-355 [PMID: 15372042]

6 Lewis BP, Burge CB, Bartel DP. Conserved seed pairing, often flanked by adenosines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets. *Cell* 2005; 120: 15-20 [PMID: 15652477]

7 Bartels CL, Tsongalis GJ. MicroRNAs: novel biomarkers for human cancer. *Clin Chem* 2009; 55: 623-631 [PMID: 19246618 DOI: 10.1373/clinchem.2008.112805]

8 Lynam-Lennon N, Maher SG, Reynolds JV. The roles of microRNA in cancer and apoptosis. *Biol Rev Camb Philos Soc* 2009; 84: 55-71 [PMID: 19046400 DOI: 10.1111/1469-185x.2008.00061.x]

9 Chen CZ. MicroRNAs as oncogenes and tumor suppressors. *N Engl J Med* 2005; 353: 1768-1771 [PMID: 16251533]

10 Baranwal S, Alahari SK. miRNA control of tumor cell invasion and metastasis. *Int J Cancer* 2010; 126: 1283-1290 [PMID: 19877123 DOI: 10.1002/ijc.25014]

11 Shastry BS. SNPs: impact on gene function and phenotype. *Methods Mol Biol* 2009; 578: 3-22 [PMID: 19768584 DOI: 10.1007.978-1-60327-411-1-1]

12 Hu Z, Chen J, Tian T, Zhou X, Gu H, Xu L, Zeng Y, Miao R, Jin G, Ma H, Chen Y, Shen H. Genetic variants of miRNA sequences and non-small cell lung cancer survival. *J Clin Invest* 2008; 118: 2600-2608 [PMID: 18521189]

13 Hu Z, Liang J, Wang Z, Tian T, Zhou X, Chen J, Miao R, Wang Y, Wang X, Shen H. Common genetic variants in pre-microRNAs were associated with increased risk of breast cancer in Chinese women. *Hum Mutat* 2009; 30: 79-84 [PMID: 18634034 DOI: 10.1002/humu.20837]

14 Akkız H, Bayram S, Bekar A, Akgöllü E, Usküdar O, Sandıkçı M. No association of pre-microRNA-146a rs2910164 polymorphism and risk of hepatocellular carcinoma development in Turkish population: a case-control study. *Gene* 2011; 486: 104-109 [PMID: 21807077 DOI: 10.1016/j.gene.2011.07.006]

15 Zhang XW, Pan SD, Feng YL, Liu JB, Dong J, Zhang YX, Chen JG, Hu ZB, Shen HB. [Relationship between genetic polymorphism in microRNAs precursor and genetic predisposition of hepatocellular carcinoma]. *Zhonghua Yufang Yixue Zazhi* 2011; 45: 239-243 [PMID: 21624236]

16 Kim WH, Min KT, Jeon YJ, Kwon CI, Ko KH, Park PW, Hong SP, Rim KS, Kwon SW, Hwang SG, Kim NK. Association study of microRNA polymorphisms with hepatocellular carcinoma in Korean population. *Gene* 2012; 504: 92-97 [PMID: 22583825 DOI: 10.1016/j.gene.2012.05.014]

17 Zhou J, Lv R, Song X, Li D, Hu X, Ying B, Wei Y, Wang L. Association between two genetic variants in miRNA and primary liver cancer risk in the Chinese population. *DNA Cell Biol* 2012; 31: 524-530 [PMID: 21861697 DOI: 10.1089/dna.2011.1340]

18 Shan YF, Huang YH, Chen ZK, Huang KT, Zhou MT, Shi HQ, Song QT, Yu ZP, Deng AM, Zhang QY. miR-499A& gt; G rs3746444 and miR-146aG& gt; C expression and hepatocellular carcinoma risk in the Chinese population. *Genet Mol Res* 2013; 12:

■同行评价

基本分析总结miRNA-146a rs2910164 SNP与肝癌易感性”的研究现状, 有一定参考意义.

5365-5371 [PMID: 24301908 DOI: 10.4238/2013.November.7.11]
19 Xu T, Zhu Y, Wei QK, Yuan Y, Zhou F, Ge YY, Yang JR, Su H, Zhuang SM. A functional polymorphism in the miR-146a gene is associated with the risk for hepatocellular carcinoma. *Carcinogenesis* 2008; 29: 2126-2131 [PMID: 18711148 DOI: 10.1093/carcin/bgn]
20 黄琼华, 黄天壬, 利基林, 王崇科, 韦忠亮, 李云西, 张春燕. 广西壮族人群microRNA-146a基因多态性与肝癌遗传易感性的相关性研究. 中国癌症防治杂志 2013; 2: 100-104
21 李玉春. MicroRNA相关单核苷酸多态性与原发性肝癌遗传易感性研究. 郑州大学, 2012
22 Wang Z, Cao Y, Jiang C, Yang G, Wu J, Ding Y. Lack of association of two common polymorphisms rs2910164 and rs11614913 with susceptibility to hepatocellular carcinoma: a meta-analysis. *PLoS One* 2012; 7: e40039 [PMID: 22768213 DOI: 10.1371/journal.pone.0040039]
23 He B, Pan Y, Cho WC, Xu Y, Gu L, Nie Z, Chen L, Song G, Gao T, Li R, Wang S. The association between four genetic variants in microRNAs (rs11614913, rs2910164, rs3746444, rs2292832) and cancer risk: evidence from published studies. *PLoS One* 2012; 7: e49032 [PMID: 23155448 DOI: 10.1371/journal.pone.0049032]
24 Hu M, Zhao L, Hu S, Yang J. The association between two common polymorphisms in MicroRNAs and hepatocellular carcinoma risk in Asian population. *PLoS One* 2013; 8: e57012 [PMID: 23437296 DOI: 10.1371/journal.pone.0057012]
25 Xu Y, Li L, Xiang X, Wang H, Cai W, Xie J, Han Y, Bao S, Xie Q. Three common functional polymorphisms in microRNA encoding genes in the susceptibility to hepatocellular carcinoma: a systematic review and meta-analysis. *Gene* 2013; 527: 584-593 [PMID: 23791656 DOI: 10.1016/j.gene.2013.05.-85]
26 Yin Z, Yan L, Cui Z, Li X, Ren Y, Zhou B. Effects of common polymorphisms rs2910164 in miR-146a and rs3746444 in miR-499 on cancer susceptibility: a meta-analysis. *Mol Biol Rep* 2013; 40: 3003-3013 [PMID: 23292097 DOI: 10.1007/s11033-012-2372-7]
27 Ma XP, Zhang T, Peng B, Yu L, Jiang de K. Association between microRNA polymorphisms and cancer risk based on the findings of 66 case-control studies. *PLoS One* 2013; 8: e79584 [PMID: 24278149 DOI: 10.1371/journal.pone.0079584]
28 Srivastava K, Srivastava A. Comprehensive review of genetic association studies and meta-analyses on miRNA polymorphisms and cancer risk. *PLoS One* 2012; 7: e50966 [PMID: 23226435 DOI: 10.1371/journal.pone.0050966]
29 Wang F, Sun G, Zou Y, Fan L, Song B. Lack of association of miR-146a rs2910164 polymorphism with gastrointestinal cancers: evidence from 10206 subjects. *PLoS One* 2012; 7: e39623 [PMID: 22761848 DOI: 10.1371/journal.pone.0039623]
30 Wigginton JE, Cutler DJ, Abecasis GR. A note on exact tests of Hardy-Weinberg equilibrium. *Am J Hum Genet* 2005; 76: 887-893 [PMID: 15789306]
31 Mantel N, Haenszel W. Statistical aspects of the analysis of data from retrospective studies of disease. *J Natl Cancer Inst* 1959; 22: 719-748 [PMID: 13655060]
32 DerSimonian R, Laird N. Meta-analysis in clinical trials. *Control Clin Trials* 1986; 7: 177-188 [PMID: 3802833]
33 Begg CB, Mazumdar M. Operating characteristics of a rank correlation test for publication bias. *Biometrics* 1994; 50: 1088-1101 [PMID: 7786990]
34 Egger M, Davey Smith G, Schneider M, Minder C. Bias in meta-analysis detected by a simple, graphical test. *BMJ* 1997; 315: 629-634 [PMID: 9310563]
35 Qiu LX, He J, Wang MY, Zhang RX, Shi TY, Zhu ML, Mao C, Sun S, Lv FF, Zheng CL, Zhu XD. The association between common genetic variant of microRNA-146a and cancer susceptibility. *Cytokine* 2011; 56: 695-698 [PMID: 21978540 DOI: 10.1016/j.cyto.2011.09.001]
36 Labbaye C, Testa U. The emerging role of MIR-146A in the control of hematopoiesis, immune function and cancer. *J Hematol Oncol* 2012; 5: 13 [PMID: 22453030 DOI: 10.11186/1756-8722-5-13]
37 Jeon HS, Lee YH, Lee SY, Jang JA, Choi YY, Yoo SS, Lee WK, Choi JE, Son JW, Kang YM, Park JY. A common polymorphism in pre-microRNA-146a is associated with lung cancer risk in a Korean population. *Gene* 2014; 534: 66-71 [PMID: 24144839 DOI: 10.1016/j.gene.2013.10.014]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年4月18日; 22(11): 1587-1591
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

超声检测肝癌血流分级及其与HIF-1α、MVD表达的关系

张璟卓, 刘 颖, 马艳艳

张璟卓, 马艳艳, 辽宁省大连医科大学附属第二医院超声科 辽宁省大连市 116023
张璟卓, 马艳艳, 大连医科大学研究生院 辽宁省大连市 116023
刘颖, 大连医科大学附属第二医院体检中心 辽宁省大连市 116023
张璟卓, 大连医科大学在读硕士, 主要从事超声诊断方面的研究.
作者贡献分布: 张璟卓与刘颖对此文所作贡献均等; 此课题由张璟卓与刘颖设计; 研究过程由张璟卓、刘颖及马艳艳操作完成; 研究所用新试剂与分析工具由刘颖提供; 数据分析由张璟卓完成; 本论文写作由张璟卓与刘颖完成.
通讯作者: 刘颖, 教授, 116023, 辽宁省大连市沙河口区中山路467号, 大连医科大学附属第二医院体检中心. dy2ytjzx@163.com
电话: 0411-84686593
收稿日期: 2014-02-10 修回日期: 2014-03-09
接受日期: 2014-03-13 在线出版日期: 2014-04-18

Relationship between blood flow assessed by ultrasound, MVD and expression of HIF-1α in hepatocellular carcinoma

Jing-Zhuo Zhang, Ying Liu, Yan-Yan Ma

Jing-Zhuo Zhang, Yan-Yan Ma, Department of Ultrasound, the Second Hospital of Dalian Medical University, Dalian 116023, Liaoning Province, China
Jing-Zhuo Zhang, Yan-Yan Ma, Dalian Medical University Postgraduate Department, Dalian 116023, Liaoning Province, China
Ying Liu, Medical Center, the Second Hospital of Dalian Medical University, Dalian116023, Liaoning Province, China
Correspondence to: Ying Liu, Professor, Medical Center, the Second Hospital of Dalian Medical University, 467 Zhongshan Road, Shahekou District, Dalian 116023, Liaoning Province, China. dy2ytjzx@163.com
Received: 2014-02-10 Revised: 2014-03-09
Accepted: 2014-03-13 Published online: 2014-04-18

Abstract

AIM: To investigate the ultrasonic signs of hepatocellular carcinoma (HCC), the expression of hypoxia inducible factor-1 alpha (HIF-1α) and microvessel density (MVD), and to analyze their correlations.

METHODS: Sixty patients who underwent duplex sonography and color Doppler ultrasonography before surgery and were surgically proved to have HCC were included. Immunohistochemical method was used to detect the expression of HIF-1α and MVD in HCC.

RESULTS: There was a correlation between blood flow grade and MVD. In liver cancer tissues when blood flow classification was grade Ⅲ, the rates of HIF-1α and MVD expression were highest [81.6% (92.61% ± 3.10%), 80.1% (85.16% ± 2.33%)], significantly higher than those in normal liver tissues (12.28% ± 7.21%, 11.33%± 7.21%, $P < 0.05$ for both). The expression of HIF-1α is related closely to hepatocellular carcinoma angiogenesis; higher expression of MVD was associated with higher expression of HIF-1α and more abundant blood flow.

CONCLUSION: Combination of color Doppler flow imaging and immunohistochemical parameters is useful for evaluating the angiogensis of HCC.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Hepatocellular carcinoma; Microvessel density; hypoxia inducible factor-1α; Ultrasonography

Zhang JZ, Liu Y, Ma YY. Relationship between blood flow assessed by ultrasound, MVD and expression of HIF-1α in hepatocellular carcinoma. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(11): 1587-1591 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1587.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i11.1587

摘要

目的: 超声观察肝癌性质及其血流情况, 并探讨缺氧诱导因子-1α(hypoxia inducible factor-1 alpha, HIF-1α)与微血管密度(microvessel density, MVD)在肝癌组织中的表达情况及二者间关系.

方法: 对60例经病理证实的原发性肝癌手术切除术前进行二维及彩色多普勒超声检查, 进行血流分级, 通过实验室免疫组织化学的方法检测HIF-1α、MVD在肝癌组织中的表达.

结果: 血流等级和HIF-1α、MVD相关, 在肝

■背景资料
肝癌的死亡率高, 容易并发转移, 一般发现多半为晚期; 因此以无创、准确、快捷的影像学检查对患者进行诊断成为重中之重, 并能通过该方法来检测肝癌的发生、发展以及转移从而赢得有效治疗时间.

■同行评议者
李健丁, 教授, 山西医科大学第一医院放射科CT室

癌组织中当血流分级为Ⅲ级时HIF-1α、MVD表达率最高, 分别为81.6%(92.61%±3.10%)、80.1%(85.16%±2.33%), 在正常肝组织中HIF-1a、MVD表达率分别为12.28%±7.21%, 为11.33%±7.21%, 二者比较具有显著性差异(P<0.05). HIF-1α的表达与肝癌新生血管的生成密切相关, MVD高表达、HIF-1α表达越高, 彩色多普勒显示血流越丰富.

结论: 彩色多普勒超声结合上述指标可从不同方面反映肝癌血管生成的特性, 有利于对肝癌血管生成进行评估.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 肝细胞癌; 微血管密度; 缺氧诱导因子-1α; 超声检查

核心提示: 彩色多普勒超声检测肝癌内血流可分0、Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ级, 通过免疫组织化学验证微血管密度(microvessel density, MVD)、缺氧诱导因-1α(hypoxia inducible factor-1 alpha, HIF-1α)在肝癌组织中呈阳性表达, Ⅲ级血流信号组织中MVD、HIF-1α表达最高; 血流信号Ⅰ级表达相应减低, 故解释了恶性肿瘤的侵袭性.

张璟卓, 刘颖, 马艳艳. 超声检测肝癌血流分级及其与HIF-1α、MVD表达的关系. 世界华人消化杂志 2014; 22(11): 1587-1591
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1587.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i11.1587

■研发前沿
肝癌是高血管实性肿瘤, 彩色多普勒超声是目前观察肝癌血管生成最优便的技术, 新生肿瘤血管是肿瘤快速生长的根本, 微血管密度(microvessel density, MVD)、缺氧诱导因-1α(hypoxia inducible factor-1 alpha, HIF-1α)在多种恶性肿瘤中介入肿瘤血管生成, 将超声与免疫组织化学方法结合对诊断肝癌的发生、发展起到更加重要的作用.

0 引言

原发性肝癌是当前最常见的恶性肿瘤之一, 初期诊断及治疗预后效果的评价成为探究重心. 肝癌肿瘤生长转移, 普遍认为依赖于形成的新生血管, 新生肿瘤血管是肿瘤快速生长的根本和形态学依据, 肿瘤血管生成与实体肿瘤的生长和转移密切相关, 新生血管以其独有特性协同抑制因子产生共性从而调控肝癌血管生成[1]. 缺氧诱导因-1α(hypoxia inducible factor-1 alpha, HIF-1α)为特异性低氧状况下发挥活性的转录因子, 表达广泛, 是必要正向调控因子, 在多种恶性肿瘤中介入肿瘤血管生成, 发展并形成新生血管. 微血管密度(microvessel density, MVD)是血管形成的固有指标, 用CD31单克隆抗体标记肿瘤血管内皮细胞, 计数其肿瘤微血管密度能较准的反映血管生成活性, 与肿瘤的预后密切相关[2]. 本文利用彩色多普勒血流成像技术, 结合免疫组织化学方法检测肝癌血管生成活性相关的指标, 从微观与宏观两方面深入研究并探讨肝癌血管生成的特性.

1 材料和方法

1.1 材料 超声彩色多普勒诊断仪为HITACHI EUB-7500型(日立公司), 探头频率3.5-4.0 MHz. 收用大连医科大学附属第二医院2006年以来两年间诊断为原发性肝癌病例, 男50例, 女10例, 共60例, 平均年龄51岁±13岁. 60例肝癌根据直径范围分为小肝癌型(直径<3 cm)9例、结节型(直径>3 cm且<10 cm)43例、巨块型(直径>10 cm)8例. 弥漫型肝癌不被选为研究对象, 全部病例无干预治疗, 术前需超声检查, 术后石蜡切片, 最后利用免疫组织化学法行实验室检察.

1.2 方法

1.2.1 超声检查及分级: 患者取仰卧位及左侧卧位, 先于二维超声下观察肝脏内肿块位置再确定其大小、形态、内部回声. 继而行彩色多普勒观测肿块内部及周边血流情况, 将肿块血流进行分级[3]: 0级, 肿瘤内无明显血流; Ⅰ级, 肿瘤内有血流, 但较少, 呈点状; Ⅱ级, 肿瘤内有较丰富的血供, 显示为条状血流信号; Ⅲ级, 肿瘤内血流丰富, 多条粗大血管穿行. 脉冲多普勒评估瘤体内血流的性质.

1.2.2 免疫组织化学检测HIF-1α的表达: HIF-1α抗体(兔抗人, 配比1∶200) CD31抗体(鼠抗人, 配比1∶150)(北京中山试剂公司), 二抗即用型SP免疫组织化学试剂盒、DAB显色试剂盒, 用PBS代替各种一抗作为阴性对照. (1)将肿瘤组织石蜡包埋标本24 h; (2)连续切片; (3)脱蜡至水, PBS缓冲液冲洗3次; (4)3%过氧化氢封闭10-15 min, 灭活其内部过氧化酶; (5)100 ℃高压修复抗原, 自然冷却至室温后清水冲洗; (6)山羊血清封闭, 室温孵育10-15 min; (7)滴加一抗37 ℃水箱孵育2 h(4 ℃过夜)后PBS冲洗3次; (8)滴加二抗, 室温放置10-15 min后PBS冲洗3次; (9)滴加SP溶液, 室温放置10-15 min, PBS冲洗3次, 拭干; (10)DAB显色, 镜下观察组织呈金黄色后立即蒸馏水冲洗, 停止显色, 苏木复染30 s, 流水冲洗, 梯度酒精脱水, 烤片, 中性树胶封片.

1.2.3 免疫结果判定: HIF-1α判定标准: 镜下主要位于肿瘤细胞胞质内, 以橙黄色细颗粒为阳性细胞, 按Birner[4]的方法判断, 连续观察以阳性细胞占总细胞数的百分比进行半定量处理, 1分: 阳性细胞数<10%, 2分: 阳性细胞数在10%-50%,

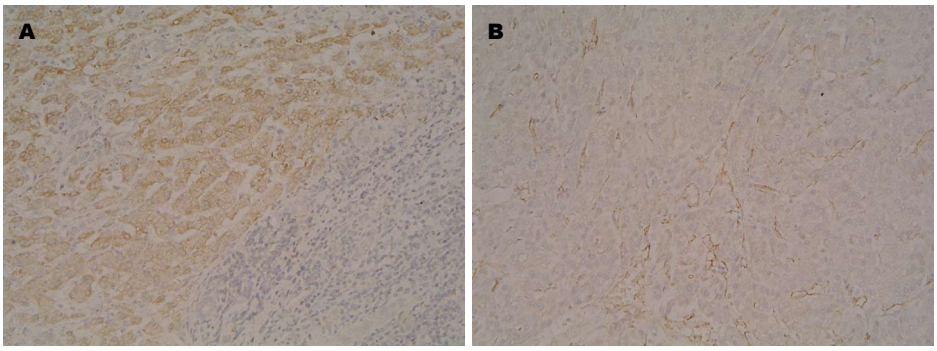


图 1 肝癌组织HIF-1α、CD31阳性表达(×200). A: HIF-1α阳性表达; B: CD31阳性表达. HIF-1α: 缺氧诱导因子-1α.

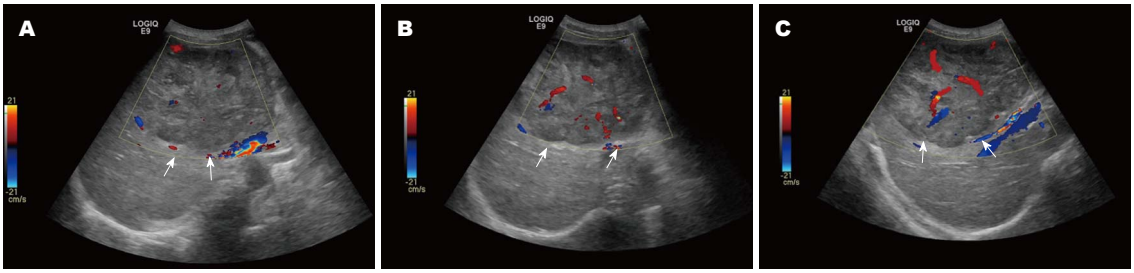


图 2 肝癌内血流分级 Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ**级.** A: 肝癌内血流I级, 肿瘤内有血流, 但较少, 呈点状; B: 肝癌内血流II级, 肿瘤内有较丰富的血供, 显示为条状血流信号; C: III级, 肿瘤内血流丰富, 多条粗大血管穿行(箭头所示为肝癌).

表 1 肝癌HIF-1α、MVD表达与多普勒血流参数的关系

血运分级	*n*	HIF-1α阳性	MVD阳性
0	15	41.50±3.21	20.57±2.26
I	20	64.37±3.02	39.32±3.71
II	15	79.94±2.97	62.25±3.80
III	10	92.61±3.10	85.16±2.33
*P*值		<0.05	<0.05

HIF-1α: 缺氧诱导因子1α; MVD: 微血管密度.

3分: 阳性细胞数在51%-80%间, 4分: 阳性细胞数>80%. 综合染色强度: 1分: 染色弱且非阴性对照者, 2分: 染色清晰者, 3分: 染色强者. 上述两项评分相加: <3分为(-), 3分为(+), 4-5分(++), 6-7分(+++). CD31判定标准: 位于肿瘤间质血管内皮细胞质内的棕色颗粒为阳性, 在高倍镜下选择几个不同视野计数, 计算每个单一视野平均血管数, 取其均数即MVD[4]. Weidner微血管密度计算方法[5], 在肿瘤细胞组织和肿瘤细胞相邻的毛细血管, 肿瘤细胞之间的一个明确的界定, 并染成棕色的新肿瘤血管内皮细胞团. 先在低倍镜下选择新生血管最密集区, 再在高倍镜下计数, 取其均数为该例的微血管密度.

统计学处理 所有数据以mean±SD表示, 均数间使用SPSS16.0统计软件进行比较. 应用方差分析MVD与HIF-1α组间关系. 应用Spearman分析血流等级与MVD、HIF-1α双变量表达相关关系. $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

在60例肝癌组织中随着肝癌血流分级的增高, MVD、HIF-1α表达增高, 当血流分级为Ⅲ级时HIF-1α表达率最高, 为81.6%(92.61%±3.10%); MVD表达率为80.1%(85.16%±2.33%), 在正常肝组织中HIF-1α表达率为12.28%±7.21%, MVD为11.33%±7.21%, 二者比较具有显著性差异($P<0.05$). 肝癌组织中MVD、HIF-1α阳性表达率均为71%以上, 且肝癌组织中HIF-1α的表达与MVD间均具有显著的正相关性($P<0.05$). 肝癌血流分级组间比较, 具有明显差异, 血流等级高组HIF-1α阳性表达高于血流等级低组, 肝癌血流等级与HIF-1α阳性表达呈正相关. 将肝癌彩色血流参数、血流等级与HIF-1α、MVD阳性表达率相关性分析, MVD阳性表达率与血流等级相关, HIF-1α阳性表达率和血流等级正相关($P<0.05$, 表1, 图1, 2).

3 讨论

肝癌的死亡率高, 容易并发转移, 一般发现多半为晚期, 因此寻找一种无创而又准确、快捷的

■相关报道
肖际东等采用彩色多普勒超声检测45例肝癌肿瘤血流信号, 计测阻力指数、相对灌注率、血流分级, 并采用免疫组织化学技术检测肿瘤MVD及VEGF表达, 彩色多普勒超声联合免疫组织化学指标可从不同角度反映肝癌血管生成特征.

■创新盘点

本文回顾对60例经病理证实的原发性肝癌手术切除术前进行二维及彩色多普勒超声检查, 进行血流分级, 并通过实验室免疫组织化学的方法检测HIF-1α、MVD在肝癌组织中的表达.从微观与宏观两方面深入研究并探讨肝癌血管生成的特性.

影像学检查方法对患者进行诊治, 并通过该方法来检测肝癌的发生、发展以及转移是具有极其重要的作用. 彩色多普勒超声是目前观察血管生成最先进、最方便的技术, 对肿瘤血管的生长程度、分布、血流性质、数量、血流动力学参数等提供重要信息. 肝癌是高血管实性肿瘤, 彩超可检测肝癌的供血小动脉血流信号[6]. 对肝脏肿瘤彩色多普勒血流与血管生成关系深入研究, 有助于进一步了解肿瘤发生程度.

肿瘤血管新生因子HIF-1α、MVD是目前常用的评价血管生成的免疫组织化学指标. 通过计数肿瘤微血管密度, 可对肿瘤血管进行定量研究, 还可区分血管种类[7,8]. 恶性肿瘤的新生血管分为无血管的侵袭前期和有血管的侵袭期, 也就是说是重要部分为血管生成的侵袭期, 是一种新的肿瘤生物学特征. 在初期, 肿瘤并不会诱发血管生成, 增殖的单细胞, 依靠周边组织来提供养料, 体积有限, 所以不会发生转移; 当肿瘤进一步增大时, 促进肿瘤增殖, 便进入血管的生成期, 肿瘤细胞迅速增大, 便具有转移能力. 随着肿瘤内大量微血管生成, 获得大量营养, 肿瘤细胞游离出血管的能力增大, 最终肝癌细胞血管生成[9], 因而导致转移和浸润的机动性增加. HIF-1α的靶基因是实体肿瘤适应缺氧, 糖酵解增加, 新的血管生成, 调控*MVD*基因和糖酵解中多种关键酶基因[10]. 在肿瘤向血管生成型发生改变的初期过程中, 肝癌细胞株中HIF-1α阳性率上调, 引领肝癌细胞株表达*MVD*等基因[11]. HIF-1α在肝癌中广泛表达, 与其肝转移呈正相关, 与肝癌的分化程度呈负相关[12]. 而MVD的异常改变是肝癌发生转移的重要标志, 在肝癌血管新生与恶性生长中发挥重要的作用, 对预测肝癌术后有无复发有重要的意义[13].

本研究对肝癌MVD及HIF-1α表达与超声参数研究发现, 在MVD高表达组中, 其血流分级均高于MVD低表达组, MVD血流分级具有相关性. 60例肝癌组织中MVD、HIF-1α阳性表达率均为71%以上, 且肝癌组织中HIF-1α的表达与MVD间均具有显著的正相关性(P<0.05). 故新生血管系统在肿瘤中分布是不均的[14], Ⅲ级血流信号组织中, 新生血管活跃度最高, MVD表达最高; 血流信号Ⅰ级, MVD表达相应减低, 故解释了恶性肿瘤的侵袭性. 其机制: 间质内的微血管被大量的肿瘤细胞增生挤压, 以致缺氧, 从而启动癌细胞分泌血管因子促使血管内皮细胞增生, 使微血管密度增加, 补充肿瘤细胞对氧气及营养的需要, 增生的内皮细胞能大批的分泌出生长因子, 直接促成肿瘤细胞的增殖[15]. 在HIF-1α与MVD表达阳性组间血流无明显统计学差异, HIF-1α可能只是其中之一, 并没有起到决定性作用; 其次, HIF-1α通过提高肿瘤血管的通透能力来影响肿瘤内血流, 而MVD直接反映肿瘤血管增生程度; 免疫组织化学检测在组织取材方面仅能反映肿瘤局部区域的表达, 不能全面显示整个肿瘤的情况[16]. 因此, 本研究表明MVD、HIF-1α均只可作为间接评价活体内肝癌肿瘤组织内的血管生成情况的指标.

总之, 在肝癌的影像学诊断上超声发挥了极其重要作用, 血流分级是体现肿瘤血流丰富程度的重要指标, 在超声图象上可宏观表现, 正确判断血流情况. 而MVD、HIF-1α阳性表达数据可微观地反映血管丰富程度, 结构异常变化的病理过程, 缺氧诱导因子被激活, 促使肝癌新生血管体系的形成, HIF-1α蛋白表达过度, MVD调控转录, 从而肿瘤细胞发生增殖. 所以将肝癌组织超声血流分级与免疫组织化学染色相结合对临床评估肝癌治疗效果提供理论依据.

4 参考文献

1 Luo SR, Duan YY, Zhao BS, Yuan LJ. Hemodynamic changes in hepatic cancer before and after cluster electrode radio-frequency ablation. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2002; 1: 215-218 [PMID: 14607742]

2 肖际东, 沈守荣, 朱文晖, 周平. 彩色多普勒超声检测肝癌血流及其与MVD、VEGF表达的关系. 中国医学影像技术 2007; 23: 884-887

3 Kudo K, Arao T, Tanaka K, Nagai T, Furuta K, Sakai K, Kaneda H, Matsumoto K, Tamura D, Aomatsu K, De Velasco MA, Fujita Y, Saijo N, Kudo M, Nishio K. Antitumor activity of BIBF 1120, a triple angiokinase inhibitor, and use of VEGFR2+pTyr+ peripheral blood leukocytes as a pharmacodynamic biomarker in vivo. *Clin Cancer Res* 2011; 17: 1373-1381 [PMID: 21131553 DOI: 10.1158/1078-0432]

4 Yoshiji H, Kuriyama S, Noguchi R, Yoshii J, Ikenaka Y, Yanase K, Namisaki T, Kitade M, Yamazaki M, Akahane T, Asada K, Tsujimoto T, Uemura M, Fukui H. Amelioration of carcinogenesis and tumor growth in the rat liver by combination of vitamin K2 and angiotensin-converting enzyme inhibitor via anti-angiogenic activities. *Oncol Rep* 2006; 15: 155-159 [PMID: 16328049]

5 胡张春. 肝癌超声征象与血管生成的相关性研究. 中华全科医学 2013; 11: 302-303

6 刘健, 黄道中, 张青萍. 肝癌血管形态及其血流动力学的彩色多普勒超声研究. 临床超声医学杂志 2007; 9: 269-272

7 刘延, 李湘竑, 杨定华, 刘萧, 钟克波, 毕民平, 李光辉, 廖晓明. SENP-1和HIF-1a在肝细胞肝癌中的表达及临床意义. 中山大学学报(医学科学版) 2012; 33: 465-470

8 穆四清, 张峰. 缺氧诱导因子-1a的表达与肝癌血管生成的关系. 南京医科大学学报(自然科学版) 2006; 26: 172-175

9 Safarova AF, Iurtaeva VR, Kotovskaia IuV, Kobalava ZhD. [The state of carotid arteries in young men with arterial hypertension]. *Kardiologiia* 2012; 52: 22-25 [PMID: 22839440]
10 张芳杰, 唐望先, 吴翠环, 晏维, 谷华. 缺氧诱导因子1a在肝癌中的表达及意义. 中华肝脏病杂志 2006; 14: 281-284
11 李玉梅, 陈永强. 缺氧诱导因子-1与肿瘤细胞凋亡及血管生成关系的研究进展. 中华肿瘤防治杂志 2008; 15: 948-954
12 李姗姗, 姚登福, 董志珍. 肝缺氧诱导因子-1a与肝癌发生、发展及治疗研究新进展. 世界华人消化杂志 2010; 18: 361-367
13 Pertovaara M, Kähönen M, Juonala M, Laitinen T, Taittonen L, Lehtimäki T, Viikari JS, Raitakari OT, Hurme M. Autoimmunity and atherosclerosis: the presence of antinuclear antibodies is associated with decreased carotid elasticity in young women. The Cardiovascular Risk in Young Finns Study. *Rheumatology* (Oxford) 2009; 48: 1553-1556 [PMID: 19779028 DOI: 10.1093/rheumatology/kep288]
14 Ho JW, Man K, Sun CK, Lee TK, Poon RT, Fan ST. Effects of a novel immunomodulating agent, FTY720, on tumor growth and angiogenesis in hepatocellular carcinoma. *Mol Cancer Ther* 2005; 4: 1430-1438 [PMID: 16170036 DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-05-0021]
15 Yoysungnoen P, Wirachwong P, Bhattarakosol P, Niimi H, Patumraj S. Antiangiogenic activity of curcumin in hepatocellular carcinoma cells implanted nude mice. *Clin Hemorheol Microcirc* 2005; 33: 127-135 [PMID: 16151260]
16 曹跃鹏, 李东恩, 宋甫春. HIF-1a在原发性肝细胞癌中的表达及意义. 现代实用医学 2009; 21: 435-439

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

■同行评价

目前在国内外文献中, 研究HIF-1α、MVD在肝癌中的表达的较多, 但将HIF-1α、MVD与超声血流分级结合在一起的较少. 本文研究讨论超声在肝癌血流分级判定中的作用, 并证明了其与HIF-1α、MVD表达相关性.

世界华人消化杂志 2014年4月18日; 22(11): 1592-1596
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

百令胶囊治疗慢性肾炎蛋白尿(肝肾阴虚型)的临床疗效

景照峰, 刘 剑, 胡 蓉, 晏家华, 罗 敏

■背景资料
慢性肾炎发病年龄范围较大, 任何年龄段均可发病, 患者多为年轻男性. 慢性肾炎以蛋白尿、血尿、水肿以、高血压以及肾功能损害等临床表现为主要特征, 蛋白尿是导致患者小管间质纤维化和肾小球硬化的重要危险因素. 传统中医学认为慢性肾炎蛋白尿的主要病机为肺、脾、肾三脏虚损、邪气留滞, 肝肾阴虚型在慢性肾炎中十分常见.

景照峰, 刘剑, 胡蓉, 晏家华, 罗敏, 贵州省六盘水市人民医院 贵州省六盘水市 553001
景照峰, 副主任医师, 主要从事内科的相关研究.
作者贡献分布: 此课题由刘剑设计; 研究过程由景照峰与刘剑完成; 数据分析由胡蓉、晏家华及罗敏完成; 写作由于景照峰、刘剑、胡蓉、晏家华及罗敏共同完成.
通讯作者: 景照峰, 副主任医师, 553001, 贵州省六盘水市钟山西路56号, 贵州省六盘水市人民医院. 4962482@qq.com
收稿日期: 2014-01-20 修回日期: 2014-03-17
接受日期: 2014-03-19 在线出版日期: 2014-04-18

Bailing capsules for treatment of proteinuria in patients with chronic nephritis (liver and kidney Yin deficiency)

Zhao-Feng Jing, Jian Liu, Rong Hu, Jia-Hua Yan, Min Luo

Zhao-Feng Jing, Jian Liu, Rong Hu, Jia-Hua Yan, Min Luo, Department of Urology, Liupanshui People's Hospital, Liupanshui 553001, Guizhou Province, China
Correspondence to: Zhao-Feng Jing, Associate Chief Physician, Department of Urology, Liupanshui People's Hospital, 56 Zhongshan Western Road, Liupanshui 553001, Guizhou Province, China. 4962482@qq.com
Received: 2014-01-20 Revised: 2014-03-17
Accepted: 2014-03-19 Published online: 2014-04-18

Abstract

AIM: To explore the effect of Bailing capsules in the treatment of proteinuria in patients with chronic nephritis (liver and kidney Yin deficiency).

METHODS: Eighty-four chronic nephritis patients with proteinuria were randomly divided into either an experimental group or a control group. The control group was treated by triptery-sium glycosides, perindopril tablets and Warfarin sodium tablets, while the experimental group was additionally given Bailing capsules on the basis of the treatments for the control group. The clinical effects, symptom score, blood pressure, ALB, and the improvement of 24 h urinary protein quantity (UPQ) were compared between the two groups.

RESULTS: The response rate in the experimental group was significantly better than that in the control group (61.90% *vs* 40.48%, $P < 0.05$). The scores of various symptoms in the experimental group after treatment were significantly lower than those before treatment (1.47 ± 0.42 *vs* 3.60 ± 0.96, 1.93 ± 0.48 *vs* 3.60 ± 1.02, 1.93 ± 0.46 *vs* 3.13 ± 0.96, 1.80 ± 0.40 *vs* 3.20 ± 0.88, 1.27 ± 0.38 *vs* 2.27 ± 0.75, $P < 0.05$). There were no significant differences in the dysphoria with feverish sensation in chest, tidal fever and night sweating, the score of dry eyes or the score of blurring of visiona between before and after treatment in the control group (2.87 ± 0.59 *vs* 3.33 ± 1.01, 2.80 ± 0.52 *vs* 3.20 ± 0.91, $P > 0.05$). Edema, dysphoria with feverish sensation in chest, tidal fever and night sweating, the score of dry eyes and the score of blurring of vision in the experimental group were significantly lower than those in the control group (1.47 ± 0.42 *vs* 2.27 ± 0.58, 1.93 ± 0.48 *vs* 2.87 ± 0.59, 1.80 ± 0.40 *vs* 2.80 ± 0.52, $P < 0.05$). The levels of blood pressure and 24hUPQ were significantly lower (77.13 ± 6.12 *vs* 86.79 ± 16.88, 0.59 ± 0.31 *vs* 2.06 ± 0.60, 81.16 ± 7.08 *vs* 85.68 ± 16.95, 0.98 ± 0.68 *vs* 2.07 ± 0.64, $P < 0.05$) and the levels of ALB (36.83 ± 10.62 *vs* 30.18 ± 6.77, 33.27 ± 7.11 *vs* 30.20 ± 6.59, $P < 0.05$) were significantly higher after treatment in the two groups compared with pretreatment values. The levels of blood pressure and 24hUPQ in the experimental group were significantly lower than those in the control group (77.13 ± 6.12 *vs* 81.16 ± 7.08, 0.59 ± 0.31 *vs* 0.98 ± 0.68, $P < 0.05$), and the levels of ALB in the experimental group were significantly higher than those in the control group (36.83 ± 10.62 *vs* 33.27 ± 7.11, $P < 0.05$).

CONCLUSION: Bailing capsules can improve clinical symptoms and urine protein levels in chronic nephritis patients with proteinuria on the basis of conventional treatments.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Bailing capsules; Chronic nephritis; Proteinuria; Liver and kidney Yin deficiency

Jing ZF, Liu J, Hu R, Yan JH, Luo M. Bailing capsules for treatment of proteinuria in patients with chronic nephritis (liver and kidney Yin deficiency). Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(11): 1592-1596 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1592.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i11.1592

■同行评议者
樊冬梅, 副主任医师, 广州中医药大学第一附属医院消化内科

摘要

目的: 探讨百令胶囊治疗慢性肾炎蛋白尿(肝肾阴虚型)的临床疗效.

方法: 按照随机数字表法将我院收治的84例慢性肾炎蛋白尿(肝肾阴虚型)患者均分为实验组和对照组, 对照组患者给予雷公藤多苷片、培哚普利片和华法林钠片联合治疗, 实验组患者在此基础上加用百令胶囊治疗, 比较两组患者临床疗效以及治疗前后临床症状评分、血压、血浆白蛋白(plasma albumin, ALB)、24 h尿蛋白定量(24 hour urinary protein quantity, 24hUPQ)改善情况.

结果: 实验组患者治疗总有效率明显高于对照组(61.90% *vs* 40.48%), 差异具有统计学意义($P<0.05$); 实验组治疗后各临床症状评分均明显降低, 与治疗前比较, (1.47±0.42 *vs* 3.60±0.96)、(1.93±0.48 *vs* 3.60±1.02)、(1.93±0.46 *vs* 3.13±0.96)、(1.80±0.40 *vs* 3.20±0.88)、(1.27±0.38 *vs* 2.27±0.75), 差异具有统计学意义($P<0.05$); 对照组患者治疗后五心烦热或潮热盗汗、目睛干涩或视物模糊评分改善不明显, 与治疗前比较(2.87±0.59 *vs* 3.33±1.01)、(2.80±0.52 *vs* 3.20±0.91), 差异无统计学意义($P>0.05$); 实验组治疗后浮肿、五心烦热或潮热盗汗、目睛干涩或视物模糊评分均明显低于对照组(1.47±0.42 *vs* 2.27±0.58)、(1.93±0.48 *vs* 2.87±0.59)、(1.80±0.40 *vs* 2.80±0.52), 差异具有统计学意义($P<0.05$); 两组患者治疗后血压、24hUPQ水平均明显下降(77.13±6.12 *vs* 86.79±16.88)、(0.59±0.31 *vs* 2.06±0.60), (81.16±7.08 *vs* 85.68±16.95)、(0.98±0.68 *vs* 2.07±0.64), ALB水平均明显升高, (36.83±10.62 *vs* 30.18±6.77), (33.27±7.11 *vs* 30.20±6.59), 与治疗前比较, 差异具有统计学意义($P<0.05$); 实验组患者治疗后血压、24hUPQ水平明显低于对照组, (77.13±6.12 *vs* 81.16±7.08)、(0.59±0.31 *vs* 0.98±0.68), ALB水平明显高于对照组, (36.83±10.62 *vs* 33.27±7.11), 差异具有统计学意义($P<0.05$).

结论: 在雷公藤多苷片、培哚普利片和华法林钠片联合用药基础上加用百令胶囊能够显著改善患者临床症状和尿蛋白水平, 显著提升临床疗效, 具有较高应用价值.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 百令胶囊; 慢性肾炎; 蛋白尿; 肝肾阴虚型

核心提示: 本研究中使用雷公藤多苷片、培哚普利片和华法林钠片作为常规治疗方式. 其中雷公藤多苷片主要成分为雷公藤多苷, 具有高效抗炎和免疫抑制效果; 培哚普利片主要成分为培哚普利叔丁胺盐, 服用后水解为特异性血管紧张素转换酶抑制剂培哚普利拉, 能够有效改善血浆白蛋白结合率; 华法林钠片属于双香豆素类中效抗凝剂, 能够抑制患者肝细胞中凝血因子合成和抑制血小板聚集反应. 本研究中对照组患者治疗总有效率为40.48%, 治疗后患者浮肿、腰膝酸软和性功能失常或月经失调得到明显改善, 血压、24 h蛋白定量水平均明显下降, 白蛋白(albumin, ALB)水平均明显升高, 表明3者联合应用具有确切临床疗效.

景照峰, 刘剑, 胡蓉, 晏家华, 罗敏. 百令胶囊治疗慢性肾炎蛋白尿(肝肾阴虚型)的临床疗效. 世界华人消化杂志 2014; 22(11): 1592-1596 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1592.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i11.1592

■研发前沿
慢性肾炎蛋白尿(肝肾阴虚型)的临床治疗主要为延缓肾功能恶化、控制血压、降低尿蛋白以及使用抗凝和抗血小板聚集药物等. 其中血管紧张素转化酶抑制剂、血管紧张素Ⅱ受体阻滞剂、糖皮质激素以及细胞毒药物均为降低尿蛋白的常用药物. 但需要注意的是, 患者长期大量服用激素药物后易引发加重感染、体型改变以及糖尿病、高血压等并发症, 甚至引发白内脏以及神经精神症状, 严重影响预后效果.

0 引言

慢性肾炎即慢性肾小球肾炎, 慢性肾炎蛋白尿(肝肾阴虚型)是由于慢性肾炎病情进展后引起肾小球损坏和肾功能衰竭, 导致肾小球滤过膜通透性增强露出大量血浆蛋白, 超出肾小管重吸收上限而被排出体外, 长期蛋白尿可加重肾功能损害[1]. 目前临床治疗慢性肾炎蛋白尿(肝肾阴虚型)主要通过控制饮食、保证休息和药物治疗达到降低尿蛋白含量的效果[2]. 我院在常规药物治疗基础上加用百令胶囊治疗, 已经取得了良好的临床效果, 现报道如下.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2011-06/2013-06我院收治的84例慢性肾炎蛋白尿(肝肾阴虚型)患者作为研究对象. 所有患者均符合慢性肾小球肾炎的西医诊断标准[3]和中医肝肾阴虚型分型标准[4], 经常规实验室检查确诊, 部分患者进行了肾活检. 患者临床均表现为不同程度浮肿、五心烦热或潮热盗汗、腰酸膝软、目睛干涩或视物模糊、性功能失常或月经失调等症状, 多数患者舌质暗红或干红并出现瘀斑, 舌苔少且薄黄、干厚. 排除入选前4 wk内使用其他激素类药物治疗、继发肾脏损害以及对本研究药物过敏者. 按照随机数字表法将84例患者均分为实验组和对照组, 两组患者在性别、年龄、病程及病情等上差异无统计学意义($P>0.05$)(表1), 具有可比性. 所有

■应用要点
在雷公藤多苷片、培哚普利片和华法林钠片联合用药基础上加用百令胶囊能够显著改善患者临床症状和尿蛋白水平, 显著提升临床疗效, 具有较高应用价值.

表 1 两组患者临床资料比较 (n = 42)

分组	性别n(%)		平均年龄(岁)	平均病程(年)	病情n(%)		
	男	女			轻度	中度	重度
实验组	15(35.71)	27(64.29)	37.82 ± 8.13	1.44 ± 0.47	10(23.81)	25(59.52)	7(16.67)
对照组	18(42.86)	24(57.14)	38.57 ± 8.76	1.46 ± 0.33	8(19.05)	26(61.90)	8(19.05)

表 2 两组患者临床疗效比较 [n = 42, n(%)]

分组	完全缓解	基本缓解	有效	无效	总有效
实验组	8(19.05)	12(28.57)	6(14.29)	4(9.52)	26(61.90)[a]
对照组	4(9.52)	8(19.05)	5(11.90)	13(30.95)	17(40.48)

[a]P<0.05 *vs* 对照组.

患者入选前均签署知情同意书.

1.2 方法

1.2.1 治疗: 两组患者均给予常规蛋白及磷摄入控制, 卧床休息等避免加重肾损害. 对照组患者给予雷公藤多苷片(上海复旦复华药业有限公司, 国药准字Z31020415, 10 mg×100片)、培哚普利片(天津施维雅制药有限公司, 国药准字H20034053, 4 mg×30片)和华法林钠片[上海医药(集团)有限公司信谊制药总厂, 国药准字H31022123, 2.5 mg×60片]联合治疗, 雷公藤多苷片2片/次, 3次/d, 培哚普利片1片/次, 1次/d, 华法林钠片1片/次, 1次/d[5]. 实验组患者在此基础上加用百令胶囊(杭州中美华东制药有限公司, 国药准字Z10910036, 0.2 g×60粒), 5粒/次, 3次/d.

1.2.2 观察指标: 两组患者均连续治疗6 mo, 记录治疗前后临床症状评分变化, 并进行血常规、尿常规及24 h尿蛋白定量(24 hour urinary protein quantity, 24hUPQ)动态监测. 比较两组患者临床疗效以及治疗前后临床症状评分、血压、白蛋白(plasma albumin, ALB)、24hUPQ改善情况.

临床疗效评价标准: 完全缓解: 临床症状及体征完全消失, 尿蛋白转阴, 24hUPQ<0.2 g, 持续3 mo以上; 基本缓解: 临床症状及体征基本消失, 24hUPQ较治疗前下降至少50%, 持续3 mo以上; 有效: 临床症状及体征有所好转, 24hUPQ较治疗前下降至少25%; 无效: 临床症状、体征和实验室指标均无改善, 甚至恶化[6].

临床症状评分标准: 参照中华中医药学会肾病分会和甘肃省兰州市中西医结合肾病治疗中心2006年发布的《慢性肾小球肾炎的诊断、辨证分型及疗效评定(试行方案)》中临床症状评分标准[4].

统计学处理 本研究数据均采用SPSS18.0进行统计学处理, 计量资料采用mean±SD表示差异性比较使用t检验, 记数资料比较使用χ^2检验, P<0.05为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 两组患者临床疗效比较 实验组患者治疗总有效率明显高于对照组, 差异具有统计学意义(P<0.05)(表2).

2.2 两组患者临床症状评分改善情况比较 实验组治疗后各临床症状评分均明显降低, 与治疗前比较, 差异具有统计学意义(P<0.05); 对照组患者治疗后五心烦热或潮热盗汗、目睛干涩或视物模糊评分改善不明显, 与治疗前比较, 差异无统计学意义(P>0.05); 实验组治疗后浮肿、五心烦热或潮热盗汗、目睛干涩或视物模糊评分均明显低于对照组, 差异具有统计学意义(P<0.05)(表3).

2.3 两组患者血压、ALB和24hUPQ水平比较 两组患者治疗后血压、24hUPQ水平均明显下降, ALB水平均明显升高, 与治疗前比较, 差异具有统计学意义(P<0.05); 实验组患者治疗后血压、24hUPQ水平明显低于对照组, ALB水平明显高于对照组, 差异具有统计学意义(P<0.05)(表4).

3 讨论

慢性肾炎可由多种病理因素引发, 多与肾小球内免疫复合物沉积及原位免疫复合物成有关, 进一步加重患者肾损害[7]. 患者由于病情进展和反复发作导致肾小管和肾间质继发性病变, 从

表 3 两组患者临床症状评分改善情况比较 (n = 42)

分组	浮肿	五心烦热或潮热盗汗	腰酸膝软	目睛干涩或视物模糊	性功能失常或月经失调
实验组					
治疗前	3.60 ± 0.96	3.60 ± 1.02	3.13 ± 0.96	3.20 ± 0.88	2.27 ± 0.75
治疗后	1.47 ± 0.42[ac]	1.93 ± 0.48[ac]	1.93 ± 0.46[a]	1.80 ± 0.40[ac]	1.27 ± 0.38[a]
对照组					
治疗前	3.67 ± 0.97	3.33 ± 1.01	3.27 ± 0.95	3.20 ± 0.91	2.40 ± 0.74
治疗后	2.27 ± 0.58[a]	2.87 ± 0.59	2.13 ± 0.51[a]	2.80 ± 0.52	1.47 ± 0.39[a]

[a]P<0.05 *vs* 同组治疗前; [c]P<0.05 *vs* 对照组.

表 4 两组患者血压、血浆白蛋白和24hUPQ水平比较 (n = 42)

分组	血压		ALB(g/L)		24hUPQ(g/d)	
	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
实验组	86.79 ± 16.88	77.13 ± 6.12[ac]	30.18 ± 6.77	36.83 ± 10.62[ac]	2.06 ± 0.60	0.59 ± 0.31[ac]
对照组	85.68 ± 16.95	81.16 ± 7.08[a]	30.20 ± 6.59	33.27 ± 7.11[a]	2.07 ± 0.64	0.98 ± 0.68[a]

[a]P<0.05 *vs* 同组治疗前; [c]P<0.05 *vs* 对照组. 24hUPQ: 24 h尿蛋白定量; ALB: 白蛋白.

而引发一系列肾小球病理损害, 同时还伴有免疫细胞功能受损等进一步损伤肾脏功能[8]. 慢性肾炎发病年龄范围较大, 任何年龄段均可发病, 患者多为年轻男性. 慢性肾炎以蛋白尿、血尿、水肿以、高血压以及肾功能损害等临床表现为主要特征[9], 蛋白尿是导致患者小管间质纤维化和肾小球硬化的重要危险因素. 传统中医学认为慢性肾炎蛋白尿的主要病机为肺、脾、肾三脏虚损、邪气留滞, 肝肾阴虚型在慢性肾炎中十分常见[10].

慢性肾炎蛋白尿(肝肾阴虚型)的临床治疗主要为延缓肾功能恶化、控制血压、降低尿蛋白以及使用抗凝和抗血小板聚集药物等. 其中血管紧张素转化酶抑制剂、血管紧张素Ⅱ受体阻滞剂、糖皮质激素以及细胞毒药物均为降低尿蛋白的常用药物[11]. 但需要注意的是, 患者长期大量服用激素药物后易引发加重感染、体型改变以及糖尿病、高血压等并发症, 甚至引发白内脏以及神经精神症状, 严重影响预后效果[12].

本研究中使用雷公藤多苷片、培哚普利片和华法林钠片作为常规治疗方式. 其中雷公藤多苷片主要成分为雷公藤多苷, 具有高效抗炎和免疫抑制效果; 培哚普利片主要成分为培哚普利叔丁胺盐, 服用后水解为特异性血管紧张素转换酶抑制剂培哚普利拉, 能够有效改善血浆白蛋白结合率[13]; 华法林钠片属于双香豆素类中效抗凝剂, 能够抑制患者肝细胞中凝血因子合成和抑制血小板聚集反应[14]. 本研究中对照组患者治疗总有效率为40.48%, 治疗后患者浮肿、腰膝酸软和性功能失常或月经失调得到明显改善, 血压、24hUPQ水平均明显下降, ALB水平均明显升高, 表明三者联合应用具有确切临床疗效.

百令胶囊为纯中药制剂, 主要成份为人工虫草菌粉甘露醇、虫草酸、甾体以及19种氨基酸[15], 具有提高机体免疫力、抑制肝损伤、降低血脂、抗炎及抗氧化等作用, 具有补肺肾、益精气、止咳化痰之功效, 对肝肾阴虚型慢性肾炎有良好疗效[16]. 本研究在常规用药基础上加用百令胶囊后临床疗效明显提升, 治疗总有效率提升至61.9%, 患者临床症状、血压、24hUPQ水平和ALB水平均有明显改善, 且改善情况均明显优于对照组.

总之, 在雷公藤多苷片、培哚普利片和华法林钠片联合用药基础上加用百令胶囊能够显著改善患者临床症状和尿蛋白水平, 显著提升临床疗效, 具有较高应用价值.

4 参考文献

1 朱铁锤. 慢性肾炎蛋白尿60例临床观察. 临床和实验医学杂志 2012; 11: 1470-1471
2 方东行, 何立群, 郑贤国. 慢性肾炎的治疗与研究. 中

■同行评价
本文治疗方法有一定的借鉴价值, 值得深入研究.

国中医基础医学杂志 2012; 18: 1104-1106
3 叶任高. 临床肾脏病学. 第2版. 人民卫生出版社, 2007: 166-168
4 刘宝厚, 许筠. 慢性肾小球肾炎的诊断、辨证分型及疗效评定(试行方案). 上海中医药杂志 2006; 40: 8-9
5 郭鹏. 雷公藤与其他药物联用治疗肾炎的实验研究及应用. 中国民康医学 2009; 21: 3195, 3200
6 Cerasola G, Guarneri M, Cottone S. [Inflammation, oxidative stress and kidney function in arterial hypertension]. *G Ital Nefrol* 2009; 26 Suppl 46: 8-13 [PMID: 19644813]
7 刘立昌, 余洪磊, 刘旭生, 汪涛. 216例慢性肾炎患者黏膜炎症、诱因、体质与中医证型分析. 中国中西医结合肾病杂志 2013; 14: 682-686
8 Yang F, Yin Y, Wang F, Zhang L, Wang Y, Sun S. An altered pattern of liver apolipoprotein A-I isoforms is implicated in male chronic hepatitis B progression. *J Proteome Res* 2010; 9: 134-143 [PMID: 19788185 DOI: 10.1021/pr900593r]
9 刘友平, 王磊琼, 郭芳宏, 王小栋, 魏嵋. 慢性乙型肝炎肝肾阴虚证血浆蛋白质组学. 世界华人消化杂志 2011; 19: 718-722
10 薛雪, 孙伟. 慢性肾炎中医研究. 辽宁中医药大学学报 2012; 14: 138-140
11 Zhang L, Wang F, Wang L, Wang W, Liu B, Liu J, Chen M, He Q, Liao Y, Yu X, Chen N, Zhang JE, Hu Z, Liu F, Hong D, Ma L, Liu H, Zhou X, Chen J, Pan L, Chen W, Wang W, Li X, Wang H. Prevalence of chronic kidney disease in China: a cross-sectional survey. *Lancet* 2012; 379: 815-822 [PMID: 22386035 DOI: 10.1016/S0140-6736(12)60033-6]
12 英锡相, 赵友林, 何学红, 马进, 李伟. 慢性肾炎患者肝肾阴虚证与血清中微量元素关系研究. 辽宁中医药大学学报 2009; 11: 42-43
13 Ho LJ, Chang DM, Chang ML, Kuo SY, Lai JH. Mechanism of immunosuppression of the antirheumatic herb TWHf in human T cells. *J Rheumatol* 1999; 26: 14-24 [PMID: 9918235]
14 Feig DI. Uric acid: a novel mediator and marker of risk in chronic kidney disease? *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2009; 18: 526-530 [PMID: 19654543 DOI: 10.1097/MNH.0b013e328330d9d0]
15 余淑媛. 百令胶囊治疗慢性肾炎的临床对照研究. 实用药物与临床 2013; 16: 754-755
16 张健生. 百令胶囊对慢性肾炎蛋白尿治疗作用. 中国现代药物应用 2010; (4): 30-31

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年4月18日; 22(11): 1597-1601
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

EPLBD不同扩张时间治疗胆总管结石的效果

孙娟娟, 鞠 辉, 毛 涛, 孙学国, 孔心涓, 赵清喜, 田字彬

孙娟娟, 青岛大学医学院 山东省青岛市 266003
鞠辉, 毛涛, 孙学国, 孔心涓, 赵清喜, 田字彬, 青岛大学医学院附属医院消化内科 山东省青岛市 266003
孙娟娟, 主要从事胆胰疾病的内镜治疗.
作者贡献分布: 孙娟娟与赵清喜对此文所做贡献均等; 此课题由赵清喜与田字彬设计; 赵清喜、毛涛、鞠辉及孙学国收集病例; 数据分析由孙娟娟与孔心涓完成; 本论文写作由孙娟娟与赵清喜完成.
通讯作者: 赵清喜, 教授, 主任医师, 266003, 山东省青岛市江苏路16号, 青岛大学医学院附属医院消化内科.
qxzhao007@163.com
电话: 0532-82911304
收稿日期: 2013-12-29 修回日期: 2014-02-26
接受日期: 2014-03-04 在线出版日期: 2014-04-18

Endoscopic papillary large balloon dilation after endoscopic sphincterotomy for treatment of common bile duct stones: Effects of different dilation durations

Juan-Juan Sun, Hui Ju, Tao Mao, Xue-Guo Sun, Xin-Juan Kong, Qing-Xi Zhao, Zi-Bin Tian

Juan-Juan Sun, the Medical School of Qingdao University, Qingdao 266003, Shandong Province, China
Hui Ju, Tao Mao, Xue-Guo Sun, Xin-Juan Kong, Qing-Xi Zhao, Zi-Bin Tian, the Medical School Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao 266003, Shandong Province, China
Correspondence to: Qing-Xi Zhao, Professor, the Medical School Affiliated Hospital of Qingdao University, 16 Jiangsu Road, Qingdao 266003, Shandong Province, China. qxzhao007@163.com
Received: 2013-12-29 Revised: 2014-02-26
Accepted: 2014-03-04 Published online: 2014-04-18

Abstract

AIM: To investigate the effects of different dilation durations on the efficacy and safety of endoscopic papillary large balloon dilation (EPLBD) after endoscopic sphincterotomy (EST) for the treatment of common bile duct (CBD) stones.

METHODS: Ninety patients with CBD stones who received EPLBD from April 2012 to September 2013 were recruited in the study and randomized into three groups based on the balloon dilation duration: 0 min group, 1 min group, and 5 min group. The rates of successful stone removal and mechanical lithotripsy, the procedure time and early complications were compared among the groups.

RESULTS: One patient was excluded due to intolerance of dilation pain; stone extraction was successful in all the other 89 patients. Stone clearance rates after single session in the three groups were all 100%. The rates of mechanical lithotripsy were 14.8% (4/27), 6.3% (2/32) and 20% (6/30) in the 0, 1 and 5 min groups, respectively (P = 0.25). The operative times were 29.5 min ± 8.62 min, 24.3 min ± 6.27 min and 28.6 min ± 7.58 min in 0, 1 and 5 min groups (P = 0.02). The rate of hyperamylasemia was 14.8% (4/27) in the 0 min group, 0% (0/32) in the 1 min group and 10% (3/30) in the 5 min group (P = 0.03). No hemorrhage, perforation, cholangitis or acute pancreatitis occurred in any group.

CONCLUSION: EPLBD is an effective and safe method for the treatment of CBD stones, with balloon dilation for 1 min producing preferable outcomes.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Common bile duct stones; Endoscopic papillary large balloon dilation; Dilation duration; Complication

Sun JJ, Ju H, Mao T, Sun XG, Kong XJ, Zhao QX, Tian ZB. Endoscopic papillary large balloon dilation after endoscopic sphincterotomy for treatment of common bile duct stones: Effects of different dilation durations. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(11): 1597-1601
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1597.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i11.1597

摘要

目的: 探讨内镜下十二指肠乳头大球囊扩张术(endoscopic papillary large balloon dilation, EPLBD)不同球囊扩张时间治疗胆总管结石的有效性与安全性.

方法: 2012-08/2013-09采取EPLBD进行经内镜逆行性胰胆管造影术(endoscopic retrograde

■背景资料
胆总管结石是十分常见的消化系疾病, ERCP已成为其治疗的主要措施, 内镜下括约肌切开术(endoscopic sphincterotomy, EST)及乳头球囊扩张术(endoscopic papillary balloon dilation, EPBD)是常用的取石技术, 但是, 临床上对于结石过大、胆管远端狭窄及解剖结构异常等的胆总管结石患者, 上述常规方法难以将结石取出, 近年来, 国外学者报道乳头括约肌切开联合大球囊扩张(endoscopic papillary large balloon dilation, EPLBD)取石可能是一安全有效的方法.

■同行评议者
杨家和, 教授, 中国人民解放军第二军医大学附属东方肝胆外科医院综合治疗三科

■研发前沿
Ersoz等首次报道EPLBD应用于常规取石较困难的患者, 如巨大和柱状结石, 并取得了成功, 从此这项技术在国外迅速开展并取得了不错的效果, 但是球囊必须达到合适的压力来获得最大直径, 在括约肌内最大压力的维持时间, 球囊扩张次数在多大范围内是安全和有效的未有定论. 另外, EPLBD前乳头括约肌切开到底要多深等问题都还需要近一步研究.

cholangiopancreatography, ERCP)治疗的胆总管结石患者90例, 随机分3组: 0 min组、1 min组、5 min组, 球囊扩张时间分别为0 min、1 min、5 min, 比较3组患者取石成功率、机械碎石使用率、操作时间及近期并发症情况.

结果: 90例患者中有1例因无法忍受扩张疼痛而放弃继续扩张, 共有89例患者入选, 均顺利完成取石或碎石取石术. 结石取净成功率均为100%, 机械碎石使用率分别为0 min组14.8%(4/27), 1 min组6.3%(2/32), 5 min组20%(6/30)(P = 0.25). 操作时间分别为0 min组: 29.5 min±8.62 min, 1 min组: 24.3 min±6.27 min, 5 min组: 28.6 min±7.58 min(P = 0.02). 三组患者术中及术后无出血、穿孔、胆道感染及急性胰腺炎等近期并发症, 高淀粉酶血症发生率分别为0 min组14.8%(4/27), 1 min组0%(0/32), 5 min组10%(3/30)(P = 0.03).

结论: EPLBD不同球囊扩张维持时间治疗胆总管结石均安全有效, 1 min的扩张维持时间疗效较好.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 胆总管结石; 内镜下十二指肠乳头大球囊扩张术; 扩张时间; 并发症

核心提示: 内镜下十二指肠乳头球囊扩张术(endoscopic papillary balloon dilation)不同球囊扩张维持时间治疗胆总管结石均安全有效, 并发症发生率较低, 1 min的扩张时间可作为一种可行的治疗胆总管结石的治疗方法.

孙娟娟, 翱辉, 毛涛, 孙学国, 孔心涓, 赵清喜, 田宇彬. EPLBD不同扩张时间治疗胆总管结石的效果. 世界华人消化杂志 2014; 22(11): 1597-1601 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1597.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i11.1597

0 引言

内镜下十二指肠乳头括约肌切开术(endoscopic sphincterotomy, EST)自从1974年被Classen等[1]报道以来, 被广泛应用于治疗胆总管结石, 但其出血、穿孔、术后急性胰腺炎等并发症发生率较高[2]. 1983年, Bergman等[3]设计了内镜下十二指肠乳头球囊扩张术(endoscopic papillary balloon dilation, EPBD), 因其保留十二指肠乳头括约肌的功能而用于直径<1 cm的胆总管结石, 具有与EST相似的取石效果. 但是对于直径>1 cm较大的胆总管结石, EPBD常常需要多次取石和机械碎石, 不仅增加了操作时间和操作难度, 而且术后胰腺炎发生率较高[4]. 2003年Ersoz等[5]利用十二指肠乳头括约肌切开联合大球囊扩张(endoscopic papillary large balloon dilation after endoscopic sphincterotomy, EST+EPLBD)治疗直径>1 cm的较大胆总管结石, 术后并发症的发生率较低[6]. 关于合适的球囊扩张持续时间各报道不一, 从30-120 s均有报道, 大部分术者采用1 min[7-12], Liao等[13]比较了EPBD时扩张时间1 min组与5 min组, 结果示5 min组提高了取石成功率, 降低了术后胰腺炎的发生率, 理论上球囊扩张持续时间越短, 可减少操作时间和X线辐射时间, 国内目前尚未见EPLBD时不同球囊扩张持续时间的疗效和安全性的报道, 本研究采用前瞻性随机对照探讨EPLBD不同球囊扩张维持时间是否影响胆总管结石患者经内镜逆行性胰胆管造影术(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)治疗的有效性和安全性.

1 材料和方法

1.1 材料 收集2012-08/2013-09来青岛大学医学院附属医院就诊并经X线计算机体层成像(X-ray computed tomography, CT)、磁共振胆胰管成像(magnetic resonance cholangiopancreatography, MRCP)等拟诊为胆总管结石的患者, ERCP确定胆总管扩张且结石直径≥1.2 cm, 年龄≥18岁, 所有入组患者术前血清、尿淀粉酶均正常, 患者年龄、性别、男女患者数目等一般资料如表1, 所有患者入选之前均签署知情同意书. 以下情况患者需排除: (1)严重凝血功能障碍及其他脏器功能障碍; (2)乳头恶性肿瘤; (3)EST或EPBD史; (4)胆总管十二指肠瘘. 使用器械: Olympus JF240、TJF240电子十二指肠镜, 三腔括约肌切开刀, 高频电发生器, 黄斑马导丝, Boston Scientific球囊扩张导管, 取石网篮, 碎石网篮, 取石球囊, 鼻胆管等.

1.2 方法

1.2.1 随机化分组: 采用随机数字表3组分配法随机分配, 将分组结果制成卡片装入信封, ERCP术中经胆管造影需行EPLBD时撕开信封确定患者属于0 min组、1 min组或5 min组, 球囊扩张时间分别为0 min、1 min、5 min, 各组患者数目分别为27例、32例、31例.

1.2.2 EPLBD治疗: 术前禁饮食6-8 h, 检查前静注安定5-10 mg, 山莨菪碱10 mg, 肌注杜冷丁50 mg, 取左侧半俯卧位. 先行诊断性ERCP, 充分显影肝内外胆管及结石, 根据乳头形态、胆总管

表 1 3组患者基本资料及可比性检验

基本资料	0 min组	1 min组	5 min组	*P*值
n	27	32	30	
性别(男/女)	12/27	14/32	18/30	0.36
年龄(岁)	63.3±10.71	70.0±9.87	68.3±12.30	0.06
结石数目				0.82
单发	3	4	5	
多发	24	28	25	
结石最大直径(cm)	1.87±0.36	1.74±0.39	1.49±0.29	0.57
胆管扩张直径(cm)	1.76±0.32	1.76±0.37	1.62±0.35	0.19
球囊扩张直径(cm)	15.33±1.78	15.13±1.91	14.25±1.75	0.09

表 2 患者术中、术后取石及近期并发症情况

分组	*n*	结石取净	机械碎石使用	操作时间(min)	高淀粉酶血症	急性胰腺炎	出血、穿孔胆道感染
0 min组	27	27	4	29.5±8.62	4	0	0
1 min组	32	32	2	24.3±6.27[a]	0[a]	0	0
5 min组	30	30	6	28.6±7.58[c]	3	0	0
*P*值			0.25	0.02	0.03		

[a]*P*<0.05 *vs* 0 min组; [c]*P*<0.05 *vs* 1 min组.

扩张程度及结石大小及数量确定患者需要大球囊扩张治疗, 并选择相应直径的球囊导管, 然后由另一名医师撕开信封, 确定患者分组, 行乳头括约肌切开后, 在导丝引导下把柱状球囊导管插至主乳头及胆总管内, 使球囊中部恰好在乳头部位, 连接带压力表的注射器并注入稀释的造影剂, 根据所需要的扩张直径对应的压力逐渐缓慢加压, 球囊腰部狭窄段逐渐消失, 达到所设定的压力及球囊直径后开始计时. 0 min组扩张至所需直径后即逐渐减压, 1 min组和5 min组球囊扩张至所需直径后分别维持1 min和5 min后逐渐减压拔除球囊. 3组患者的结石均根据需要通过网篮或球囊取出, 对于过大不能直接取出的结石, 可先行机械碎石后再行网篮或球囊导管取石. 取石后再次行胆道造影显示无明显充盈缺损残留, 确定乳头切开处无活动性出血后常规放置鼻胆管引流.

1.2.3 观察指标: 记录胆总管扩张直径, 结石数量及大小, 插管成功后开始计时至再次造影示无明显充盈缺损的时间为操作时间, 检测术后6、24 h血淀粉酶. 观察术中及术后有无出血、穿孔、胆道感染等近期并发症.

统计学处理 应用SPSS17.0统计软件进行分析, 定量资料采用单因素的方差分析检验, 定性资料采用χ^2检验或Fisher精确检验. *P*<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 取石成功率、碎石使用率 90例患者除1例因无法耐受扩张引起的疼痛而放弃继续扩张, 其余89例均一次性取石或机械碎石后取石成功, 结石取净率为100%(表2).

2.2 操作时间及术中、术后近期并发症 操作时间分别为0 min组: 29.5 min±8.62 min, 1 min组: 24.3 min±6.27 min, 5 min组: 28.6 min±7.58 min, 差异有统计学意义(*P* = 0.02), 两两比较显示0 min组与1 min组及1 min组与5 min组差异有统计学意义(*P* = 0.01, *P* = 0.03). 0 min与5 min组差异无统计学意义(*P* = 0.64). 高淀粉酶血症发生率分别为0 min组14.8%(4/27), 1 min组0%(0/32), 5 min组10%(3/30), 差异有统计学意义(*P* = 0.03). 两两比较显示0 min组与5 min组及1 min组与5 min组差异均无统计学意义(*P* = 0.53, *P* = 0.11), 0 min组与1 min组差异有统计学意义(*P* = 0.04). 3组患者均无出血、穿孔、胆道感染及急性胰腺炎发生(表2).

3 讨论

胆总管结石是胆道疾病的常见病、多发病, 随

■相关报道
关于合适的球囊扩张持续时间各报道不一, 从30-120 s均有报道, 大部分术者采用1 min, Wang等比较了EPBD时扩张时间1 min组与5 min组, 结果示5 min组提高了取石成功率, 降低术后胰腺炎的发生率.

■创新盘点

理论上, 球囊扩张持续时间越短, 可减少操作时间和X线辐射时间, 国内目前尚未见EPLBD时不同球囊扩张持续时间的疗效和安全性的报道, 本研究采用前瞻性随机对照探讨EPLBD不同球囊扩张维持时间是否影响胆总管结石患者ERCP治疗的有效性和安全性.

着内镜技术及操作水平的不断提高, 其治疗手段也由传统的手术治疗发展为内镜治疗方法. 目前ERCP是胆总管结石诊断及治疗的首选方法, EST和EPBD是治疗胆总管结石的有效方法, 但是仍有一定的取石失败率, 其常见的失败因素包括结石远端胆管狭窄, 结石直径过大, 乳头周围憩室等[14]. Ersoz等[5]首次报道了EPLBD技术, 该项新技术已被许多内镜医师普遍接受, 并发症发生率较低.

本研究发现3个不同的扩张维持时间组一次性结石取净率均为100%, 且机械碎石使用率差异无统计学意义, 显示了大球囊扩张治疗胆总管结石的有效性, 但是3个不同的扩张维持时间组在操作时间上的差异有统计学意义, 近一步两两比较后发现0 min组与1 min组及1 min组与5 min组差异均有统计学意义, 即扩张时间1 min组操作时间最短, 可能与下列因素有关: 扩张维持时间过短(如0 min), 胆总管末端开口扩张的越不充分, 会增加反复插入器械的次数, 取石的时间会延长, 扩张维持时间过长(如5 min), 本身增加了操作时间, 两种情况均增加了操作时间, 患者及术者暴露于X线下的时间也会相应的增加, 对健康不利. 术后近期并发症比较显示0 min组与1 min差异有统计学意义, 0 min组高淀粉酶血症发生率高于1 min组, 考虑大球囊扩张后患者乳头周围水肿导致胰液流出受阻, 返流的胰液会引起血淀粉酶升高, 扩张维持时间越短, 胆总管末端开口越小, 胰液流出孔道越小, 高淀粉酶血症发生率越高. 从操作时间及近期高淀粉酶血症发生率两方面考虑, 在EPLBD操作过程中, 1 min可以作为合适的扩张维持时间.

本次试验3个组89例患者中, 除发生7例高淀粉酶血症外, 无急性胰腺炎、出血、穿孔、胆道感染等其他近期并发症的发生. 本试验的结果与Rajasekhara等[15]所做的研究得出的EPLBD术后胰腺炎及出血的发生率分别为2.7%和1.06%, 是一种安全有效的胆总管结石内镜治疗方法相似. 考虑原因为大球囊扩张前, 乳头括约肌的切开有效引导球囊朝着胆管括约肌而不是胰管括约肌的方向扩张, 降低了胰管括约肌周围的水肿, 利于胰液的流出, 降低术后胰腺炎的发生, 此次试验中3个组均未出现达到诊断标准[16]的术后胰腺炎. 对于术后胰腺炎, 我们觉得应该以预防为主, 操作过程中尽量减少进入胰管和向胰管内注入造影剂的次数, 取石结束后, 常规放置鼻胆引流管, 有效引流胆汁及较小的残留结石.

本研究时间较短, 并且EPLBD操作过程破坏了乳头括约肌的功能, 会导致术后胆道内压力降低, 术后是否会导致反流性胆管炎及是否会对患者的生活质量产生影响, 都需要长期随访及相关大样本的研究.

总之, 内镜下十二指肠乳头切开联合大球囊扩张术安全有效, 可作为取石前乳头处理的新方法, EPLBD不同球囊扩张维持时间取石效果显示1 min的扩张时间可作为一种可行的治疗胆总管结石的治疗方法.

4 参考文献

1 Classen M, Demling L. [Endoscopic sphincterotomy of the papilla of vater and extraction of stones from the choledochal duct (author's transl)]. *Dtsch Med Wochenschr* 1974; 99: 496-497 [PMID: 4835515 DOI: 10.1055/s-0028-1107790]

2 Freeman ML, Nelson DB, Sherman S, Haber GB, Herman ME, Dorsher PJ, Moore JP, Fennerty MB, Ryan ME, Shaw MJ, Lande JD, Pheley AM. Complications of endoscopic biliary sphincterotomy. *N Engl J Med* 1996; 335: 909-918 [PMID: 8782497 DOI: 10.1056/NEJM199609263351301]

3 Bergman JJ, Rauws EA, Fockens P, van Berkel AM, Bossuyt PM, Tijssen JG, Tytgat GN, Huibregtse K. Randomised trial of endoscopic balloon dilation versus endoscopic sphincterotomy for removal of bileduct stones. *Lancet* 1997; 349: 1124-1129 [PMID: 9113010 DOI: 10.1016/S0140-6736(96)11026-6]

4 苏进根, 王建平, 路奕宁, 朱堃, 陆惠清. 经内镜气囊扩张治疗胆总管结石的近期并发症分析. 肝胆外科杂志 2009; 17: 444-445

5 Ersoz G, Tekesin O, Ozutemiz AO, Gunsar F. Biliary sphincterotomy plus dilation with a large balloon for bile duct stones that are difficult to extract. *Gastrointest Endosc* 2003; 57: 156-159 [PMID: 12556775 DOI: 10.1067/mge.2003.52]

6 Attam R, Freeman ML. Endoscopic papillary large balloon dilation for large common bile duct stones. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2009; 16: 618-623 [PMID: 19551331 DOI: 10.1007/s00534-009-0134-2]

7 Natsui M, Narisawa R, Motoyama H, Hayashi S, Seki K, Wakabayashi H, Itoh S, Asakura H. What is an appropriate indication for endoscopic papillary balloon dilation? *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2002; 14: 635-640 [PMID: 12072597 DOI: 10.1097/000-42737-200206000-00008]

8 Seo DW. Prospective analysis of endoscopic papillary balloon dilatation and endoscopic sphincterotomy for removal of common bile duct stones. *Gastrointest Endosc* 2000; 52: 140-142 [PMID: 11012300]

9 Vlavianos P, Chopra K, Mandalia S, Anderson M, Thompson J, Westaby D. Endoscopic balloon dilatation versus endoscopic sphincterotomy for the removal of bile duct stones: a prospective randomised trial. *Gut* 2003; 52: 1165-1169 [PMID: 12865276 DOI: 10.1136/gut.52.8.1165]

10 Ochi Y, Mukawa K, Kiyosawa K, Akamatsu T. Comparing the treatment outcomes of endoscopic papillary dilation and endoscopic sphincterotomy

for removal of bile duct stones. *J Gastroenterol Hepatol* 1999; 14: 90-96 [PMID: 10029284 DOI: 10.1046/j.1440-1746.1999.01798.x]
11 Watanabe H, Yoneda M, Tominaga K, Monma T, Kanke K, Shimada T, Terano A, Hiraishi H. Comparison between endoscopic papillary balloon dilatation and endoscopic sphincterotomy for the treatment of common bile duct stones. *J Gastroenterol* 2007; 42: 56-62 [PMID: 17322994 DOI: 10.1007/s00535-006-1969-9]
12 Mac Mathuna P, White P, Clarke E, Lennon J, Crowe J. Endoscopic sphincteroplasty: a novel and safe alternative to papillotomy in the management of bile duct stones. *Gut* 1994; 35: 127-129 [PMID: 8307433 DOI: 10.1136/gut.35.1.127]
13 Liao WC, Lee CT, Chang CY, Leung JW, Chen JH, Tsai MC, Lin JT, Wu MS, Wang HP. Randomized trial of 1-minute versus 5-minute endoscopic balloon dilation for extraction of bile duct stones. *Gastrointest Endosc* 2010; 72: 1154-1162 [PMID: 20869710 DOI: 10.1016/j.gie.2010.07.009]
14 Rosenkranz L, Patel SN. Endoscopic retrograde cholangiopancreatography for stone burden in the bile and pancreatic ducts. *Gastrointest Endosc Clin N Am* 2012; 22: 435-450 [PMID: 22748241 DOI: 10.1016/j.giec.2012.05.007]
15 Rajasekhara R. Mummadi, Norio Fukami, Raj J. Shah, Brian C. Brauer, Roy D. Yen, Yang K. Chen. Safety and efficacy of endoscopic sphincterotomy (ES) followed by endoscopic papillary large balloon dilation (EPLBD) for extraction of large common bile duct stones (LBDS). A systematic review and meta-analysis. *Gastrointest Endosc* 2010: AB161
16 Cotton PB, Lehman G, Vennes J, Geenen JE, Russell RC, Meyers WC, Liguory C, Nickl N. Endoscopic sphincterotomy complications and their management: an attempt at consensus. *Gastrointest Endosc* 1991; 37: 383-393 [PMID: 2070995 DOI: 10.1016/S0016-5107(91)70740-2]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

■同行评价

本文具有一定的创新性, 研究内容旨在解决患者病痛, 缓解患者症状, 题目反映了研究工作的科学问题和特定内容, 简明; 本文汇聚了2012-08/2013-09就诊的患者, 集体治疗, 具有一定的难度. 结果较明确, 证实了扩张时间的不同等问题与取石成功率的关系.

世界华人消化杂志 2014年4月18日; 22(11): 1602-1606
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

清肺承气颗粒对早期重症急性胰腺炎的影响

李 静, 傅 强, 祁 蕾, 杜 超, 余杨梓

■背景资料
急性胰腺炎是临床常见的危急重症, 而43%-50%可发展为重症急性胰腺炎, 早期阶段是重症急性胰腺炎死亡高峰之一. 中西医结合治疗对重症急性胰腺炎的积极地治疗效果, 越来越被人们所重视.

李静, 祁蕾, 天津医科大学中西医结合临床 天津市 300070
傅强, 天津市第四中心医院 天津市 300140
杜超, 余杨梓, 天津市南开医院重症医学科 天津市 300100
李静, 在读硕士, 主要从事重症急性胰腺炎免疫失衡的研究.
国家重点基础研究发展计划基金资助项目, No. 2009CB522703
作者贡献分布: 李静负责部分资料收集与实验的完成、总结、数据分析及论文撰写; 傅强负责课题设计与全文理论指导; 祁蕾、杜超及余杨梓负责部分资料的收集与实验的完成.
通讯作者: 傅强, 主任医师, 300140, 天津市河北区中山路1号, 天津市第四中心医院. fq@medmail.com.cn
电话: 022-26183127
收稿日期: 2014-01-13 修回日期: 2014-03-01
接受日期: 2014-03-12 在线出版日期: 2014-04-18

Effect of Qingfei Chengqi granules on immune response in patients with early severe acute pancreatitis

Jing Li, Qiang Fu, Lei Qi, Chao Du, Yang-Zi Yu

Jing Li, Lei Qi, Department of Integrated Chinese and Western Medicine, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China
Qiang Fu, the Fourth Central Hospital of Tianjin, Tianjin 300140, China
Chao Du, Yang-Zi Yu, Department of Critical Care Medicine, Nankai Hospital, Tianjin 300100, China
Supported by: National Key Basic Research Program, No. 2009CB522703
Correspondence to: Qiang Fu, Chief Physician, the Fourth Central Hospital of Tianjin, 1 Zhongshan Road, Tianjin 300140, China. fq@medmail.com.cn
Received: 2014-01-13 Revised: 2014-03-01
Accepted: 2014-03-12 Published online: 2014-04-18

Abstract

AIM: To observe the effect of Qingfei Chengqi granules on immune response in early severe acute pancreatitis (SAP) patients.

METHODS: Sixty-eight patients with early SAP were randomly assigned to either an observation group or a control group. The observation group received Western medicine treatment plus Qingfei Chengqi granules, while the control group received Western medicine therapy plus placebo. The expression rate of human leukocyte antigen DR [HLA-DR (%)], helper T lymphocytes 1/2 (Th1/Th2) and regulatory T lymphocytes (Tregs) in peripheral blood were determined on days 1, 3, 7 and 14.

RESULTS: Nine (13.24%) patients die within 28 days, including three (9.09%) in the observation group and six (17.14%) in the control group. Compared with the control group, HLA-DR (%) on days 7 and 14 (86.77% ± 17.39% *vs* 65.46% ± 28.72%, 85.43% ± 20.36% *vs* 73.32% ± 29.03%, $P < 0.05$ for both) and Tregs on days 1 and 3 (9.37% ± 5.61% *vs* 5.65% ± 3.75%, 9.10% ± 6.86% *vs* 7.09% ± 4.80%, $P < 0.05$ for both) were significantly increased, and Th1/Th2 on days 7 and 14 (3.58 ± 3.74 *vs* 4.62 ± 2.69, 3.54 ± 2.65 *vs* 5.64 ± 2.34, $P < 0.05$ for both) were significantly decreased in the observation group. Compared with pretreatment values in the observation group, HLA-DR (%) on days 7 and 14 (86.77% ± 17.39% *vs* 67.71% ± 28.63%, 85.43% ± 20.36% *vs* 67.71% ± 28.63%, $P < 0.05$ for both) and Tregs on days 1 and 3 (9.37% ± 5.61% *vs* 6.11% ± 4.08%, 9.10% ± 6.86% *vs* 6.11% ± 4.08%, $P < 0.05$) were significantly increased, and Th1/Th2 on days 7 and 14 (3.58 ± 3.74 vs 5.96 ± 6.12, 3.54 ± 2.65 *vs* 5.96 ± 6.12, $P < 0.05$ for both) were significantly decreased after treatment. Compared with pretreatment values in the control group, HLA-DR (%) on day 14 (73.32% ± 29.03% *vs* 61.71% ± 28.77%, $P < 0.05$) were significantly increased.

CONCLUSION: Qingfei Chengqi granules may enhance antigen presentation and immune response to reduce immune suppression in early SAP possibly by inducing high expression of Treg cells to promote the transition of Th1 to Th2 cells, thereby reducing inflammation damage and fatality rate.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Severe acute pancreatitis; Qingfei chengqi granules; Human leukocyte antigen DR site; The helper T lymphocyte 1/2; The regulatory T lymphocyte

Li J, Fu Q, Qi L, Du C, Yu YZ. Effect of Qingfei Chengqi granules on immune response in patients with early

■同行评议者
周翔宇, 副主任医师, 泸州医学院附属医院血管甲状腺外科

severe acute pancreatitis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(11): 1602-1606 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1602.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i11.1602

摘要

目的: 观察清肺承气颗粒对重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)早期免疫反应的影响, 及对病死率的影响.

方法: 68例确诊为SAP早期的患者, 随机分为观察组和对照组; 观察组给予西医常规治疗+清肺承气颗粒, 对照组给予西医常规治疗+安慰剂. 分别于第1、3、7、14天, 检测患者外周血人类白细胞抗原DR位点(human leukocyte antigen DR site, HLA-DR)表达率、T辅助淋巴细胞1/2(the helper T lymphocyte 1/2, Th1/Th2)、自然调节性T细胞(the regulatory T lymphocyte, Treg).

结果: 28 d内患者死亡9例(13.24%), 其中观察组死亡3例(9.09%), 对照组死亡6例(17.14%). 观察组与对照组相比, HLA-DR表达率在第7、14天显著升高(86.77%±17.39% *vs* 65.46%±28.72%和85.43%±20.36% *vs* 73.32%±29.03%, $P<0.05$), Th1/Th2在第7、14天显著降低(3.58±3.74 *vs* 4.62±2.69和3.54±2.65 *vs* 5.64±2.34, $P<0.05$), Treg阳性率在第3、7天显著升高(9.37%±5.61% *vs* 5.65%±3.75%和9.10%±6.86% *vs* 7.09%±4.80%, $P<0.05$). 与观察组本组患者入组时相比, HLA-DR表达率第7、14天明显升高(86.77%±17.39% *vs* 67.71%±28.63%和85.43%±20.36% *vs* 67.71%±28.63%, $P<0.05$), Th1/Th2在第7、14天显著降低(3.58±3.74 *vs* 5.96±6.12和3.54±2.65 *vs* 5.96±6.12, $P<0.05$), Treg阳性率在第3、7天显著升高(9.37%±5.61% *vs* 6.11%±4.08%和9.10%±6.86% *vs* 6.11%±4.08%, $P<0.05$), 与对照组本组患者入组时相比, HLA-DR表达率在第14天显著升高(73.32%±29.03% *vs* 61.71%±28.77%, $P<0.05$).

结论: 清肺承气颗粒可能增强SAP早期的抗原呈递, 增强免疫应答的启动, 降低免疫抑制; 同时可能通过Treg细胞的高表达来促进Th1向Th2细胞转化, 减轻炎症反应对机体的损害来降低病死率.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 重症急性胰腺炎; 清肺承气颗粒; 人类白细胞抗原DR位点; T辅助淋巴细胞1/2; 调节性T细胞

核心提示: 中西医结合治疗急性胰腺炎是近年来研究的热点. 本课题组从临床现象水平研究表明中西医结合治疗与重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)免疫反应及预后具有重要的关系, 但其在细胞水平的作用尚不清楚. 我们检测人类白细胞抗原DR位点(human leukocyte antigen DR site)(%)、T辅助淋巴细胞1/2(the helper T lymphocyte 1/2)、与自然调节性T细胞(the regulatory T lymphocyte)(%)发现其可能通过增强SAP早期的抗原呈递, 减少炎症反应, 从而降低死亡率.

李静, 傅强, 祁蕾, 杜超, 余杨梓. 清肺承气颗粒对早期重症急性胰腺炎的影响. 世界华人消化杂志 2014; 22(11): 1602-1606
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1602.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i11.1602

■**研发前沿**
目前, 中西医结合治疗对疾病的积极作用已经得到初步的印证, 其作用机制一直是研究的热点, 临床免疫学指标表达水平的研究可以为中西医结合治疗急性胰腺炎提供更有力的证据.

0 引言

急性胰腺炎是胰腺内胰酶由于各种因素被激活后引发的炎性反应, 是临床常见的危急重症, 其病死率为5%-10%[1]. 急性胰腺炎的发生正逐年上升, 而43%-50%可发展为重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP), 为社会和人们带来越来越重的负担[2-4]. SAP早期, 胰腺炎症激活细胞因子的级联反应, 临床表现为全身炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome, SIRS)[5], 与SAP早期存在的免疫失衡和过度炎症反应有关. 中西医结合治疗对重症急性胰腺炎的治疗效果, 越来越被人们所重视. 本文旨在研究中药清肺承气颗粒对重症急性胰腺炎患者早期免疫反应的影响.

1 材料和方法

1.1 材料 所有入选病例, 均是自2010-02/2013-05天津市南开医院收治的SAP患者. 选取符合条件的患者68例入组, 随机分为实验组33例与对照组35例. 两组患者在年龄, 性别比例, APACHE Ⅱ评分等一般资料不具有可比性(表1). 纳入标准: 第一, 所有入选的病例均符合中华医学会消化病学分会胰腺疾病学组制定的《中国急性胰腺炎诊治指南》诊断标准[6], 并且处于SAP早期即全身炎症反应期[自发病至1 wk左右. 临床上常可出现休克、急性呼吸窘迫综合征、急性胃肠功能衰竭、急性肾衰、胰性脑病等并发症[7,8]. SIRS的诊断标准符合以下临床表现中的2项及以上: (1)心率>90次/min; (2)体温<36 ℃或>38 ℃; (3)WBC<4×10^9/L或>12×10^9/L; (4)呼吸频率>20

■相关报道
临床中西医结合治疗是近年来研究的热点, 目前有大量文献报道了中西医结合治疗对疾病的积极作用, 特别是脓毒症、类风湿性关节炎等, 而对急性胰腺炎的报道相对较少.

次/min或PCO_2<32 mmHg]. 第二, 征得患者或家属知情同意. 排除标准: (1)发病24 h死亡者; (2)慢性疾病临终状态者; (3)合并外伤、妊娠、免疫缺陷病、乙型肝炎表面抗原阳性、严重心血管疾病、终末期肝肾疾病、恶性肿瘤者; (4)近3 mo内使用激素或免疫抑制剂者; (5)病因含有医源性或者正在进行有可能干扰本研究的其他治疗及研究; (6)入组24 h内死亡和自动出院者.

1.2 方法

1.2.1 治疗: 两组均给予基础治疗, 禁食水, 胃肠减压, 纠正水、电解质紊乱, 早期的液体复苏, 及各脏器功能的维护等[6,7]. 实验组和对照组分别给予清肺承气颗粒和安慰剂1袋(11.2 g/袋, 药品为江阴天江药业有限公司生产, 安慰剂为与清肺承气颗粒形态相近无药效作用的颗粒剂), 加水200 mL, 胃管注入/鼻饲, 2袋加水400 mL, 灌肠治疗, 2次/日, 疗程为10 d, 观察14 d.

1.2.2 指标观察: 所有患者于入选后第1、3、7、14天观察记录生命体征(体温、呼吸、心率、血压24 h内最高值). 血常规、血凝五项、动脉血气分析、心肝肾功能、电解质等检查由天津市南开医院检验科提供检验数据. 观察28 d内死亡情况, 并计算病死率. 清晨抽取外周血测定第1、3、7、14天患者外周血人类白细胞抗原DR位点(human leukocyte antigen DR site, HLA-DR)表达率、T辅助淋巴细胞1/2(the helper T lymphocyte 1/2, Th1/Th2)、自然调节性T细胞(the regulatory T lymphocyte, Treg)百分比.

1.2.3 外周血HLA-DR的测定: 采用Fu等[9]的方法. 流式细胞仪(FACS Calibur, BD, 美国)用前向角和侧向角结合单核细胞表面特异性标志物来设立单核细胞门, 通过同型对照来设定阈值, 计数至少10000个细胞. HLA-DR表达结果用表达HLA-DR的单核细胞百分数来表示, HLA-DR(%) = $HLA\text{-}DR^+/CD14^+ \times 100\%$.

1.2.4 外周血Th1/Th2的测定: 采用余杨梓等[10]的方法. 采用流式细胞仪(FACS Calibur, BD, 美国)使用CaliBRITE标准微球, 调节流式细胞仪PMT电压度. 在Cell Quest软件下, 获取10000个细胞.

1.2.5 外周血Treg的测定: 采用Fu等[9]的方法. 采用流式细胞仪(FACS Calibur, BD, 美国)用前向角和侧向角来设立淋巴细胞门, 计数至少10000个细胞, 以CD4/FITC、CD25/APC设门, Foxp3/PE阳性即为Treg细胞. Treg(%) = $CD4^+CD25^+ \times FoxP3(\%)/CD4^+ \times 100\%$.

统计学处理 采用SPSS16.0统计软件. 计量资料采用mean±SD表示, 先进行方差齐性检验, 方差齐者用方差分析, 方差不齐者用平方根变换数据使之成为方差齐性后进行方差分析; 组间比较采用独立t检验, 计数资料采用χ^2检验. P<0.05为差异有统计学意义.

表 1 两组一般资料比较

分组	n	年龄(岁)	性别(男/女)	APACHE Ⅱ
观察组	33	48.79±12.21	24/9	11.34±5.88
对照组	35	43.66±12.58	25/10	10.50±3.54

2 结果

2.1 入组患者预后情况 68例患者中, 28 d病死人数为9例, 病死率为13.24%, 其中观察组3例(9.09%), 对照组6例(17.14%). 完成14 d观察人数的为54例, 其中3例, 完成第1天观察后死亡, 其中2例死于感染性休克引起的多脏器功能衰竭, 1例死于腹腔大出血. 1例完成第1、3天观察后死亡, 死因为肾功能衰竭引起的多脏器功能衰竭, 2例完成1、3、7 d观察后死亡, 死因均为炎症反应引起的多脏器功能衰竭, 3例完成整个观察后死亡, 2例死于感染性休克引起的多脏器功能衰竭, 1例死于侵袭性曲霉菌性肺炎; 5例完成第1、3、7天观察后好转, 自动退出试验.

2.2 两组外周血HLA-DR(%)、Th1/Th2、Treg(%)比较 统计两组患者病死率, 比较第1、3、7、14天患者外周血HLA-DR(%)、Th1/Th2、Treg(%)的变化. 28 d内患者死亡9例(13.24%), 其中观察组死亡3例(9.09%), 对照组死亡6例(17.14%). 两组相比, HLA-DR(%), Th1/Th2在第7、14天, Treg(%)在第3、7天, 均P<0.05. 与观察组本组患者入组时相比, HLA-DR(%), Th1/Th2在第7、14天, Treg(%)在第3、7天差异具有统计学意义(均P<0.05), 与对照组本组患者入组时相比, HLA-DR(%)在第14天差异具有统计学意义(均P<0.05)(表2).

3 结论

SAP胰酶激活引起胰腺自身消化的局部炎症, 可引起巨噬细胞和中性粒细胞释放大量的炎症介质, 同时SAP胃肠黏膜缺血再灌注引起其通透性增高, 胃肠道黏膜屏障损害, 局部和全身免疫力下降, 肠道细菌由肠壁进入血液, 进一步刺激已经活化的巨噬细胞产生过量炎性因子. 这些炎症介质之间又可互相激发, 互相促进, 引起过

表 2 两组外周血HLA-DR(%)、Th1/Th2、Treg(%)比较 (mean ± SD)

分组	*n*	HLA-DR(%)	Th1/Th2	Treg(%)
观察组				
第1天	33	67.71 ± 28.63	5.96 ± 6.12	6.11 ± 4.08
第3天	33	74.12 ± 27.47	4.54 ± 3.78	9.37 ± 5.61[ac]
第7天	33	86.77 ± 17.39[ac]	3.58 ± 3.74[ac]	9.10 ± 6.86[ac]
第14天	28	85.43 ± 20.36[ac]	3.54 ± 2.65[ac]	7.43 ± 6.75
对照组				
第1天	35	61.71 ± 28.77	5.62 ± 2.47	6.13 ± 3.75
第3天	32	62.79 ± 28.23	5.53 ± 1.74	5.65 ± 3.75
第7天	31	65.46 ± 28.72	4.62 ± 2.69	7.09 ± 4.80
第14天	29	73.32 ± 29.03[c]	5.64 ± 2.34	6.34 ± 3.96

[a]*P*<0.05 *vs* 对照组; [c]*P*<0.05 *vs* 本组第1天. HLA-DR(%): 人类白细胞抗原DR位点表达率; Th1/Th2: T辅助淋巴细胞1/2; Treg(%): 自然调节性T细胞表达率.

■应用要点

重症急性胰腺炎早期全身炎症反应及免疫失衡是导致死亡的重要原因, 清肺承气颗粒可以通过调节人类白细胞抗原DR位点(human leukocyte antigen DR site)(%)、T辅助淋巴细胞1/2(the helper T lymphocyte 1/2)、与自然调节性T细胞(the regulatory T lymphocyte)(%)减少机体损伤, 降低死亡率, 为中西医结合治疗重症急性胰腺炎提供了一定依据.

度的全身炎症反应. 而这种免疫过激状态, 会造成广泛的自身组织破坏, 引起多脏器功能不全综合征, 甚至会导致死亡. 中西医结合治疗对重症急性胰腺炎的积极效果, 已经逐渐被大家所认可. 本文通过对免疫指标的检测, 探讨清肺承气颗粒对重症急性胰腺炎早期免疫反应的作用, 及对病死率的影响.

单核细胞HLA-DR的表达在抗原递呈及$CD4^+$T淋巴细胞活化过程中发挥重要作用, 其功能是识别并呈递单核巨噬细胞表面的外源性抗原肽, 激活$CD4^+$辅助性T淋巴细胞, 而后者可通过不同亚型(Th1/Th2)的分化, 及其分泌不同效应因子调节机体的免疫状态. 有研究发现SAP患者单核细胞HLA-DR表达明显低于急性轻症胰腺炎患者, 认为HLA-DR表达率与病情严重程度密切相关[11-13]. Treg为一类可起负调节作用的$CD4^+$T细胞, 并通过抑制$CD4^+$和$CD8^+$T细胞增生和受体功能来调节这些细胞的活性.

HLA-DR(%)是表达水平最高的主要组织相容性复合物Ⅱ, 在淋巴细胞的抗原呈递和免疫应答启动过程中起着至关重要的作用, HLA-DR分子的表达也反映了细胞免疫状态[14,15]. 在本研究中, 观察组HLA-DR(%)自第3天开始上升, 第7、14天较入组时显著上升, 第7天达到稳态, 并持续至第14天, 而对照组在第14天开始上升. 结果表明, HLA-DR表达率的总体变化为逐渐增高, 并趋于稳定. 说明在SAP早期, 抗原呈递出现障碍, 免疫应答启动出现障碍, 随着治疗的进展, 抗原呈递功能逐渐恢复, 免疫启动亦随之被加强. 观察组在第3天开始升高, 第7天接近正常, 对照组在第14天仍不正常, 说明清肺承气颗粒组HLA-DR表达率的增高更明显, 而两组存在的差异说明清肺承气颗粒可能会增强抗原呈递,增强免疫应答的启动.

Treg细胞的免疫抑制作用通过细胞间的直接接触及分泌抑制性细胞因子实现, 在机体的免疫负调节中发挥重要作用, 与许多疾病的发生、发展密切相关[16]. 在本研究中观察组第3天即有明显上升, 持续到第7天, Treg呈高表达状态, 至第14天接近入组时水平, 而对照组在整个观察过程中均无明显升高. 结果表明, 清肺承气颗粒早期即可促进Treg的表达, 机体的细胞免疫功能受抑制, 使机体趋向自我保护的状态, 而最后Treg的表达降低, 表明随着治疗的进展, 机体免疫逐渐恢复, 可能会避免免疫抑制继续发展而引起的进一步的感染等的发生. 而对照组并未明显增高考虑可能是由于正常免疫调节机制受损, Treg表面广泛的Toll样受体减少, 则其刺激增殖的Treg也减少, 不产生或者延迟产生自我保护调节的免疫抑制, 而仅在第3天有所上升, 可能与机体整体调节机制有关.

在免疫应答的过程中, Th1和Th2细胞的分化直接影响着疾病的发生和发展. Th1可分泌白介素-2(interleukin-2, IL-2), IL-6等促炎因子, 而Th2则分泌IL-4, IL-10等抗炎因子. 在生理条件下, 机体Th1/Th2细胞的免疫功能处于动态平衡状态, 一旦这种平衡发生偏离, 机体就会趋向疾病状态. 有研究发现, 在脓毒症发生时, 机体外周血Treg比例增加, 机体不会发生反应性增殖, 并且不产生细胞因子IL-2[17], IL-2为Th1淋巴细

■同行评价
文章研究清肺承气颗粒对重症急性胰腺炎早期免疫反应的影响, 有一定的创新性, 为中西医结合治疗重症急性胰腺炎提供一定的证据.

胞分泌产生的促炎因子. 在本研究中, 观察组患者早期Th1/Th2就有所下降, 而Treg值为上升, 表明清肺承气颗粒可通过升高Treg细胞的比例来促进Th1向Th2细胞转化, 促使机体由促进炎症反应的状态向抑制炎症反应的状态转变, 而减轻炎症反应对机体的损害. 而对照组只在第7天才出现变化, 原因可能与Treg结果相似的原因, 即为机体整体调节机制有关.

总之, 在SAP早期即存在炎症反应失控及免疫功能紊乱并存的状态, 在SAP早期予清肺承气颗粒治疗, HLA-DR的表达率增加, 可能会增强抗原呈递, 增强免疫应答的启动, 降低免疫抑制; Treg细胞高表达, Th1向Th2细胞转化, 均提示清肺承气颗粒可能通过减轻炎症反应对机体的损害, 降低病死率.

4 参考文献

1 Jung KH, Song SU, Yi T, Jeon MS, Hong SW, Zheng HM, Lee HS, Choi MJ, Lee DH, Hong SS. Human bone marrow-derived clonal mesenchymal stem cells inhibit inflammation and reduce acute pancreatitis in rats. *Gastroenterology* 2011; 140: 998-1008 [PMID: 21130088 DOI: 10.1053/j.gastro.2010.11.047]

2 Peery AF, Dellon ES, Lund J, Crockett SD, McGowan CE, Bulsiewicz WJ, Gangarosa LM, Thiny MT, Stizenberg K, Morgan DR, Ringel Y, Kim HP, Dibonaventura MD, Carroll CF, Allen JK, Cook SF, Sandler RS, Kappelman MD, Shaheen NJ. Burden of gastrointestinal disease in the United States: 2012 update. *Gastroenterology* 2012; 143: 1179-1187.e1-e3 [PMID: 22885331 DOI: 10.1053/j.gastro]

3 Stimac D, Mikolasevic I, Krznaric-Zrnic I, Radic M, Milic S. Epidemiology of Acute Pancreatitis in the North Adriatic Region of Croatia during the Last Ten Years. *Gastroenterol Res Pract* 2013; 2013: 956149 [PMID: 23476641 DOI: 10.1155/2013/956149]

4 Spanier B, Bruno MJ, Dijkgraaf MG. Incidence and mortality of acute and chronic pancreatitis in the Netherlands: a nationwide record-linked cohort study for the years 1995-2005. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 3018-3026 [PMID: 23716981 DOI: 10.3748/wjg.v19.i20.3018]

5 Banks PA, Bollen TL, Dervenis C, Gooszen HG, Johnson CD, Sarr MG, Tsiotos GG, Vege SS. Classification of acute pancreatitis--2012: revision of the Atlanta classification and definitions by international consensus. *Gut* 2013; 62: 102-111 [PMID: 23100216 DOI: 10.1136/gutjnl-2012-302779]

6 王兴鹏, 李兆申, 袁耀宗, 杜奕奇, 曾悦. 中国急性胰腺炎诊治指南(2013, 上海). 中国实用内科杂志 2013; 33: 530-535

7 屈振亮, 傅强, 夏庆. 重症急性胰腺炎中西医结合诊治常规(草案). 中国中西医结合外科杂志 2007; 6: 232-236

8 傅强, 崔乃强. 重症急性胰腺炎早期器官损害的特征及防治. 中国中西医结合外科杂志 2010; 16: 151-154

9 Fu Q, Cui N, Yu W, Du C. Percentages of CD4+ T regulatory cells and HLA-DR expressing monocytes in severe intra-abdominal infections. *Scand J Infect Dis* 2010; 42: 475-478 [PMID: 20233010 DOI: 10.3109/00365541003660021]

10 余杨梓, 傅强, 李静. 免疫失衡在重症急性胰腺炎患者继发全身感染中的作用. 天津医药 2012; 40: 672-674

11 Götzinger P, Sautner T, Spittler A, Barlan M, Wamser P, Roth E, Jakesz R, Függer R. Severe acute pancreatitis causes alterations in HLA-DR and CD14 expression on peripheral blood monocytes independently of surgical treatment. *Eur J Surg* 2000; 166: 628-632 [PMID: 11003431 DOI: 10.1080/11024150075008286]

12 覃月秋, 廖品琥, 王超, 尹毅霞, 苏建伟, 蒋旗, 易廷庄. 重症急性胰腺炎患者外周血单核细胞HLA-DR的表达及其临床意义. 免疫学杂志 2013; 29: 606-610

13 李薇, 谢文悦, 张卫云, 张璇, 张玉新, 高贵阳. HLA-DR/CD14在外周血单核细胞中的表达及其临床意义床意义. 解放军医学杂志 2011; 36: 61-63

14 Lin ZQ, Guo J, Xia Q, Yang XN, Huang W, Huang ZW, Xue P. Human leukocyte antigen-DR expression on peripheral monocytes may be an early marker for secondary infection in severe acute pancreatitis. *Hepatogastroenterology* 2013 Sep 20. *[Epub ahead of print]* [PMID: 24052484]

15 Yoshida S. [Monocyte HLA-DR expression as predictors of clinical outcome for patients with sepsis]. *Nihon Rinsho* 2004; 62: 2281-2284 [PMID: 15597796]

16 Afzali B, Lombardi G, Lechler RI, Lord GM. The role of T helper 17 (Th17) and regulatory T cells (Treg) in human organ transplantation and autoimmune disease. *Clin Exp Immunol* 2007; 148: 32-46 [PMID: 17328715 DOI: 10.1111/j.1365-2249.2007.03356.x]

17 Wisnoski N, Chung CS, Chen Y, Huang X, Ayala A. The contribution of CD4+ CD25+ T-regulatory-cells to immune suppression in sepsis. *Shock* 2007; 27: 251-257 [PMID: 17304105 DOI: 10.1097/01.shk.0000239780.33398.e4]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年4月18日; 22(11): 1607-1611
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

脾梗死临床特点分析137例

李一鸣, 赵 娇, 刘 娟, 叶 梅

李一鸣, 赵娇, 刘娟, 叶梅, 武汉大学中南医院综合科消化病区 湖北省武汉市430071
李一鸣, 主要从事炎症性肠病和消化系肿瘤的研究.
作者贡献分布: 叶梅负责研究总体设计、指导及论文修改; 李一鸣查阅文献、统计学数据分析及论文撰写; 赵娇与刘娟参与查阅文献与数据分析.
通讯作者: 叶梅, 副教授, 主任医师, 430071, 湖北省武汉市武昌东湖路169号, 武汉大学中南医院综合科消化病区.
meiye08@yahoo.com
收稿日期: 2014-01-16 修回日期: 2014-02-24
接受日期: 2014-02-28 在线出版日期: 2014-04-18

Splenic infarction: Analysis of 137 cases

Yi-Ming Li, Jiao Zhao, Juan Liu, Mei Ye

Yi-Ming Li, Jiao Zhao, Juan Liu, Mei Ye, Gastroenterology Division, Department of Geriatrics, Zhongnan Hospital of Wuhan University, Wuhan 430071, Hubei Province, China
Correspondence to: Mei Ye, Associate Professor, Chief Physician, Gastroenterology Division, Department of Geriatrics, Zhongnan Hospital of Wuhan University, 169 Wuchang Donghu Road,Wuhan 430071, Hubei Province, China. meiye08@yahoo.com
Received: 2014-01-16 Revised: 2014-02-24
Accepted: 2014-02-28 Published online: 2014-04-18

Abstract

AIM: To analyze the clinical features of splenic infarction.

METHODS: A retrospective search of papers published in databases was conducted. All cases of splenic infarction diagnosed by computed tomography (CT), ultrasound and/or surgery were included and analyzed.

RESULTS: We found 137 cases of splenic infarction. Comorbidities included cardiovascular diseases (29.8%), hematologic diseases (21.4%), digestive diseases (21.4%), autoimmune diseases (5.3%), and infectious diseases (6.1%). Abdominal or left flank pain was the most common chief complaint (80.7%), and left upper quadrant tenderness was the most common sign (35.7%). CT was the most accurate examination and could diagnose 97.2% of patients. 64.6% of patients received conservative medical management and 35.4% underwent the removal of the spleen.

CONCLUSION: Splenic infarction is a rare entity. It is important to be aware of the diagnostic possibility of splenic infarction in a patient with unexplained abdominal pain so that prompt and effective therapy can be taken.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Splenic infarction; Embolism; Diagnosis; Therapy

Li YM, Zhao J, Liu J, Ye M. Splenic infarction: Analysis of 137 cases. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(11): 1607-1611
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1607.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i11.1607

摘要

目的: 探讨脾梗死临床特点及诊疗策略.

方法: 查找全文数据库, 提取符合标准的临床资料进行总结分析.

结果: 符合纳入标准的脾梗死病例137例, 平均发病年龄54.1岁. 主要相关疾病: 循环系统疾病、血液系统疾病、消化系统疾病、自身免疫性疾病、感染性疾病分别占29.8%、21.4%、21.4%、5.3%、6.1%; 以左上腹疼痛为首发症状就诊的患者占80.7%, 35.7%患者左上腹压痛; CT检查准确率为97.2%, B超为66.1%; 64.6%的患者行保守治疗, 外科手术率35.4%, 脾梗死治愈率88.7%, 死亡率11.3%.

结论: 脾梗死临床较少见, 容易误诊及漏诊, 患者出现腹部症状时及时行CT扫描, 尽早明确诊断, 迅速启动有效治疗.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 脾梗死; 栓塞; 诊断; 治疗

核心提示: 脾梗死临床少见, 容易误诊及漏诊, 多种疾病及病理生理状态可导致其发生. 腹部CT是

■背景资料
脾梗死病因复杂繁多, 与多种疾病及病理生理状态相关, 临床少见, 提高对其认知度是避免漏诊误诊的关键因素. 目前期刊报道的脾梗死均为小样本或个案, 难以对其有全面深入的了解. 本论文系统全面分析近20年国内外期刊报道的脾梗死病例, 以提高对该疾病认知度.

■同行评议者
吴泰瑛, 教授, 山东省立医院肝胆外科

■研发前沿
脾梗死临床少见，但导致其发生的基础疾病和病理生理状态复杂繁多，明确其病因并积极防治显得尤为重要. 提高临床医师对其认知度，识别和发现高危人群并积极进行干预，具有重要意义. 对于腹痛患者，应尽快完善必要检查(如腹部CT扫描)并及时采取有效措施，避免漏诊和误诊.

首选诊断方法, 增强CT敏感性和特异性更高. 患者出现腹部症状时应及时行CT扫描, 超声检查有助于鉴别诊断. 大部分脾梗死灶可以自愈和纤维化, 保守治疗即有良好疗效.

李一鸣, 赵娇, 刘娟, 叶梅. 脾梗死临床特点分析137例. 世界华人消化杂志 2014; 22(11): 1607-1611 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1607.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i11.1607

0 引言

脾梗死(splenic infarction)是脾动脉或其分支阻塞导致的相应部位的脾脏坏死, 临床少见, 易发生误诊及漏诊. 目前我国及国外学术期刊报道的脾梗死均为小样本或个案, 难以对其有全面深入的认识. 本研究拟对近20年国内外期刊报道的脾梗死病例进行分析, 旨在探讨脾梗死的临床特点及诊疗策略, 提高诊疗水平.

1 材料和方法

1.1 材料 以“脾梗死”、“脾梗塞”、“spleen infarction”、“splenic infarction”、“infarct of spleen”、“infarction of spleen”为检索词, 分别检索中国期刊、万方、中国科技期刊、Pubmed等数据库, 时间为1993-01-01/2013-11-30.

1.2 方法 选取符合下列条件的文献进行分析总结: 经过平扫或增强CT、B超、手术或尸检证实为脾梗死的一次文献, 且剔除4个数据库中重复收录的文献.

统计学处理 采用计量资料的算数平均数以及计数资料的结构相对数(构成比)进行统计学描述分析.

2 结果

2.1 文献情况 符合纳入标准的文献共102篇, 其中近10年文献79篇, 占77.5%(79/102). 文献平均样本含量为1.3, 其中小于3例的97篇, 占95.1%(97/102).

2.2 研究对象性别、年龄分布 符合纳入标准的病例共137例, 其中男85, 女52, 男女之比1.63∶1. 最小年龄10 mo, 最大83岁, 平均发病年龄54.1岁, 年龄≥60岁38例, 占27.7%(38/137).

2.3 伴随疾病及相关既往病史 137例中6例未明确描述伴随疾病及相关既往史, 其余病例中循环系统疾病39例, 占29.8%(39/131)(括号内为纳入文献中存在该伴随疾病或病史的总例数, 分母为报道中病因明确的病例的总例数, 下同), 其中心脏瓣膜病13例, 冠状动脉粥样硬化性心脏病12例, 房颤4例, 心力衰竭3例, 左心室附壁血栓、感染性心内膜炎各2例, 心房黏液瘤、扩张型心肌病、马方综合征各1例. 消化系统疾病占21.4%(28/131), 包括急性胰腺炎11例, 肝硬化10例, 肠系膜上动脉缺血3例, 胰腺癌2例, 脾动脉假动脉瘤2例. 血液系统疾病28例, 占21.4%(28/131), 具体为镰状细胞贫血7例, 白血病5例, 非霍奇金淋巴瘤、真性红细胞增多症、蛋白S缺乏症各4例, 嗜血细胞综合征、血小板减少性紫癜、骨髓增生异常综合征、V因子Leiden突变各1例. 自身免疫性疾病7例, 占5.3%(7/131), 包括Wegener's肉芽肿4例, 系统性红斑狼疮2例, 皮肌炎1例. 感染性疾病8例, 占6.1%(8/131), 包括HIV感染、巴贝斯虫感染、EB病毒感染各2例, 巨细胞病毒感染、胎儿弯曲杆菌各1例. 与药物相关的脾梗死5例, 占3.8%(5/131), 具体为粒细胞集落因子2例, 可卡因、曲坦类药物、索菲拉尼各1例. 解剖结构异常例如游走脾导致脾扭转占6.1%(8/131); 血管相关性疾病例如肺栓塞、脑梗塞各3例; 其他因素如介入术后1例, 妊娠1例.

2.4 临床表现 症状: 以腹痛为主要表现. 发病早期患者可无明显症状, 80.7%(109/135)(括号内为纳入文献中存在该临床表现的总例数, 分母为报道中提及该临床表现的病例的总例数, 下同)的患者以左上腹疼痛为首发症状就诊, 19.3%(26/135)的患者以腹胀为首发症状, 其余2例具体表现文献未提及. 伴随症状中, 53.8%(57/106)的患者伴有发热, 32.9%(26/79)伴恶心呕吐, 30.2%(16/53)伴有放射痛, 放射至肩背部. 体征: 左上腹压痛占35.7%(34/95), 腹肌紧张占33.7%(29/86), 23例出现腹膜刺激征, 占28.4%(23/81), 17例患者可触及腹部肿块, 占48.6%(17/35).

2.5 辅助检查 实验室检查: 137例患者中76例报告了外周血白细胞计数, 其中69.7%增高(53/76), 70.0%血红蛋白降低(28/40), 21例检测血淀粉酶, 13例升高, 占61.9%(13/21), 18例肝功能异常, 占81.8%(18/22), 82.9%凝血时间延长(29/35), 85.2%D-二聚体升高(23/27). 影像学检查: 137例病例中107例行CT平扫和增强检查, 其中104例平扫影像上表现为大小不同的低密度灶, 占97.2%(104/107), 2例平扫未发现梗死灶, 1例诊

断为脾脓肿; 93例行增强CT检查, 全部诊断为脾梗死, 准确率100%(93/93). CT检查(平扫+增强)总准确率为97.2%(104/107). 62例行B超检查, 41例发现脾脏低回声灶, 占66.1%(41/62), 11例超声未发现明显异常, 占17.7%(11/62), 10例超声误诊为其他疾病, 占16.1%(10/62), 具体为: 4例仅报告脾肿大, 2例诊断为脾动脉囊状动脉瘤, 2例诊断为脾脏内囊性占位性病变, 1例诊断为脾脓肿, 1例诊断为脾脏内实性病变. 2例经CT和B超均未发现梗死灶, 后经闪烁扫描术发现脾梗死. MRI和DSA检查各发现梗死灶1例.

2.6 诊断情况 137例病例中, CT和B超均证实为脾梗死的病例38例, 占27.7%(38/137), 仅B超检查确诊者3例, 占2.2%(3/137), 104例通过CT确诊, 占75.9% (104/137), 16例通过剖腹探查明确诊断, 占11.7%(16/137), 14例(10.2%)梗死面积大, 病情发展迅速, 死亡后经尸检确诊为脾梗死. 另外137例中17例误诊, 分别误诊为急性冠脉综合症4例, 急性肠炎3例, 脾肿瘤4例, 上消化道出血、结肠癌、急性胰腺炎、脾脓肿、肠扭转、泌尿系结石各1例.

2.7 治疗 137例中, 7例未提及治疗方案, 保守治疗84例, 占64.6%(84/130), 46例外科行脾切除术, 占35.4%, 其中2例(4.3%)因保守治疗病情未缓解转手术治疗.

2.8 转归 137例中, 13例未报道脾梗死预后情况, 110例治愈, 治愈率为88.7%(110/124), 14例死亡, 死亡率为11.3%(14/124). 保守治疗失败率(包括死亡10例和转手术2例)14.3%(12/84), 手术治疗死亡4例, 死亡率为8.7 %(4/46). 死亡原因主要为休克、肺部感染、多脏器功能衰竭, 其他少见原因为肺水肿、败血症、其他部位栓塞或血栓形成等.

3 讨论

本文分析显示脾梗死是一种临床少见病症, 纳入分析的病例(以下称“本组病例”)死亡率达11.3%, 20年来国内外仅公开报道137例, 平均发病年龄为54.1岁, 60岁以上者占27.7%, 男性多于女性, 本组男女之比为1.63∶1.

脾梗死是脾动脉或其分支阻塞导致的脾脏相应部位的坏死, 其发生与局部解剖学和脾内动脉分支特点有关. 脾动脉分支是没有相互交通的终末动脉, 易发生栓塞[1]. 导致栓塞的原因复杂, 主要为脾动脉内血栓形成、脾动脉硬化、脾动脉内癌栓形成、微血管栓塞以及感染性心内膜炎异位栓子脱落等[2]. 夏绍友等[3]进行脾梗死相关基础解剖和临床研究后认为并发于血液、循环、消化系统病变基础上的脾梗死分别占20.4%、19.7%、21.8%. 本组病例中上述相关疾病在脾梗死中的比例与夏绍友等的研究结论基本一致.

血管及血栓相关性疾病是脾梗死的主要伴随疾病. 脾动脉是腹腔干最大的分支, 来自心脏较大的附壁血凝块、赘生物、心房黏液瘤瘤栓、动脉粥样硬化的脱落斑块, 容易随血流进入腹腔干, 栓塞脾动脉. 本组病例中与血栓相关的伴随疾病及既往病史主要有心脏瓣膜病、冠状动脉粥样硬化、房颤、心力衰竭、左心室和主动脉附壁血栓、感染性心内膜炎等. 上述基础疾病易导致脾梗死发生的机制是这些疾病多伴随血黏度升高, 不利于组织灌流, 造成组织细胞缺血血氧, 有利于血栓形成. 此外心瓣膜病、房颤等导致血流紊乱, 易形成血栓, 造成脾梗死. 消化系统病变以急性胰腺炎并发脾梗死为多见, 本组病例中因胰腺炎引起的脾梗死占8.4%. 一项回顾性研究发现脾梗死发病率在急性胰腺炎是7%左右[4], 与本组研究基本一致. 急性胰腺炎常形成周围炎性病变, 炎性渗出物作用于血管, 引起血管痉挛, 可出现局灶性或弥漫性脾梗死[4]. 此外, 胰腺肿大、假性囊肿形成或胰周炎症较重时, 可直接压迫脾血管或脾脏; 重症胰腺炎时, 血液处于高凝状态, 脾门血管及脾内血管易形成血栓、微血栓等, 均易导致脾梗死的发生[5]; 慢性胰腺炎时, 胰酶对胰周动脉的消化作用可促进假性动脉瘤形成, 造成脾脏局部缺血[6]. 另外一些伴有凝血功能异常、血液高凝状态的全身性疾病如血液系统疾病和生理状态如妊娠均可诱导脾动脉血栓形成, 从而伴发脾梗死.

解剖结构异常也是脾梗死的发病机制之一. 先天性脾蒂、脾脏支持韧带过长或脾脏韧带缺如以及肿大的脾脏牵拉作用使韧带松弛、拉长, 均可造成游走脾[7-9]. 由于脾蒂或韧带较长, 脾动脉容易部分或完全扭转, 诱发脾梗死, 其特征性CT表现是“漩涡征”[10]. 因此急性脾梗死是脾扭转最常见的并发症[11], 好发于年轻人和小儿. 本组病例中8例脾扭转, 脾扭转最小发病年龄是10 mo.

此外, 我们发现自身免疫性疾病亦是脾梗死的危险因素. 其机制可能是抗原抗体复合物广

■相关报道

脾梗死是急腹症的罕见病因, 临床少见, 起病隐匿, 重视不足, 早期症状、体征不典型容易误诊漏诊, 常被误诊为急性冠脉综合症、急性肠炎、脾肿瘤、上消化道出血、结肠癌、急性胰腺炎、脾脓肿、肠扭转、泌尿系结石等. 脾梗死的诊断率与医师临床经验、B超及CT检查手段的敏感性密切相关.

■同行评价
本文数据详实, 详略得当, 条理分明, 分析有理有据, 参考文献丰富, 对该疾病的临床特征及最新进展进行了全面深入地阐述, 研究有一定意义, 科学性及可读性较强.

泛沉积于血管壁, 免疫损伤导致血管壁及间质纤维素样坏死性炎[12]. 本组病例中, 自身免疫性疾病如Wegener's肉芽肿、系统性红斑狼疮、皮肌炎均可导致脾梗死. 有少数病例报道药物不良反应引起脾梗死, 本组病例中可卡因、曲坦类药物、粒细胞集落因子、索菲拉尼4种药物导致脾梗死, 停药后梗死灶不再扩大, 症状改善. 脾梗死临床表现多样且非特异性, 但主要症状为腹痛. 本组资料显示, 绝大多数病例以左上腹痛为首发症状, 30.2%的患者可放射至腰背部, 常伴恶心呕吐. 发病早期无腹部体征或仅腹部不固定性轻压痛, 随着脾脏持续缺血无法缓解, 逐渐出现左上腹压痛、腹肌紧张甚至腹膜刺激征, 部分脾肿大和脾扭转的患者可触及腹部肿块.

早期诊断是有效救治脾梗死的关键. 本病属于临床少见病, 极易误诊和漏诊. 当患者出现前述典型症状, 特别是有心房颤动、感染性心内膜炎、心瓣膜疾病、白血病、胰腺炎、肝硬化等基础疾病时, 应考虑本病, 尽快行腹部B超检查以排除其他常见急腹症, 但确诊应行敏感性更高的影像学检查如CT扫描. 本组资料结果显示超声检查诊断脾梗死的诊断率较低, 而误诊率较高. 这是由于梗死急性期和正常脾组织的回声之间的差别不大, 但超声可用于检测脾梗死的并发症, 如包膜或腹膜出血, 或假性囊肿或脓肿形成等. CT扫描是目前脾梗死的首选诊断方法[13], 特别是增强CT扫描敏感性及特异性均较高. 本组病例中CT检查确诊率高达97.2%. CT扫描不仅可以显示梗死灶大小和有无血栓形成, 有时还可以显示梗塞的来源, 此外还可用于鉴别诊断. 当患者出现不明原因的腹痛, 尤其是左上腹疼痛时, 应考虑应用[14].

大部分脾梗死灶可以自愈和纤维化, 保守治疗即有良好疗效, 但应重视基础疾病的治疗. 如栓子来自心瓣膜病变, 则应考虑瓣膜置换术; 血液高凝状态引起脾梗死则应抗凝治疗, 预防其他部位梗死的发生. 本组病例中保守治疗占64.6%, 给予吸氧、补液、止痛等对症处理, 部分病例给予溶栓、抗凝等治疗, 患者症状缓解, 复查CT显示梗死灶缩小. 脾梗死较少需要手术治疗, 对于梗死面积较大, 并发脾内大血肿、脾破裂、失血性休克、脾脓肿者, 应尽早行脾切除术[15]. 本组资料手术行脾切除治疗, 占35.4%, 手术率较高的原因是部分患者起病较急, 剧烈腹痛, 全身症状较重, 或出现并发症而行急诊手术探查; 另一方面游走脾导致的脾梗死患者均选择手术治疗. Nores等[16]报道脾梗死死亡率约5.0%, 本组病例死亡率为11.3%, 明显高于已报道的死亡率, 可能与本组死亡病例多患有严重的基础疾病, 如胰腺癌、肝硬化、淋巴瘤、白血病等, 在脾梗死治愈之前, 已经因严重的基础疾病发展为休克、多脏器功能衰竭而死亡.

4 参考文献

1 刘彪. 脾动脉栓塞治疗外伤性脾破裂(附12例报告). 中国普通外科杂志 2002; 11: 509-510
2 范建高, 吴坚炯. 重视脾脏疾病的病因学分类. 现代医药卫生 2005; 21: 3309-3340
3 夏绍友, 李荣, 李晨, 侯文宇, 王春喜, 宁宁. 脾梗死的基础解剖和临床研究. 中华肝胆外科杂志 2013; 19: 738-739
4 Cornu-Labat G, Kasirajan K, Simon R, Smith DJ, Herman ML, Rubin JR. Acute mesenteric vein thrombosis and pancreatitis. A rare association. *Int J Pancreatol* 1997; 21: 249-251 [PMID: 9322124 DOI: 10.1007/BF02821611]
5 Ray S, Mridha AR, Ahammed M. Diffuse splenic infarction in a case of severe acute pancreatitis. *Am J Surg* 2011; 201: e23-e25 [PMID: 21367360 DOI: 10.1016/j.]
6 Seicean A, Badea R, Stan-Iuga R, Iancu C, Seicean R. Double splenic artery pseudoaneurysm associating splenic infarction in chronic pancreatitis. *J Gastrointestin Liver Dis* 2012; 21: 313-315 [PMID: 23012674]
7 石建伟, 宗建卫, 马秉刚, 王永生, 白明辉. 游走脾脾并蒂扭转、脾梗死一例诊治分析. 临床误诊误治 2011; 24: 138-142
8 Bhanumathi V, Balkishan B, Masood SV. Torsion of wandering spleen in a woman presenting as emergency. *Indian J Surg* 2013; 75: 59-61 [PMID: 24426389 DOI: 10.1007/s12262-012-0433-8]
9 Kapan M, Gümüş M, Önder A, Gümüş H, Aldemir M. A wandering spleen presenting as an acute abdomen: case report. *J Emerg Med* 2012; 43: e303-e305 [PMID: 20851558 DOI: 10.1016/j.jemermed.2010.06.029]
10 Priyadarshi RN, Anand U, Kumar B, Prakash V. Torsion in wandering spleen: CT demonstration of whirl sign. *Abdom Imaging* 2013; 38: 835-838 [PMID: 22829098 DOI: 10.1007/s00261-012-9944-9]
11 Kocakoc E, Kayali A, Ozturk T, Ozturk F, Gundogan P. Torsion of the wandering spleen. *JBR-BTR* 2012; 95: 148-149 [PMID: 22880514]
12 Kumar N, Choudhary N, Agarwal G, Rizvi Y, Kaul B, Ahlawat R. Extensive medium-vessel vasculitis with SLE: an unusual association. *J Clin Rheumatol* 2007; 13: 140-142 [PMID: 17551380 DOI: 10.1097/RHU.0b013e318064e779]
13 Spaziani E, Di Filippo A, Picchio M, Pietricola G, Ceci F, Ottaviani M, Martellucci A, Pattaro G, De Angelis F, Parisella F, Pecchia M, Stagnitti F. [A rare cause of acute abdomen: splenic infarction. Case report and review of the literature]. *G Chir* 2010; 31: 397-399 [PMID: 20843446]
14 Antopolsky M, Hiller N, Salameh S, Goldshtein B, Stalnikowicz R. Splenic infarction: 10 years of experience. *Am J Emerg Med* 2009; 27: 262-265 [PMID: 19328367 DOI: 10.1016/j.ajem.2008.02.014]

15 Salvi PF, Stagnitti F, Mongardini M, Schillaci F, Stagnitti A, Chirletti P. Splenic infarction, rare cause of acute abdomen, only seldom requires splenectomy. Case report and literature review. *Ann Ital Chir* 2008; 78: 529-532 [PMID: 18510036]
16 Nores M, Phillips EH, Morgenstern L, Hiatt JR. The clinical spectrum of splenic infarction. *Am Surg* 1998; 64: 182-188 [PMID: 9486895]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版)

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

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

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

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com
世界华人消化杂志 2014年4月18日; 22(11): 1612-1615
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

早期肠内营养及护理支持对危重症脑血管疾病并发症的治疗作用

仲桂英, 李源化, 马丽萍, 黄成萍

■背景资料
重症患者手术、感染及创伤等应激原作用下, 刺激机体处于应激状态, 表现为昏迷、感觉及运动功能障碍. 能量物质分解亢进, 蛋白质分解大于合成, 胰岛素分泌减少或者胰岛素抵抗, 糖和脂肪代谢发生紊乱, 呈现明显的负氮平衡, 低蛋白血症和高糖血症. 重症患者吞咽障碍进食困难, 导致外源营养物质吸收减少, 进一步加重低蛋白血症, 血管内胶体渗透压进一步降低, 更多的血浆成分渗出到血管外. 随后发生脑水肿及其他部位水肿, 颅高压加重, 脑干以及下丘脑自主神经功能紊乱, 导致胃肠功能减弱.

仲桂英, 李源化, 马丽萍, 黄成萍, 青海大学附属医院神经内科 青海省西宁市 810001
仲桂英, 主管护师, 主要从事脑血管病的护理研究.
作者贡献分布: 此课题由仲桂英设计; 研究过程由仲桂英与李源化完成; 数据分析由马丽萍与黄成萍完成; 写作由仲桂英、李源化、马丽萍及黄成萍共同完成.
通讯作者: 仲桂英, 主管护师, 810001, 青海省西宁市城西区同仁路29号, 青海大学附属医院神经内科. 1679237107@qq.com
电话: 0971-6230866
收稿日期: 2014-01-06 修回日期: 2014-02-16
接受日期: 2014-03-04 在线出版日期: 2014-04-18

Early enteral nutrition and nursing care for prevention of complications of severe cerebrovascular diseases

Gui-Ying Zhong, Yuan-Hua Li, Li-Ping Ma, Cheng-Ping Huang

Gui-Ying Zhong, Yuan-Hua Li, Li-Ping Ma, Cheng-Ping Huang, Department of Neurology, the Affiliated Hospital of Qinghai University, Xining 810001, Qinghai Province, China
Correspondence to: Gui-Ying Zhong, Charge Nurse, Department of Neurology, the Affiliated Hospital of Qinghai University, 29 Tongren Road, Chengxi District, Xining 810001, Qinghai Province, China. 1679237107@qq.com
Received: 2014-01-06 Revised: 2014-02-16
Accepted: 2014-03-04 Published online: 2014-04-18

Abstract

AIM: To investigate enteral nutrition timing and nursing strategy in patients with severe cerebrovascular diseases to prevent the occurrence of complications.

METHODS: One hundred and twenty patients with severe cerebrovascular diseases who underwent enteral nutrition support therapy at our hospital from October 2011 to September 2013 were included and randomly divided into two groups: an experimental group and a control group, with 60 patients in each group. The experimental group received early enteral nutrition therapy and appropriate care measures, while the control group underwent conventional nutritional treatment. Biochemical indicators and the numbers of deaths, complications and sequelae were recorded and compared between the two groups.

RESULTS: The effective rate was significantly higher in the experimental group than in the control group (90% *vs* 35%, $P < 0.05$). There were no significant differences in food intake, defecation, vomiting and diarrhea, physiological blood pressure, heart rate, Na^+, Ca^{2+} or serum albumin levels between the two groups ($P > 0.05$ for all). There was one death in the experimental group and seven deaths in the control group. The number of complications was 4 in the experimental group and 12 in the control group. The number of sequelae was 3 in the experimental group and 10 in the control group.

CONCLUSION: Appropriate care and early enteral nutrition in critically ill patients can effectively reduce the occurrence of complications and accelerate the recovery of gastrointestinal function.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Enteral nutrition; Complications; Severe cerebrovascular diseases

Zhong GY, Li YH, Ma LP, Huang CP. Early enteral nutrition and nursing care for prevention of complications of severe cerebrovascular diseases. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(11): 1612-1615 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1612.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i11.1612

摘要

目的: 探讨神经内科重症患者肠内营养时机与并发症的分析及护理对策.

方法: 随机选取我院2011-10/2013-09收治的行肠内营养支持治疗的重症患者120例, 随机平均分为两组, 分别为试验组和对照组各60例. 试验组患者给予早期肠内营养治疗的方法, 并

■同行评议者
郝丽萍, 副教授, 华中科技大学同济医学院公共卫生学院营养与食品卫生学系

给予相应的护理对策, 对照组采用常规营养治疗法治疗, 观察并记录两组患者的各项生化指标、死亡例数、发生并发症例数、发生后遗症例数等, 然后再进行统计学处理.

结果: 试验组患者有效治疗54例, 有效率为90%, 对照组有效治疗21例, 有效率为35%, 可以得出试验组治愈效果明显高于对照组, 差异具有统计学意义($P<0.05$); 两组患者饮食量、排便量、呕吐及腹泻等一般情况均无明显差异($P>0.05$); 两组生理指标血压、心率等无明显差异($P>0.05$); 两组在Na^+、Ca^{2+}和血清白蛋白含量方面也没有明显差异($P>0.05$); 试验组死亡1例, 对照组死亡7例; 试验组发生并发症4例, 对照组发生并发症12例; 试验组发生后遗症3例, 对照组发生后遗症10例.

结论: 在相应护理条件下, 对重症患者给予早期肠内营养治疗, 可有效降低并发症的发生概率, 加快促进患者术后肠胃肠功能恢复, 值得临床推广应用.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 肠内营养; 并发症; 重症患者

核心提示: 本实验通过观察对比传统治疗方法与采用早期肠内营养支持的治疗方法, 发现试验组患者有效治疗54例, 有效率为90%, 对照组有效治疗21例, 有效率为35%, 可以得出试验组治愈效果明显高于对照组, 差异具有统计学意义($P<0.05$); 而两组患者饮食量、排便量、呕吐及腹泻等一般情况均无明显差异($P>0.05$); 两组生理指标血压、心率等无明显差异($P>0.05$); 两组在Na^+、Ca^{2+}和血清白蛋白含量方面也没有明显差异($P>0.05$); 试验组死亡例数、并发症例数以及后遗症例数均明显低于对照组.

仲桂英, 李源化, 马丽萍, 黄成萍. 早期肠内营养及护理支持对危重症脑血管疾病并发症的治疗作用. 世界华人消化杂志 2014; 22(11): 1612-1615 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1612.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i11.1612

0 引言

神经内科重症患者的治疗比较复杂, 患者常会伴有严重的意识障碍和吞咽功能障碍, 使患者营养状况比较差, 在临床护理与药物治疗的基础上给予合理的营养支持, 可促进患者的康复[1,2]. 我院在积极相应护理措施情况下, 对重症患者给予肠内营养治疗, 取得了良好治疗效果, 通过整理分析, 现报道如下.

1 材料和方法

1.1 材料 选取我院2011-10/2013-09收治的神经内科重症患者共计120例, 其中男性67例, 女性53例, 年龄51-78岁, 平均年龄59.1岁±5.3岁. 其中脑梗死62例, 蛛网膜下腔出血8例, 脑出血43例, 脑炎7例. 所有患者均符合1995年全国脑血管会议制定的诊断标准, 部分病情危重者伴有吞咽障碍或者意识障碍. 发病前均无无代谢性及内分泌性疾病、也没有重要脏器的器质性疾病. 将其随机分为两组: 治疗组60例, 男性35例, 女性25例, 对照组60例, 男性32例, 女性28例. 两组患者基本情况相似, 在年龄、性别、社会背景、病情等方面差异无统计学意义($P>0.05$), 具有可比性. 肠内营养物质主要为瑞代和瑞素两种乳剂制剂. (1)瑞代肠内营养乳剂(Fresenius Kabi Austria GmbH, 国药准字J20090098, 500 mL/瓶), 为复方制剂, 主要成份为: 麦芽糊精、水、水解小麦蛋白、酪蛋白、中链脂肪酸甘油三酯、*L*-精氨酸、鱼油、大豆磷脂、植物油、维生素和各种矿物质及微量元素等, 适用于糖尿病人群; (2)瑞素肠内营养乳剂(华瑞制药有限公司, 国药准字H20020588, 500 mL/瓶), 每100 mL含脂肪3.4 g、蛋白质3.8 g、饱和脂肪酸1.6 g、不饱和脂肪酸1.3 g、中链甘油三酯1.2 g、糖0.5 g、碳水化合物14.8 g, 其适用于除糖尿病患者以外的有摄取障碍的人群.

1.2 方法 试验组和对照组各60例, 试验组患者早期便进行肠内营养的补充, 并对其进行适当胃部按摩, 以防发生误吸的状况. 接下来对患者采用连续灌注的方法, 应用输液泵通过鼻胃管输入, 逐渐增加剂量, 由低浓度低速度逐渐加速加量, 最终至全量, 依次进行营养液的灌注, 第1天的量约为20 mL/h左右, 以后逐日每小时增加20 mL, 最大泵速每小时为125 mL(注意营养液的温度应该适中). 对照组根据患者早期禁食, 根据身体情况分别行常规营养治疗, 并在72 h后留置胃管, 随后给予肠内营养支持治疗. 两组患者在早期治疗的同时, 应积极监控各项生理指标, 注意颅内压的变化, 保持呼吸道通畅, 密切监测患者生命体征, 并做好相应记录. 观察患者有无呕吐、腹泻、腹胀等不良反应情况发生. 分别记录分析两组患者的饮食量、排便量、治愈例

■研发前沿
临床在对神经内科重症患者进行治疗时, 应积极给予配合适当的肠内营养, 胃肠内早期补充营养可以改善胃肠黏膜的营养供应, 改善其血供状况, 还可以中和胃酸, 防止胃黏膜屏障受到损伤, 保护黏膜屏障的完整性.

■应用要点
肠内营养护理还具有安全、经济等特点，使其更有利于重症神经内科患者的神经系统结构及功能恢复，应该在临床上推广使用.

表 1 两组患者临床疗效情况比较 (n = 60)

分组	治愈(n)	治愈率(%)	占总治愈人数(%)
试验组	54	90	72
对照组	21	35	28

表 2 两组患者死亡情况比较 (n = 60)

分组	死亡(n)	死亡率(%)	占总治愈人数(%)
试验组	1	1.67	12.50
对照组	7	11.67	87.50

表 3 两组患者并发症情况比较 (n = 60)

分组	并发症例数(n)	并发症比率(%)	占总并发症人数(%)
试验组	4	6.67	28.57
对照组	12	20.00	71.43

表 4 两组患者后遗症情况比较 (n = 60)

分组	后遗症例数(n)	后遗症比率(%)	占总人数(%)
试验组	3	5.00	23.08
对照组	10	16.67	76.92

数、病死例数、并发症例数以及后遗症例数等数据.

统计学处理 统计采用SPSS18.0 for windows软件进行统计学处理，计数资料采用χ^2检验，P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 两组患者治愈情况比较 试验组治愈率为90%，对照组治愈率为35%，对照组的治愈率低于试验组治愈率，差异有统计学意义(χ^2 = 38.7200, P<0.05, 表1).

2.2 两组患者死亡情况比较 试验组死亡率为1.67%，对照组死亡率为11.67%，对照组的死亡率高于试验组的死亡率，差异有统计学意义(χ^2 = 4.8214, P = 0.0281, 表2).

2.3 两组患者并发症情况比较 试验组并发症比率为6.67%，对照组并发症比率为20%，对照组的并发症发病率高于试验组并发症发病率，差异有统计学意义(χ^2 = 4.6154, P = 0.0317, 表3).

2.4 两组患者后遗症情况比较 试验组后遗症比率为5%，对照组后遗症比率为16.67%，两组后遗症比率比较，对照组的后遗症发病率高于试验组后遗症发病率，差异有统计意义(χ^2 = 4.2272, P = 0.0398, 表4).

3 讨论

重症患者手术、感染及创伤等应激原作用下，刺激机体处于应激状态，表现为昏迷、感觉及运动功能障碍[3,4]. 能量物质分解亢进，蛋白质分解大于合成，胰岛素分泌减少或者胰岛素抵抗，糖和脂肪代谢发生紊乱，呈现明显的负氮平衡，低蛋白血症和高糖血症[5]. 重症患者吞咽障碍进食困难，导致外源营养物质吸收减少，进一步加重低蛋白血症，血管内胶体渗透压进一步降低，更多的血浆成分渗出到血管外. 随后发生脑水肿及其他部位水肿，颅高压加重，脑干以及下丘脑自主神经功能紊乱，导致胃肠功能减弱[6]. 针对此状况，临床在对神经内科重症患者进行治疗时，应积极给予配合适当的肠内营养，胃肠内早期补充营养可以改善胃肠黏膜的营养供应，改善其血供状况，还可以中和胃酸，防止胃黏膜屏障受到损伤，保护黏膜屏障的完整性[7]. 肠内营养还可以提供全胃肠缺乏的谷胺酰胺以及膳食纤维，不但可以减轻损伤，还可以为胃黏膜修复及体内重要有机物的合成提供原材料. 此外，早期胃肠内营养使食物可以直接刺激胃肠黏膜，利于黏膜屏障的维持和恢复，阻止易位感染的发生和细菌毒素等进入体内，同时还可以增加门静脉血液，刺激其他器官系统的功能恢复和促进营养成份的吸收，有效改善患者蛋白质的代谢，减少蛋白质的丢失，使其血浆蛋白浓度处于正常水平，提高机体抵抗力和免疫力[8,9]. 此外，还可明显降低对患者的神经功能损害，减轻脑水肿，降低颅内压[10].

本实验通过观察对比传统治疗方法与采用早期肠内营养支持的治疗方法，发现试验组患者有效治疗54例，有效率为90%，对照组有效治疗21例，有效率为35%，可以得出试验组治愈效果明显高于对照组，差异具有统计学意义(P<0.05)；而两组患者饮食量、排便量、呕吐及腹泻等一般情况均无明显差异(P>0.05)；两组生理指标血压、心率等无明显差异(P>0.05)；两组在Na^+、Ca^{2+}和血清白蛋白含量方面也没有明显差异(P>0.05)；试验组死亡例数、并发症例数以及后遗症例数均明显低于对照组. 可得出在相应护理条件下，若对重症患者给予早期肠内营养治疗，可有效提高患者的治愈率和降低并发

症的发生概率, 加快促进患者术后肠胃肠功能恢复, 减少患者的死亡率及后遗症.

早期肠内营养支持有利于保持肠道这一人体最大免疫器官的功能, 提高机体的免疫力, 有利于患者的治疗和康复[11]. 而且操作简便、经济, 并发症少, 适合在临床中大力推广. 同时为了避免突发状况, 医护人员在对重症患者进行治疗过程中, 必须定时检测患者血清电解质变化及尿素氮的水平[12,13]. 同时应密切观察患者的生命体征变化情况, 以便及时补充各种必需脂肪酸、维生素及微量元素等, 以防发生意外[14]. 营养液温度应控制在38 ℃-40 ℃最为适合, 过热可能会灼伤胃肠道黏膜, 而过冷可对胃肠道产生刺激, 从而引起不适[15]. 总之, 在对重症神经内科患者进行常规对症治疗的同时, 进行肠内营养的护理能有效改善患者的营养状况, 而且能够减轻患者各个器官的损伤和加快各个器官功能的恢复, 使患者的并发症的发生概率、死亡率及后遗症发生概率均有明显下降, 还提高治愈率, 进而提高患者的生活质量, 达到较好的治疗效果. 此外, 肠内营养护理还具有安全、经济等特点, 使其更有利于重症神经内科患者的神经系统结构及功能恢复, 应该在临床上推广使用[16].

4 参考文献

1 石小峰, 史克珊, 李安民, 陈焕雄. 神经外科重症患者上消化道出血高危因素监测与治疗. 世界华人消化杂志 2002; 10: 1101-1103
2 王慧, 钟燕, 蔡东联, 耿珊珊, 韩婷, 陈凌云. 添加益生元肠内营养对重症急性胰腺炎肠屏障损害和内毒素易位的作用. 世界华人消化杂志 2007; 15: 694-699
3 胡森, 王海滨, 夏斌, 于勇, 黎君友, 邹晓防, 周国勇, 车晋伟. 通腑颗粒改善犬缺血再灌注状态下实施肠内营养时的小肠功能. 世界华人消化杂志 2007; 15: 1845-1849
4 Tyson SF, Brown P. How to measure fatigue in neurological conditions? A systematic review of psychometric properties and clinical utility of measures used so far. *Clin Rehabil* 2014 Feb 11. *[Epub ahead of print]* [PMID: 24519920 DOI: 10.1177/0269215514521043]
5 耿梦雅, 谢绍英, 林善娟. 肠内营养防治呼吸机相关性肺炎的研究进展. 护士进修杂志 2010; 25: 555-557
6 焦宪法, 李伟丽, 牛杏果, 张科, 王小雯, 赵玉洁. 胃镜下胃管代替鼻肠管在重症患者中应用. 中国内镜杂志 2012; 18: 1033-1037
7 郭日康, 胡溅梅, 陈丽芳, 陈纯波, 曾文新, 叶珩, 孙诚. 重症患者被动等待法结合补救性盲插法放置螺旋型鼻肠管的可行性. 实用医学杂志 2012; 28: 2403-2405
8 Sakurai K, Tokumaru AM, Nakatsuka T, Murayama S, Hasebe S, Imabayashi E, Kanemaru K, Takao M, Hatsuta H, Ishii K, Saito Y, Shibamoto Y, Matsukawa N, Chikui E, Terada H. Imaging spectrum of sporadic cerebral amyloid angiopathy: multifaceted features of a single pathological condition. *Insights Imaging* 2014 Feb 12. *[Epub ahead of print]* [PMID: 24519790]
9 李晓红, 刘丽颖, 李媛媛. 鼻胃管与鼻肠管在神经外科重症患者中联合应用的护理. 护士进修杂志 2013; 28: 138-139
10 桂培根, 吴正茂, 曾均发, 李方, 张凯. 3120例危重症患者床旁胃镜放置鼻空肠管的临床应用. 中国内镜杂志 2012; 18: 430-431
11 马云飞. 肠内营养支持途径与并发症. 实用医学杂志 2013; 29: 2400-2402
12 李国艳. 重型颅脑损伤病人早期肠内营养的实施及护理. 大家健康(下旬版) 2013; 7: 159-159
13 Kingston A, Davies K, Collerton J, Robinson L, Duncan R, Bond J, Kirkwood TB, Jagger C. The contribution of diseases to the male-female disability-survival paradox in the very old: results from the newcastle 85+ study. *PLoS One* 2014; 9: e88016 [PMID: 24516578 DOI: 10.1371/journal.pone.0088016]
14 忻莹, 戴宁. 重危患者胃小肠的运动功能紊乱. 世界华人消化杂志 2002; 10: 77-79
15 靳雁, 郭小花, 袁娟, 曹灵, 韩睿卓, 屈圆圆. 持续质量改进在食管癌患者术后肠内营养的应用. 护士进修杂志 2011; 26: 1945-1946
16 刘亚光, 刘若楠. 术后危重患者早期肠内营养临床观察: 附52例报告. 中国普通外科杂志 2010; 19: 445-447

■同行评价

本研究设计相对简单, 但是对临床医师有一定的借鉴价值.

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年4月18日; 22(11): 1616-1621
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

双气囊小肠镜诊断小肠疾病的十年回顾性分析

汪姝君, 毛高平, 唐 杰, 宁守斌, 金晓维, 朱 鸣

■背景资料
双气囊小肠镜(double-balloon endoscope, DBE)是小肠疾病诊治领域的新方法. 自2003年应用于临床至今, 目前报道的关于DBE检查的临床资料主要是小样本资料, 缺乏多中心、大样本的总结性资料. 作为一项具有革命性突破意义的检查手段, 其诊断价值和安全性等临床实用性需要进一步验证.

汪姝君, 毛高平, 唐杰, 宁守斌, 金晓维, 朱鸣, 中国人民解放军空军总医院消化内科 北京市 100142
汪姝君, 硕士, 主要从事双气囊小肠镜对小肠疾病的诊断与治疗研究.
作者贡献分布: 此课题由汪姝君与毛高平设计; 研究过程由毛高平、唐杰、宁守斌、金晓维及朱鸣操作完成; 数据分析与论文写作由汪姝君完成.
通讯作者: 毛高平, 主任医师, 100142, 北京市海淀区阜成路30号, 中国人民解放军空军总医院消化内科.
maogaoping@medmail.com
收稿日期: 2014-01-19 修回日期: 2014-03-15
接受日期: 2014-03-19 在线出版日期: 2014-04-18

Double-balloon endoscopy for diagnosis of small intestinal disorders: A systematic review of data over the first decade of use

Shu-Jun Wang, Gao-Ping Mao, Jie Tang, Shou-Bin Ning, Xiao-Wei Jin, Ming Zhu

Shu-Jun Wang, Gao-Ping Mao, Jie Tang, Shou-Bin Ning, Xiao-Wei Jin, Ming Zhu, Department of Gastroenterology, Air-force General Hospital of Chinese PLA, Beijing 100142, China
Correspondence to: Gao-Ping Mao, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Air-force General Hospital, 30 Fucheng Road, Haidian District, Beijing 100142, China. maogaoping@medmail.com
Received: 2014-01-19 Revised: 2014-03-15
Accepted: 2014-03-19 Published online: 2014-04-18

Abstract

AIM: To systematically analyze data on diagnostic rate, observation scope, and complications of double-balloon endoscopy (DBE) for small bowel diseases, and to further evaluate its clinical value and security.

METHODS: A total of 1036 patients (585 men and 451 women) with suspected or known small-bowel diseases underwent 1202 DBE procedures (oral 589, anal 613, both approaches 184) under anesthesia with propofol at our institution over the past decade.

RESULTS: The success rate of DBE was 99.2% (1193/1202), and the positive diagnostic yield was 84.5% (875/1036). The main diagnosis was polyps and tumors (391/1202; 32.5%), erosions and ulcerations (246/1202; 20.4%), and angiodysplasia (52/1202; 4.32%). The mean duration of the procedure was 78 min ± 43 min (30-180 min). On average, 231 cm ± 74 cm of the small bowel was visualized by using the oral route and 176 cm ± 69 cm by using the anal route ($P < 0.05$). Most common lesions detected in patients with OGIB (obscure gastrointestinal bleeding) were ulcers and erosions (57/218; 26.1%), vascular diseases (33/218; 15.1%), and tumors and polyps (28/218; 12.8%). Among 63 small bowel tumor cases, 45 were malignant (45/63; 71%) and 18 were benign (18/63; 29%). Histopathology was consistent with the endoscopic diagnosis in 87.5% (63/72) of patients with small bowel tumors. Severe complications were observed in 11/1202 (0.915%) of cases. A minority of patients complained of mild sore throat, anal pain or abdominal distension after the DBE procdure.

CONCLUSION: Our retrospective analysis shows that DBE is a safe and effective method to diagnose small bowel disorders by visualization and tissue sampling to assist in diagnosis of etiology.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Double-balloon endoscopy; Small intestinal diseases; Diagnosis

Wang ZJ, Mao GP, Tang J, Ning SB, Jin XW, Zhu M. Double-balloon endoscopy for diagnosis of small intestinal disorders: A systematic review of data over the first decade of use. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(11): 1616-1621
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1616.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i11.1616

摘要

目的: 系统地评价双气囊小肠镜(double-balloon endoscope, DBE)对小肠疾病的诊断率、观察范围、并发症等, 探讨其诊断价值和安全性.

方法: 对怀疑或证实有小肠疾病的1036例患者(男性585例, 女性451例)在异丙酚麻醉/镇静

■同行评议者
张庆瑜, 教授, 主任医师, 天津医科大学总医院科研处

状态下进行1202例(经口检查589例, 经肛门检查613例, 双侧对接检查184例)DBE检查.

结果: 1202例次的检查中, 检查成功率99.2%(1193/1202), 小肠病变阳性检出率84.5%(875/1036). 小肠疾病的类型前3位的是息肉和肿瘤(391/875; 44.7%)、糜烂和溃疡(246/875; 28.1%)、血管畸形(52/875; 5.94%). 平均检查时间78 min±43 min(30-180 min). 经口进镜长度231 cm±74 cm, 经肛进镜长度176 cm±69 cm, 两者比较差异有统计学意义(P<0.05). DBE对不明原因消化道出血(obscure gastrointestinal bleeding, OGIB)的病因诊断中前3位的是糜烂和溃疡(57/218, 26.1%)、血管性病变(33/218, 15.1%)、息肉和肿瘤(28/218, 12.8%). 63例小肠肿瘤中45例(45/63, 71%)为恶性肿瘤, 18例(18/63, 29%)为良性肿瘤, 以小肠恶性肿瘤为主. 小肠肿瘤的内镜诊断与镜下病理诊断准确率为87.5%(63/72). 严重并发症11例(11/1202, 0.915%), 小部分患者术后诉轻微的咽喉不适、肛门部疼痛和腹胀.

结论: DBE是一种安全可靠地诊断小肠疾病的检查方法, 通过直视下的小肠活检以协助病因学鉴别, 应用前景广阔.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 双气囊电子小肠镜; 小肠疾病; 诊断

核心提示: 通过双气囊小肠镜(double-balloon endoscope, DBE)对诊断小肠疾病的研究, 表明DBE是一种安全可靠地检查方法, 尤其是其直视下行小肠活检的功能, 协助小肠疾病的病因学鉴别, 阐明小肠疾病的机制, 应用前景广阔.

汪姝君, 毛高平, 唐杰, 宁守斌, 金晓维, 朱鸣. 双气囊小肠镜诊断小肠疾病的十年回顾性分析. 世界华人消化杂志 2014; 22(11): 1616-1621 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1616.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i11.1616

0 引言

小肠是消化系统最长的器官(约5-7 m), 由于其起病隐匿、早期的症状特异性不强且部位深, 既往对小肠疾病的临床诊断是棘手的医学“黑匣子”[1]. 2001年, 日本学者Yamamoto与富士写真光机株式会社共同研制了双气囊小肠镜(double-balloon endoscope, DBE), 2003年DBE产品正式上市并在全世界广泛应用于临床, DBE在过去十年的时间里革命性地探索着小肠疾病. DBE具有直观、可操控、活组织检查等优势, 通过经口或经肛的进镜方式, 完成大部分但不是全消化系的内镜检查, 在一定程度上反映了小肠疾病的组成, 有助于对不明原因消化系出血(obscure gastrointestinal bleeding, OGIB)和小肠肿瘤的诊断. 本文旨在通过我们自2003年以来的1202例次双气囊小肠镜检查的病例, 回顾性分析双气囊小肠镜对小肠疾病的诊断价值.

■研发前沿
DBE是在非外科剖腹的情况下诊断小肠疾病的重要手段. 除此以外, 新型治疗附件的不断开发研制和内镜下治疗(狭窄扩张、支架置入等)的普及, DBE将发挥更全面的临床作用.

1 材料和方法

1.1 材料 收集我科2003-12/2013-06既往接受电子胃镜或结肠镜检查, 怀疑或证实系小肠疾病而入院的1036例患者(男585例, 女451例)的临床资料, 平均年龄(41岁±12岁), 在麻醉/镇静状态下进行了1202例(经口检查589例, 经肛门检查613例, 双侧对接检查184例)DBE检查. 患者均采用FUJINON EN 450P5/28型双气囊小肠镜检查, 以及与之配套的活检钳、注射针等附件.

1.2 方法

1.2.1 术前准备: 患者术前均常规检查血常规、凝血功能、肝肾功能、心电图等, 无胃肠镜检查及静脉麻醉的禁忌症. 患者术前1 d进食流质饮食, 晚餐后禁食, 并口服蓖麻油40 mL, 饮水500 mL, 第2天上午口服复方聚乙二醇电解质散剂137 g加入2000 mL水中清洁肠道, 检查结束前禁食. 行DEB检查患者均给予异泊酚静脉麻醉辅助内镜检查. 由于DBE检查时间长, 为防止麻药过量应用对呼吸的抑制, 所有经口检查患者均行气管插管辅助呼吸. 检查前10 min肌肉注射山莨菪碱10 mg, 并全程行心电监护及氧饱和度监测.

1.2.2 DBE检查: 采用FUJINON EN 450P5/28型DBE. 整套内镜操作系统由内镜、主机、外套管和气泵4部分组成. 小肠镜镜身长2 m, 外径8.5 mm, 视角120度. 外套管长1.4 m. 气囊压力5.6-8.2 kPa. 工作钳道2.2 mm, 通过工作钳道完成注气、注水、吸引和活检等操作. 通过镜身和外套管依次反复充气、放气、勾拉、滑行等动作, 使肠管不断地褶缩在外套管上, 直至到达病灶. 这样, 利用有效长度仅2 m的内镜和柔软的外套管交替插入来完成对5-7 m长的小肠的检查. 2个气囊注气及抽气均由气泵自动控制, 抽气时压力为-6.0--6.5 kPa; 注气时压力为7.0-7.5 kPa. 经一端进镜未发现病灶者, 内镜抵达最远部位后, 注射针在黏膜下注射美蓝多点标记, 以染色定位, 继续另一侧进镜检查至染色处.

1.2.3 评价指标: 采用检查成功率(检查成功率 =

■同行评价
本文临床资料详实, 讨论全面, 通过10年的回顾性研究,具有很好的应用价值和实际意义.

表 1 DBE诊断OGIB的病因分类

内镜诊断	患者例数	分类例数
糜烂和溃疡	57	
NSAIDs		9
克罗恩病		28
小肠溃疡		11
吻合口溃疡		6
Dieulafoy溃疡		3
息肉和肿瘤	28	
血管畸形	33	
血管发育不良		9
血管扩张		17
放射性肠炎		7
其他小肠疾病		
小肠憩室		10
蓝色橡皮疱样痣综合征		1
门脉高压性肠病		3
小肠寄生虫病		6
移植物抗宿主病		3
结肠病变	26	
食管、胃或十二指肠的病变	21	
阴性	30	
总计	218	

OGIB: 不明原因消化道出血; NSAIDs: 非甾体类抗炎药相关性小肠溃疡; DBE: 双气囊小肠镜.

DBE检查成功的例数/总检查例数×100%)、检查阳性率(检查阳性率 = 检出病变例数/患者总例数×100%)、病因诊断率(病因诊断率 = 检出病变能解释患者主诉原因的例数/患者总例数×100%)、OGIB患者常规内镜检查漏诊率(常规内镜检查漏诊率 = 食管、胃、十二指肠或结肠的病变例数/检查例数×100%)、小肠肿瘤病理诊断符合率(病理诊断符合率 = 镜下诊断正确人数/组织活检人数×100%)进行评价.

统计学处理 数据采用SPSS17.0统计学软件处理, 计量资料以mean±SD表示, 采用*t*检验, $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 DBE检查的完成情况 1036例患者总共接受了1202次DBE检查(经口589次, 经肛门613次), 其中最常见的病因是息肉和肿瘤(391例; 44.7%), 糜烂和溃疡占28.1%(246例), 血管畸形占5.94%(52例). 1例经口DBE因先天性小肠发育畸形, 检查失败. 1例经口DBE因Billroth-Ⅱ式胃大部切除术后肠外粘连严重, 进镜困难. 1例经肛DBE因回盲部变形、狭窄, 未成功通过回盲瓣. 6例经肛DBE因回肠末段狭窄未完成检查(均距回盲瓣50 cm以内). 其余患者均完成检查. 检查成功率99.2%(1193/1202), 检查阳性率为84.5%(875/1036), 病因诊断率为80.8%(837/1036). 平均检查时间78 min±43 min(30-180 min), 经口进镜长度231 cm±74 cm(30-380 cm), 经肛进镜长度176 cm±69 cm(10-400 cm), 经口进镜长度明显大于经肛进镜, 两者比较差异有统计学意义($P<0.05$).

2.2 DBE对OGIB的诊断 218例OGIB的患者病因诊断率为64.7%(141/218), 最常见的病因依次是糜烂和溃疡(57/218, 26.1%)、血管性病变(33/218, 15.1%)、息肉和肿瘤(28/218, 12.8%); OGIB的病因如表1. 47例OGIB患者行DBE检查前均行胃镜或结肠镜检查, 未发现明显异常, 来院行DBE检查时检出病变, 常规内镜检查漏诊率达21.6%(47/218). 其中胃镜检查遗漏病变21例(9.63%): 十二指肠球部溃疡6例, 胃窦溃疡5例, 幽门管溃疡5例, 吻合口溃疡4例, 早期胃癌1例; 结肠镜检查遗漏病变26例(11.9%): Meckel's憩室7例, 结肠憩室5例, 回肠末端溃疡4例, 结肠克罗恩病4例, 结肠癌3例, 放射性直肠炎3例, 痔疮2例, 盲肠血管发育不良1例.

2.3 DBE对小肠肿瘤的诊断 1202例小肠镜检查中72例镜下判断为小肠肿瘤, 经镜下活检检查, 63例病理证实为小肠肿瘤, 病理诊断准确率为87.5%(63/72). 其中45例(45/63, 71%)为恶性肿瘤, 18例(18/63; 29%)为良性肿瘤. 小肠恶性肿瘤的病理类型前3位的是: 间质瘤(25/63, 39.7%)、腺癌(10/63, 15.9%)和淋巴瘤(6/63, 9.52%). 63例患者临床表现为: 消化道出血30例, 腹痛17例, 小肠梗阻11例, 恶心5例. 本组小肠肿瘤的病理类型和临床症状如表2.

2.4 DBE检查的并发症和不良反应 在检查过程中严重并发症11例(11/1202; 0.915%), 由于麻醉药品有抑制呼吸的不良反应, 异丙酚麻醉/镇静时8例经口者表现明显的呼吸抑制及咳嗽反应, 占0.67%(8/1202), 血氧饱和度下降, 经暂停操作、负压吸痰、加压给氧及减慢异丙酚输入速度等处理, 均恢复正常. 1例经口者(1/1202; 0.083%)气管插管过程中呕吐大量胃液, 继发吸入性肺炎, 血氧饱和度进行性下降(60%-90%), 立即用EG-470型胃镜经气管插管导管插入双肺吸引胃液, 经反复吸引, 肺内胃液基本抽吸干净, 抢救完毕血氧饱和度上升至99%.

另外, 操作过程中2例经肛者(克罗恩病)术

表 2 DBE镜下活检诊断小肠肿瘤的类型和临床症状分类

诊断	*n*	构成比(%)	消化系出血	小肠梗阻	腹痛	恶心
恶性肿瘤	45	71	24	9	8	4
间质瘤	25		19	3	2	1
转移癌	3			1	2	
腺癌	10		2	5		3
淋巴瘤	6		2		4	
恶性黑色素瘤	1		1			
良性肿瘤/息肉	18	29	6	2	9	1
腺瘤性息肉	3		1		1	1
炎性息肉	10		2	2	6	
血管瘤	3		3			
脂肪瘤	1				1	
淋巴管瘤	1				1	
总计	63	100	30	11	17	5

DBE: 双气囊小肠镜.

中穿孔, 占(2/1202, 0.17%), 急诊转普外科行小肠穿孔修补手术治疗. 部分经口患者在清醒后诉轻微的咽喉部不适或腹痛, 经肛者诉肛门部疼痛、腹胀, 均可自行缓解或经补液、解痉对症处理好转. 无急性胰腺炎、麻痹性肠梗阻等其他严重并发症.

3 讨论

双气囊小肠镜应用于小肠的检查是消化道内镜技术发展的里程碑, 一项Meta分析[2]报道其对小肠疾病的总体诊断率达85.8%, 本研究对1036例患者的诊断率达84.5%(875/1036), 基本一致. DBE无法鉴别约六分之一的潜在疾病, 分析原因: (1)大部分的DBE检查没有完成全小肠的探查, 本研究双侧对接检查184例, 占15.3%(184/1202), 从而小肠镜未能到达病变部位导致漏诊; (2)患者的病因不是小肠甚至是消化道以外的器官; (3)小肠自身的解剖结构特点影响了DBE的观察. 说明双气囊小肠镜虽然具备可控性、视野广、图像清晰的优势, 但也无法达到理想的百分之百的诊断. 不过, 文献[3-6]称, 在随访期间, 一部分既往DBE检查阴性的患者没有复发原症状. 也就是说, DBE检查的“阴性”诊断在临床实践中等同于具备排除性的“阳性”诊断意义.

对于选择经口或经肛侧进镜问题, 我们根据患者既往病史、临床表现、化验指标、影像学检查、胃镜、结肠镜等综合判断, 提高一次性诊断率. 值得注意的是: 胶囊内镜检查可指导对双气囊小肠镜进镜方式的选择, 以免改换方式二次行DBE检查. 李晓波等[7]报道时间指数(胶囊内镜从幽门至病灶的通过时间/幽门至回盲瓣的通过时间)>0.75提示病变位于回肠远端, 提示首选经肛进镜检查; 反之则首选经口进镜检查. 因为逆行操作技术上的困难, 经口操作在进镜长度方面比经肛进镜占优势. 例如May等[8]报道DBE平均口侧进镜长度240 cm±100 cm(40-550 cm)、肛侧进镜长度140 cm±90 cm(5-350 cm), 两者比较$P = 0.0001$, 与本研究基本一致.

OGIB指经常规消化内镜(包括胃镜和结肠镜)和小肠造影等检查未明确原因的持续或反复发作的消化系出血[9]. 本组218例OGIB的患者在我院或外院均行胃镜和结肠镜检查, 漏诊率达21.6%(47/218). OGIB是双气囊小肠镜的主要应用指征, 学者[10-12]报道OGIB患者中常规内镜漏诊率达17.4%-51%, 与本研究一致. 胃镜和结肠镜漏诊的主要原因包括: (1)检查的时机. 日本学者[13]在一项前瞻性的队列研究中谈到: DBE在活动期显性出血、静止期显性出血和隐性出血中的诊断率分别为100%、48.4%和42.1%(P<0.005); (2)观察者的视野受病变的大小或者位置(如贲门下、胃底、胃体后壁等)的影响; (3)不完全的肠道准备影响了例如血管发育不良等细微病变的观察; (4)操作者的经验限制和插镜速度快等因素. 对于OGIB的患者, 谨慎地选择DBE检查, 检查前应重复胃镜、结肠镜检查[12]. 遗漏的食管、胃、十二指肠或结肠出血性病变是再出血的重要病因. Hartmann等[14]报道

的47例OGIB的患者, 虽然病因诊断明确且内镜下或外科治疗顺利, 但在平均随访期间(346 d), 25.4%的患者再出血, 19.1%的患者接受了进一步的干预治疗或输血支持治疗.

DBE在内镜直视下行病理组织活检的优势为判断病变的良恶性提供了依据, 因此双气囊小肠镜是小肠肿瘤定性诊断的最佳方法, 本组病理诊断符合率高达87.5%, 与其他学者报道的72.9%-94.74%[15,16]一致. 小肠肿瘤病理类型多样, 从而临床表现复杂且缺乏特异性, 本组确诊的63例小肠肿瘤, 临床表现以消化系出血为主, 其中恶性肿瘤45例(占71%)、良性肿瘤18例(占29%), 以小肠恶性肿瘤为主. Honda等[17]报道一组159例小肠肿瘤, 恶性肿瘤93例, 良性肿瘤66例, 与本组研究一致, 说明在小肠肿瘤中恶性肿瘤比良性肿瘤比例大. 本组研究中最常见的小肠肿瘤是小肠间质瘤(25/63; 39.7%), 内镜下小肠间质瘤的主要特点为圆形或蕈状隆起, 表面光滑, 顶部常伴凹陷或呈溃疡样, 覆盖白苔或血痂. 质脆易溃破, 从而继发细胞脱落, 种植转移. Wu等[18]的研究提示, 小肠间质瘤行手术完全切除后1年、3年的生存率分别为85.2%和53.8%, 总体生存率66.6%. 提示我们在临床工作中应及时明确肿瘤的良恶性质, 早发现、早诊断、早治疗, 争取手术干预的最佳时机, 改善患者临床预后. 同时, 双气囊小肠镜的内镜标记技术在精确地术前定位方面发挥了重要作用. 让外科手术路径的创伤更小, 减少了并发症和患者术后的不适症状[1].

关于OGIB的病因, 日本学者报道[3], 前3位的病因依次为糜烂/溃疡、血管性病变、息肉/肿瘤, 与其不同的是, 德国的研究[19]中最常见的3种为血管性病变、糜烂/溃疡、息肉/肿瘤. 本研究前3位的病因同日本报道一致. 另外, 关于小肠肿瘤的病理类型, 韩国[16]报道的前3位的病理类型是: 间质瘤、淋巴瘤、腺癌; 而意大利的研究[20]显示是: 间质瘤、腺癌和类癌. 本组小肠肿瘤前3位的是: 间质瘤、腺癌和淋巴瘤, 同文献均不一致. 这种疾病谱分布上的差别一方面归于来院时症状不同的患者在数量上分布的差异; 另一方面, 不同种族之间在体质量、体质量指数上的差异[21]. 因此, 疾病谱有助于我们更好地了解国民的病因构成.

双气囊小肠镜是一种侵入式检查手段, 对消化系内脏神经的刺激和牵拉, 在清醒状态下患者的耐受性和依从性会降低. 适当的静脉麻醉或镇静可解除患者的焦虑及恐惧情绪, 提高安全性和有效性. 异泊酚具有起效快、维持时间短、恢复平稳及苏醒迅速等优点. 本组患者全部在静脉复合麻醉下行DBE检查, 文献报道[2]DBE严重并发症的发生率低, 约0.72%. 与我院(0.915%, 11/1202)结论相似. 麻醉中1例经口患者发生吸入性肺炎, 8例表现呼吸抑制及咳嗽反应, 提示我们不论是在DBE操作过程中还是完成以后, 严密监控麻醉的患者, 防止吸入性肺炎或其他呼吸系统的损害. 在操作过程中, 2例经肛者(克罗恩病)术中穿孔, 我们总结的经验是: 由于小肠壁菲薄, 内镜经过深溃疡病灶时, 气囊注气内镜视野无法观察, 一旦在此处充气, 极易穿孔. 对于肠道黏膜多发弥漫性病变如活动性炎症、溃疡的患者应限制进镜深度及时间, 尤其是急性深度的溃疡病变, 术前仔细评估, 谨慎进镜. 另外, 小部分患者表现腹痛、腹胀等轻微并发症. 文献称并发症自限性腹痛的发生率为5%-20%[22,23], 检查后肠胀气是诱发腹痛的主要原因. 有学者[24]尝试并建议使用可吸收的CO_2气体用于肠腔充气, 前瞻性实验中CO_2吸入组的视觉模拟评分数值≥50 mm 的患者数明显少于空气吸入组(P = 0.02); DBE结束时以及术后3 h检测小肠内残留的气体量, CO_2吸入组亦少于空气吸入组(P值分别为0.003、0.01); 术前和术后两组患者的氧分压和二氧化碳分压无显著性差异, DBE检查后腹痛、腹胀明显减少[25].

DBE技术的广泛应用拓展了内镜检查的范围. 由于其具备活检功能, 在组织学或分子生物学方面, 协助小肠疾病的病因学鉴别, 帮助我们更深入更系统地探索着小肠疾病, 促进小肠疾病诊断水平质的飞跃.

4 参考文献

1 Riccioni ME, Cianci R, Urgesi R, Bizzotto A, Spada C, Rizzo G, Coco C, Costamagna G. Advance in diagnosis and treatment of small bowel tumors: a single-center report. *Surg Endosc* 2012; 26: 438-441 [PMID: 21909852 DOI: 10.1007/s00464-011-1896-6]

2 Xin L, Liao Z, Jiang YP, Li ZS. Indications, detectability, positive findings, total enteroscopy, and complications of diagnostic double-balloon endoscopy: a systematic review of data over the first decade of use. *Gastrointest Endosc* 2011; 74: 563-570 [PMID: 21620401 DOI: 10.1016/j.gie.2011.03.1239]

3 Ohmiya N, Yano T, Yamamoto H, Arakawa D, Nakamura M, Honda W, Itoh A, Hirooka Y, Niwa Y, Maeda O, Ando T, Yao T, Matsui T, Iida M, Tanaka S, Chiba T, Sakamoto C, Sugano K, Goto H. Diagnosis and treatment of obscure GI bleeding at double balloon endoscopy. *Gastrointest Endosc* 2007; 66: S72-S77 [PMID: 17709039 DOI: 10.1016/

j.gie.2007.05.041]
4 Zhong J, Ma T, Zhang C, Sun B, Chen S, Cao Y, Wu Y. A retrospective study of the application on double-balloon enteroscopy in 378 patients with suspected small-bowel diseases. *Endoscopy* 2007; 39: 208-215 [PMID: 17385105 DOI: 10.1007/s10620-007-0110-0]
5 Ross A, Mehdizadeh S, Tokar J, Leighton JA, Kamal A, Chen A, Schembre D, Chen G, Binmoeller K, Kozarek R, Waxman I, Dye C, Gerson L, Harrison ME, Haluszka O, Lo S, Semrad C. Double balloon enteroscopy detects small bowel mass lesions missed by capsule endoscopy. *Dig Dis Sci* 2008; 53: 2140-2143 [PMID: 18270840]
6 Gerson LB, Batenic MA, Newsom SL, Ross A, Semrad CE. Long-term outcomes after double-balloon enteroscopy for obscure gastrointestinal bleeding. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2009; 7: 664-669 [PMID: 19514115 DOI: 10.1016/j.cgh.2009.01.021]
7 李晓波, 戈之铮, 戴军, 高云杰, 刘文忠, 胡运彪, 萧树东. 胶囊内镜检查对双气囊小肠镜进镜方式选择的指导作用. 世界华人消化杂志 2006; 14: 1828-1832
8 May A, Nachbar L, Ell C. Double-balloon enteroscopy (push-and-pull enteroscopy) of the small bowel: feasibility and diagnostic and therapeutic yield in patients with suspected small bowel disease. *Gastrointest Endosc* 2005; 62: 62-70 [PMID: 15990821]
9 Raju GS, Gerson L, Das A, Lewis B. American Gastroenterological Association (AGA) Institute medical position statement on obscure gastrointestinal bleeding. *Gastroenterology* 2007; 133: 1694-1696 [PMID: 17983811 DOI: 10.1053/j.gastro.2007.06.008]
10 赵亮, 丁一娟, 于红刚, 邓涛, 刘军, 罗和生. 双气囊小肠镜检查中常规内镜可探及病变的检出及其临床意义. 中华消化内镜杂志 2012; 29: 214-216
11 Tee HP, Kaffes AJ. Non-small-bowel lesions encountered during double-balloon enteroscopy performed for obscure gastrointestinal bleeding. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 1885-1889 [PMID: 20397267 DOI: 10.3748/wjg.v16.i15.1885]
12 Fry LC, Bellutti M, Neumann H, Malfertheiner P, Mönkemüller K. Incidence of bleeding lesions within reach of conventional upper and lower endoscopes in patients undergoing double-balloon enteroscopy for obscure gastrointestinal bleeding. *Aliment Pharmacol Ther* 2009; 29: 342-349 [PMID: 19035975 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2008.03888.x]
13 Tanaka S, Mitsui K, Yamada Y, Ehara A, Kobayashi T, Seo T, Tatsuguchi A, Fujimori S, Gudis K, Sakamoto C. Diagnostic yield of double-balloon endoscopy in patients with obscure GI bleeding. *Gastrointest Endosc* 2008; 68: 683-691 [PMID: 18561920 DOI: 10.1016/j.gie.2008.03.1062]
14 Hartmann D, Schmidt H, Schilling D, Kinze F, Eickhoff A, Weickert U, Schulz HJ, Riemann JF. Follow-up of patients with obscure gastrointestinal bleeding after capsule endoscopy and intraoperative enteroscopy. *Hepatogastroenterology* 2007; 54: 780-783 [PMID: 17591061]
15 Lee BI, Choi H, Choi KY, Byeon JS, Jang HJ, Eun CS, Cheon JH, Shin SJ, Kim JO, Lee MS, Choi JH. Clinical characteristics of small bowel tumors diagnosed by double-balloon endoscopy: KASID multicenter study. *Dig Dis Sci* 2011; 56: 2920-2927 [PMID: 21814803 DOI: 10.1007/s10620-011-1839-z]
16 伍仁毅, 彭杰, 冷爱民, 邹益友, 罗学峰. 双气囊电子小肠镜对小肠肿瘤的诊断价值. 医学临床研究 2009; 26: 98-102
17 Honda W, Ohmiya N, Hirooka Y, Nakamura M, Miyahara R, Ohno E, Kawashima H, Itoh A, Watanabe O, Ando T, Goto H. Enteroscopic and radiologic diagnoses, treatment, and prognoses of small-bowel tumors. *Gastrointest Endosc* 2012; 76: 344-354 [PMID: 22817787 DOI: 10.1016/j.gie.2012.04.443]
18 Wu TJ, Lee LY, Yeh CN, Wu PY, Chao TC, Hwang TL, Jan YY, Chen MF. Surgical treatment and prognostic analysis for gastrointestinal stromal tumors (GISTs) of the small intestine: before the era of imatinib mesylate. *BMC Gastroenterol* 2006; 6: 29 [PMID: 17062131 DOI: 10.1186/1471-230X-6-29]
19 Ell C, May A, Nachbar L, Cellier C, Landi B, di Caro S, Gasbarrini A. Push-and-pull enteroscopy in the small bowel using the double-balloon technique: results of a prospective European multicenter study. *Endoscopy* 2005; 37: 613-616 [PMID: 16010603 DOI: 10.1055/s-2005-870126]
20 Rondonotti E, Pennazio M, Toth E, Menchen P, Riccioni ME, De Palma GD, Scotto F, De Looze D, Pachofsky T, Tacheci I, Havelund T, Couto G, Trifan A, Kofokotsios A, Cannizzaro R, Perez-Quadrado E, de Franchis R. Small-bowel neoplasms in patients undergoing video capsule endoscopy: a multicenter European study. *Endoscopy* 2008; 40: 488-495 [PMID: 18464193 DOI: 10.1055/s-2007-995783]
21 Mehdizadeh S, Ross A, Gerson L, Leighton J, Chen A, Schembre D, Chen G, Semrad C, Kamal A, Harrison EM, Binmoeller K, Waxman I, Kozarek R, Lo SK. What is the learning curve associated with double-balloon enteroscopy? Technical details and early experience in 6 U.S. tertiary care centers. *Gastrointest Endosc* 2006; 64: 740-750 [PMID: 17055868 DOI: 10.1016/j.gie.2006.05.022]
22 Heine GD, Hadithi M, Groenen MJ, Kuipers EJ, Jacobs MA, Mulder CJ. Double-balloon enteroscopy: indications, diagnostic yield, and complications in a series of 275 patients with suspected small-bowel disease. *Endoscopy* 2006; 38: 42-48 [PMID: 16429354 DOI: 10.1055/s-2005-921188]
23 Di Caro S, May A, Heine DG, Fini L, Landi B, Petruzziello L, Cellier C, Mulder CJ, Costamagna G, Ell C, Gasbarrini A. The European experience with double-balloon enteroscopy: indications, methodology, safety, and clinical impact. *Gastrointest Endosc* 2005; 62: 545-550 [PMID: 16185969 DOI: 10.1016/j.gie.2005.04.029]
24 Hirai F, Beppu T, Nishimura T, Takatsu N, Ashizuka S, Seki T, Hisabe T, Nagahama T, Yao K, Matsui T, Beppu T, Nakashima R, Inada N, Tajiri E, Mitsuru H, Shigematsu H. Carbon dioxide insufflation compared with air insufflation in double-balloon enteroscopy: a prospective, randomized, double-blind trial. *Gastrointest Endosc* 2011; 73: 743-749 [PMID: 21237455 DOI: 10.1016/j.gie.2010.10.003]
25 吴晰, 陆星华. 双气囊小肠镜检查的并发症. 中国消化内镜 2007; 1: 52

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年4月18日; 22(11): 1622-1627
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

MiR-124在克罗恩病中的表达及其靶基因的确定

陈玮煦, 任丽华, 施瑞华

■背景资料
克罗恩病(Crohn's disease, CD)是一种慢性复发性炎症性疾病, 其发病率及患病率逐年升高, 加强其发病机制的研究有助于指导诊断和治疗. microRNAs(miRNAs)参与调控多种生物学功能, 在CD的发病机制中起重要作用.

陈玮煦, 任丽华, 施瑞华, 南京医科大学第一附属医院消化内科 江苏省南京市 210029
陈玮煦, 在读硕士, 主要从事消化系统疾病的研究.
作者贡献分布: 此课题由施瑞华与陈玮煦设计; 研究过程主要由陈玮煦操作完成, 任丽华参与操作; 本论文数据分析与写作由陈玮煦完成.
通讯作者: 施瑞华, 教授, 主任医师, 210029, 江苏省南京市广州路300号, 南京医科大学第一附属医院消化内科.
ruihuashi@126.com
电话: 025-83674636
收稿日期: 2014-02-27 修回日期: 2014-03-17
接受日期: 2014-03-18 在线出版日期: 2014-04-18

Expression of miR-124 in active Crohn's disease and validation of aryl hydrocarbon receptor as its target gene

Wei-Xu Chen, Li-Hua Ren, Rui-Hua Shi

Wei-Xu Chen, Li-Hua Ren, Rui-Hua Shi, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China
Correspondence to: Rui-Hua Shi, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, 300 Guangzhou Road, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China. ruihuashi@126.com
Received: 2014-02-27 Revised: 2014-03-17
Accepted: 2014-03-18 Published online: 2014-04-18

Abstract

AIM: To detect the expression of miR-124 in active Crohn's disease (CD) and to validate aryl hydrocarbon receptor (AHR) as its target gene.

METHODS: Levels of miR-124 in intestinal tissues of active CD patients and healthy controls were assessed by qRT-PCR. AHR was predicted to be a target of miR-124 by bioinformatics analysis. Luciferase reporter assay and Western blot analysis in combination with overexpression or knockdown of miR-124 were performed to experimentally validate if AHR is the genuine target of miR-124.

RESULTS: The expression of miR-124 was significantly increased in active CD patients compared with healthy controls (fold change > 7, $P < 0.01$). The luciferase reporter assay confirmed that miR-124 directly combined with the 3'UTR of AHR. In vitro, over-expression of miR-124 led to decreased AHR expression, while knockdown of miR-124 resulted in increased AHR expression, although AHR mRNA expression was not altered.

CONCLUSION: Levels of miR-124 are increased in active CD patients and AHR is a target of miR-124.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: MiR-124; Aryl hydrocarbon receptor; Crohn's disease

Chen WX, Ren LH, Shi RH. Expression of miR-124 in active Crohn's disease and validation of aryl hydrocarbon receptor as its target gene. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(11): 1622-1627 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1622.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i11.1622

摘要

目的: 检测活动期克罗恩病(Crohn's disease, CD)患者病变肠道黏膜组织中microRNA-124(miR-124)的表达情况并确定其靶基因.

方法: 采用定量PCR技术检测活动期CD患者及健康对照者肠道黏膜组织中miR-124的表达情况, 使用Targetscan等多种软件预测得出芳香烃受体(aryl hydrocarbon receptor, *AHR*)是miR-124的靶基因之一, 利用荧光素酶报告基因实验验证miR-124和AHR的靶点关系, 并通过在Caco-2细胞中过表达或抑制表达miR-124进一步检测AHR的变化.

结果: 与健康对照者相比, miR-124在活动期CD患者病变肠道黏膜组织中明显升高, 其相对表达量为7.19±3.54(P<0.01). 荧光素酶报告基因结果提示在Caco-2细胞中miR-124可与AHR的3'端非翻译区特异性结合. 在Caco-2细胞中过表达或抑制表达miR-124, 可分别使

■同行评议者
江学良, 教授, 主任医师, 中国人民解放军济南军区总医院消化科

AHR蛋白水平下降或升高, 而AHR mRNA水平不受影响.

结论: miR-124在活动期CD患者病变肠道黏膜组织中表达明显升高, AHR是其靶点之一.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: miR-124; 芳香烃受体; 克罗恩病

核心提示: 本研究发现microRNA-124(miR-124)在克罗恩病(Crohn's disease, CD)患者病变肠道黏膜组织中表达上调, 其通过与芳香烃受体(aryl hydrocarbon receptor, AHR)的3'端非翻译区结合在转录后水平调节AHR蛋白的表达. 本实验证实了AHR是miR-124的靶点之一, 为miR-124用于CD的诊断及治疗提供了初步的理论依据.

陈玮煦, 任丽华, 施瑞华. MiR-124在克罗恩病中的表达及其靶基因的确定. 世界华人消化杂志 2014; 22(11): 1622-1627
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1622.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i11.1622

0 引言

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是一种慢性复发性炎症性疾病, 主要包括克罗恩病(Crohn's disease, CD)及溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)[1]. CD的病变可以累及整个消化系, 常表现为腹痛、腹泻、发热及肠梗阻. CD发病率及患病率均呈逐年上升趋势, 其病因及发病机制尚不清楚, 目前普遍认为是由遗传、免疫、环境等因素共同作用所致[2,3]. MicroRNAs(miRNAs)是一类长约20-23个核苷酸的内源性小分子单链RNA, 通过和靶mRNA的3'端非翻译区(3' untranslated region, 3'UTR)特异性序列结合, 引起mRNA的降解或翻译抑制, 从而转录后调节基因表达[4,5]. miRNAs在许多生物学过程中起着重要作用, 如细胞的增殖、成熟及凋亡, 其可诱导炎症及免疫系统紊乱, 影响肿瘤及自身免疫性疾病的发生发展[6]. 很多自身免疫性疾病中都有miRNA表达水平的变化, 包括系统性红斑狼疮、类风湿性关节炎、银屑病及IBD[7]. 近期研究表明, 某些miRNA在CD患者中表达异常并且在CD的发病机制中起重要作用[8]. Maharshak等[9]发现miR-132在IBD患者病变肠道组织中上调, 通过减少局部乙酰胆碱酯酶(acetylcholine esterase)的表达起到抗炎作用. 肠道纤维化是CD常见的并发症, Chen等[10]发现在体外试验中miR-200b通过作用于E盒结合锌指蛋白1(zinc finger E-box binding protein 1, ZEB1)及ZEB2抑制肠道纤维化. Chen等[11]发现miR-122通过靶作用于核苷酸结合寡聚化结构域2减少CD患者肠上皮细胞损伤.

通过前期对3对CD患者病变肠道黏膜组织样本进行基因芯片筛查, 我们发现与正常对照组相比miR-124高表达于CD患者病变肠道组织. miR-124在CD中的作用尚未明确, 本研究的目的主要是检测miR-124在CD中的表达情况及确定其可能的靶点.

1 材料和方法

1.1 材料 肠道黏膜组织活检标本收集自江苏省人民医院(2011-09/2013-09)通过结肠镜及病理学检查确诊为活动期CD的患者10例以及接受肠镜检查的正常对照10例. 人结肠腺癌细胞株Caco-2购自上海细胞研究所; pre-miR-124、pre-scramble、anti-miR-124、anti-scramble及PCR引物均购自上海吉玛公司; 胎牛血清及DMEM培养基购自美国GIBCO公司; TRIzol及Lipofectamine 2000购自美国Invitrogen公司; AMV逆转录酶购自日本TaKaRa公司; miR-124及U6探针购自美国Applied Biosystems公司; p-miR-reporter质粒及β-gal质粒购自美国Ambion公司; 荧光素酶检测试剂盒购自美国Promega公司; BCA蛋白检测试剂盒购自美国Thermo公司; 芳香烃受体(aryl hydrocarbon receptor, AHR)抗体购自美国Abcam公司; Tubulin抗体及二抗均购自美国Santa Cruz公司.

1.2 方法

1.2.1 细胞培养: Caco-2细胞用含10%小牛血清及1%双抗的DMEM, 于37 ℃ 5%CO_2培养箱中培养.

1.2.2 RNA提取及实时定量PCR: 用TRIzol提取组织总RNA. 使用AMV逆转录酶及茎环RT引物将1 μg总RNA逆转录为cDNA, 反应条件为16 ℃, 30 min; 42 ℃, 30 min; 85 ℃, 5 min. 使用TaqMan miRNA探针定量检测miR-124表达, 以U6为内参. 采用TaqMan PCR kit PCR-system-7500进行实时定量荧光PCR, 反应在96孔板中进行, 反应条件为95 ℃, 5 min; 95 ℃, 15 s; 60 ℃, 1 min共40个循环. 使用SYBR green法定量检测AHR mRNA表达, 反应条件为95 ℃, 5 min; 95 ℃, 15 s; 55 ℃, 30 s; 72 ℃, 1 min共40个循环. AHR上游引物为5'-CAAATCCTTCCAAGCGGCATA-3', 下游引物

■研究前沿
研究发现, 多种自身免疫性疾病中都有miRNAs的表达改变, 探索miRNAs的作用靶点及其调控机制是当前亟待研究的问题.

■相关报道
Ponomarev等发现miR-124可抑制实验性变态反应性脑脊髓炎. Nakamachi等发现miR-124调节类风湿性关节炎患者成纤维样滑膜细胞的增殖及产生趋化因子的能力. Koukos等发现miR-124在儿童溃疡性结肠炎患者中表达下降, 通过靶作用于转录激活因子3调节肠道炎症的发生发展.

■创新盘点
本文检测了miR-124在CD患者病变肠道黏膜组织中的变化情况，并进一步在体外试验中证实了芳香烃受体(aryl hydrocarbon receptor, AHR)可能是miR-124的直接作用靶点.

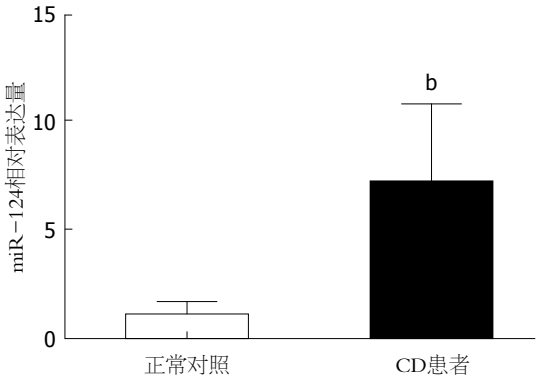


图 1 定量PCR检测miR-124在CD患者病变肠道黏膜组织及正常对照组中的表达. $^{b}P<0.01$ *vs* 正常对照. CD: 克罗恩病.

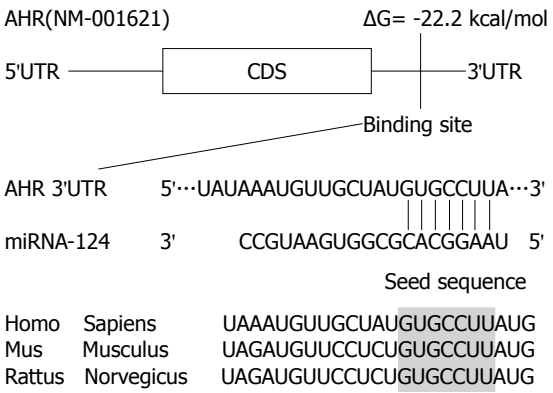


图 2 miR-124与AHR的3'UTR互补. AHR: 芳香烃受体; 3'UTR: 3'端非翻译区; CDS: 编码序列.

为5'-CGCTGAGCCTAAGAACTGAAAG-3'. 以β-actin为内参, 其上游引物为 5'-AGGGAAATCGTGCGTGAC-3', 下游引物为5'-CGCTCATTGCCGATAGTG-3'. 实验均重复3次. PCR反应后, Ct值通过设置固定阈值确定, 取3次PCR的结果求平均Ct值. miRNA相对水平通过U6校正, mRNA相对水平通过β-actin校正, 得出的Ct值通过公式$2^{-\Delta\Delta Ct}$求出基因表达的相对变化.

1.2.3 细胞转染: 通过转染试剂Lipofectamine 2000, 将miR-124类似物(pre-miR-124)及其阴性对照(pre-scramble)、miR-124抑制物(anti-miR-124)及其阴性对照(anti-scramble)转染入Caco-2细胞中, 转染前将Caco-2细胞按2×10^{5}个/孔种植于6孔板中, 待细胞达到70%融合时按说明书进行转染.

1.2.4 荧光素酶报告基因实验: 以人类基因组DNA作为模版对AHR的3'UTR进行PCR扩增, 将得到的PCR产物插入p-miR-reporter质粒, 构建荧光素酶报告基因质粒, 通过测序确定质粒构建成功. 使用Caco-2细胞进行荧光素酶报告基因实验, Caco-2细胞培养于24孔板中, 通过Lipofectamine 2000每孔转染1 μg荧光素酶报告基因质粒、1 μg β-gal质粒以及等量的(100 pmol)pre-miR-124、anti-miR-124或阴性对照RNA. β-gal质粒作为转染对照使用. 转染后24 h, 用荧光素酶检测试剂盒检测荧光素酶活性.

1.2.5 Western blot检测AHR: 转染48 h后提取细胞蛋白, 使用BCA蛋白检测试剂盒测定蛋白浓度, 80 mg蛋白加入10%SDS-PAGE中电泳, 结束后转印至PVDF膜上, 用5%脱脂牛奶室温封闭1 h, 一抗AHR(1∶1000)、Tubulin(1∶1000), 4 ℃孵育过夜, 二抗(1∶4000)室温孵育1 h, 曝光.

1.2.6 靶基因预测: 使用TargetScan、miRanda及PicTar等miRNA靶基因预测数据库搜索3'UTR存在miR-124保守结合位点的靶基因, 并整合分析生物学信息.

统计学处理 所有结果均以mean±SD表示, 两组间比较用独立样本*t*检验. 所有数据都运用SPSS17.0统计软件进行分析, $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 miR-124在活动期CD患者病变肠道黏膜组织中高表达 用定量PCR方法检测10例活动期CD患者病变肠道黏膜组织标本及10例正常对照标本中miR-124的表达水平, 发现miR-124在活动期CD患者病变肠道黏膜组织中明显升高, 其相对表达量为7.19±3.54($P<0.01$)(图1).

2.2 *AHR*可能是miR-124的靶基因 通过TargetScan、miRanda及PicTar等生物学信息预测网站预测, 显示*AHR*可能是miR-124调控的靶基因之一. miR-124与AHR的3'-UTR互补, 可干扰其转录后翻译(图2).

2.3 荧光素酶报告基因实验验证*AHR*为miR-124的靶基因 将含有AHR 3'UTR的荧光素酶报告基因质粒、对照质粒β-gal、pre-miR-124、pre-scramble、anti-miR-124及anti-scramble共转染Caco-2细胞, 转染pre-miR-124组荧光素酶活性较对照组明显降低($P<0.01$), 而转染anti-miR-124组荧光素酶活性明显升高($P<0.05$)(图3).

2.4 过表达或抑制表达miR-124后对AHR表达的影响 用pre-miR-124、pre-scramble、anti-miR-124及anti-scramble分别转染Caco-2细胞, 与对照组相比, 转染pre-miR-124组miR-124表达升高($P<0.05$)而AHR蛋白表达明显降低, 转染anti-

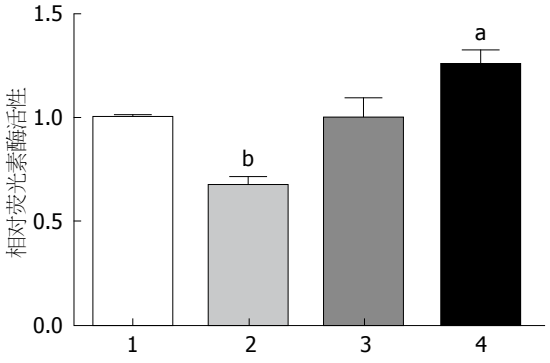


图 3 荧光素酶报告基因实验验证miR-124对AHR 3'非翻译区的靶向作用. 1: miR-124类似物阴性对照; 2: miR-124类似物; 3: miR-124抑制物阴性对照; 4: miR-124抑制物. [a]P<0.05 *vs* miR-124抑制物阴性对照; [b]P<0.01 *vs* miR-124类似物阴性对照. AHR: 芳香烃受体.

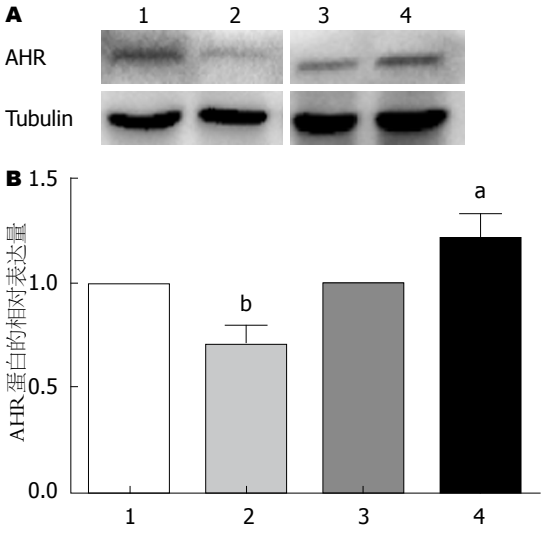


图 4 在Caco-2细胞中过表达或抑制表达miR-124后AHR蛋白的表达. A: Western blot; B: 灰度扫描后得出AHR蛋白相对表达量. 1: miR-124类似物阴性对照; 2: miR-124类似物; 3: miR-124抑制物阴性对照; 4: miR-124抑制物. [a]P<0.05 *vs* miR-124抑制物阴性对照; [b]P<0.01 *vs* miR-124类似物阴性对照. AHR: 芳香烃受体.

miR-124组miR-124表达降低(P<0.01)而AHR蛋白明显升高(图4, 5). 同时, AHR mRNA的表达水平在各组均未发生明显改变(图6).

3 讨论

miRNAs作为一类在转录后调节靶基因表达的小分子RNA, 在固有免疫及适应性免疫系统中都起着重要的调节作用, 近期关于miRNAs在自身免疫性疾病中的研究成为热点. miR-124在大脑中高表达, 主要参与中枢神经系统发育过程中神经元分化的调节[12]. 研究表明, miR-124与自身免疫性疾病也密切相关. 实验性变态反应性脑脊髓炎是人类多发性硬化的动物模型, Pono-

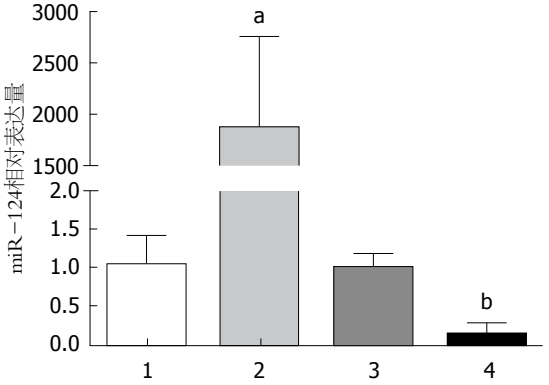


图 5 在Caco-2细胞中过表达或抑制表达miR-124后miR-124的表达情况. 1: miR-124类似物阴性对照; 2: miR-124类似物; 3: miR-124抑制物阴性对照; 4: miR-124抑制物. [a]P<0.05 *vs* miR-124类似物阴性对照; [b]P<0.01 *vs* miR-124抑制物阴性对照.

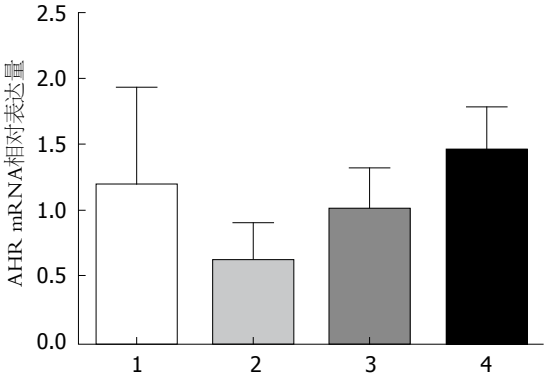


图 6 在Caco-2细胞中过表达或抑制表达miR-124后AHR mRNA的表达. 1: miR-124类似物阴性对照; 2: miR-124类似物; 3: miR-124抑制物阴性对照; 4: miR-124抑制物. AHR: 芳香烃受体.

marev等[13]发现miR-124在调节中枢神经系统小神经胶质细胞静止状态中起重要作用, miR-124通过调节转录因子CCAAT/增强子结合蛋白α-转录因子PU.1(CCAAT/enhancer-binding protein α-transcription factor PU.1, C/EBP-α-PU.1)通路使巨噬细胞失活, 从而抑制实验性变态反应性脑脊髓炎. 另一项研究指出, 在类风湿性关节炎患者中, miR-124可调节其成纤维样滑膜细胞的增殖及产生趋化因子的能力[14]. 此外, Koukos等[15]发现miR-124在儿童UC患者的病变肠组织中下调, 其通过靶作用于信号传导与转录激活因子3调节肠道炎症的发生发展. 目前, 对于miR-124在CD中的作用仍不明确.

AHR是一种配体依赖性激活的转录因子, 他在进化上高度保守, 且在多种细胞中表达. 在非激活状态时, AHR存在于胞浆中, 当配体和他结合并使其激活时, AHR从胞浆进入胞核, 与芳

■应用要点

本实验为CD发病机制研究提供了新的靶点, 为miR-124用于CD的诊断及治疗提供了初步的理论依据.

■名词解释
AHR: 一种配体依赖性转录因子, 存在于多种细胞中, 参与调节Th17及调节性T细胞的分化, 有助于维持机体的免疫内稳态.

香烃受体核转位子结合形成二聚体, 促进启动子区含有外源性生物反应元件的基因转录[16,17]. AHR有多种配体, 包括芳香烃类、色氨酸衍生物及类黄酮类等[18]. AHR参与宿主对环境刺激做出的免疫应答, 其对调节免疫应答和维持免疫内稳态有重要作用. 适度的AHR的激活对宿主有保护性作用, 而过度的激活则会导致免疫内稳态失调并促进炎症的发生发展[19]. AHR参与Th17及调节性T细胞(regulatery T cell, Treg细胞)的分化, AHR的异常表达会打破Th17及Treg细胞之间的平衡状态, 在一些自身免疫性疾病动物模型, 包括实验性变态反应性脑脊髓炎、关节炎及结肠炎等的发病中起重要作用. 近期研究发现, AHR在IBD患者肠道组织中低表达, 其细胞通路可以通过白介素-22抑制实验性结肠炎小鼠的肠道炎症[20]. AHR还可以通过影响Th17及Treg细胞的分化减轻硫酸葡聚糖钠诱导的小鼠实验性结肠炎[21]. 这些研究表明AHR在CD的发病中起到重要的调控作用. 但是到目前为止, 关于慢性炎症状态下AHR如何被调节的研究仍然很少.

本研究通过定量PCR检测活动期CD患者病变肠道黏膜组织中miR-124的表达情况, 发现其明显高于正常对照组. 利用生物信息学预测软件, 我们得出AHR可能是miR-124的靶点之一, 并通过在Caco-2细胞中过表达或抑制表达miR-124及荧光素酶报告基因实验进一步验证: 转染pre-miR-124后AHR蛋白表达水平降低, 荧光素酶活性下降; 转染anti-miR-124后AHR蛋白表达水平升高, 荧光素酶活性上升. 充分证明在CD中miR-124靶作用于AHR, 并转录后水平调节AHR蛋白表达.

这一发现不仅为研究miR-124调控CD的发病机制提供证据, 同时miR-124和AHR也有望成为诊断CD的生物学标志及治疗靶点. 然而, miR-124通过调控AHR进一步影响肠道炎症发生发展的机制仍待进一步研究.

4 参考文献

1 Khor B, Gardet A, Xavier RJ. Genetics and pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nature* 2011; 474: 307-317 [PMID: 21677747 DOI: 10.1038/nature10209]
2 Baumgart DC, Sandborn WJ. Crohn's disease. *Lancet* 2012; 380: 1590-1605 [PMID: 22914295 DOI: 10.1016/s0140-6736(12)60026-9]
3 Molodecky NA, Soon IS, Rabi DM, Ghali WA, Ferris M, Chernoff G, Benchimol EI, Panaccione R, Ghosh S, Barkema HW, Kaplan GG. Increasing incidence and prevalence of the inflammatory bowel diseases with time, based on systematic review. *Gastroenterology* 2012; 142: 46-54.e42; quiz e30 [PMID: 22001864 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.10.001]
4 Niwa R, Slack FJ. The evolution of animal microRNA function. *Curr Opin Genet Dev* 2007; 17: 145-150 [PMID: 17317150 DOI: 10.1016/j.gde.2007.02.004]
5 Lee HC, Li L, Gu W, Xue Z, Crosthwaite SK, Pertsemlidis A, Lewis ZA, Freitag M, Selker EU, Mello CC, Liu Y. Diverse pathways generate microRNA-like RNAs and Dicer-independent small interfering RNAs in fungi. *Mol Cell* 2010; 38: 803-814 [PMID: 20417140 DOI: 10.1016/j.molcel.2010.04.005]
6 Iborra M, Bernuzzi F, Invernizzi P, Danese S. MicroRNAs in autoimmunity and inflammatory bowel disease: crucial regulators in immune response. *Autoimmun Rev* 2012; 11: 305-314 [PMID: 20627134 DOI: 10.1016/j.autrev.2010.07.002]
7 Ceribelli A, Satoh M, Chan EK. MicroRNAs and autoimmunity. *Curr Opin Immunol* 2012; 24: 686-691 [PMID: 22902047 DOI: 10.1016/j.coi.2012.07.011]
8 Dalal SR, Kwon JH. The Role of MicroRNA in Inflammatory Bowel Disease. *Gastroenterol Hepatol* (N Y) 2010; 6: 714-722 [PMID: 21437020]
9 Maharshak N, Shenhar-Tsarfaty S, Aroyo N, Orpaz N, Guberman I, Canaani J, Halpern Z, Dotan I, Berliner S, Soreq H. MicroRNA-132 modulates cholinergic signaling and inflammation in human inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2013; 19: 1346-1353 [PMID: 23598815 DOI: 10.1097/MIB.0b013e318281f47d]
10 Chen Y, Xiao Y, Ge W, Zhou K, Wen J, Yan W, Wang Y, Wang B, Qu C, Wu J, Xu L, Cai W. miR-200b inhibits TGF-β1-induced epithelial-mesenchymal transition and promotes growth of intestinal epithelial cells. *Cell Death Dis* 2013; 4: e541 [PMID: 23492772 DOI: 10.1038/cddis.2013.22]
11 Chen Y, Wang C, Liu Y, Tang L, Zheng M, Xu C, Song J, Meng X. miR-122 targets NOD2 to decrease intestinal epithelial cell injury in Crohn's disease. Biochem *Biophys Res Commun* 2013; 438: 133-139 [PMID: 23872065 DOI: 10.1016/j.bbrc.2013.07.040]
12 Visvanathan J, Lee S, Lee B, Lee JW, Lee SK. The microRNA miR-124 antagonizes the anti-neural REST/SCP1 pathway during embryonic CNS development. *Genes Dev* 2007; 21: 744-749 [PMID: 17403776 DOI: 10.1101/gad.1519107]
13 Ponomarev ED, Veremeyko T, Barteneva N, Krichevsky AM, Weiner HL. MicroRNA-124 promotes microglia quiescence and suppresses EAE by deactivating macrophages via the C/EBP-α-PU.1 pathway. *Nat Med* 2011; 17: 64-70 [PMID: 21131957 DOI: 10.1038/nm.2266]
14 Nakamachi Y, Kawano S, Takenokuchi M, Nishimura K, Sakai Y, Chin T, Saura R, Kurosaka M, Kumagai S. MicroRNA-124a is a key regulator of proliferation and monocyte chemoattractant protein 1 secretion in fibroblast-like synoviocytes from patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2009; 60: 1294-1304 [PMID: 19404929 DOI: 10.1002/art.24475]
15 Koukos G, Polytarchou C, Kaplan JL, Morley-Fletcher A, Gras-Miralles B, Kokkotou E, Baril-Dore M, Pothoulakis C, Winter HS, Iliopoulos D. MicroRNA-124 regulates STAT3 expression and is down-regulated in colon tissues of pediatric patients with ulcerative colitis. *Gastroenterology* 2013; 145: 842-852.e2 [PMID: 23856509 DOI: 10.1053/

j.gastro.2013.07.001]
16 Barouki R, Coumoul X, Fernandez-Salguero PM. The aryl hydrocarbon receptor, more than a xenobiotic-interacting protein. *FEBS Lett* 2007; 581: 3608-3615 [PMID: 17412325 DOI: 10.1016/j.febslet.2007.03.046]
17 Esser C, Rannug A, Stockinger B. The aryl hydrocarbon receptor in immunity. *Trends Immunol* 2009; 30: 447-454 [PMID: 19699679 DOI: 10.1016/j.it.2009.06.005]
18 Monteleone I, MacDonald TT, Pallone F, Monteleone G. The aryl hydrocarbon receptor in inflammatory bowel disease: linking the environment to disease pathogenesis. *Curr Opin Gastroenterol* 2012; 28: 310-313 [PMID: 22450895 DOI: 10.1097/MOG.0b013e328352ad69]
19 Arsenescu R, Arsenescu V, Zhong J, Nasser M, Melinte R, Dingle RW, Swanson H, de Villiers WJ. Role of the xenobiotic receptor in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2011; 17: 1149-1162 [PMID: 20878756 DOI: 10.1002/ibd.21463]
20 Monteleone I, Rizzo A, Sarra M, Sica G, Sileri P, Biancone L, MacDonald TT, Pallone F, Monteleone G. Aryl hydrocarbon receptor-induced signals up-regulate IL-22 production and inhibit inflammation in the gastrointestinal tract. *Gastroenterology* 2011; 141: 237-248, 248.e1 [PMID: 21600206 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.04.007]
21 Singh NP, Singh UP, Singh B, Price RL, Nagarkatti M, Nagarkatti PS. Activation of aryl hydrocarbon receptor (AhR) leads to reciprocal epigenetic regulation of FoxP3 and IL-17 expression and amelioration of experimental colitis. *PLoS One* 2011; 6: e23522 [PMID: 21858153 DOI: 10.1371/journal.pone.0023522]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

■同行评价
实验设计合理, 为研究miR-124调控克罗恩病的发病机制提供了证据, 其在CD炎症反应瀑布链中的作用还需要进一步探讨.

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》参考文献要求

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

世界华人消化杂志 2014年4月18日; 22(11): 1628-1632
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

血卵泡抑素样蛋白1、C反应蛋白和D-二聚体联合检测在溃疡性结肠炎早期诊断的价值

夏晓寒, 黄 丁

■背景资料
溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)发病机制较为复杂, 目前对该病确切病因仍然不甚明了. 有研究显示UC的发病与遗传、免疫系统、感染及环境因素有关. 由于该病临床表现多样, 且无明显特异性, 临床上难以做出准确的诊断; 而早期发现并及时给予积极治疗能够显著提高UC的临床疗效. 目前临床上常用的采集部位主要有静脉血和末梢血, 两种方法采集都较为便捷. 但是末梢血主要由毛细血管、组织间液等组成, 该部位血流速度较慢, 当皮肤穿刺时会在局部形成微血凝块, 难以准确反映真实的血液循环情况. 而静脉血血流稳定、充足, 能够有效避免末梢血取血时带来的影响. 因此本文对患者均采用肘静脉取血方法.

夏晓寒, 浙江省血液中心献血服务部 浙江省杭州市 310006
黄丁, 瑞安市人民医院急诊科 浙江省瑞安市 325200
夏晓寒, 主管护师, 主要从事结肠炎的诊断.
作者贡献分布: 本文由夏晓寒撰写完成; 黄丁修改.
通讯作者: 夏晓寒, 主管护师, 310006, 浙江省杭州市武林路345号, 浙江省血液中心献血服务部. 81783465@qq.com
收稿日期: 2014-03-19 修回日期: 2014-04-01
接受日期: 2014-04-07 在线出版日期: 2014-04-18

Combined detection of serum follistain-like protein 1, C-reactive protein and D-dimer for early diagnosis of ulcerative colitis

Xiao-Han Xia, Ding Huang

Xiao-Han Xia, Blood Service Department, Zhejiang Provincial Blood Center, Hangzhou 310005, Zhejiang Province, China
Ding Huang, Emergency Department, Ruian City People's Hospital, Ruian 325200, Zhejiang Province, China
Correspondence to: Xiao-Han Xia, Charge Nurse, Blood Service Department, Zhejiang Provincial Blood Center, 345 Wulin Road, Hangzhou 310005, Zhejiang Province, China. 81783465@qq.com
Received: 2014-03-19 Revised: 2014-04-01
Accepted: 2014-04-07 Published online: 2014-04-18

Abstract

AIM: To explore the significance of joint detection of blood follistain-like protein 1 (FSTL1), C-reactive protein (CRP) and D-dimer in the early diagnosis of ulcerative colitis.

METHODS: Venous blood samples were collected from 67 patients with ulcerative colitis and 60 healthy people. Serum levels of FSTL1, CRP and D-dimer were detected by ELISA, and the significance of combined detection of the three indexes in the early diagnosis of ulcerative colitis was analyzed.

RESULTS: Serum levels of FSTL1, CRP and D-two dimer were significantly higher in UC patients than in normal controls, and in patients with active UC than in those in remission (t = 10.671, 10.398, 31.873, P < 0.05 for all). With the aggravation of the disease, serum levels of FSTL1, CRP and D-dimer significantly increased in patients with UC, and the levels were significantly higher in the severe group than in the moderate and mild groups (t = 5.766, 5.821, 2.307, 2.213, 2.789, 2.363, P < 0.05 for all). Serum levels of FSTL1, CRP, and D-dimer were significantly correlated with UC disease activity index (DAI) (r = 0.511, 0.312, 0.317, P < 0.05 for all). The sensitivity and negative predictive value of combined detection of FSTL1, CRP and D-dimer were significantly higher than those of detection of any one of the indexes (χ^2 = 0.013, 4. 823, P < 0.05).

CONCLUSION: The joint detection of serum FSTL1, CRP and D-dimer can be used for early diagnosis of ulcerative colitis.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Follistain-like protein 1; C-reactive protein; D-dimer; Ulcerative colitis

Xia XH, Huang D. Combined detection of serum follistain-like protein 1, C-reactive protein and D-dimer for early diagnosis of ulcerative colitis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(11): 1628-1632 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1628.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i11.1628

摘要

目的: 分析肘静脉血液中血卵泡抑素样蛋白1(follistain-like protein 1, fstl1)、C反应蛋白(C-reaction protein, CRP)和D-二聚体联合检测对早期诊断溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)的价值.

方法: 采集67例UC患者、60例健康人群静脉血, 采用酶联免疫吸附试验对两组血清外周fstl1、CRP和D-二聚体水平进行检测, 分析三种指标在早期诊断UC中的作用.

■同行评议者
姚登福, 教授, 南通大学附属医院

结果: UC患者血清fstl1、CRP、D-二聚体水平显著高于对照组, 其中活动期血清fstl1、CRP、D-二聚体水平明显高于缓解期(t = 10.671, 10.398, 31.873, P<0.05). 随着病情的加重, UC患者fstl1、CRP、D-二聚体水平显著升高, 其中重度组fstl1、CRP、D-二聚体水平显著高于中度组和轻度组(t = 5. 766, 5.821, 2.307, 2.213, 2.789, 2.363, P<0.05). 相关性分析显示fstl1、CRP、D-二聚体水平与UC患者疾病活动指数评分(Disease activity index, DAI)呈明显正相关关系(r = 0.511, 0.312, 0.317, P<0.05). 采用fstl1、CRP、D-二聚体联合检测后, 诊断敏感性、阴性预测值显著升高, 与单项检测相比差异具有统计学意义(χ^2 = 0.013, 4.823, P<0.05).

结论: 肘静脉血液指标fstl1、CRP、D-二聚体联合检测可以作为早期诊断溃疡性结肠炎的方法之一.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 外周血卵泡抑素样蛋白1; C反应蛋白; D-二聚体; 溃疡性结肠炎

核心提示: 本研究通过相关性分析研究了溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)患者的疾病活动指数(疾病程度)与血卵泡抑素样蛋白1(follistain-like protein 1, Fstl1)、C反应蛋白(C-reaction protein, CRP)和D-二聚体相关性, 结果显示fstl1、CRP、D-二聚体水平与UC患者DAI呈明显正相关关系; 采用fstl1、CRP、D-二聚体联合检测后, 诊断敏感性、阴性预测值显著升高, 与单项检测相比差异具有统计学意义(P<0.05). 这说明可以将fstl1、CRP、D-二聚体作为诊断UC的指标, 且对病情的评估也有着重要的意义.

夏晓寒, 黄丁. 血卵泡抑素样蛋白1、C反应蛋白和D-二聚体联合检测在溃疡性结肠炎早期诊断的价值. 世界华人消化杂志 2014; 22(11): 1628-1632 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1628.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i11.1628

0 引言

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)发病机制较为复杂, 目前对该病确切病因仍然不甚明了. 有研究显示[1]UC的发病与遗传、免疫系统、感染及环境因素有关. 由于该病临床表现多样, 且无明显特异性, 临床上难以做出准确的诊断; 而早期发现并及时给予积极治疗能够显著提高UC的临床疗效. 外周血卵泡抑素样蛋白1(follistain-like protein 1, fstl1)是一种糖蛋白, 与机体内各种疾病如自身免疫性疾病、恶性肿瘤等发生密切相关. 宋允娜[2]发现UC患者外周血fstl1含量显著高于正常人群, 提示fstl1可以作为UC的诊断指标之一. 王哲[3]称血浆D-二聚体检测在UC中具有较高的灵敏度和特异度, 提示血浆D-二聚体对UC具有良好的诊断价值. 目前临床上常用的采集部位主要有静脉血和末梢血, 两种方法采集都较为便捷. 但是末梢血主要由毛细血管、组织间液等组成, 该部位血流速度较慢, 当皮肤穿刺时会在局部形成微血凝块, 难以准确反映真实的血液循环情况. 而静脉血血流稳定、充足, 能够有效避免末梢血取血时带来的影响. 因此本文对患者均采用肘静脉取血方法. 本文针对周静脉血样中的fstl1、C反应蛋白(C-reaction protein, CRP)、D-二聚体联合检测在UC早期诊断中的价值展开研究, 现将研究成果总结如下.

■研发前沿
综合大量研究发现, 对于结肠炎诊断指标主要集中于细胞因子, 如白介素-6、肿瘤坏死因子等; 但是这些指标特异性不高, 在与相似疾病鉴别中的价值有限, 因此临床亟需一些新的指标来早期诊断UC.

1 材料和方法

1. 1 材料 选择2011-04/2013-04我院收治的67例UC患者作为研究对象, 男36例, 女31例, 年龄21-73岁, 平均年龄41.3岁±10.4岁; 病程3 mo-≤13年, 平均病程4.5年±1.3年. 所有患者均符合炎性肠病的诊断标准[4], 并经病理学、影像学、临床表现证实. 根据UC的Sutherland疾病活动指数(disease activity index, DAI)将67例患者分为活动期(>2分)43例和缓解期(≤2分)24例; 将活动期的UC患者按照疾病的严重程度分为轻度17例, 中度21例, 重度5例. 另选择在我院体检中心体检的健康人群60例作为对照组, 男34例, 女26例, 年龄18-71岁, 平均年龄43.1岁±9.4岁, 两组患者在性别、年龄等一般资料具有可比性(P>0.05).

1.2 方法 UC患者及健康对照组均于空腹状态下取肘静脉血3 mL, 置于抗凝管中, 高速离心后分离血清, 并于-20 ℃冰箱中保存待检. 采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测对fstl1、CRP、D-二聚体进行检测, 相关试剂盒由北京方程生物科技有限公司提供, 所有操作均严格按照说明书进行.

统计学处理 采用SPSS17.0进行检验, 非正态分布数据以中位数表示, 正态分布数据以mean±SD表示. 组间均数采用t检验和秩和检验; 率的比较采用χ^2检验, 相关性采用Pearson检验, α = 0.05, P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 不同病期UC患者fstl1、CRP、D-二聚体水

■相关报道
吴晶金发现在早期风湿关节炎的小鼠炎症部位外周血卵泡抑素样蛋白1(follistain-like protein 1, fstl1)表达显著增强, 这提示了fstl1在炎症反应中有着重要作用.

表 1 不同病期UC患者fstl1、CRP、D-二聚体水平对比 (mean ± SD)

分组	*n*	fstl1(μg/L)	CRP(mg/L)	D-二聚体(mg/L)
UC组	67	26.4 ± 13.1[a]	7.43 ± 3.37[a]	1.97 ± 0.41[a]
活动期	43	30.1 ± 17.8[ac]	10.13 ± 4.43[ac]	2.47 ± 0.94[ac]
缓解期	24	16.5 ± 4.8[a]	4.38 ± 1.74[a]	1.75 ± 0.37[a]
对照组	60	7.9 ± 3.1	2.78 ± 0.84	0.21 ± 0.13

[a]*P*<0.05 *vs* 对照组; [c]*P*<0.05 *vs* 缓解期. Fstl1: 血卵泡抑素样蛋白1; CRP: C反应蛋白; UC: 溃疡性结肠炎.

表 2 不同病情UC患者fstl1、CRP、D-二聚体水平对比 (mean ± SD)

分组	*n*	fstl1(μg/L)	CRP(mg/L)	D-二聚体(mg/L)
轻度组	17	18.4 ± 4.1[a]	5.41 ± 0.79[a]	1.98 ± 0.78[a]
中度组	21	24.7 ± 7.6[a]	8.03 ± 2.01[a]	2.27 ± 0.51[ac]
重度组	5	33.8 ± 8.4	11.59 ± 4.39	2.97 ± 1.06

[a]*P*<0.05 *vs* 重度组. Fstl1: 血卵泡抑素样蛋白1; CRP: C反应蛋白; UC: 溃疡性结肠炎.

表 3 UC患者DAI评分与fstl1、CRP、D-二聚体相关性分析

统计值	fstl1	CRP	D-二聚体
*r*值	0.511	0.312	0.317
*P*值	0.000	0.016	0.023

Fstl1: 血卵泡抑素样蛋白1; CRP: C反应蛋白; UC: 溃疡性结肠炎.

平对比 UC患者血清fstl1、CRP、D-二聚体水平显著高于对照组, 两组间相比差异具有统计学意义(*P*<0.05); 其中活动期血清fstl1、CRP、D-二聚体水平又明显高于缓解期, 两者差异亦有统计学意义(*P*<0.05)(表1).

2.2 不同病情UC患者fstl1、CRP、D-二聚体水平对比 随着病情的加重, UC患者fstl1、CRP、D-二聚体水平显著升高, 其中重度组fstl1、CRP、D-二聚体水平显著高于中度组和轻度组, 组间相比差异具有统计学意义(*P*<0.05)(表2).

2.3 UC患者DAI评分与fstl1、CRP、D-二聚体相关性分析 fstl1、CRP、D-二聚体水平与UC患者DAI呈明显正相关关系(*P*<0.05)(表3).

2.4 血清fstl1、CRP、D-二聚体检测敏感性、特异性、阳性预测值、阴性预测值对比 采用fstl1、CRP、D-二聚体联合检测后, 诊断敏感性、阴性预测值显著升高, 与单项检测相比差异具有统计学意义(*P*<0.05)(表4).

3 讨论

UC临床表现为腹痛或腹泻, 其特征主要是肠道溃烂; 该病在仍何年龄段均可发生; 关于其发病机制仍不明了, 且目前仍然缺乏有效诊疗手段. 由于该病的临床特征与缺血性结肠炎、肠炎、结肠部肿瘤相似, 往往造成误诊或漏诊, 延误的最佳治疗时机. 综合大量研究发现[5-7], 对于结肠炎诊断指标主要集中于细胞因子, 如白介素-6(interleukin-6, IL-6)、肿瘤坏死因子α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)等; 但是这些指标特异性不高, 在与相似疾病鉴别中的价值有限, 因此临床亟需一些新的指标来早期诊断UC.

Fstl1是一种糖蛋白[8], 主要表达于卵巢、心脏、小肠等部位. fstl1生理功能较为广泛, 研究证实fstl1参与了细胞的凋亡、增殖、免疫反应等. 当机体发生炎症反应时, 细胞因子如TNF-α、IL-6会诱导间质细胞表达出fstl1蛋白. 有研究发现[9]在一些自身免疫性疾病, 包括系统性红斑狼疮、风湿关节炎等患者中血清fstl1含量显著升高. 但是关于fstl1与UC关系的报道目前较少, 吴晶金[10]发现在早期风湿关节炎的小鼠炎症部位fstl1蛋白表达显著增强, 这提示了fstl1在炎症反应中有着重要作用. 在本研究中我们发现UC患者血清fstl1水平显著高于正常人群, 且随着疾病的加重, fstl1表达水平越高; 这提示

表 4 血清fstl1、CRP、D-二聚体检测敏感性、特异性、阳性预测值、阴性预测值对比(%)

分组	敏感性	特异性	阳性预测值	阴性预测值
fstl1	82.37	91.74	93.17	77.68
CRP	86.74	78.76	95.41	74.37
D-二聚体	89.36	90.15	90.72	85.48
fstl1+CRP+D-二聚体	93.78	60.47	84.91	86.77

Fstl1: 血卵泡抑素样蛋白1; CRP: C反应蛋白; UC: 溃疡性结肠炎.

■应用要点

肘静脉血液fstl1、C反应蛋白、D-二聚体联合检测可以作为早期诊断溃疡性结肠炎的方法之一, 且对疾病严重程度的评估和预后也有着重要的意义.

我们可以考虑将fstl1作为诊断UC的指标之一. D-二聚体常作为纤溶过程的标志物[11], 其特异性较高, 主要由纤溶酶在水解中得到; 当机体形成血栓后血浆D-二聚体水平会显著升高. UC患者常伴有出血症状, 体内不断形成血栓, 导致D-二聚体水平明显升高[12]. 彭小青[13]通过建立UC大鼠模型, 并对大鼠行开腹手术, 其研究发现早期检测血浆D-二聚体水平有助于筛查UC的大鼠, 提示D-二聚体可以作为UC诊断指标. 本研究我们发现, 相比较正常人群, UC患者D-二聚体水平显著升高, 而活动期UC患者D-二聚体水平又显著高于缓解期, 说明UC患者体内呈现D-二聚体高表达. 进一步研究发现随着病情的加重D-二聚体水平越来越高, 由于重度UC患者常伴有便血或直肠出血, 这也证实了上述的研究结论. C反应蛋白常在急性感染、组织损伤时高表达, 这是以往内CRP可以增强吞噬细胞的吞噬作用和激活补体, 从而调节机体的炎症反应[14]. 当机体受到外界侵袭感染时, CRP激活的补体和吞噬细胞能够将坏死、无法修复的组织细胞清除. UC患者伴有炎症反应, 而CRP正是调节了各种细胞因子的分泌, 因而可以认为CRP是炎症反应的调节分子. 由于CRP的特异性不高[15], 各种肿瘤患者体内CRP表达也显著升高, 因此可以将CRP作为辅助的诊断指标之一, 通过检测CRP来评估患者体内的炎症反应程度.

本研究通过相关性分析研究了UC患者的疾病活动指数(疾病程度)与fstl1、CRP、D-二聚体相关性, 结果显示fstl1、CRP、D-二聚体水平与UC患者DAI呈明显正相关关系; 采用fstl1、CRP、D-二聚体联合检测后, 诊断敏感性、阴性预测值显著升高, 与单项检测相比差异具有统计学意义(P<0.05). 这说明可以将fstl1、CRP、D-二聚体作为诊断UC的指标, 且对病情的评估也有着重要的意义.

总之, 肘静脉血液fstl1、CRP、D-二聚体联合检测可以作为早期诊断UC的方法之一, 且对疾病严重程度的评估和预后也有着重要的意义.

4 参考文献

1 Bosques Padilla FJ. [Inflammatory bowel disease. Ulcerative colitis: latest news]. *Rev Gastroenterol Mex* 2010; 75 Suppl 1: 139-144 [PMID: 20959233]
2 宋允娜, 郑萍, 肖军华, 卢战军. 卵泡抑素样蛋白1在溃疡性结肠炎患者外周血和肠组织中的表达及临床意义. 中华消化杂志 2013; 33: 845-848
3 王哲, 姜亦忠, 宋杨, 周长玉. 老年溃疡性结肠炎患者凝血功能指标的变化及意义. 吉林大学学报(医学版) 2009; 35: 553-555
4 吕红, 钱家鸣. 自身免疫性胰腺炎不同诊断标准的探讨. 胃肠病学 2009; 14: 4-7
5 李雪晶, 孙丽莎, 马军. 末梢血与静脉血测定血糖结果比较. 天津医科大学学报 2008; 14: 536-538
6 Moriasi C, Subramaniam D, Awasthi S, Ramalingam S, Anant S. Prevention of colitis-associated cancer: natural compounds that target the IL-6 soluble receptor. *Anticancer Agents Med Chem* 2012; 12: 1221-1238 [PMID: 22583410 DOI: 10.2174/187152012803833080]
7 钟江鹏, 李登欣, 李石, 李杰, 徐静. 己酮可可碱对大鼠溃疡性结肠炎TNF-α及IL-1β表达的影响. 世界华人消化杂志 2009; 17: 3679-3683
8 Chaly Y, Marinov AD, Oxburgh L, Bushnell DS, Hirsch R. FSTL1 promotes arthritis in mice by enhancing inflammatory cytokine/chemokine expression. *Arthritis Rheum* 2012; 64: 1082-1088 [PMID: 22006268 DOI: 10.1002/art.33422]
9 莫丽莎, 魏强华, 李大为, 金毓莉, 傅红卫, 钱立明. 系统性红斑狼疮患者血清卵泡抑素样蛋白1表达水平及其临床意义. 中华风湿病学杂志 2012; 16: 38-41
10 吴晶金, 彭江云. 祛风散寒除湿中药正清风痛宁缓释片对小鼠软骨细胞TGF-β、IL-1β、Fstl-1、TIMP-3表达水平的影响. 风湿病与关节炎 2014; (1): 19-24
11 Yang XY, Gao S, Ding J, Chen Y, Zhou XS, Wang JE. Plasma d-dimer predicts short-term poor outcome after acute ischemic stroke. *PLoS One* 2014; 9: e89756 [PMID: 24587013 DOI: 10.1371/journal.pone.0089756]
12 李春燕, 贺国斌, 杨明辉, 雷佳红, 向军英, 明文. 溃疡性结肠炎患者血浆中D-二聚体水平的影响因素. 胃肠病学和肝病学杂志 2013; 22: 1122-1124
13 彭小青, 李夏雨, 王玮, 李楠, 马健, 沈守荣. Th1/Th2细胞炎性因子在大鼠溃疡性结肠炎治疗模型中的表达. 中南大学学报(医学版) 2013; (10): 1020-1028

■同行评价
本文可操作性强，具有一定的指导意义.

14 李楠, 王雪明, 姜立君, 苏丽, 朱建华, 石玉玲, 李娜, 翟俊山, 王艳梅. 缺氧诱导因子-1α、环氧化酶-2和C反应蛋白联合检查用于溃疡性结肠炎诊断的研究. 中华消化内镜杂志 2013; 30: 450-453
15 周胜利, 陆继娣. C-反应蛋白在风湿免疫性疾病中的应用与进展. 安徽医药 2009; 13: 674-675

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年4月18日; 22(11): Ⅰ-Ⅴ
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

《世界华人消化杂志》投稿须知

《世界华人消化杂志》为保证期刊的学术质量, 对所有来稿均进行同行评议, 是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》收录的学术期刊.

1 投稿总则

1.1 性质 《世界华人消化杂志(*World Chinese Journal of Digestology*, *WCJD*, ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569)》是一份同行评议和开放获取期刊(Open Access Journal, OAJ), 创始于1993-01-15, 旬刊, 每月8、18和28号出版. 《世界华人消化杂志》编辑委员会成员, 由483位专家组成, 分布在30个省市、自治区和特别行政区.

《世界华人消化杂志》的首要任务是出版胃肠病学, 肝病学, 消化系内镜学, 消化系外科学, 消化系肿瘤学, 消化系影像学, 消化系介入治疗, 消化系病理学, 消化系感染学, 消化系药理学, 消化系病理生理学, 消化系病理学, 消化系循证医学, 消化系管理学, 胰腺病学, 消化系检验医学, 消化系分子生物学, 消化系免疫学, 消化系微生物学, 消化系遗传学, 消化系转化医学, 消化系诊断学, 消化系治疗学和糖尿病等领域的原始创新性文章, 综述文章和评论性的文章. 最终目的是出版高质量的文章, 提高期刊的学术质量, 使之成为指导本领域胃肠病学和肝病学实践的重要学术性期刊, 提高消化系疾病的诊断和治疗水平.

《世界华人消化杂志》由百世登出版集团有限公司(Baishideng Publishing Group, BPG)主办和出版的一份印刷版, 电子版和网络版三种版本的学术类核心期刊, 由北京百世登生物医学科技有限公司生产制作, 所刊载的全部文章存储在《世界华人消化杂志》网站上. OAJ最大的优点是出版快捷, 一次性缴纳出版费, 不受版面和彩色图片限制, 作者文章在更大的空间内得到传播, 全球读者免费获取全文PDF版本, 网络版本和电子期刊. 论文出版后, 作者可获得高质量PDF, 包括封面、编委会成员名单、目次、正文和封底, 作为稿酬, 样刊两本. BPG拥有专业的编辑团队, 涵盖科学编辑、语言编辑和电子编辑.目前编辑和出版42种临床医学OAJ期刊, 其中英文版41种, 具备国际一流的编辑与出版水平.

《世界华人消化杂志》被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》, 《Chemical Abstracts》, 《EMBASE/Excerpta Medica》, 《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录. 《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号. 《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学研究领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊.

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

2 撰稿要求

2.1 总体标准 文稿撰写应遵照国家标准GB7713科学技术报告、学位论文和学术论文的编写格式, GB6447文摘编写规则, GB7714文后参考文献著录规则, GB/T 3179科学技术期刊编排格式等要求; 同时遵照国际医学期刊编辑委员会(International Committee of Medical Journal Editors)制定的《生物医学期刊投稿的统一要求(第5版)》(Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals). 见: *Ann Intern Med* 1997; 126: 36-47.

2.2 名词术语 应标准化, 前后统一, 如原词过长且多次出现者, 可于首次出现时写出全称加括号内注简称, 以后直接用简称. 医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准, 药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准, 国家食品药品监督管理局批准的新药, 采用批准的药名; 创新性新药, 请参照我国药典委员会的“命名原则”, 新译名词应附外文. 公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称), 如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD50, HBsAg, HCV

《世界华人消化杂志》英文摘要被《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录.

RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等. 为减少排印错误, 外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上. 中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者, 直接采用原有英语词, 如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词, 如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者, 宜用汉语拼音, 如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤). 通常应小写.

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

2.4 计量单位 采用国际单位制并遵照有关国家标准, GB3100-3102-93量和单位. 原来的“分子量”应改为物质的相对分子质量. 如 30 kD改为M_r 30 000或30 kDa(M大写斜体, r小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即A_r(A大写斜体, r小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u(小写正体). 计量单位在+、－及-后列出. 在±前后均要列出, 如37.6 ℃±1.2 ℃, 45.6岁±24岁, 56.4 d±0.5 d. 3.56±0.27 pg/ml应为3.56 ng/L±0.27 ng/L. BP用kPa(mmHg), RBC数用1×10^{12}/L, WBC数用1×10^{9}/L, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L. M_r明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示. 1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸. 长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm×6 cm×4 cm. 生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO_2结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L. 年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁. 例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把1×10^{-3} g与5×10^{-7} g之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm. 国际代号不用于无数字的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d. 在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg•d), 且在整篇文章内应统一. 单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs. 半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L乙醇; 5% CO_2, 50 mL/L CO_2; 1∶1 000肾上腺素, 1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg, 改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm = 45×10^{-6}; 离心的旋转频率(原称转速)用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示.

2.5 统计学符号 (1)*t*检验用小写*t*; (2)*F*检验用英文大写*F*; (3)卡方检验用希文小写χ^2; (4)样本的

相关系数用英文小写r; (5)自由度用希文小写υ; (6)样本数用英文小写n; (7)概率用英文斜体大写P. 在统计学处理中在文字叙述时平均数±标准差表示为mean±SD, 平均数±标准误为mean±SE. 统计学显著性用$^{a}P<0.05$, $^{b}P<0.01$($P>0.05$不注). 如同一表中另有一套P值, 则$^{c}P<0.05$, $^{d}P<0.01$; 第三套为$^{e}P<0.05$, $^{f}P<0.01$等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字, 如1 000-1 500 kg, 3.5 mmol/L±0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6 347意指6 000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的mean±SD应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3 614.5 g±420.8 g, SD的1/3达一百多g, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6 kg±0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm±0.27 cm, 其SD/3 = 0.09 cm, 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位. 有效位数以后的数字是无效的, 应该舍. 末尾数字, 小于5则舍, 大于5则进, 如恰等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 末尾时只可1次完成, 不得多次完成. 例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该23.48→23.5→24. 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写. 如1985年4月12日, 可写作1985-04-12; 1985年4月, 写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止, 写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止, 写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30. 百分数的有效位数根据分母来定: 分母≤100, 百分数到个位; 101≤分母≤1 000, 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1 486 800.475 65. 完整的阿拉伯数字不移行!

2.7 标点符号 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律用逗号分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末. 标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU. 外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体.

3 稿件格式

3.1 题名 简明确切地反映论文的特定内容, 鲜明而有特色, 阿拉伯数字不宜开头, 不用副题名, 一般20个字. 避免用“的研究”或“的观察”等非特定词.

3.2 作者 论文作者的署名，按照国际医学杂志编辑委员会(ICMJE, International Committee of Medical Journal Editors)作者资格标准执行. 作者标准为: (1)对研究的理念和设计、数据的获得、分析和解读做出重大贡献; (2)起草文章, 并对文章的重要的知识内容进行批评性修改; (3)接受对准备发表文章的最后一稿. 作者应符合条件1, 2, 3, 对研究工作有贡献的其他人可放入志谢中. 作者署名的次序按贡献大小排列, 多作者时姓名间用逗号, 如是单名, 则在姓与名之间空1格(正文和参考文献中不空格). 《世界华人消化杂志》要求所有署名人写清楚自己对文章的贡献. 世界华人消化杂志不设置共同第一作者和共同通信作者.

3.3 单位 作者后写单位的全称空1格后再写省市及邮政编码. 格式如: 张旭晨, 梅立新, 承德医学院病理教研室 河北省承德市 067000

3.4 第一作者简介 格式如: 张旭晨, 1994年北京中医药大学硕士, 讲师. 主要从事消化系统疾病的病理研究.

3.5 作者贡献分布 格式如: 陈湘川与庞丽娟对此文所作贡献两均等; 此课题由陈湘川、庞丽娟、陈玲、杨兰、张金芳、齐妍及李洪安设计; 研究过程由陈玲、杨兰、张金芳、蒋金芳、杨磊、李锋及曹秀峰操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由曹秀峰提供; 数据分析由陈湘川、杨兰及庞丽娟完成; 本论文写作由陈湘川、庞丽娟及李洪安完成.

3.6 同行评议者 为了确保刊出文章的质量, 本刊即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名, 职称, 机构的名称与文章一同在脚注出版. 格式如: 房静远, 教授, 上海交通大学医学院附属医院仁济医院, 上海市消化疾病研究所.

《世界华人消化杂志》编辑部, 100025, 北京市朝阳区, 东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893, Email: wcjd@wjgnet.com; http://www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》自2006-01-01起改为旬刊发行, 每月8、18、28日出版.

3.7 基金资助项目 格式如: 国家自然科学基金资助项目, No. 30224801

3.8 通讯作者 格式如: 通讯作者: 黄缘, 教授, 330006, 江西省南昌市民德路1号, 南昌大学第二附属医院消化内科, 江西省分子医学重点实验室. huang9815@yahoo.com

电话: 0351-4078656 传真: 0351-4086337

收稿日期: 修回日期:

3.9 英文摘要

题名 文章的题名应言简意赅, 方便检索, 英文题名以不超过10个实词为宜, 应与中文题名一致.

作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名, 后姓; 首字母大写, 双名之间用半字线“-”分开, 多作者时姓名间加逗号. 格式如: “潘伯荣”的汉语拼写法为“Bo-Rong Pan”.

单位 先写作者, 后写单位的全称及省市邮政编码. 例如: Xu-Chen Zhang, Li-Xin Mei, Department of Pathology, Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China

基金资助项目 格式如: Supported by National Natural Science Foundation of China, No.30224801

通讯作者 格式如: Correspondence to: Dr. Lian-Sheng Ma, Taiyuan Research and Treatment Center for Digestive Diseases, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China. wcjd@wjgnet.com

收稿及修回日期 格式如: Received: Revised:

摘要 包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致.

3.10 中文摘要 必须在300字左右, 内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的), 方法(必须包括材料或对象. 应描述课题的基本设计, 双盲、单盲还是开放性, 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度. 研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征. 如研究对象是患者, 应阐明其临床表现, 诊断标准. 如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不良反应而中途停止研究), 结果(应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确、具体, 所列数据经用何种统计学方法处理; 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值; 概率写*P*, 后应写出相应显著性检验值), 结论(全文总结, 准确无误的观点及价值).

3.11 正文标题层次 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献. 序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文. 正文内序号连排用(1), (2), (3). 以下逐条陈述.

0 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系.

1 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验. 对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可.

2 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论.

3 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾.

图表的数量要精选. 表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容. 表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出. 图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出. 同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述. 如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化. A: …; B: …; C: …; D: …; E: …; F: …; G: …. 曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号. 统计学显著性用: $^{a}P<0.05$, $^{b}P<0.01$($P>0.05$不注). 如同一表中另有一套*P*值, 则$^{c}P<0.05$, $^{d}P<0.01$; 第3套为$^{e}P<0.05$, $^{f}P<0.01$. *P*值后注明何种检验及其具体数字, 如$P<0.01$, $t = 4.56$ *vs* 对照组等, 注在表的左下方. 表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐. “空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等. 表图勿与正文内容重复. 表图的标目尽量用*t*/min, *c*/(mol/L), *p*/kPa, *V*/mL, *t*/℃表达.

志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐.

4 参考文献 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序. 提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码. 文中如列作者姓名, 则需在“Pang等”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在该论述的句末右上

角注码号. 如马连生[1]报告……, 潘伯荣等[2-5]认为……; PCR方法敏感性高[6-7]. 文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]. 所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed,《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献. 期刊: 序号, 作者(列出全体作者). 文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID和DOI编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部),书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页.

5 网络版的发表前链接 本刊即将开始实行网络版的每篇文章上都有该文发表前纪录的链接, 包括首次提交的稿件, 同行评议人报告, 作者给审稿人回信和作者修回稿, 以PDF格式上传. 读者可以针对论文、审稿意见和作者的修改情况发表意见, 指出问题与不足; 作者也可以随时修改完善自己发表的论文, 使文章的发表成为一个编者、同行评议者、读者、作者互动的动态过程.

4 写作格式实例

4.1 述评写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/sp.asp

4.2 研究原著写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjyz.asp

4.3 焦点论坛写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/jdlt.asp

4.4 文献综述写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/wxzs.asp

4.5 研究快报写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjkb.asp

4.6 临床经验写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/lcjy.asp

4.7 病例报告写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/blbg.asp

5 投稿方式

接受在线投稿, 不接受其他方式的投稿, 如E-mail、打印稿. 在线投稿网址: http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx. 无法在线提交的通过submission@wjgnet.com, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893寻求帮助. 投稿须知下载网址http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.pdf. 审稿过程平均时间需要14-28天. 所有的来稿均经2-3位同行专家严格评审, 2位或以上通过为录用, 否则将退稿或修改后再审.

6 修回稿须知

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

6.2 稿件修改 来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删节时, 本刊编辑部将把退修稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改, 而作者必须于15天内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期寄回, 所造成的问题由作者承担责任.

6.3 版权 本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负. 作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期): 起止页码. 如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有.

《世界华人消化杂志》编辑部

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号

远洋国际中心D座903室

电话: 010-5908-0035

传真: 010-8538-1893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

http: //www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》坚持开放获取(open access, OA)的出版模式, 编辑出版高质量文章, 努力实现编委、作者和读者利益的最大化, 努力推进本学科的繁荣和发展, 向专业化、特色化和品牌化方向迈进.

世界华人消化杂志 2014年4月18日; 22(11): I
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

2014年国内国际会议预告

2014-03-12/15
2014年亚太肝病研究协会肝病周(APASL)
会议地点: 澳大利亚
联系方式: http://apasl2014.com/

2014-04-05/09
2014年美国癌症研究协会大会(AACR)
会议地点: 美国
联系方式: http://www.aacr.org/home/scientists/meetings--workshops/meetings--workshops-calendar.aspx

2014-04-09/13
2014年第49届欧洲肝病研究协年会(EASL)
会议地点: 英国
联系方式: http://www.easl.eu/_the-international-liver-congress/general-information

2014-04-18/05-20
2014中国超声医学学术大会
会议地点: 北京市
联系方式: http://www.cuda.org.cn/new/meeting

2014-04-26/27
中华医学会临床药学分会2014年全国学术会议
会议地点: 成都市
联系方式: http://www.cncscp.org/

2014-05-04/06
2014年美国消化疾病周(DDW)
会议地点: 美国
联系方式: http://www.ddw.org/attendees/faqs

2014-05-16/18
2014第七届世界癌症大会
会议地点: 南京市
联系方式: http://www.bitlifesciences.com/cancer2014/cn/meeting.asp

2014-05-23/24
第六届药源性疾病与安全用药中国论坛-消化系统与肝病药物专题研讨会
会议地点: 北京市
联系方式: adrhuiyi@126.com

2014-05-30/06-03
2014年美国临床肿瘤协会年会(ASCO)
会议地点: 美国
联系方式: http://www.asco.org/meetings/calendar-events

2014-06-04/07
2014年第20届国际肝移植协会年会(ILTS)
会议地点: 英国
联系方式: http://www.ilts.org/meetings/

2014-06-09/12
2014年第47届欧洲儿科胃肠病, 肝病和营养学协会大会(ESPGHAN)
会议地点: 以色列
联系方式: http://www.espghan2014.org/

2014-06-18/21
2014年欧洲胃肠与腹部放射学协会肝部成像研讨会(ESGAR)
会议地点: 奥地利
联系方式: http://www.esgar.org/files/File/ESGAR14

2014-06-25/28
2014年世界胃肠癌大会(WGIC)
会议地点: 西班牙
联系方式: http://worldgicancer.com/WCGI

2014-06-25/28
2014年第14届欧洲内窥镜手术协会国际大会(EAES)
会议地点: 法国
联系方式: hdimcs@163.com

2014-06-27/28
2014中华医学会肝病与代谢学术研讨会
会议地点: 上海市
联系方式: lilyjia@163.com

2014-07-26/31
2014年世界移植大会
会议地点: 美国
联系方式: http://www.wtc2014.org/

2014-07-28/30
第3届国际肠胃病学与泌尿学大会
会议地点: 美国
联系方式: http://www.omicsgroup.com/gastroenterology-urology-conference-2014/registration.php

2014-09-05/07
2014年第8届国际肝癌协会大会(ILCA)
会议地点: 日本
联系方式: http://www.ilca2014.org/

2014-09-26/30
2014年欧洲临床肿瘤协会年会(ESMO)
会议地点: 西班牙
联系方式: http://www.esmo.org/

2014-10-18/22
2014年第22届欧洲联合胃肠病学周(UEG)
会议地点: 奥地利
联系方式: http://www.ueg.eu/week/past-future/future-ueg-week/

世界华人消化杂志 2014年4月18日; 22(11): I
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

志谢世界华人消化杂志编委

本期文章审稿中(包括退稿), 我刊编委付出了宝贵的时间和大量的精力, 提高了《世界华人消化杂志》的学术质量, 在此表示衷心感谢!

陈国凤 主任医师
中国人民解放军第302医院感染七科

陈国忠 主任医师
广西中医学院第一附属医院消化内科

陈卫昌 教授
苏州大学附属第一医院消化内科

崔莲花 副教授
青岛大学医学院公共卫生系

戴朝六 教授
中国医科大学第二临床学院(盛京医院)肝胆外科

樊晓明 教授
复旦大学附属金山医院消化科

何敏 教授
广西医科大学医学科学实验中心

黄文林 教授
中山大学附属肿瘤医院

黄颖秋 教授
本溪钢铁(集团)总医院消化内科

李刚 教授
北京大学医学部生物化学与分子生物学系

李康 教授
广东药学院药科学院药物分析教研室

李瑜元 教授
广州市第一人民医院内科

李正荣 副教授
南昌大学附属第一医院胃肠外科(普六病区)

李宗芳 教授
西安交通大学医学院第二附属医院

刘宝瑞 教授
南京大学医学院附属鼓楼医院肿瘤中心

刘正稳 教授
西安交通大学医学院第一附属医院

龙学颖 副主任医师
中南大学湘雅医院

禄韶英 副教授
西安交通大学医学院第一附属医院普外科

吕云福 教授
海南省人民医院外一科

潘秀珍 教授
福建省立医院消化科

任粉玉 教授
延边大学附属医院消化内科

宋振顺 教授
西京医院肝胆外科

汪思应 教授
安徽医科大学

王道荣 主任医师
江苏省苏北人民医院胃肠外科

王阁 教授
中国人民解放军第三军医大学第三附属医院

魏睦新 教授
江苏省南京市, 南京医科大学第一附属医院

许剑民 教授
上海市复旦大学附属中山医院普外科

杨江华 副教授
皖南医学院弋矶山医院感染科

殷正丰 教授
中国人民解放军第二军医大学东方肝胆外科医院

于珮 主任医师
天津医科大学代谢病医院

赵春玲 副教授
潍坊医学院细胞生物学教研室

周南进 研究员
江西省医学科学研究所

世界华人消化杂志
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

《中文核心期刊要目总览》收录证书

《中文核心期刊要目总览》入编通知

尊敬的主编先生/女士：

我们谨此郑重通知：依据文献计量学的原理和方法，经研究人员对相关文献的检索、统计和分析，以及学科专家评审，贵刊《**世界华人消化杂志**》入编《中文核心期刊要目总览》2011 年版（即第六版）之 **临床医学/特种医学类** 的核心期刊。该书由北京大学出版社出版。书中按《中国图书馆分类法》的学科体系，列出了 73 个学科的核心期刊表，并逐一对核心期刊进行了著录。著录项目包括：题名、并列题名、主办单位、创刊时间、出版周期、学科分类号、ISSN 号、CN 号、邮发代号、编辑部地址、邮政编码、电话、网址、电子邮箱、内容简介等。

评选核心期刊的工作，是运用科学方法对各种刊物在一定时期内所刊载论文的学术水平和学术影响力进行综合评价的一种科研活动，研究工作量浩大。北京地区十几所高校图书馆、中国科学院国家科学图书馆、中国社会科学院文献信息中心、中国人民大学书报资料中心、中国学术期刊（光盘版）电子杂志社、中国科学技术信息研究所、北京万方数据股份有限公司、国家图书馆等相关单位的百余名专家和期刊工作者参加了研究。

课题组对核心期刊的评价理论、评价方法等问题进行了深入研究，进一步改进了核心期刊评价方法，使之更趋科学合理，力求使评价结果符合客观实际。对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被索量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web 下载量等 9 个评价指标，选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到 60 余种，统计到的文献数量共计 221177 余万篇次，涉及期刊 14400 余种。参加核心期刊评审的学科专家达 8200 多位。经过定量筛选和专家定性评审，从我国正在出版的中文期刊中评选出 1982 种核心期刊。

需要特别指出的是，该研究成果只是一种参考工具书，主要是为图书情报界、出版界等需要对期刊进行评价的用户提供参考，例如为各图书情报部门的中文期刊采购和读者导读服务提供参考帮助等，不应作为评价标准。谨此说明。

顺颂
撰安

《中文核心期刊要目总览》2011 年版编委会
代章：
2012 年 1 月



百世登

Baishideng®

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



ISSN 1009-3079



百世登出版集团有限公司
© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

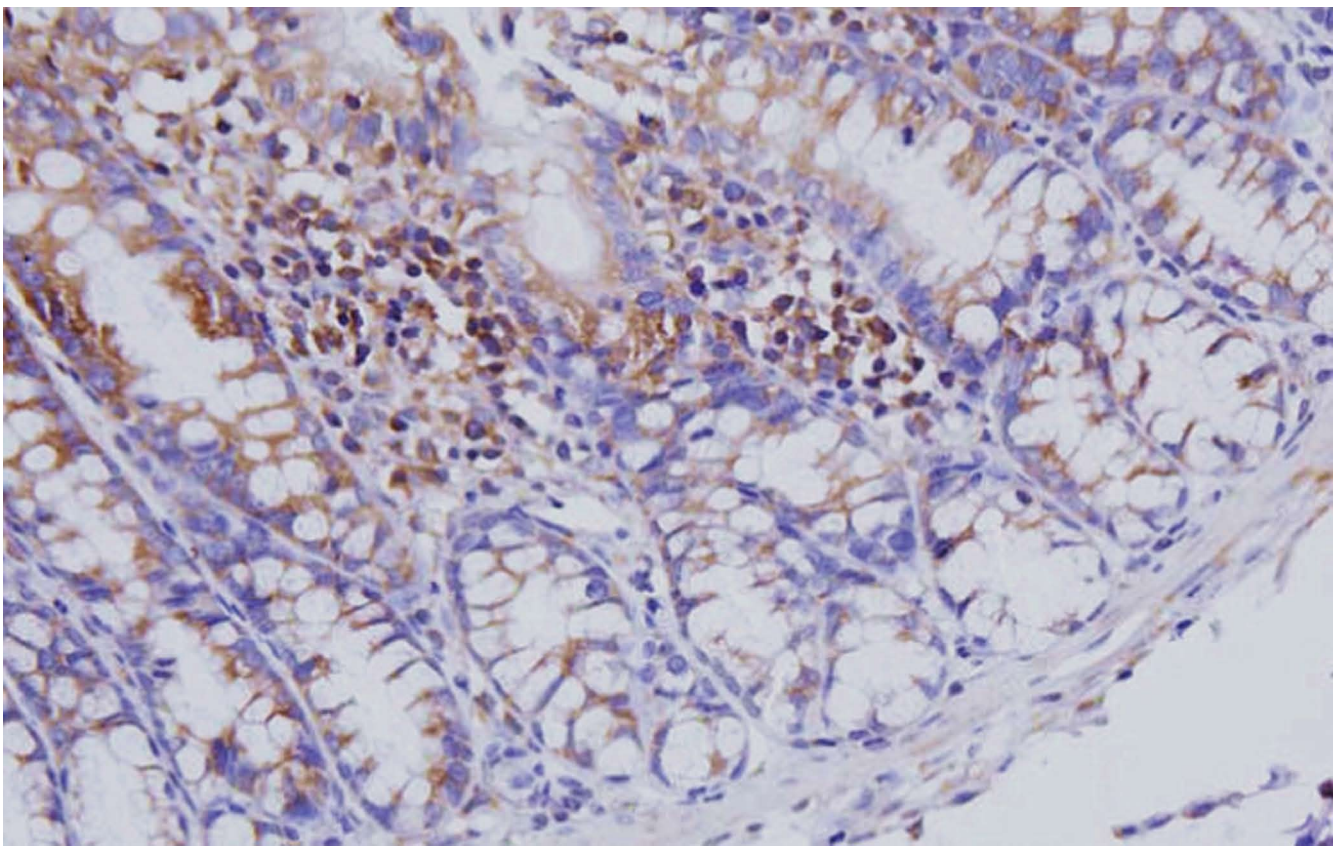
ISSN 1009-3079 (print)
ISSN 2219-2859 (online)

世界华人消化杂志®

WORLD CHINESE JOURNAL OF DIGESTOLOGY

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2014 年 4 月 28 日　　第 22 卷　　第 12 期　(Volume 22 Number 12)



12/2014

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

ISSN 1009-3079
12>
9 771009 307056

世界华人消化杂志
www.wjgnet.com
二零一四年四月二十八日
第二十二卷
第十二期

世界华人消化杂志®

编辑委员会

2012-01-01/2014-12-31

wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

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

总顾问

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

名誉主编

潘伯荣教授

主编

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

编委

消化内科学

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

消化外科学

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

世界华人消化杂志®

编辑委员会

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

消化感染病学

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

消化中医药学

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

消化肿瘤学

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

消化影像学

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

消化内镜及介入治疗学

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

消化中西医结合学

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

消化基础研究

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

消化病理学

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

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目　次 ●　2014 年 4 月 28 日　第 22 卷　第 12 期　(总第452期)

述　评

1633 胃肠道间质瘤的研究进展
黄颖秋

基础研究

1642 姜黄素联合MSCs对大鼠溃疡性结肠炎的影响及机制
易金霞, 费素娟, 庞迅雷, 吴克俭

文献综述

1651 Nrf2及激动剂与肝脏疾病的关系
韩菲, 郭沛然, 王飞, 侯冬杰, 孙玉凤

1658 重型急性胰腺炎肠内营养的临床应用进展
罗旭娟, 彭燕

1663 IL-33/ST2系统在溃疡性结肠炎中的免疫调节
纪桂贤, 程瑶, 高福来, 谢长顺, 杨梅

研究快报

1669 高尔基体磷蛋白3基因过表达对胃癌细胞增殖的影响
农云翠, 赖铭裕, 苏婷

1676 阿魏酸钠对大鼠肝纤维化的作用
杨娟, 徐胜南, 王敏, 彭丽萍, 周琦

1682 隔药饼灸对功能性胃肠病肝郁脾虚模型大鼠SP与肠道敏感性的影响
刘未艾, 常小荣, 吴清明, 刘密, 张国山, 石佳, 章海凤

1688 参苓白术散对脾虚湿困型溃疡性结肠炎大鼠结肠组织AQP4蛋白及mRNA表达的影响
李姿慧, 王键, 蔡荣林, 孙娟, 叶铭钢

临床经验

1694 氩离子凝固术在食管狭窄中的应用
喻文强, 陆晓珍, 周喜汉, 何守搞, 苏建伟

1699 新疆食管癌肉瘤的临床病理特征
马遇庆, 李巧新, 马红, 李新霞, 李俊芝, 刘铭, 刘霞, 张巍

1703 食管癌术后肺部并发症的危险因素分析859例
黄明芳, 刘德森, 潘琪, 陈远岷, 黄重庆

1709 泌特治疗功能性消化不良的临床疗效及其对患者胃排空的影响
邸岩, 高炳霞, 齐颖, 宋丹萍, 苗丽

1713 胃pH联合胆红素监测对病理性十二指肠胃反流的诊断价值
谭晓林, 谢彩虹, 赵超, 陈冬妹, 肖文, 尹泉, 施为建, 汪建华, 罗世康, 石冬梅

1720 SOX方案与XELOX方案同步放疗治疗术后复发胃癌的疗效
白桦, 梅家转, 栗敏, 肖鹏

1725 不同临床分型对肝肾综合征患者病情及预后评估的价值
景照峰, 刘剑, 胡蓉, 晏家华, 罗敏

1730 不明原因肝损害的诊断特点和肝组织病理特征115例
陈学平, 罗志刚, 曹丽玲, 杨姝, 张琳英, 尤丽英, 杨晋辉, 唐映梅

1734 胆囊炎和胆系结石手术患者肝组织病理分析57例
祝达, 马海林, 马志萍, 阿丽亚•热哈提, 希尔娜依•阿不都黑力力, 范晓棠, 何方平

1739 血清降钙素原预测胆道梗阻患者的胆道感染
段键, 李智涛, 曾仲, 邹文香, 黄智, 彭沙沙

1743 预防性胰管支架置入治疗内镜后胰腺炎临床分析280例
钱东, 郝芳, 秦鸣放

1747 中医药治疗肠易激综合征的系统评价/Meta分析的再评价
张伟, 孙建华, 裴丽霞, 吴晓亮, 周俊灵, 陈璐

1756 sTREM-1和CD64指数测定在诊断新生儿腹泻中的临床意义
杨芳, 涂芳芳, 项文娜, 曾绮丹

1760 结肠腺癌中Tiam1、C-met和VEGF-D表达的关系
马慧利, 李明林, 李长生, 张敬伟, 任中海

1764 结直肠癌肝转移腹腔镜切除术21例
陈进宏, 闵志均, 蒿汉坤, 向阳, 徐明, 庄彪

	1768 联合热疗提高复发直肠癌患者免疫功能和放疗疗效 吕晓涓, 卢驰, 应环珍, 董震
附　　录	Ⅰ-Ⅴ 《世界华人消化杂志》投稿须知 Ⅰ 2014年国内国际会议预告
志　　谢	Ⅰ 志谢世界华人消化杂志编委
消　　息	1698 中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》影响因子0.873 1729《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版) 1738《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号 1746《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊 1772《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费
封面故事	易金霞, 费素娟, 庞迅雷, 吴克俭. 姜黄素联合MSCs对大鼠溃疡性结肠炎的影响及机制. 世界华人消化杂志 2014; 22(12): 1642-1650 http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1642.asp http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i12.1642
本期责任人	编务 李香; 送审编辑 鲁亚静, 郭鹏; 组版编辑 鲁亚静; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 郭鹏; 形式规范审核编辑部主任 田滢; 最终清样审核总编 马连生

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平　题写封面刊名
陈可冀　题写版权刊名
(旬刊)

创　刊 1993-01-15
改　刊 1998-01-25
出　版 2014-04-28
原刊名 新消化病学杂志

期刊名称
世界华人消化杂志

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

主编
程英升, 教授, 200233, 上海市, 上海交通大学附属第六人民医院放射科
党双锁, 教授, 710004, 陕西省西安市, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科
江学良, 教授, 250031, 山东省济南市, 中国人民解放军济南军区总医院消化科
刘连新, 教授, 150001, 黑龙江省哈尔滨市, 哈尔滨医科大学第一临床医学院普外科
刘占举, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院消化内科
吕宾, 教授, 310006, 浙江省杭州市, 浙江中医药大学附属医院(浙江省中医院)消化科
马大烈, 教授, 200433, 上海市, 中国人民解放军第二军医大学附属长海医院病理科
王俊平, 教授, 030001, 山西省太原市, 山西省人民医院消化科
王小众, 教授, 350001, 福建省福州市, 福建医科大学附属协和医院消化内科
姚登福, 教授, 226001, 江苏省南通市, 南通大学附属医院临床医学研究中心
张宗明, 教授, 100016, 北京市, 清华大学第一附属医院消化医学中心

编辑部
田滢, 主任
《世界华人消化杂志》编辑部
100025, 北京市朝阳区东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室
电话: 010-59080035　手机: 13901166126
传真: 010-85381893
E-mail: wcjd@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com

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

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

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

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

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

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

定价
每期90.67元 全年36期3264.00元

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

World Chinese Journal of Digestology

April 2014 Contents in Brief Volume 22 Number 12

EDITORIAL

1633 Advances in research of gastrointestinal stromal tumors
Huang YQ

BASIC RESEARCH

1642 Therapeutic effects of curcumin combined with MSCs against ulcerative colitis in rats
Yi JX, Fei SJ, Pang XL, Wu KJ

REVIEW

1651 Nrf2 and Nrf2 activators in hepatic diseases
Han F, Guo PR, Wang F, Hou DJ, Sun YF

1658 Enteral nutrition in severe acute pancreatitis
Luo XJ, Peng Y

1663 Immune modulation by the IL-33/ST2 system in ulcerative colitis
Ji GX, Cheng Y, Gao FL. Xie CS, Yang M

RAPID COMMUNICATION

1669 *GOLPH3* gene overexpression promotes proliferation of gastric cancer cells
Nong YC, Lai MY, Su T

1676 Effects of sodium ferulate on liver fibrosis in experimental cirrhotic rats
Yang J, Xu SN, Wang M, Peng LP, Zhou Q

1682 Influence of herbal cake-separatedmoxibustion on substance P expression and intestinal sensitivity in rats with functional gastrointestinal disorders due to syndrome of liver stagnation and spleen deficiency
Liu WA, Chang XR, Wu QM, Liu M, Zhang GS, Shi J, Zhang HF

1688 Effect of Shenlin Baizhu powder on expression of AQP4 in ulcerative colitis rats with syndrome of dampness stagnancy due to spleen deficiency
Li ZH, Wang J, Cai RL, Sun J, Ye MG

CLINICAL PRACTICE

1694 Application of argon plasma coagulation in treatment of esophageal strictures
Yu WQ, Lu XZ, Zhou XH, He SG, Su JW

1699 Clinicopathological features of esophageal carcinosarcoma in Xinjiang
Ma YQ, Li QX, MH, Li JZ, Liu M, Zhang W

1703 Risk factors for pulmonary complications in patients with esophageal cancer after esophagectomy: Analysis of 859 cases
Huang MF, Liu DS, Pan Q, Chen YM, Huang CQ

1709 Mite improves gastric emptying in patients with functional dyspepsia
Di Y, Gao BX, Qi Y, Song DP, Miao L

1713 Diagnostic value of combined gastric pH and bilirubin monitoring in pathologic duodenogastric reflux
Tan XL, Xie CH, Zhao C, Chen DM, Xiao W, Yin Q, Shi WJ, Wang JH, Luo SK, Shi DM

1720 Efficacy of SOX regimen versus XELOX regimen in concurrent chemoradiotherapy for postoperative recurrent gastric carcinoma
Bai H, Mei JZ, Li M, Xiao P

1725 Liver and kidney function and complications in patients with different types of hepatorenal syndrome
Jing ZF, Liu J, Hu R, Yan JH, Luo M

1730 Diagnostic characteristics and hepatic histopathology in 115 patients with liver injury of unknown reasons
Chen XP, Luo ZG, Cao LL, Yang S, Zhang LY, You LY, Yang JH, Tang YM

1734 Liver pathology in patients undergoing surgical treatment for biliary calculus or inflammation: Analysis of 57 cases
Zhu D, Ma HL, Ma ZP,Aliya•Rehati, Xiernayi•Abuduhelili, Fan XT, He FP

1739 Serum procalcitonin measurement for detection of biliary infection in patients with biliary tract obstruction
Duan J, Li ZT, Zeng Z, Zou WX, Huang Z, Peng SS

1743 Prophylactic pancreatic duct stenting for post-ERCP pancreatitis
Qian D, Hao F, Qin MF

1747 Traditional Chinese medicine for treatment of irritable bowel syndrome: An overview of systematic reviews and Meta-analyses
Zhang W, Sun JH, Pei LX, Wu XL, Zhou JL, Chen L

1756 Clinical significance of serum soluble triggering receptor expressed on myeloid cell-1 and neutrophil CD64 in neonatal diarrhea
Yang F, Tu FF, Xiang WN, Zeng QD

1760 Expression of Tiam1, C-met and VEGF-D in colorectal carcinoma
Ma HL, Li ML, Li CS, Zhang JW, Ren ZH

1764 Laparoscopic resection of colorectal cancer liver metastases
Chen JH, Min ZJ, Hao HK, Xiang Y, Xu M, Zhuang B

	1768 Hyperthermia improves immune function and radiotherapy efficacy in patients with recurrent colorectal cancer *Lv XJ, Lu C, Ying HZ, Dong Z*
APPENDIX	I – V Instructions to authors of *World Chinese Journal of Digestology* I Meeting events calendar in 2014
ACKNOWLEDGMENT	I Acknowledgments to reviewers of *World Chinese Journal of Digestology*
COVER	*Yi JX, Fei SJ, Pang XL, Wu KJ.* Therapeutic effects of curcumin combined with MSCs against ulcerative colitis in rats. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(12): 1642-1650 http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1642.asp http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i12.1642
RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE	Assistant Editor: *Xiang Li* Review Editor: *Ya-Jing Lu, Peng Guo* Electronic Page Editor: *Ya-Jing Lu* English Language Editor: *Tian-Qi Wang* Editor-in-Charge: *Peng Guo* Proof Editor: *Ying Tian* Layout Editor: *Lian-Sheng Ma*

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

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993
Renamed on January 25, 1998
Publication date April 28, 2014

NAME OF JOURNAL
World Chinese Journal of Digestology

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

EDITOR-IN-CHIEF
Ying-Sheng Cheng, Professor, Department of Radiology, Sixth People's Hospital of Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200233, China
Shuang-Suo Dang, Professor, Department of Infectious Diseases, the Second Affiliated Hospital of Medical School of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, Shaanxi Province, China
Xue-Liang Jiang, Professor, Department of Gastroenterology, General Hospital of Jinan Military Command of Chinese PLA, Jinan 250031, Shandong Province, China
Lian-Xin Liu, Professor, Department of General Surgery, the First Clinical Medical College of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China
Zhan-Ju Liu, Professor, Department of Gastroenterology, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China
Bin Lv, Professor, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hang-zhou 310006, Zhejiang Province, China
Da-Lie Ma, Professor, Department of Pathology, Changhai Hospital, the Second Military Medical University of Chinese PLA, Shanghai 200433, China
Jun-Ping Wang, Professor, Department of Gastroenterology, People's Hospital of Shanxi, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China
Xiao-Zhong Wang, Professor, Department of Gastroenterology, Union Hospital, Fujian Medical University, Fuzhou 350001, Fujian Province, China
Deng-Fu Yao, Professor, Clinical Research Center, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China
Zong-Ming Zhang, Professor, Department of General Surgery, Digestive Medical Center, the First Affiliated Hospital, School of Medicine, Tsinghua University, Beijing 100016, China

EDITORIAL OFFICE
Ying Tian, Director
World Chinese Journal of Digestology
Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China
Telephone: +86-10-59080035 13901166126
Fax: +86-10-85381893
E-mail: wcjd@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com

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

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

PRINT SUBSCRIPTION
RMB 90.67 Yuan for each issue
RMB 3264 Yuan for one year

COPYRIGHT
© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved. Articles published by this Open Access journal are distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-commercial License, which permits use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited, the use is non commercial and is otherwise in compliance with the license.

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

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

世界华人消化杂志 2014年4月28日; 22(12): 1633-1641
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

述评 EDITORIAL

胃肠道间质瘤的研究进展

黄颖秋

黄颖秋, 中国医科大学第五临床学院 本溪钢铁(集团)总医院消化内科 辽宁省本溪市 117000
黄颖秋, 教授, 主任医师, 研究生导师, 主要从事胃肠动力疾病、消化系肿瘤及肝硬化的基础与临床研究.
作者贡献分布: 本述评由黄颖秋独立完成.
通讯作者: 黄颖秋, 教授, 主任医师, 117000, 辽宁省本溪市平山区人民路29号, 中国医科大学第五临床学院, 本溪钢铁(集团)总医院消化内科. huangyingqiu_bx@126.com
电话: 0414-2215137
收稿日期: 2014-02-10 修回日期: 2014-03-17
接受日期: 2014-03-31 在线出版日期: 2014-04-28

Advances in research of gastrointestinal stromal tumors

Ying-Qiu Huang

Ying-Qiu Huang, General Hospital of Benxi Steel & Iron (Group); Department of Gastroenterology, the Fifth Clinical College of China Medical University, Benxi 117000, Liaoning Province, China
Correspondence to: Ying-Qiu Huang, Professor, Chief Physician, General Hospital of Benxi Steel & Iron (Group); Department of Gastroenterology, the Fifth Clinical College of China Medical University, 29 Renmin Road, Pingshan District, Benxi 117000, Liaoning Province, China. huangyingqiu_bx@126.com
Received: 2014-02-10 Revised: 2014-03-17
Accepted: 2014-03-31 Published online: 2014-04-28

Abstract
Gastrointestinal stromal tumors (GISTs) are the most common mesenchymal tumors of the gastrointestinal tract, arising from the interstitial cells of Cajal (ICCs), primarily in the stomach and small intestine. The growth of most GISTs is driven by the mutations of genes encoding oncogenic receptor tyrosine kinase KIT or platelet derived growth factor receptor alpha (PDGFRα). The pathogenesis of GISTs may involve ICCs, microRNAs (miRNAs), signaling pathways, DNA methylation, and KIT or PDGFRα gene mutations. This article systematically describes the advances in research of GISTs in terms of clinical features, imaging characteristics, endoscopic features, histopathological features, diagnosis and therapies.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Gastrointestinal stromal tumors; Pathogenesis; Diagnosis; Therapy

Huang YQ. Advances in research of gastrointestinal stromal tumors. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(12): 1633-1641
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1633.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i12.1633

摘要
胃肠道间质瘤(gastrointestinal stromal tumors, GISTs)是胃肠道最常见的间叶源性肿瘤, 起源于Cajal间质细胞(interstitial cells of Cajal, ICCs), 主要发生于胃和小肠. 大多数GISTs的生长由原癌基因受体酪氨酸激酶Kit或血小板衍生生长因子受体α(platelet derived growth factor receptor alpha, PDGFRα)突变所致. GISTs的发病机制可能涉及ICCs、microRNAs(miRNAs)、信号通路、DNA甲基化以及*Kit*或*PDGFRα*基因突变等因素. 此外, 本文还详尽阐述了GISTs的临床特征、影像学特征、内镜特征、组织病理学特征、诊断以及治疗领域的最新研究进展.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 胃肠道间质瘤; 发病机制; 诊断; 治疗

核心提示: 胃肠道间质瘤(gastrointestinal stromal tumors, GISTs)的发病机制可能涉及细胞起源、miRNAs、信号通路、DNA甲基化以及原癌基因受体酪氨酸激酶Kit或血小板衍生生长因子受体α(platelet derived growth factor receptor alpha)突变等因素. 免疫组织化学仍是GISTs的重要诊断工具, 内镜切除、腹腔镜切除、外科手术以及靶向药物伊马替尼为其主要的治疗方法.

黄颖秋. 胃肠道间质瘤的研究进展. 世界华人消化杂志 2014; 22(12): 1633-1641 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1633.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i12.1633

0 引言
胃肠道间质瘤(gastrointestinal stromal tumors,

■背景资料
胃肠道间质瘤(gastrointestinal stromal tumors, GISTs)是源于胃肠道的间叶源性肿瘤, 是一种独立的临床实体瘤, 曾一度被误认为平滑肌肿瘤或神经源性肿瘤. 1983年, Mazur和Clark等首次提出了GISTs的概念. 1998年, Hirota等证实了*Kit*(*CD117*)原癌基因活化突变对GISTs的致病作用, 随后GISTs被证实具有Cajal间质细胞的特性, 从而确定了GISTs的细胞起源. 2000年,分子靶向药物伊马替尼对进展期GISTs的试用成功, 预示着GISTs靶向治疗新时代的来临.

■同行评议者
丁士刚, 教授, 北京大学第三医院消化科

■研发前沿
伊马替尼作为GISTs新的辅助治疗药物,主要通过阻断GISTs信号传导、抑制GISTs增殖而达到治疗目的,因此一旦停用伊马替尼,GISTs是否会再次生长成为目前的研究热点之一.

GISTs)是胃肠道最常见的间叶源性肿瘤[1-3], 约占全部胃肠道肿瘤的1%-2%[2], 常发生于胃或小肠, 其他部位罕见[3], 而与其特征相似的胃肠道外间质瘤(extragastrointestinal stromal tumors, EGISTs)则十分罕见, 仅占GISTs的6%(9/142例)[4], 偶发生于脾脏[4]、胰腺[5]、前列腺[6]、精囊[7]、膀胱[8]、子宫[9]、直肠阴道隔膜[10]、外阴[11]、胸膜[12]、后腹膜[4]、网膜[13]、肠系膜[14]、阑尾系膜[15]、骨盆[4]及腹壁[16]等. 大约5%-15%的GISTs含有血小板衍生生长因子受体α(platelet derived growth factor receptor alpha, *PDGFRα*)基因活化突变[17,18], 55%-84%的GISTs含有*Kit*基因活化突变[18,19]. 此外, *DOG1*(discovered on GIST1)基因对GISTs的高度敏感性和特异性已使其成为新的诊断标志物[20,21]. 由于GISTs生物学行为的多样性, 依据临床和组织学特征很难区分侵袭性与非侵袭性病变, 故全部GISTs均被视为有恶性倾向[2], 其范围可从良性肿瘤中的微小病灶直至致命性的肉瘤[3]. 随着分子生物学、形态学、生物行为学的飞速发展以及内镜技术和分子靶向治疗的进步, GISTs的研究已取得巨大进展. 本文就此概述如下.

1 发病机制

1.1 GISTs的细胞起源 GISTs的细胞起源尚存争议[22-24]. Terada等[22]研究发现, GISTs起源于胃肠道平滑肌细胞和/或胃肠道干细胞. 但多数学者认为, GISTs起源于Cajal间质细胞(interstitial cells of Cajal, ICCs)或其干细胞前体[23,24], ICCs位于肠肌丛及环行肌黏膜下边缘, 是胃肠自发电慢波的起搏器和传导者, 对调控胃肠道蠕动与肠神经系统的协调一致至关重要, 而c-Kit作为一种跨膜糖蛋白则在ICCs的发育和成熟中起重要作用, ICCs网络的缺失或紊乱常导致胃肠动力疾病[25-27]. 但有些研究结果仍令人困惑. Deshpande等[28]发现, ICCs普遍存在于食管固有肌层的平滑肌瘤(leiomyomas, LMs)中, 偶尔也存在于胃和小肠的LMs中, 因此酷似GISTs而极易被误诊. Gromova等[29]发现, 神经降压素受体1在GISTs表达阳性, 而在ICCs则表达阴性, 其机制尚不清楚.

1.2 GISTs与microRNAs microRNAs(miRNAs)是一类小分子非编码RNA, 通过与靶基因序列的相互作用调控细胞增殖、分化和凋亡过程, miRNAs失调可能在GISTs的发生、发展中起重要作用[30]. Kelly等[31]研究证实, miRNAs的后转录调节异常涉及GISTs的发病机制. Yamamoto等[32]发现, miR-133b在高级别GISTs表达下调, 而肌成束蛋白-1(fascin-1)mRNA则表达上调, 提示fascin-1可能为miR-133b的直接靶点. fascin-1的超表达与GISTs的无病生存期缩短、肿瘤大小、有丝分裂计数、风险等级、血管侵袭以及黏膜溃疡等因素显著相关[32]. 此研究表明, miR-133b下调与fascin-1的超表达在GISTs的进程中可能起重要作用, fascin-1有望成为GISTs侵袭行为的有效生物标志物[32]. Koelz等[33]发现, miR-221、miR-222下调与Kit表达显著相关, 提示miR-221、miR-222可能通过调控Kit表达在GISTs的分子机制中发挥作用. 此外, Niinuma等[34]证实, miR-196a的超表达与GISTs的高风险等级、肿瘤转移以及低生存率密切相关, 提示miR-196a有望成为恶性GISTs的有效生物标志物及治疗靶点.

1.3 GISTs与信号通路 GISTs主要归因于Kit及PDGFRα的活化突变驱动, 但其他信号通路可能也参与其发病机制[35]. Gu等[35]发现, 胰岛素生长因子1(insulin-like growth factor 1, IGF1)的过度表达与GISTs的高风险行为显著相关, IGF1受体(IGF1 receptor, IGF1R)的过度表达也与IGF1的过度表达、高有丝分裂以及高风险行为显著相关. 提示IGF1和IGF1R可能是预测GISTs复发以及侵袭行为的有效标志物[35]. 但Lasota等[36]发现, IGF1R的阳性率仅为8%, 且基本局限于琥珀酸脱氢酶(succinate dehydrogenase, SDH)缺陷型的胃GISTs(89% IGF1R阳性). 提示IGF1R可作为SDH缺陷型GISTs的有效标志物[36]. 哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)是一种非典型丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶, 可整合细胞外信号, 影响基因转录与蛋白质翻译, 从而参与调控细胞生长、增殖等过程[37]. Li等[37]发现, 不同风险等级的GISTs在其信号转导通路中的mTOR、p-mTOR存在差异性表达. 提示信号转导通路中的mTOR、p-mTOR在GISTs的发生、发展进程中起重要作用. Bravou等[38]证实, Notch信号通路与转化生长因子β(transforming growth factor β, TGF-β)信号通路具有协同作用, TGF-β/Smad信号通路可能参与GISTs的发病机制[38]. Notch信号通路是一种进化十分保守的信号传递机制, 作为启动或抑制因子在肿瘤进展中至关重要[39]. Dumont等[39]首次证实, Notch信号通路可通过Kit的负反馈机制对GISTs产生抑制作用.

1.4 GISTs与DNA甲基化 肿瘤的发生、发展受表观遗传修饰的影响, 负责真核细胞修饰的DNA甲基化是一种重要的表观遗传修饰方式,

DNA甲基化的异常在肿瘤的发生发展中至关重要[40]. 但表观遗传异常是否促进GISTs的侵袭仍不清楚[40]. Okamoto等[40]对GISTs的4种抑癌基因(*RASSF1A*、*p16*、*CDH1*、*MGMT*)的甲基化分析显示, *RASSF1A*基因的甲基化从小GISTs至恶性GISTs间逐渐增加, *p16*基因的甲基化在有恶性倾向的GISTs及恶性GISTs均特别显著, 甲基化CpG岛扩增微阵列(methylated CpG island amplification microarrays, MCAM)分析显示, 进展期GISTs的甲基化基因远多于小GISTs(平均473基因 *vs* 360基因, $P = 0.012$), 恶性GISTs的甲基化属性明显受其位置影响, 经MCAM分析新认定的2个基因*REC8*和*PAX3*的甲基化在小GISTs和恶性GISTs之间呈现差异性表达, 至少REC8、*PAX3*或*p16*甲基化的患者其预后显著变差($P = 0.034$). 此研究表明, DNA的甲基化异常与GISTs的侵袭性显著相关[40]. 此外, Mason等[41]研究发现, 90%(9/10例)的SDH缺陷型GISTs的5-羟甲基胞嘧啶(5-hydroxymethylcytosine, 5-hmC)染色阴性, 换言之, 几乎所有的SDH缺陷型GISTs不存在5-hmC. 此研究表明, SDH缺陷可能通过琥珀酸的积累和双加氧酶的抑制促进GISTs发生, 反过来, TET(ten-eleven translocation, 一个新的DNA修饰酶家族)蛋白的活性抑制可能改变SDH缺陷型GISTs的总DNA甲基化和基因表达[41].

1.5 GISTs与基因突变

1.5.1 Kit蛋白: Kit蛋白(CD117)是一种位于细胞膜上的受体酪氨酸激酶(receptor tyrosine kinase, RTK), 绝大多数GISTs细胞中存在Kit蛋白, 75%的GISTs是由于原癌基因*c-Kit*突变所致[23]. Kit蛋白属于第三型RTK家族, 由含有5个免疫球蛋白样结构域、1个跨膜结构域以及1个含有近膜结构域和酪氨酸激酶(tyrosine kinase, TK)结构域的胞质区构成, Kit复合体中偶极化的配体与受体结合后, 会导致受体的结构改变, 受体间D4-D4与D5-D5会产生相互作用[42], Kit受体酪氨酸激酶的结构受D4近膜结构域抗体的抑制[43]. TK结构域又分为三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)结构域(TK1)和磷酸转移酶(phosphotransferase)结构域(TK2), 配体与胞外结构域结合形成二聚体, 胞质区TK结构域内酪氨酸磷酸化, 引发磷酸化级联反应, 激活Ras/MAPK、Rac/Rho-JNK、PI3K/AKT和SFK/STAT等多条信号网络[44]. Minárik等[45]对278例GISTs研究发现, 83.81%的患者发生基因突变, *c-kit*基因突变主要发生于外显子11(62.95%)、而较少发生于外显子9(8.27%)、外显子13(1.44%)、外显子17(0.00%), 此结果与Calibasi等[46]结论相似. 此外, Huss等[47]对1351例GISTs的*c-kit*基因突变研究显示, 仅有2例发生于外显子8(0.15%).

1.5.2 PDGFRα: 大约5%-15%的GISTs存在*PDGFRα*基因突变[17,18]. Minárik等[45]研究显示, *PDGFRα*基因突变发生于外显子18(7.55%)、外显子12(2.52%)、外显子14(1.08%). Bayraktar等[44]认为, 大多数*PDGFRα*基因突变影响TK2结构域(外显子18), 这些基因突变改变了正常的细胞激活通路, 活化的PDGFRα通过激活与活化的Kit相同的信号通路导致GISTs的发生. 染色体畸变在GISTs的发生中至关重要[18]. Schaefer等[18]对53例*PDGFRα*基因突变的GISTs研究显示, 外显子18突变(91%的病例)与胃GISTs显著相关, 外显子12突变(9%的病例)与肠GISTs显著相关. *PDGFRα*突变的染色体畸变率显著低于Kit突变的染色体畸变率, 仅2例进展期患者存在与中、高风险相关的染色体-9p、-13q、-22q畸变以及与低生存率相关的染色体-1p、+8q畸变[18].

1.5.3 *DOG-1*基因: 大约在80%-95%的GISTs中, Kit免疫组织化学染色阳性, 而其余5%-20%阴性, 对于Kit、CD34、S-100及SMA染色均为阴性者, 其诊断仍面临挑战, *DOG1*基因是一种膜通道蛋白, 在GISTs过度表达, 因DOG-1较Kit更具敏感性和特异性, 甚至在Kit阴性的GISTs中也呈阳性染色, 故已成为非常有效的GISTs分子标志物[20,21]. Wada等[20]研究证实, DOG-1是Kit阴性GISTs的有效诊断标志物. Wang等[48]对147例GISTs研究显示, 大约96%GISTs的DOG-1免疫组织化学染色阳性, 其特异性100%. 提示DOG-1是一种高敏感性、高特异性的生物标志物[48].

1.5.4 其他基因: 最近, O'Brien等[49]对279例GISTs研究显示, *CYP1B1*基因的单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphisms, SNPs)与*Kit*基因外显子11密码子557-8缺失及野生型GISTs显著相关, 其他的一些潜在的风险基因还包括*GSTM1*、*RAD23B*、*ERCC2*[49]以及SDH[36,41].Wang等[48]发现, 90.5%GISTs的蛋白激酶C-θ(protein kinase C-θ, PKC-θ)染色阳性, 提示PKC-θ可能是一种有效的生物标志物, 尤其是CD117阴性和/或DOG-1阴性GISTs者. 此外, Corless等[23]认为, 大约15%的GISTs无Kit和*PDGFRA*基因突变, 即所谓的野生型GISTs, 其可能

■相关报道
国外研究证实, *DOG1*基因在大多数GISTs中过度表达, 且具有高度的敏感性和特异性, 甚至在KIT阴性的GISTs中也呈阳性染色, 故已成为具有良好应用前景的GISTs标志物.

■创新盘点
本文结合大量国外文献, 详尽阐述了GISTs的发病机制、诊断以及治疗领域的最新研究进展, 内容丰富, 观点新颖.

与多发性神经纤维瘤1型(neurofibromatosis type Ⅰ, *NF-Ⅰ*)基因、*RAS*基因、*BRAF*基因以及*SDH*基因突变有关.

2 流行病学

GISTs的年发病率约为6.5/1000000-14.5/1000000[50]. GISTs几乎可发生于胃肠道的任何部位, 依次为胃(50%-70%)、小肠(25%-35%)、结肠(5%-10%)及食管(<5%)[2]. GISTs患者的中位年龄为59岁(21岁-90岁), 男性占64.3%, 女性占35.7%, 69.9%的GISTs为局部病灶, 30.1%发生转移, 其中, 极低度风险者3.2%, 低度风险者16.1%, 中度风险者22.5%, 高度风险者47%, 不明风险者11.5%[51].

3 临床特征

大约70%的GISTs患者有症状, 20%无症状者是被偶然发现的, 10%则是在尸检中发现的, 症状无特异性, 多与肿瘤部位相关, 大多数有腹部不适(60%-70%)和消化系出血(30%-40%), 一些罕见的症状常与肿瘤的部位有关, 如食管GISTs引起吞咽困难, Vater壶腹周围GISTs致胆道梗阻, 小肠GISTs致肠套叠[52], 肛管GISTs致直肠出血、疼痛、排便习惯改变、梗阻或尿路刺激征等[53]. 淋巴结转移并不常见, 远处转移通常发生于GISTs患者的腹膜、网膜、肠系膜及肝脏等[52].

4 影像学特征

GISTs常被计算机断层扫描(computed tomography, CT)时偶然发现, 增强CT通常用于探查≥2 cm的GISTs, 尤其适用于伴腔外生长、坏死、出血及钙化者[54]. CT对监测GISTs的术后复发或转移有其重要价值[54,55]. Plumb等[55]对81例完整切除的GISTs患者CT随访时发现, 58%于1年内复发, 84%于3年内复发, 19例复发者均为高危人群, 其中12例(63%)为肝转移, 9例(47%)为网膜和肠系膜转移, 3/4者无症状[55], 此结论与Patnaik等[54]研究结果相似. 此外, Wong等[56]证实, 正电子发射断层扫描(positron emission tomography, PET)和CT联合应用对GISTs的罕见部位病灶、转移灶有其特殊诊断价值. Yoshikawa等[57]研究发现, PET/CT可预估GISTs的恶性倾向, 最大标准化摄取值(maximum standardized uptake value, SUVmax)>5的病例可能有恶性潜能.

5 内镜特征

无症状的小黏膜下肿瘤(small submucosal tumors, SMT)通常由内镜检查时偶然发现, 可遍及整个胃肠道, 多数表现为伴有光滑、完整及正常黏膜覆盖的隆起性病灶[58]. SMT包括胃肠道外的器官或病灶挤压、先天性肿瘤、炎症、良性或恶性肿瘤性病变等, 但应用普通内镜很难对GISTs做出确定诊断[58]. 超声内镜(endoscopic ultrasonography, EUS)及EUS引导下的细针抽吸活检(EUS-guided fine-needle aspiration, EUS-FNA)无疑对GISTs的诊断发挥关键作用[58,59]. Ito等[59]对23例GISTs患者研究发现, EUS的术前确诊率为91.7%, EUS-FNA的确诊率为84.6%, EUS-FNA活检病理诊断准确率为100%[59]. 双气囊小肠镜(double-balloon enteroscopy, DBE)和胶囊内镜(capsule endoscopy, CE)有助于诊断小肠疾病导致的胃肠道不明原因出血[60]. Nakatani等[60]研究显示, DBE、CE以及CT对小肠GISTs的检出率分别为 92%、60%和67%, 提示DBE或CE与CT联合应用有助于小肠GISTs的检测[60]. 谐波造影增强超声内镜(contrast-enhanced harmonic EUS, CH-EUS)是通过选择性描述来自超声造影剂的信号, 以评估微血管和器官实质灌注的一项全新技术[61]. CH-EUS可被用于评估GISTs的恶性倾向, 有助于区别良恶性淋巴结肿大[61]. Kannengiesser等[62]研究证实, CH-EUS可准确区分GISTs与其他黏膜下良性病灶. 若采取CH-EUS-FNA可能对GISTs更有诊断价值[62]. 对于内镜无法活检病灶, 可采用腹腔镜活检, 但有导致出血、穿孔及肿瘤腹膜种植风险[50].

6 组织病理学特征

Fülöp等[63]对79例GISTs的形态学研究显示, 67%为梭形细胞型肿瘤, 13%为上皮细胞型肿瘤, 9%为梭形细胞和上皮细胞混合型肿瘤, 39%的GISTs有细胞核的多形性, 而巨型多核细胞仅占9例, 54%的GISTs有炎性细胞浸润, 7例GISTs有转移灶, 其中3例为肝转移, 4例为淋巴结转移, 32%的GISTs有丝分裂活性升高(非典型有丝分裂指数>10个/50 HPF). 依据肿瘤大小、有丝分裂指数及肿瘤部位对GISTs恶性风险等级的分类标准[50], 7例(9%)GISTs为极低度恶性, 17例(21%)为低度恶性, 18例(23%)为中度恶性, 37例(47%)为高度恶性[63]. 免疫组织化学研究显示, 79例GISTs中77例CD117染色阳性, 仅2例阴性, 阳性率97%, 提示CD117对GISTs具有高度特异性, 50例CD34染色阳性, 29例阴性, 阳性率为63%, 19例SMA染色阳性, 余60例均阴性, 阳性率24%,

10例(13%)S100阳性, 87%阴性[63]. 此研究表明, 免疫组织化学仍是GISTs病理诊断的重要工具, 有助于与其他黏膜下肿瘤的鉴别诊断[63]. 对于c-Kit(CD117)染色阴性的GISTs, DOG-1染色具有高度敏感性和特异性, 可作为GISTs的诊断标志物[20,21]. 此外, Choi等[64]首次报道了1例直径30 cm的未分化小肠GISTs病例, 其细胞呈多形性, CD117和DOG-1染色均阴性, 此病例极为罕见, 诊断仍面临挑战.

7 治疗

7.1 内镜手术治疗 内镜黏膜下剥离术(endoscopic submucosal dissection, ESD)常用于治疗2.0-5.0 cm的GISTs[65]. He等[65]对31例GISTs研究显示, ESD切除的肿瘤平均2.70 cm ± 0.72 cm(2.0-5.0 cm), 6例(19.35%)并发2-10 mm穿孔, 内镜下金属夹或尼龙绳修复, 3例(9.68%)术中出血, 采用亚离子凝固术或电凝止血, 24例(77.42%)为极低度风险, 7例(22.58%)为低度风险, CD117、DOG-1、CD34染色阳性率分别为 83.87%、12.90%、100%[65]. 此研究表明, ESD对GISTs的治疗安全、有效[65]. 根据肿瘤大小, 对源于胃固有肌层的GISTs通常采用内镜套扎切除术(endoscopic ligation and resection, ELR)、内镜黏膜下挖除术(endoscopic submucosal excavation, ESE)以及内镜全层切除术(endoscopic full-thickness resection, EFR)等3种治疗方式[66]. Huang等[66]研究显示, 38例<1.2 cm的GISTs采用ELR治疗, 3例并发穿孔, 金属夹修复, 18例>1.5 cm的GISTs采用ESE治疗, 未并发穿孔, 13例>2.0 cm的GISTs采用EFR治疗, 均并发穿孔, 采用金属夹修复, 提示对源于胃固有肌层的GISTs可采用内镜技术成功处理[66].

7.2 腹腔镜手术治疗 大多数的腹腔镜切除术仅限于治疗胃GISTs, 而对其他部位GISTs的切除效果仍不确切[50]. 但Chen等[67]研究发现, 腹腔镜切除<5.0 cm的胃及小肠GISTs均安全有效. Jeong等[68]证实, 腹腔镜切除>5.0 cm的胃GISTs也安全可行. 直肠GISTs在临床上罕见, 对于较大的直肠GISTs通常采取腹会阴联合切除治疗, 伊马替尼(imatinib)作为GISTs一种新的辅助治疗药物, 可以使瘤体明显缩小, 故有望避免扩大手术治疗[69]. Fujimoto等[69]对5例直肠GISTs患者于术前采用伊马替尼治疗, 致使瘤体由平均31 mm缩至24 mm, 然后再成功实施腹腔镜保肛手术. Fujimoto等[69]认为, 腹腔镜直肠GISTs保肛手术安全可行.

7.3 腹腔镜和内镜联合手术治疗(laparoscopic and endoscopic cooperative surgery, LECS) 因单独采用腹腔镜定位GISTs较为困难, 而内镜切除的缝合技术至今尚不成熟, 故LECS不失为一种处理GISTs的重要手段, LECS不仅可准确定位、及时处理穿孔, 还可以观察肿瘤是否切除完整、是否并发腔内出血、闭合是否严密以及闭合后是否导致胃腔狭窄等[70]. Qiu等[71]研究证实, LECS治疗胃GISTs具有微创、安全及可行性, 且预后良好. Dong等[70]对LECS进行改良后发现, 新型LECS对于GISTs是一种快速、优化、恢复迅速、安全有效的治疗方法.

7.4 外科手术治疗 对于>2.0 cm的原发局限性胃GISTs, 外科手术仍为首选, 且是目前取得临床治愈的最佳治疗方法, 一般采用局部切除或楔形切除, 对于<2.0 cm的胃GISTs, 若EUS示肿瘤不规则、囊性变、回声不均等高风险征象时, 应考虑手术治疗, 否则应EUS随访观察, 对于其他部位的可切除性GISTs, 手术也应为首选[23,72]. Schwameis等[72]研究发现, GISTs的外科手术完整切除率为85.2%, 而44.4%的未完整切除者以及6.6%的完整切除者最终死于GISTs, 其术后的复发率低于腹腔镜治疗(7.5% *vs* 23%). 此外, 对于有局部浸润或远端转移的GISTs, 应在可根治的前提下行联合脏器切除术[73]. Bauer等[74]发现, 转移灶完整切除的GISTs患者其长期生存率延长, 而未完整切除者(包括大块切除术患者)其生存率缩短.

7.5 分子靶向治疗 大多数GISTs的发生与Kit(75%)或PDGFRα(10%)的基因突变密切相关[23], 基因突变可引起受体酪氨酸激酶(Kit和PDGFRα)的自身磷酸化, 进而激活Ras/MAPK、Rac/Rho-JNK、PI3K/AKT和SFK/STAT等多条信号网络, 最终导致细胞增殖失控及凋亡受抑[23,44], 酪氨酸激酶抑制剂可以靶向作用于Kit和PDGFRα, 从而有效控制转移性或复发性GISTs[23]. 然而, *Kit*或*PDGFRα*基因二次突变导致的耐药几乎见于90%的GISTs患者[23]. 伊马替尼作为一种选择性Kit酪氨酸激酶抑制剂, 被认为是转移性GISTs的标准一线治疗药物, 而其他激酶抑制剂如舒尼替尼、瑞戈非尼则分别为二线、三线治疗药物[75]. 最近, 索拉非尼也被作为进展期GISTs的标准治疗药物[75]. 伊马替尼辅助治疗通常被用于降低初次手术后GISTs的复发可能性, 因此, 评估切除肿瘤的预后对病理学家

■应用要点

本文详尽阐述细胞起源、microRNAs、信号通路、DNA甲基化以及*KIT*和*PDGFRα*基因突变等因素对GISTs的致病作用, 重点阐述了GISTs在诊断和治疗领域的最新研究进展, 对于基础研究和临床工作有重要的指导意义.

■同行评价
本文结合大量新近文献, 对胃肠道间质瘤的发病机制、临床表现及治疗方法等方面进行了详细的综述. 尤其着重阐述了胃肠道间质瘤的分子生物学机制, 以及新近靶向治疗方面的内容, 对于临床工作具有重要指导意义.

极为重要[23]. Fujimoto等[69]研究发现, 采用伊马替尼的术前靶向治疗, 可显著缩小直肠GISTs的瘤体, 以增加腹腔镜保肛手术的成功率. Bamboat等[73]认为, 伊马替尼作为GISTs新的辅助治疗药物, 具有良好的安全性、耐受性和可行性. Bauer等[74]证实, 对于转移灶切除术的GISTs患者, 伊马替尼的辅助治疗, 有助于延长患者的长期生存率. 最近, Singeltary等[75]报道1例罕见的Kit外显子17突变的Ⅳ期直肠GISTs病例, 分别单独采用伊马替尼、舒尼替尼、瑞戈非尼及索拉非尼治疗, 病情持续进展, 后采用索拉非尼和伊马替尼联合治疗, 患者病情稳定接近2年, 提示靶向治疗药物的联合应用有助于减少耐药.

8 结论

*Kit*或*PDGFRα*基因突变在GISTs中的作用不仅有助于GISTs与其他黏膜下肿瘤的鉴别诊断, 也为其靶向治疗奠定了坚实的基础, 以伊马替尼为代表的靶向治疗显著提高了原发、转移或复发GISTs患者的生存率. 各种内镜及腹腔镜技术的日臻成熟, 即减轻了患者的手术创伤, 也缩短了住院时间, 值得推广. 外科手术仍是GISTs的一线治疗, 也是唯一可完全缓解原发GISTs的方法. 如何解决靶向治疗的耐药以及GISTs的复发或转移问题将是未来努力的方向, 前景值得期待.

9 参考文献

1 Miettinen M, Lasota J. Gastrointestinal stromal tumors. *Gastroenterol Clin North Am* 2013; 42: 399-415 [PMID: 23639648 DOI: 10.1016/j.gtc.2013.01.001]
2 Chandrasekhara V, Ginsberg GG. Endoscopic management of gastrointestinal stromal tumors. *Curr Gastroenterol Rep* 2011; 13: 532-539 [PMID: 21931997 DOI: 10.1007/s11894-011-0224-6]
3 Joensuu H, Hohenberger P, Corless CL. Gastrointestinal stromal tumour. *Lancet* 2013; 382: 973-983 [PMID: 23623056 DOI: 10.1016/S0140-6736(13)60106-3]
4 Barros A, Linhares E, Valadão M, Gonçalves R, Vilhena B, Gil C, Ramos C. Extragastrointestinal stromal tumors (EGIST): a series of case reports. *Hepatogastroenterology* 2011; 58: 865-868 [PMID: 21830406]
5 Kim HH, Koh YS, Park EK, Seoung JS, Hur YH, Kim JC, Cho CK, Kim HJ. Primary extragastrointestinal stromal tumor arising in the pancreas: report of a case. *Surg Today* 2012; 42: 386-390 [PMID: 22258729 DOI: 10.1007/s00595-011-0080-x]
6 Ou Z, Cao Z, He Y, Tang D. Diagnosis and multimodal therapy for extragastrointestinal stromal tumor of the prostate: A case report. *Exp Ther Med* 2013; 6: 378-380 [PMID: 24137192 DOI: 10.3892/etm.2013.1156]
7 Song W, Yang JR, Wang YH, Liang QC. Primary extragastrointestinal stromal tumor of the seminal vesicles. *Urology* 2012; 79: e36-e37 [PMID: 22386441 DOI: 10.1016/j.urology.2011.11.026]
8 Shin HS, Cho CH, Kum YS. Extragastrointestinal stromal tumor of the urinary bladder: a case report. *Urol J* 2011; 8: 165-167 [PMID: 21656481]
9 Peitsidis P, Zarganis P, Trichia H, Vorgias G, Smith JR, Akrivos T. Extragastrointestinal stromal tumor mimicking a uterine tumor. A rare clinical entity. *Int J Gynecol Cancer* 2008; 18: 1115-1118 [PMID: 17986244 DOI: 10.1111/j.1525-1438.2007.01121.x]
10 Muñoz M, Echeverri C, Ramirez PT, Echeverri L, Pareja LR. Extragastrointestinal stromal tumor in the rectovaginal septum in an adolescent. *Gynecol Oncol Case Rep* 2013; 5: 67-69 [PMID: 24371702 DOI: 10.1016/j.gynor.2013.05.004]
11 Fukuda T, Sumi T, Nakano Y, Morishita M, Nobeyama H, Yoshida H, Matsumoto Y, Yasui T, Honda KI, Ishiko O. Extragastrointestinal stromal tumor originating from the vulva. *Oncol Lett* 2011; 2: 797-799 [PMID: 22866129 DOI: 10.3892/ol.2011.343]
12 Yi JH, Sim J, Park BB, Lee YY, Jung WS, Jang HJ, Ha TK, Paik SS. The primary extra-gastrointestinal stromal tumor of pleura: a case report and a literature review. *Jpn J Clin Oncol* 2013; 43: 1269-1272 [PMID: 24168806 DOI: 10.1093/jjco/hyt158]
13 Divakaran J, Chander B. Primary extra-gastrointestinal stromal tumor of the omentum. *J Cancer Res Ther* 2012; 8: 433-435 [PMID: 23174729 DOI: 10.4103/0973-1482.103527]
14 Li H, Li J, Li X, Kang Y, Wei Q. An unexpected but interesting response to a novel therapy for malignant extragastrointestinal stromal tumor of the mesoileum: a case report and review of the literature. *World J Surg Oncol* 2013; 11: 174 [PMID: 23915013 DOI: 10.1186/1477-7819-11-174]
15 Li W, Cui Y, Ren G, Wang J, Wu X. Extragastrointestinal stromal tumor of the mesoappendix: CT findings and a review of the literature. *World J Surg Oncol* 2012; 10: 211 [PMID: 23039908 DOI: 10.1186/1477-7819-10-211]
16 Alkhatib L, Albtoush O, Bataineh N, Gharaibeh K, Matalka I, Tokuda Y. Extragastrointestinal Stromal Tumor (EGIST) in the abdominal wall: Case report and literature review. *Int J Surg Case Rep* 2011; 2: 253-255 [PMID: 22096744 DOI: 10.1016/j.ijscr.2011.07.009]
17 Palmirotta R, De Marchis ML, Ludovici G, Leone B, Covello R, Conti S, Costarelli L, Della-Morte D, Ferroni P, Roselli M, Guadagni F. Mutational analysis of gastrointestinal stromal tumors (GISTs): procedural approach for diagnostic purposes. *Cancer Genomics Proteomics* 2013; 10: 115-123 [PMID: 23741027]
18 Schaefer IM, Delfs C, Cameron S, Gunawan B, Agaimy A, Ghadimi BM, Haller F. Chromosomal aberrations in primary PDGFRA-mutated gastrointestinal stromal tumors. *Hum Pathol* 2014; 45: 85-97 [PMID: 24157063 DOI: 10.1016/j.humpath.2013.05.027]
19 Fisher SB, Kim SC, Kooby DA, Cardona K, Russell MC, Delman KA, Staley CA, Maithel SK. Gastrointestinal stromal tumors: a single institution experience of 176 surgical patients. *Am Surg* 2013; 79: 657-665 [PMID: 23815996]
20 Wada T, Tanabe S, Ishido K, Higuchi K, Sasaki T, Katada C, Azuma M, Naruke A, Kim M, Koizumi W, Mikami T. DOG1 is useful for diagnosis of KIT-negative gastrointestinal stromal tumor of stomach. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 9133-9136 [PMID:

24379641 DOI: 10.3748/wjg.v19.i47.9133]
21 Kara T, Serinsoz E, Arpaci RB, Gubur O, Orekici G, Ata A, Colak T, Arican A. Contribution of DOG1 expression to the diagnosis of gastrointestinal stromal tumors. *Pathol Res Pract* 2013; 209: 413-417 [PMID: 23722018 DOI: 10.1016/j.prp.2013.04.005]
22 Terada T. Smooth muscles and stem cells of embryonic guts express KIT, PDGFRRA, CD34 and many other stem cell antigens: suggestion that GIST arise from smooth muscles and gut stem cells. *Int J Clin Exp Pathol* 2013; 6: 1038-1045 [PMID: 23696920]
23 Corless CL. Gastrointestinal stromal tumors: what do we know now? *Mod Pathol* 2014; 27 Suppl 1: S1-16 [PMID: 24384849 DOI: 10.1038/modpathol.2013.173]
24 Beadling C, Patterson J, Justusson E, Nelson D, Pantaleo MA, Hornick JL, Chacón M, Corless CL, Heinrich MC. Gene expression of the IGF pathway family distinguishes subsets of gastrointestinal stromal tumors wild type for KIT and PDGFRA. *Cancer Med* 2013; 2: 21-31 [PMID: 24133624 DOI: 10.1002/cam4.57]
25 Huizinga JD, Chen JH. Interstitial cells of Cajal: update on basic and clinical science. *Curr Gastroenterol Rep* 2014; 16: 363 [PMID: 24408748 DOI: 10.1007/s11894-013-0363-z]
26 Abramovic M, Radenkovic G, Velickov A. Appearance of interstitial cells of Cajal in the human midgut. *Cell Tissue Res* 2014 Jan 11. *[Epub ahead of print]* [PMID: 24414177 DOI: 10.1007/s00441-013-1772-x]
27 Al-Sajee D, Huizinga JD. Interstitial Cells of Cajal: Pathology, injury and repair. *Sultan Qaboos Univ Med J* 2012; 12: 411-421 [PMID: 23275836]
28 Deshpande A, Nelson D, Corless CL, Deshpande V, O'Brien MJ. Leiomyoma of the gastrointestinal tract with interstitial cells of Cajal: a mimic of gastrointestinal stromal tumor. *Am J Surg Pathol* 2014; 38: 72-77 [PMID: 24145645 DOI: 10.1097/PAS.0b013e3182a0d134]
29 Gromova P, Rubin BP, Thys A, Erneux C, Vanderwinden JM. Neurotensin receptor 1 is expressed in gastrointestinal stromal tumors but not in interstitial cells of Cajal. *PLoS One* 2011; 6: e14710 [PMID: 21364741 DOI: 10.1371/journal.pone.0014710]
30 Kim WK, Yang HK, Kim H. MicroRNA involvement in gastrointestinal stromal tumor tumorigenesis. *Curr Pharm Des* 2013; 19: 1227-1235 [PMID: 23092343]
31 Kelly L, Bryan K, Kim SY, Janeway KA, Killian JK, Schildhaus HU, Miettinen M, Helman L, Meltzer PS, van de Rijn M, Debiec-Rychter M, O'Sullivan M. Post-transcriptional dysregulation by miRNAs is implicated in the pathogenesis of gastrointestinal stromal tumor [GIST]. *PLoS One* 2013; 8: e64102 [PMID: 23717541 DOI: 10.1371/journal.pone.0064102]
32 Yamamoto H, Kohashi K, Fujita A, Oda Y. Fascin-1 overexpression and miR-133b downregulation in the progression of gastrointestinal stromal tumor. *Mod Pathol* 2013; 26: 563-571 [PMID: 23196799 DOI: 10.1038/modpathol.2012.198]
33 Koelz M, Lense J, Wrba F, Scheffler M, Dienes HP, Odenthal M. Down-regulation of miR-221 and miR-222 correlates with pronounced Kit expression in gastrointestinal stromal tumors. *Int J Oncol* 2011; 38: 503-511 [PMID: 21132270 DOI: 10.3892/ijo.2010.857]
34 Niinuma T, Suzuki H, Nojima M, Nosho K, Yamamoto H, Takamaru H, Yamamoto E, Maruyama R, Nobuoka T, Miyazaki Y, Nishida T, Bamba T, Kanda T, Ajioka Y, Taguchi T, Okahara S, Takahashi H, Nishida Y, Hosokawa M, Hasegawa T, Tokino T, Hirata K, Imai K, Toyota M, Shinomura Y. Upregulation of miR-196a and HOTAIR drive malignant character in gastrointestinal stromal tumors. *Cancer Res* 2012; 72: 1126-1136 [PMID: 22258453 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-11-1803]
35 Gu MJ, Bae YK, Choi JH. Clinical significance of insulin-growth factor 1 and insulin-growth factor 1 receptor expression in gastrointestinal stromal tumors. *Hepatogastroenterology* 2013; 60: 1383-1386 [PMID: 24298573]
36 Lasota J, Wang Z, Kim SY, Helman L, Miettinen M. Expression of the receptor for type i insulin-like growth factor (IGF1R) in gastrointestinal stromal tumors: an immunohistochemical study of 1078 cases with diagnostic and therapeutic implications. *Am J Surg Pathol* 2013; 37: 114-119 [PMID: 22892600 DOI: 10.1097/PAS.0b013e3182613c86]
37 Li JC, Zhu HY, Chen TX, Zou LY, Wang XY, Zhao HC, Xu J. Roles of mTOR and p-mTOR in gastrointestinal stromal tumors. *Asian Pac J Cancer Prev* 2013; 14: 5925-5928 [PMID: 24289602]
38 Bravou V, Papanastasopoulos P, Verras D, Kotsikogianni I, Damaskou V, Repanti M. Transforming growth factor β repressor, SnoN, is overexpressed in human gastrointestinal stromal tumors. *J BUON* 2012; 17: 684-690 [PMID: 23335525]
39 Dumont AG, Yang Y, Reynoso D, Katz D, Trent JC, Hughes DP. Anti-tumor effects of the Notch pathway in gastrointestinal stromal tumors. *Carcinogenesis* 2012; 33: 1674-1683 [PMID: 22764137 DOI: 10.1093/carcin/bgs221]
40 Okamoto Y, Sawaki A, Ito S, Nishida T, Takahashi T, Toyota M, Suzuki H, Shinomura Y, Takeuchi I, Shinjo K, An B, Ito H, Yamao K, Fujii M, Murakami H, Osada H, Kataoka H, Joh T, Sekido Y, Kondo Y. Aberrant DNA methylation associated with aggressiveness of gastrointestinal stromal tumour. *Gut* 2012; 61: 392-401 [PMID: 21708825 DOI: 10.1136/gut.2011.241034]
41 Mason EF, Hornick JL. Succinate dehydrogenase deficiency is associated with decreased 5-hydroxymethylcytosine production in gastrointestinal stromal tumors: implications for mechanisms of tumorigenesis. *Mod Pathol* 2013; 26: 1492-1497 [PMID: 23743927 DOI: 10.1038/modpathol.2013.86]
42 Opatowsky Y, Lax I, Tomé F, Bleichert F, Unger VM, Schlessinger J. Structure, domain organization, and different conformational states of stem cell factor-induced intact KIT dimers. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2014; 111: 1772-1777 [PMID: 24449920 DOI: 10.1073/pnas.1323254111]
43 Reshetnyak AV, Nelson B, Shi X, Boggon TJ, Pavlenco A, Mandel-Bausch EM, Tome F, Suzuki Y, Sidhu SS, Lax I, Schlessinger J. Structural basis for KIT receptor tyrosine kinase inhibition by antibodies targeting the D4 membrane-proximal region. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2013; 110: 17832-17837 [PMID: 24127596 DOI: 10.1073/pnas.1317118110]
44 Bayraktar UD, Bayraktar S, Rocha-Lima CM. Molecular basis and management of gastrointestinal stromal tumors. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 2726-2734 [PMID: 20533592 DOI: 10.3748/wjg.v16.i22.2726]

45 Minárik G, Plank L, Lasabová Z, Szemes T, Burjanivová T, Szépe P, Buzalková V, Porubský D, Sufliarsky J. Spectrum of mutations in gastrointestinal stromal tumor patients - a population-based study from Slovakia. *APMIS* 2013; 121: 539-548 [PMID: 23106360 DOI: 10.1111/apm.12019]

46 Calibasi G, Baskin Y, Alyuruk H, Cavas L, Oztop I, Sagol O, Atila K, Ellidokuz H, Yilmaz U. Molecular analysis of the KIT gene in gastrointestinal stromal tumors with novel mutations. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2014; 22: 37-45 [PMID: 23455185 DOI: 10.1097/PAI.0b013e318284a074]

47 Huss S, Künstlinger H, Wardelmann E, Kleine MA, Binot E, Merkelbach-Bruse S, Rüdiger T, Mittler J, Hartmann W, Büttner R, Schildhaus HU. A subset of gastrointestinal stromal tumors previously regarded as wild-type tumors carries somatic activating mutations in KIT exon 8 (p.D419del). *Mod Pathol* 2013; 26: 1004-1012 [PMID: 23599150 DOI: 10.1038/modpathol.2013.47]

48 Wang C, Jin MS, Zou YB, Gao JN, Li XB, Peng F, Wang HY, Wu ZD, Wang YP, Duan XM. Diagnostic significance of DOG-1 and PKC-θ expression and c-Kit/PDGFRA mutations in gastrointestinal stromal tumours. *Scand J Gastroenterol* 2013; 48: 1055-1065 [PMID: 23862765 DOI: 10.3109/00365521.2013.816770]

49 O'Brien KM, Orlow I, Antonescu CR, Ballman K, McCall L, DeMatteo R, Engel LS. Gastrointestinal stromal tumors, somatic mutations and candidate genetic risk variants. *PLoS One* 2013; 8: e62119 [PMID: 23637977 DOI: 10.1371/journal.pone.0062119]

50 Grover S, Ashley SW, Raut CP. Small intestine gastrointestinal stromal tumors. *Curr Opin Gastroenterol* 2012; 28: 113-123 [PMID: 22157511 DOI: 10.1097/MOG.0b013e32834ec154]

51 Selcukbiricik F, Yalçın S, Tural D, Erdamar S, Demir G, Doğusoy G, Mandel NM. Gastrointestinal stromal tumors in Turkey: experiences from 3 centers. *Onkologie* 2013; 36: 18-24 [PMID: 23429327 DOI: 10.1159/000346673]

52 Rammohan A, Sathyanesan J, Rajendran K, Pitchaimuthu A, Perumal SK, Srinivasan U, Ramasamy R, Palaniappan R, Govindan M. A gist of gastrointestinal stromal tumors: A review. *World J Gastrointest Oncol* 2013; 5: 102-112 [PMID: 23847717 DOI: 10.4251/wjgo.v5.i6.102]

53 Carvalho N, Albergaria D, Lebre R, Giria J, Fernandes V, Vidal H, Brito MJ. Anal canal gastrointestinal stromal tumors: case report and literature review. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 319-322 [PMID: 24415888 DOI: 10.3748/wjg.v20.i1.319]

54 Patnaik S, Jyotsnarani Y, Rammurti S. Radiological features of metastatic gastrointestinal stromal tumors. *J Clin Imaging Sci* 2012; 2: 43 [PMID: 22919557 DOI: 10.4103/2156-7514.99177]

55 Plumb AA, Kochhar R, Leahy M, Taylor MB. Patterns of recurrence of gastrointestinal stromal tumour (GIST) following complete resection: implications for follow-up. *Clin Radiol* 2013; 68: 770-775 [PMID: 23663875 DOI: 10.1016/j.crad.2013.03.002]

56 Wong CS, Chu YC, Khong PL. Unusual features of gastrointestinal stromal tumor on PET/CT and CT imaging. *Clin Nucl Med* 2011; 36: e1-e7 [PMID: 21285671 DOI: 10.1097/RLU.0b013e31820aa233]

57 Yoshikawa K, Shimada M, Kurita N, Sato H, Iwata T, Morimoto S, Miyatani T, Kashihara H, Takasu C, Matsumoto N. The efficacy of PET-CT for predicting the malignant potential of gastrointestinal stromal tumors. *Surg Today* 2013; 43: 1162-1167 [PMID: 23143169 DOI: 10.1007/s00595-012-0411-6]

58 Nishida T, Kawai N, Yamaguchi S, Nishida Y. Submucosal tumors: comprehensive guide for the diagnosis and therapy of gastrointestinal submucosal tumors. *Dig Endosc* 2013; 25: 479-489 [PMID: 23902569 DOI: 10.1111/den.12149]

59 Ito H, Inoue H, Ryozawa S, Ikeda H, Odaka N, Eleftheriadis N, Maselli R, Sando N, Kimura S, Kudo SE. Fine-needle aspiration biopsy and endoscopic ultrasound for pretreatment pathological diagnosis of gastric gastrointestinal stromal tumors. *Gastroenterol Res Pract* 2012; 2012: 139083 [PMID: 23056038 DOI: 10.1155/2012/139083]

60 Nakatani M, Fujiwara Y, Nagami Y, Sugimori S, Kameda N, Machida H, Okazaki H, Yamagami H, Tanigawa T, Watanabe K, Watanabe T, Tominaga K, Noda E, Maeda K, Ohsawa M, Wakasa K, Hirakawa K, Arakawa T. The usefulness of double-balloon enteroscopy in gastrointestinal stromal tumors of the small bowel with obscure gastrointestinal bleeding. *Intern Med* 2012; 51: 2675-2682 [PMID: 23037455]

61 Kitano M, Sakamoto H, Kudo M. Contrast-enhanced endoscopic ultrasound. *Dig Endosc* 2014; 26 Suppl 1: 79-85 [PMID: 24118242 DOI: 10.1111/den.12179]

62 Kannengiesser K, Mahlke R, Petersen F, Peters A, Ross M, Kucharzik T, Maaser C. Contrast-enhanced harmonic endoscopic ultrasound is able to discriminate benign submucosal lesions from gastrointestinal stromal tumors. *Scand J Gastroenterol* 2012; 47: 1515-1520 [PMID: 23148660 DOI: 10.3109/00365521.2012.729082]

63 Fülöp E, Marcu S, Borda A, Moldovan C, Fülöp EF, Loghin A, Pávai Z. Histopathological and immunohistochemical features of gastrointestinal stromal tumors. *Rom J Morphol Embryol* 2011; 52: 555-562 [PMID: 21655642]

64 Choi JJ, Sinada-Bottros L, Maker AV, Weisenberg E. Dedifferentiated gastrointestinal stromal tumor arising de novo from the small intestine. *Pathol Res Pract* 2014; 210: 264-266 [PMID: 24484970 DOI: 10.1016/j.prp.2013.12.008]

65 He Z, Sun C, Zheng Z, Yu Q, Wang T, Chen X, Cao H, Liu W, Wang B. Endoscopic submucosal dissection of large gastrointestinal stromal tumors in the esophagus and stomach. *J Gastroenterol Hepatol* 2013; 28: 262-267 [PMID: 23190047 DOI: 10.1111/jgh.12056]

66 Huang LY, Cui J, Liu YX, Wu CR, Yi DL. Endoscopic therapy for gastric stromal tumors originating from the muscularis propria. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 3465-3471 [PMID: 22807618 DOI: 10.3748/wjg.v18.i26.3465]

67 Chen YH, Liu KH, Yeh CN, Hsu JT, Liu YY, Tsai CY, Chiu CT, Jan YY, Yeh TS. Laparoscopic resection of gastrointestinal stromal tumors: safe, efficient, and comparable oncologic outcomes. *J Laparoendosc Adv Surg Tech A* 2012; 22: 758-763 [PMID: 22957924 DOI: 10.1089/lap.2012.0115]

68 Jeong IH, Kim JH, Lee SR, Kim JH, Hwang JC, Shin SJ, Lee KM, Hur H, Han SU. Minimally invasive treatment of gastric gastrointestinal stromal tumors: laparoscopic and endoscopic approach. *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech* 2012; 22: 244-250 [PMID:

22678321 DOI: 10.1097/SLE.0b013e31825078f2]
69 Fujimoto Y, Akiyoshi T, Konishi T, Nagayama S, Fukunaga Y, Ueno M. Laparoscopic sphincter-preserving surgery (intersphincteric resection) after neoadjuvant imatinib treatment for gastrointestinal stromal tumor (GIST) of the rectum. *Int J Colorectal Dis* 2014; 29: 111-116 [PMID: 24018650 DOI: 10.1007/s00384-013-1769-7]
70 Dong HY, Wang YL, Li J, Pang QP, Li GD, Jia XY. New-style laparoscopic and endoscopic cooperative surgery for gastric stromal tumors. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 2550-2554 [PMID: 23674858 DOI: 10.3748/wjg.v19.i16.2550]
71 Qiu WQ, Zhuang J, Wang M, Liu H, Shen ZY, Xue HB, Shen L, Ge ZZ, Cao H. Minimally invasive treatment of laparoscopic and endoscopic cooperative surgery for patients with gastric gastrointestinal stromal tumors. *J Dig Dis* 2013; 14: 469-473 [PMID: 23701957 DOI: 10.1111/1751-2980.12076]
72 Schwameis K, Fochtmann A, Schwameis M, Asari R, Schur S, Köstler W, Birner P, Ba-Ssalamah A, Zacherl J, Wrba F, Brodowicz T, Schoppmann SF. Surgical treatment of GIST--an institutional experience of a high-volume center. *Int J Surg* 2013; 11: 801-806 [PMID: 23999064 DOI: 10.1016/j.ijsu.2013.08.016]
73 Bamboat ZM, DeMatteo RP. Metastasectomy for gastrointestinal stromal tumors. *J Surg Oncol* 2014; 109: 23-27 [PMID: 24155153 DOI: 10.1002/jso.23451]
74 Bauer S, Rutkowski P, Hohenberger P, Miceli R, Fumagalli E, Siedlecki JA, Nguyen BP, Kerst M, Fiore M, Nyckowski P, Hoiczyk M, Cats A, Casali PG, Treckmann J, van Coevorden F, Gronchi A. Long-term follow-up of patients with GIST undergoing metastasectomy in the era of imatinib - Analysis of prognostic factors (EORTC-STBSG collaborative study). *Eur J Surg Oncol* 2014; 40: 412-419 [PMID: 24491288 DOI: 10.1016/j.ejso.2013.12.020]
75 Singeltary B, Ghose A, Sussman J, Choe K, Olowokure O. Durable response with a combination of imatinib and sorafenib in KIT exon 17 mutant gastrointestinal stromal tumor. *J Gastrointest Oncol* 2014; 5: E27-E29 [PMID:24490049 DOI: 10.3978/j.issn.2078-6891.2013.058]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年4月28日; 22(12): 1642-1650
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

基础研究 BASIC RESEARCH

姜黄素联合MSCs对大鼠溃疡性结肠炎的影响及机制

易金霞, 费素娟, 庞迅雷, 吴克俭

■背景资料
近二十多年来, 溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)在亚洲地区发病率逐年上升, 其治愈难, 易复发, 严重影响广大患者的生活质量及生命健康, 传统药物不良反应大且易产生耐药性. 因此寻找一种安全、有效的治疗方法刻不容缓.

易金霞, 徐州医学院 江苏省徐州市 221002
费素娟, 庞迅雷, 吴克俭, 徐州医学院附属医院消化内科 江苏省徐州市 221002
易金霞, 徐州医学院消化内科研究生, 主要从事炎症性肠病发病机制的研究.
作者贡献分布: 易金霞主要从事课题的研究、数据的处理及论文的撰写工作; 费素娟与吴克俭主要从事课题的设计、指导及论文修改工作; 庞迅雷主要从事课题的设计及技术指导工作.
通讯作者: 吴克俭, 主任医师, 221002, 江苏省徐州市淮海西路99号, 徐州医学院附属医院消化内科. laomike2002@sohu.com
收稿日期: 2014-02-12 修回日期: 2014-03-14
接受日期: 2014-03-28 在线出版日期: 2014-04-28

Therapeutic effects of curcumin combined with MSCs against ulcerative colitis in rats

Jin-Xia Yi , Su-Juan Fei , Xun-Lei Pang, Ke-Jian Wu

Jin-Xia Yi, Xuzhou Medical College, Xuzhou 221002, Jiangsu Province, China
Su-Juan Fei, Xun-Lei Pang, Ke-Jian Wu, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Xuzhou Medical College, Xuzhou 221002, Jiangsu Province, China
Correspondence to: Ke-Jian Wu, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Xuzhou Medical College, 99 Huaihai West Road, Xuzhou 221002, Jiangsu Province, China. laomike2002@sohu.com
Received: 2014-02-12 Revised: 2014-03-14
Accepted: 2014-03-28 Published online: 2014-04-28

Abstract

AIM: To assess the therapeutic effects of curcumin combined with mesenchymal stem cells (MSCs) in the treatment of ulcerative colitis in rats and to explore the underlying mechanisms.

METHODS: Ulcerative colitis was induced in rats with 2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS). 40 male Sprague-Dawley rats were randomly divided into 5 groups: a normal group, a model group, an MSCs group, a curcumin group, and a curcumin plus MSCs group. The signs and symptoms of rats in each group were observed, including vitality, diet, property of stool and bloody stool. The severity of colitis was assessed using gross morphological score (GMS) and histopathologic damage score (HDS). The percentages of Th17 and Treg lymphocytes in peripheral blood were determined by flow cytometry. Expression of IL-17 and Foxp3 in the colonic mucosa was detected by immunohistochemistry.

RESULTS: Compared with the normal group, the GMS and HDS were significantly higher in the model group (0.00 ± 0.00 *vs* 4.63 ± 0.74; 0.25 ± 0.46 *vs* 4.00 ± 0.53, $P < 0.01$); the levels of Treg in the peripheral blood and Foxp3 in the colon tissue were significant decreased, and the levels of Th17 in the peripheral blood and IL-17 in the colon tissue were significantly increased in the model group (8.01 ± 0.29 *vs* 1.16 ± 0.18; 9.50 ± 1.60 *vs* 0.88 ± 0.64; 0.63 ± 0.13 *vs* 4.56 ± 0.21; 0.88 ± 0.64 *vs* 7.75 ± 1.16, $P < 0.01$ for all). The GMS and HDS were significantly lower in the treatment groups than in the model group (4.63 ± 0.74 *vs* 2.12 ± 0.64, 2.00 ± 0.53, 1.00 ± 0.53; 4.00 ± 0.53 *vs* 2.00 ± 0.53, 1.88 ± 0.83, 1.25 ± 0.46, $P < 0.01$ for all). The levels of Treg and Foxp3 were significantly increased, and the levels of Th17 and IL-17 were significantly decreased in the treatment groups compared with the model group (1.16 ± 0.18 *vs* 3.29 ± 0.18, 3.19 ± 0.20, 5.00 ± 0.19; 0.88 ± 0.64 *vs* 3.75 ± 0.46, 4.00 ± 0.92, 6.88 ± 1.25; 4.56 ± 0.21 *vs* 2.60 ± 0.15, 2.59 ± 0.23, 1.52 ± 0.21; 0.88 ± 0.64 *vs* 3.75 ± 0.46, 4.00 ± 0.92, 6.88 ± 1.25, $P < 0.01$ for all). Compared with the MSCs group and curcumin group, the GMS and HDS were significantly decreased in the curcumin plus MSCs group (1.00 ± 0.53 *vs* 2.12 ± 0.64, 2.00 ± 0.53; 1.25 ± 0.46 *vs* 2.00 ± 0.53, 1.88 ± 0.83, $P < 0.05$ for all). The levels of Treg and Foxp3 in the combination treatment group were significantly increased, and the levels of Th17 and IL-17 were significantly decreased compared with monotherapy groups (5.00 ± 0.19 *vs* 3.29 ± 0.18, 3.19 ± 0.20; 6.88 ± 1.25 *vs* 3.75 ± 0.46, 4.00 ± 0.92; 1.52 ± 0.21 *vs* 2.60 ± 0.15, 2.59 ± 0.23; 2.38 ± 0.92 *vs* 5.00 ± 1.07, 4.62 ± 1.19, $P < 0.01$ for all).

CONCLUSION: Curcumin together with MSCs can decrease colonic mucosal damage and promote the repair of impaired mucosa in UC rats possibly via mechanisms associated with regulating the balance of Treg and Th17 1ymphocytes and the relevant cytokines in colonic tissue.

■同行评议者
杨柏霖, 副主任医师, 南京中医药大学附属医院

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Ulcerative colitis; Curcumin; Mesenchymal stem cells; Treg; Th17

Yi JX, Fei SJ, Pang XL, Wu KJ. Therapeutic effects of curcumin combined with MSCs against ulcerative colitis in rats. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(12): 1642-1650
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1642.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i12.1642

摘要

目的: 观察姜黄素联合骨髓间充质干细胞(marrow mesenchymal stem cell, MSCs)对大鼠溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)的疗效, 并探讨辅助性T细胞17(T help cell 17, Th17)及调节性T细胞(regulatory T cell, Treg)平衡在其中的作用机制.

方法: 采用三硝基苯磺酸(trinitro-benzene-sulfonic acid, TNBS)灌肠制备大鼠UC模型, 将动物分为5组, 分别为正常对照组(A组)、模型组(B组), MSCs组(C组), 姜黄素组(D组), 姜黄素联合MSCs组(E组). 观察各组大鼠的行为、粪便性状及血便情况, 计算结肠大体形态评分(gross morphological score, GMS)及病理损伤评分(histopathologic damage score, HDS), 并通过流式细胞术(flow cytometer, FCM)检测各组Th17及Treg占$CD4^+$T细胞的数量百分比; 免疫组织化学(immunohistochemistry, IHC)检测白介素-17、Foxp3在结肠组织的表达.

结果: (1)与正常组比较, 模型组大鼠GMS、HDS均明显升高(0.00±0.00 *vs* 4.63±0.74; 0.25±0.46 *vs* 4.00±0.53, $P<0.01$), Treg细胞在外周血及结肠组织的表达均下调, Th17的表达均上调, 差异均有统计学意义(8.01±0.29 *vs* 1.16±0.18; 9.50±1.60 *vs* 0.88±0.64; 0.63±0.13 *vs* 4.56±0.21; 0.88±0.64 *vs* 7.75±1.16, $P<0.01$); (2)与模型组相比, 各治疗组GMS、HDS均明显降低, 差异有统计学意义(4.63±0.74 *vs* 2.12±0.64, 2.00±0.53, 1.00±0.53; 4.00±0.53 *vs* 2.00±0.53, 1.88±0.83, 1.25±0.46, $P<0.01$); 各治疗组Treg细胞表达均明显上调, 而Th17细胞的表达均明显下调, 差异有统计学意义(1.16±0.18 *vs* 3.29±0.18, 3.19±0.20, 5.00±0.19; 0.88±0.64 *vs* 3.75±0.46, 4.00±0.92, 6.88±1.25; 4.56±0.21 *vs* 2.60±0.15, 2.59±0.23, 1.52±0.21; 0.88±0.64 *vs* 3.75±0.46, 4.00±0.92, 6.88±1.25, $P<0.01$); (3)联合治疗组GMS、HDS较单药物治疗组降低(1.00±0.53 *vs* 2.12±0.64, 2.00±0.53; 1.25±0.46 *vs* 2.00±0.53, 1.88±0.83, $P<0.05$), 且Treg细胞表达均显著上调, 而Th17细胞表达均显著下调, 差异有统计学意义(5.00±0.19 *vs* 3.29±0.18, 3.19±0.20; 6.88±1.25 *vs* 3.75±0.46, 4.00±0.92; 1.52±0.21 *vs* 2.60±0.15, 2.59±0.23; 2.38±0.92 *vs* 5.00±1.07, 4.62±1.19, $P<0.01$).

结论: 姜黄素联合MSCs能显著减轻UC大鼠的炎症反应并促进黏膜修复, 其调节免疫的机制可能与调节Treg/Th17平衡有关.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 溃疡性结肠炎; 姜黄素; 骨髓间充质干细胞; 辅助性17细胞; 调节性T细胞

核心提示: 本文通过观察姜黄素联合骨髓间充质干细胞对大鼠溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)模型的疗效, 并探讨辅助性T细胞17(T help cell 17, Th17)及调节性T细胞(regulatory T cell, Treg)平衡在其中的作用机制. 发现联合治疗组能显著减轻UC大鼠的炎症反应并促进黏膜修复, 其调节免疫的机制可能与调节Treg/Th17平衡有关.

易金霞, 费素娟, 庞迅雷, 吴克俭. 姜黄素联合MSCs对大鼠溃疡性结肠炎的影响及机制. 世界华人消化杂志 2014; 22(12): 1642-1650 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1642.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i12.1642

■**研发前沿**
近年来随着细胞分子生物学和免疫学的迅速发展, UC治疗研究主要表现在免疫学方面. 姜黄素及骨髓间充质干细胞(marrow mesenchymal stem cell, MSCs)因具有免疫调节作用成为治疗UC的热点, 但两者的具体治疗机制尚未完全明确, 同时从对辅助性T细胞17(T help cell 17, Th17)及调节性T细胞(regulatory T cell, Treg)平衡角度研究治疗机制鲜有报道.

0 引言

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是一种病因不明的结肠黏膜及黏膜下慢性非特异性炎症, 该病反复发作、经久难愈, 且与结肠癌关系密切, 被世界卫生组织列为现代难治病之一, 且近二十年来该病的发病率亦逐年升高[1,2].

近二十多年来, 溃疡性结肠炎的发病率呈上升趋势, 传统药物长期服用的不良反应大, 且复发率高, 给UC的治疗带来很大的困难, 因此探索一种新的、有效治疗方法迫在眉睫. 来源于姜科植物姜黄的干燥根茎的姜黄素, 来源广泛、价格低廉、不良反应少, 已证实其有抗肿瘤, 抗炎, 抗氧化, 抑制血小板聚集, 免疫调节等功能. 既往研究表明[3,4]其可以通过调节细胞因子的释放发挥抗炎作用. 然而, 其对辅助性T细胞17(T help cell 17, Th17)及调节性T细胞(regulatory T cell, Treg)细胞的影响国内外文献鲜有报道. 骨髓间充质干细胞(marrow mesenchymal stem cell, MSCs)因具有低免疫原型及免疫调节作用, 已被证实能改善UC大鼠症状及促进病变部位黏膜损

■相关报道
既往研究认为姜黄素可通过抑制MAPK p38信号途径下调COX-2和iNOS水平通过调节各种细胞因子来发挥抗炎的作用. MSCs可归巢至肠道, 增强了肠道上皮修复能力, 同时其还具有免疫调节作用.

伤的修复[5,6]. 本实验旨在研究姜黄素联合MSCs对UC模型大鼠的治疗作用, 并通过观察二者对UC大鼠Treg/Th17的影响, 探索对UC治疗的可能作用机制.

1 材料和方法

1.1 材料 成年SPF级♂Sprague-Dawley(SD)大鼠, 体质量180-220 g, 由徐州医学院动物实验中心提供. TNBS及姜黄素购自Sigma公司; 大鼠FITC-anti rat CD29、大鼠PE-anti rat CD44, 大鼠FITC-anti rat CD34, 大鼠FITC-anti rat CD4, 大鼠PE-anti rat CD4, 大鼠FITC-anti rat 白介素-17(interleukin-17, IL-17), 大鼠APC-anti rat CD25, 大鼠PE-anti rat Foxp3均购自Biolegend公司; 免疫组织化学试剂盒购自北京中杉桥公司; Foxp3购自武汉博士德, IL-17购自Abcam公司.

1.2 方法

1.2.1 动物分组及模型制备: 将实验大鼠随机分为5组, 每组8只, 分别为正常组(A组), 模型组(B组), MSCs组(C组), 姜黄素组(D组), 姜黄素联合MSCs组(E组). 所有大鼠禁食、不禁饮36 h, 10%水合氯醛(3.5 mL/kg)腹腔注射麻醉大鼠, 除正常组外, 余各组大鼠, 用直径2 mm的硅胶管插入大鼠结肠至距肛门约8 cm处, 用5%三硝基苯磺酸按100 mg/kg(TNBS)溶于等体积500 mL/L乙醇灌肠. 正常组大鼠按相同方法, 予以生理盐水灌肠, 之后将大鼠倒置2-3 min, 防止药物流出[7].

1.2.2 MSCs的分离、培养及鉴定: SD大鼠经乙醚麻醉后, 置入750 mL/L乙醇中浸泡5 min, 无菌条件下取胫骨和股骨, 清除周围肌肉, 用PBS(含10万U/L青霉素与100 μg/L链霉素)清洗3-5次; 咬骨钳将两端干骺端去除, 暴露骨髓腔, 用注射器吸取RPMI 1640培养基冲洗骨髓, 收集于在离心管中; 巴氏管反复吹打, 制成单细胞悬液, 然后1000 r/min离心5 min弃上清, 接种于培养瓶中; 置37 ℃、5%CO_2培养箱中培养. 于24 h后首次更换培养基, 去除未贴壁的造血细胞, 以后每3-4 d更换培养基1次, 第3代培养后的MSCs用作试验. 应用荧光标记的抗CD29、CD44、CD34抗体, 流式细胞仪(Flow Cytometer, FCM)进行检测鉴定.

1.2.3 给药: 造模24 h后, 向C、E组大鼠尾静脉注入制备好的MSCs(分离培养鉴定参照文献[8])第3代细胞悬液1×10^6/mL 1次, 余各组向尾静脉注射等量的PBS溶液1次. 从造模第2天起, 每天予D、E组大鼠以50 mg/kg姜黄素的DMSO溶液灌胃, 余各组分别予等体积的DMSO溶液, 连续7 d. 第7次给药24 h后, 麻醉大鼠, 经心脏采血取大鼠外周血2 mL行FCM测定, 同时剖腹取出大鼠结肠组织, 沿肠系膜将肠组织剖开, 于冰生理盐水中洗净结肠组织, 做大体评分, 病理损伤评分, 放入甲醛固定液中, 石蜡包埋及切片, 行HE染色及免疫组织化学检测.

1.2.4 MSCs细胞鉴定: 取传代培养第3代到第5代的细胞制成细胞悬液, 按杨辉等[8]的方法取CD29、CD44阳性指标, CD34阴性表达指标, 行FCM测定鉴定细胞.

1.2.5 大鼠一般状况: 建模期间每日对大鼠进行称体质量并记录, 同时观察大鼠的精神、活动、进食、腹泻情况和粪便性状情况等临床症状.

1.2.6 结肠炎症评分: 采用王皓等[9]评分方法, 进行结肠大体形态及组织病理学损伤评分.

1.2.7 流式细胞术测定: (1)提取单个核细胞: 取新鲜抗凝血2 mL加PBS液2 mL稀释后, 沿管壁徐徐滴流叠加盛有4 mL淋巴细胞分离液的试管内(注意勿与分离液混合), 然后2000 r/min水平离心20 min, 管内分为4层, 自上而下依次为血浆, 单个核细胞, 颗粒白细胞、红细胞. 用毛细管伸至单个核细胞层中(位于细胞分离液与血浆的界面上), 沿管壁轻轻吸出全部细胞. 然后用PBS液洗涤两次, 每次2000 r/min离心10 min, 最后用RPMI l640培养液将细胞配成1×10^6/mL的细胞悬液; (2)Th17细胞的测定: 取1 mL细胞悬液, 在细胞培养液中加入2 μL含PMA、ionomycin、BFA的混合刺激液, 置于EP管中, 37 ℃, 5%CO_2培养箱内培养4-6 h. 收集培养后的细胞悬液离心, 加入大鼠CD4避光孵育30 min, 加入固定液500 μL, 4 ℃避光孵育20 min; PBS洗涤, 离心(1200 r/min)5 min, 弃上清. 震荡混匀, 加入破膜剂1.5 mL, 避光15 min. 分别在各管中加入IL-17抗体2 μL, 轻轻混匀, 避光孵育30 min. PBS洗涤, 离心, 重悬细胞, FCM上机; (3)Treg细胞的检测: 将提取的细胞用PBS重悬, 调整细胞浓度为1×10^6/mL, 依次加入大鼠CD4, 大鼠CD25, 避光孵育30 min, 加入固定液500 μL, 4 ℃避光孵育20 min; PBS洗涤, 离心(1200 r/min)5 min, 弃上清. 震荡混匀, 加入破膜剂1.5 mL, 避光15 min. 加入Foxp3行核内抗体标记, 4 ℃避光孵育30 min. PBS洗涤, 离心, 重悬细胞, FCM上机.

1.2.8 结肠组织IL-17, Foxp3的表达: 用免疫组织

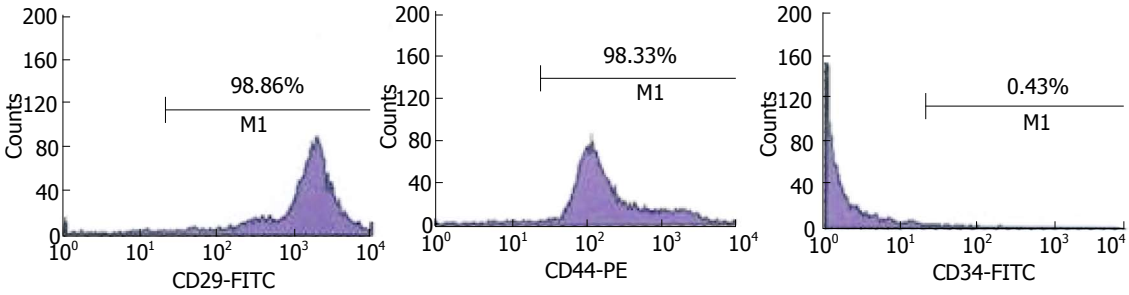


图 1 MSCs表面标志物的表达.

■创新盘点
本研究紧跟现代免疫学研究前沿, 基于重要的免疫细胞$CD4^+$T细胞的新认知, 首次研究姜黄素联合MSCs从调节$CD4^+$T细胞亚群平衡等免疫角度治疗大鼠UC, 分析姜黄素联合MSCs在治疗UC中对Treg和Th17间的调控关系及其可能的机制.

表 1 大鼠炎症评分 (n = 8, mean ± SD)

分组	大体形态评分	病理学损伤评分
A组	0.00 ± 0.00[b]	0.25 ± 0.46[bc]
B组	4.63 ± 0.74	4.00 ± 0.53
C组	2.12 ± 0.64[bc]	2.00 ± 0.53[bc]
D组	2.00 ± 0.53[bc]	1.88 ± 0.83[bc]
E组	1.00 ± 0.53[b]	1.25 ± 0.46[b]

[b]P<0.01 *vs* B组; [c]P<0.05 *vs* E组. A组: 正常组; B组: 模型组; C组: MSCs组; D组: 姜黄素组; E组: 姜黄素联合MSCs组. MSCs: 骨髓间充质干细胞.

化学SP法检测, 组织切片脱蜡; 将玻片置柠檬酸缓冲液中用医用微波炉进行抗原修复, 水洗; 滴加3%H_2O_2. 室温10 min阻断内源性过氧化物酶, PBS液冲洗; 正常血清在室温下封闭15 min, 清除多余血清, 分别滴加羊抗大鼠IL-17, Foxp3多克隆抗体37 ℃孵育1 h或4 ℃过夜, PBS冲洗; 滴加生物素化的羊抗大鼠抗体室温孵育15 min, PBS冲液洗; 滴加过氧化物酶标记的链酶亲和素温孵育15 min, PBS液冲洗; DAB显色2-5 min, 苏木素复染后, 封片观察. 免疫组织化学的切片在电镜下进行评分[10].

统计学处理 采用SPSS13.0软件进行统计学处理, 评分数据及定量数据均用mean±SD表示. 两组间比较用t检验, 多组间比较用单因素方差分析, P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 MSCs细胞鉴定 MSCs表面标志物CD29、CD44、CD34的阳性表达率分别为98.86%、98.33%、0.43%(图1).

2.2 大鼠的一般状况及体质量变化 正常组大鼠活动、进食正常, 无腹泻及便血; 模型组大鼠活动少, 肉眼可见黏液脓血便, 肛周污染严重, 于造模后第4天病情开始好转, 大便性状好转, 活动及进食开始增加; 与模型组相比, 治疗各组大鼠腹泻及便血情况相对较轻; 单药物治疗组大鼠可见少量脓血便及黑便, 从给药后第3天开始好转, 体质量也开始回升; 联合治疗组仅见有少量黏液便, 未见黑便及血便, 于给药后第2天活动及进食改善, 体质量开始回升.

2.3 大鼠结肠的大体形态观察及评分 模型组大鼠结肠黏膜明显充血水肿、糜烂及浅表溃疡, 部分结肠壁增厚, 少数结肠与周围组织发生黏连. 单药物治疗组大鼠见少量糜烂, 无溃疡, 少数肠壁增厚, 无黏连. 联合治疗组大鼠结肠仅见充血水肿. 与模型组比较, 各治疗组结肠黏膜炎性病变改善, 评分降低, 差异有统计学意义(P<0.01). 与单药物治疗组比较, 联合治疗组结肠评分降低, 差异有显著意义(P<0.05). 与正常组比较, 各组结肠大体评分均升高, 差异有统计学意义(P<0.01)(表1).

2.4 结肠组织的病理学改变 正常对照组结肠组织见腺体排列整齐, 隐窝正常, 杯状细胞无减少, 未见黏膜糜烂、出血; 模型组可见腺管排列紊乱, 部分腺体缺失, 黏膜及黏膜下层血管高度扩张充血, 大量炎细胞浸润, 部分部位可见溃疡形成; 各治疗组腺体破坏较模型组轻, 炎性浸润少, 无溃疡形成. 与正常对照组比较, 余各组病理损伤评分均升高, 差异有统计学意义(P<0.01); 与模型组比较, 各治疗组病理学评分均下降, 差异有统计学意义(P<0.01); 与单药物治疗组比较, 联合治疗组病理评分下降, 差异有统计学意义(P<0.05). 病理学评分如表1, 病理图如图2.

2.5 结肠组织Foxp3、IL-17的表达情况 Foxp3表达的阳性细胞见于结肠黏膜固有层细胞, 黏膜下层, 以淋巴细胞细胞核表达为主, 呈棕黄色或棕褐色颗粒. IL-17主要见于黏膜上皮及固有层浸润的淋巴细胞及中性粒细胞等炎性细胞胞浆, 同时也可见于黏膜下层浸润的炎性细胞及血管内皮细胞胞浆中, 呈棕黄色或棕褐色. 实验可见,

■应用要点
UC治愈难，易复发，被世界卫生组织列为现代难治病之一. 此研究从Treg/Th17平衡角度，研究姜黄素联合MSCs对UC的治疗及免疫调节机制，为中药联合免疫治疗UC上提供了新的思路，为进一步的临床研究提供理论基础.

表 2 各组流式及免疫组织化学评分 (n = 8, mean ± SD)

分组	流式细胞术检测比率(%)		组织免疫组织化学(分)	
	Th17	Treg	IL-17	Foxp3
A组	0.63 ± 0.13[b]	8.01 ± 0.29[b]	0.88 ± 0.64[b]	9.50 ± 1.60[b]
B组	4.56 ± 0.21	1.16 ± 0.18	7.75 ± 1.16	0.88 ± 0.64
C组	2.60 ± 0.15[bd]	3.29 ± 0.18[bd]	5.00 ± 1.07[bd]	3.75 ± 0.46[bd]
D组	2.59 ± 0.23[b]	3.19 ± 0.20[bd]	4.62 ± 1.19[b]	4.00 ± 0.92[b]
E组	1.52 ± 0.21[b]	5.00 ± 0.19[b]	2.38 ± 0.92[b]	6.88 ± 1.25[b]

[b]P<0.01 *vs* B组; [d]P<0.01 *vs* E组. A组: 正常组; B组: 模型组; C组: MSCs组; D组: 姜黄素组; E组: 姜黄素联合MSCs组. IL: 白介素; Th17: 辅助性T细胞17; Treg: 调节性T细胞; MSCs: 骨髓间充质干细胞.

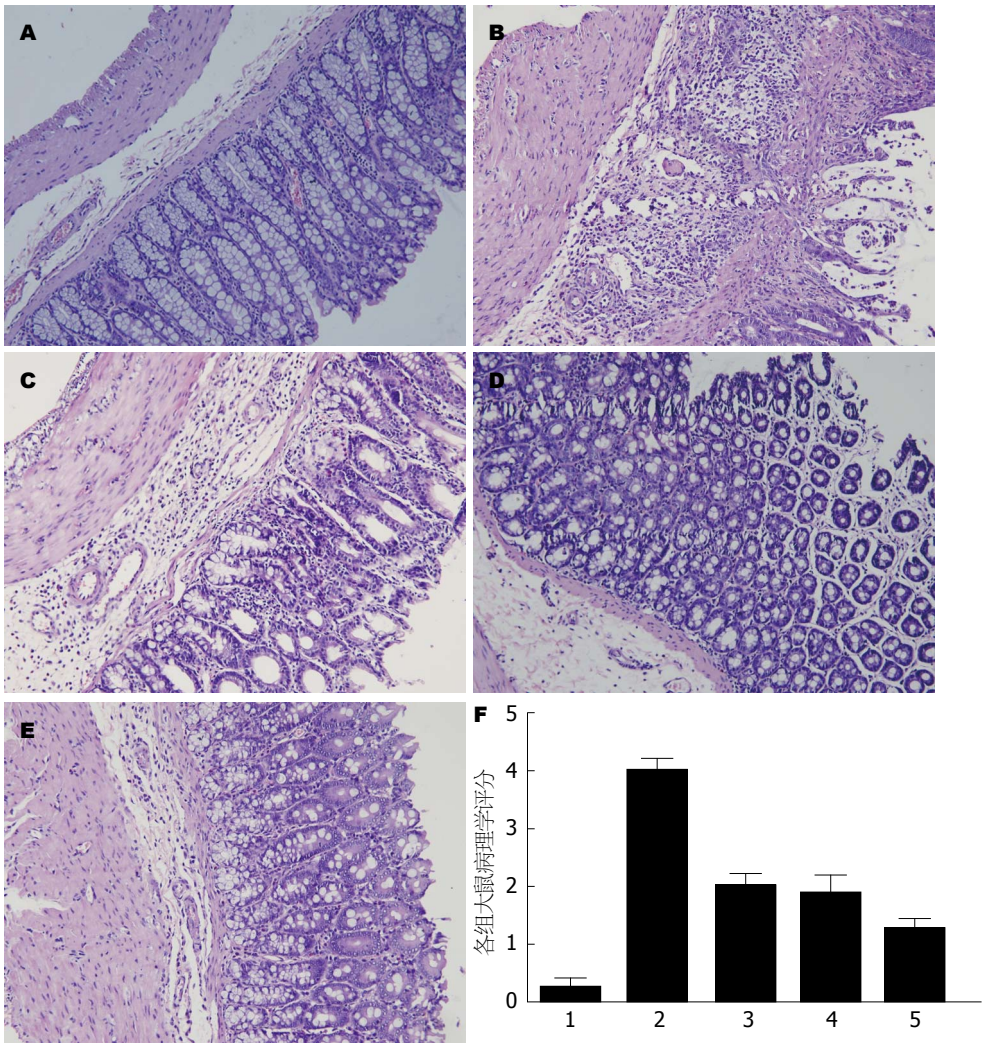


图 2 各组大鼠结肠病理切片(HE染色 × 200). A: 正常组; B: 模型组; C: MSCs治疗组; D: 姜黄素治疗组; E: 姜黄素联合MSCs组; F: 统计图. 1: 正常组; 2: 模型组; 3: MSCs治疗组; 4: 姜黄素治疗组; 5: 姜黄素联合MSCs组. MSCs: 骨髓间充质干细胞.

与正常对照组比较，余各组Foxp3阳性表达均相应减少，IL-17阳性表达均相应增加，差异均有统计学意义(P<0.05)；与模型组比较，各治疗组Foxp3阳性表达均相应增多，IL-17阳性表达均相应减少，差异均有统计学意义(P<0.01)；与单药物治疗组比较，联合治疗组Foxp3阳性表达均相应减少，IL-17阳性表达均相应增加，差异均有统计学意义(P<0.01)(表2，图3，4).

2.6 外周血Treg、Th17所占CD4$^+$T细胞百分比

与正常对照组比较，余各组Th17细胞数量相对

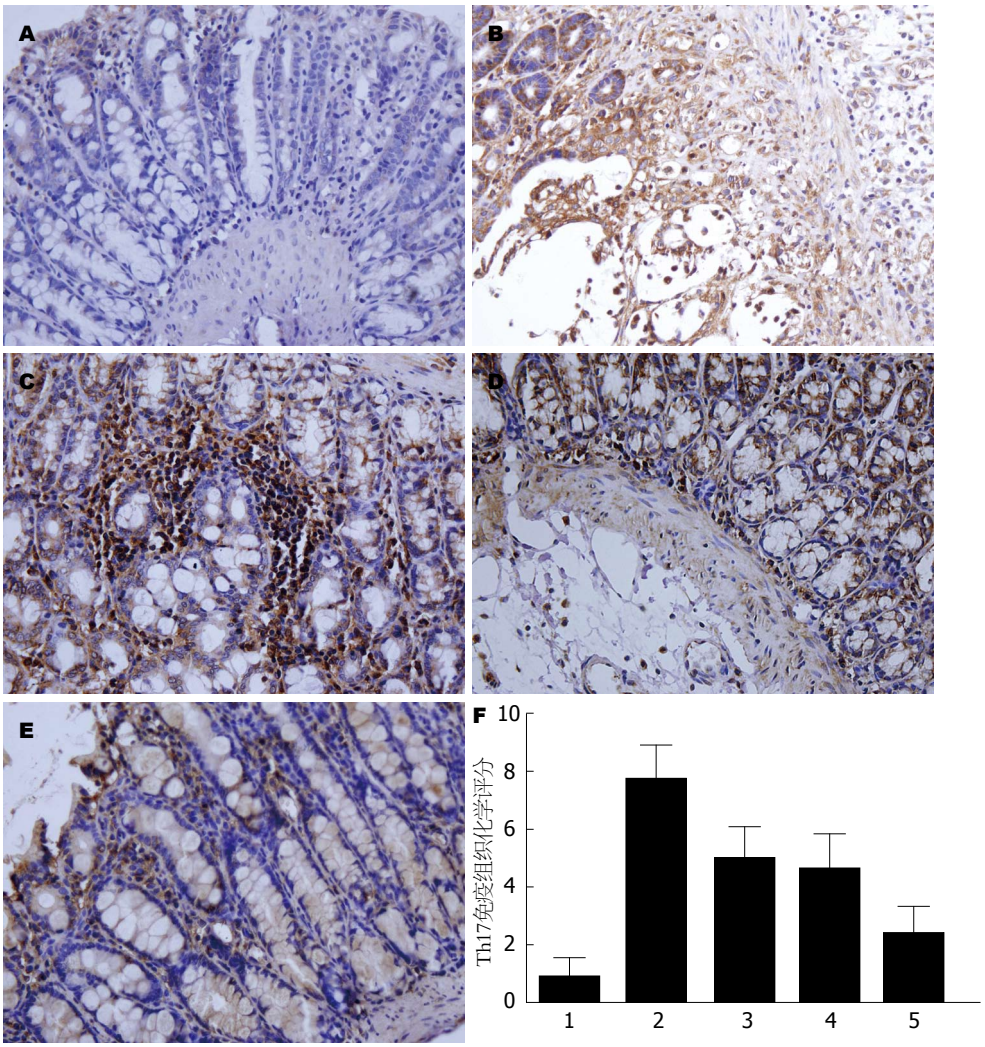


图 3 IL-17的免疫组织化学结果(×400). A: 正常组; B: 模型组; C: MSCs治疗组; D: 姜黄素治疗组; E: 姜黄素联合MSCs组; F: 统计图. 1: 正常组; 2: 模型组; 3: MSCs治疗组; 4: 姜黄素治疗组; 5: 姜黄素联合MSCs组. MSCs: 骨髓间充质干细胞.

上升, Treg细胞百分率相对下降, 差异均有统计学意义(P<0.01); 与模型组比较, 各治疗组Th17细胞百分比均相应减少, Treg细胞百分比均相应增加, 差异均有统计学意义(P<0.01); 与单药物治疗组比较, 联合治疗组Th17细胞百分比相对增加, Treg细胞百分比相对减少, 差异均有统计学意义(P<0.01)(表2).

3 讨论

UC是一种病因不明的, 以腹泻、黏液脓血便、腹痛为主要症状的累及结肠黏膜及黏膜下层的慢性非特异性炎症疾病, 其发病机制与免疫因素关系密切[11,12]. 既往研究认为Th1和Th2细胞亚群失平衡在UC的发病机制中起重要作用[13,14], 近年来随着对UC发病机制的研究深入, 学者们发现在$CD4^+$T细胞中存在一些新的细胞亚群(Treg细胞、Th17细胞)与UC有着极为紧密的联系[15,16].

Treg细胞是具有免疫调节功能的$CD4^+$T细胞亚群之一, 其在防止自身免疫性疾病的发生、控制胃肠道炎症中发挥重要作用[17]. 而Foxp3在$CD4^+CD25^+$T细胞发育和功能发挥中均具决定性作用[18]. 目前认为, Treg细胞数量减少或功能异常, 均可导致肠黏膜损伤及UC的发生. 有研究表明, 剔除小鼠的Treg细胞会使其T细胞介导的炎性疾病(如肠炎)恶化[19], 而输注$CD4^+CD25^+$T细胞能治疗结肠炎. Eastaff-Leung等[20]发现UC患者外周血Treg细胞及结肠黏膜Foxp3 mRNA表达较正常人明显降低. 本研究通过FCM及IHC检测发现, 模型组大鼠外周血Treg细胞比例及结肠组织Foxp3阳性表达较正常组明显降低, 推测Treg细胞的数量减少和局部功能的减退可能使其免疫抑制功能减弱, 从而导致肠黏膜损伤及UC的发生.

Th17细胞为近来发现到的不同于Th1、Th2

■同行评价
本文立意新颖, 在前期相关研究基础上提出了新的切入点, 研究设计具有科学性,结果客观、可信, 对指导临床诊断与治疗UC有一定意义.

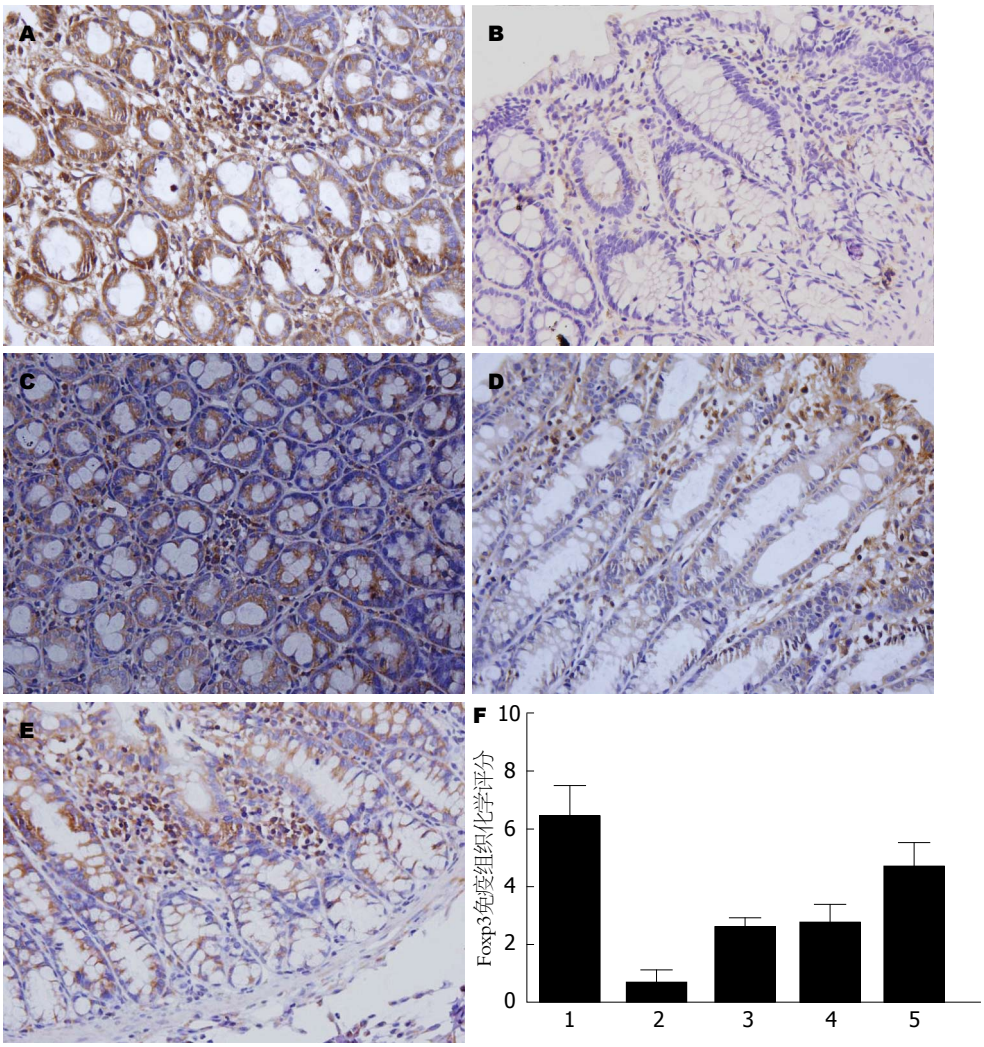


图 4 Foxp3的免疫组织化学结果(×400). A: 正常组; B: 模型组; C: MSCs治疗组; D: 姜黄素治疗组; E: 姜黄素联合MSCs组; F: 统计图. 1: 正常组; 2: 模型组; 3: MSCs治疗组; 4: 姜黄素治疗组; 5: 姜黄素联合MSCs组. MSCs: 骨髓间充质干细胞.

的辅助性T细胞, 因其高分泌IL-17A而被命名. 在许多自身免疫性疾病的发病中发挥重要作用[21]. 近年来Th17在IBD中的作用一直是研究热点[22,23]. 临床研究发现[18], UC患者外周血中Th17细胞比例及肠黏膜IL-17 mRNA表达较正常人明显升高. 本实验结果正好与以上研究相符, 表明Th17细胞在机体功能过分活跃可能参与炎症性肠病的发生与发展.

姜黄素因具有免疫调节的作用[24,25], 其应用于治疗UC受到国内外的广泛关注, 研究表明[26,27]姜黄素可以通过调节细胞因子的释放, 抑制核因子κB(nuclear factor-κB, NF-κB)的活化, 激活过氧化物酶增殖剂激活受体(peroxisome proliferator-activated receptor γ, PPARγ)的表达及下调环氧化酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2), 诱导型一氧化氮合成酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)的表达等多种途径发挥抗炎作用, 在UC的治疗中具有重要作用. 本研究从$CD4^+$T细胞亚群的角度对其研究, 发现姜黄素治疗组大鼠外周血及结肠组织Treg数量较模型组大鼠明显增加, 相反Th17细胞数量相对减少, 可见姜黄素可通过调节Treg及Th17的分化及转化, 从而维持Treg/Th17平衡, 减轻UC大鼠炎症反应, 促进黏膜修复.

MSCs因具有低免疫原性及免疫调节作用而广泛用于免疫性疾病的治疗中[28-30]. 近年来, 许多研究证实MSCs可以治疗UC[31,32]. 但目前MSCs移植治疗UC的机制尚不十分明确, 其可能的机制有: (1)MSCs移植可归巢至肠道, 增强了肠道上皮修复能力; (2)MSCs具有免疫调节作用, 通过调节免疫细胞作用, 从而控制肠道异常免疫反应. 本实验研究发现MSCs治疗组大鼠结肠黏膜损伤较模型组轻, 一般情况改善及体质量回升快, 治疗组Th17细胞数量及结肠组织相

应的促炎细胞因子IL-17减少, 而Treg细胞数量及结肠组织Foxp3表达增多, 由此我们可以推断, MSCs可能通过调节炎性因子, 进而促进Treg/Th17平衡, 从而纠正大鼠肠道黏膜异常免疫状态. 另外MSCs有向损伤组织趋化的特性, 可归巢至炎症明显的肠道, 分化为肠道各种细胞, 促进肠道黏膜修复.

目前国内外的研究多是单纯的姜黄素或MSCs作用于UC, 既然二者各自具有抗炎和免疫调节作用, 联合作用能否减轻UC结肠黏膜的炎症反应, 促进其修复呢? 本实验选择姜黄素联合MSCs共同作用于TNBS诱导的大鼠UC模型, 通过观察结肠黏膜损伤变化及检测外周血Treg、Th17细胞及其在肠黏膜中分泌的相关细胞因子的表达, 探讨姜黄素及MSCs对UC大鼠肠黏膜的保护作用及机制. 本研究结果显示: 姜黄素联合MSCs治疗组大鼠一般状况, 结肠病理损伤等方面得到了明显改善, 且较单用姜黄素或MSCs效果更显著. 同时与单独用药组比较, 联合组外周血Treg细胞数量及结肠局部Foxp3表达上调, 而外周血Th17细胞数量及结肠组织IL-17表达下调; 由此可见两者的共同作用机制可能为通过调节炎性因子的表达, 进而促进Treg/Th17平衡, 从而发挥抗炎及免疫调节作用, 且两者共同作用效果更佳.

总之, UC的发病与Treg/Th17失衡相关, 同时姜黄素及MSCs可通过调节Treg/Th17及其相关细胞因子之间的平衡发挥治疗作用, 且两者共同作用较单用效果显著, 但姜黄素联合MSCs治疗UC的共同机制还需进一步研究. 此研究在中药联合免疫治疗UC上提供了新的思路, 为进一步的临床研究提供了理论基础.

4 参考文献

1 Thia KT, Loftus EV, Sandborn WJ, Yang SK. An update on the epidemiology of inflammatory bowel disease in Asia. *Am J Gastroenterol* 2008; 103: 3167-3182 [PMID: 19086963 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2008.02158.x]

2 Molodecky NA, Soon IS, Rabi DM, Ghali WA, Ferris M, Chernoff G, Benchimol EI, Panaccione R, Ghosh S, Barkema HW, Kaplan GG. Increasing incidence and prevalence of the inflammatory bowel diseases with time, based on systematic review. *Gastroenterology* 2012; 142: 46-54. e42; quiz e30 [PMID: 22001864 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.10.001]

3 Zhou H, Beevers CS, Huang S. The targets of curcumin. *Curr Drug Targets* 2011; 12: 332-347 [PMID: 20955148]

4 Srivastava RM, Singh S, Dubey SK, Misra K, Khar A. Immunomodulatory and therapeutic activity of curcumin. *Int Immunopharmacol* 2011; 11: 331-341 [PMID: 20828642 DOI: 10.1016/j.intimp.2010.08.014]

5 Kaplan JM, Youd ME, Lodie TA. Immunomodulatory activity of mesenchymal stem cells. *Curr Stem Cell Res Ther* 2011; 6: 297-316 [PMID: 21190531]

6 Wei Y, Nie Y, Lai J, Wan YJ, Li Y. Comparison of the population capacity of hematopoietic and mesenchymal stem cells in experimental colitis rat model. *Transplantation* 2009; 88: 42-48 [PMID: 19584679 DOI: 10.1097/TP.0b013e3181a9f0a7]

7 Morris GP, Beck PL, Herridge MS, Depew WT, Szewczuk MR, Wallace JL. Hapten-induced model of chronic inflammation and ulceration in the rat colon. *Gastroenterology* 1989; 96: 795-803 [PMID: 2914642]

8 杨辉, 蔡光, 刘柏炎, 蔡营, 谢勇. 首次换液时间对贴壁法培养骨髓间充质干细胞纯度及增殖的影响. 中国组织工程研究与临床康复 2007; 11: 3868-3871

9 王皓, 欧阳钦, 胡仁玮. 三硝基苯磺酸结肠炎动物模型的建立. 胃肠病学 2001; 6: 7-10

10 Koga H, Sakisaka S, Ohishi M, Kawaguchi T, Taniguchi E, Sasatomi K, Harada M, Kusaba T, Tanaka M, Kimura R, Nakashima Y, Nakashima O, Kojiro M, Kurohiji T, Sata M. Expression of cyclooxygenase-2 in human hepatocellular carcinoma: relevance to tumor dedifferentiation. *Hepatology* 1999; 29: 688-696 [PMID: 10051469]

11 Endo K, Shiga H, Kinouchi Y, Shimosegawa T. [Inflammatory bowel disease: IBD]. *Rinsho Byori* 2009; 57: 527-532 [PMID: 19621784]

12 Wallace KL, Zheng LB, Kanazawa Y, Shih DQ. Immunopathology of inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 6-21 [PMID: 24415853 DOI: 10.3748/wjg.v20.i1.6]

13 Van Damme N, De Keyser F, Demetter P, Baeten D, Mielants H, Verbruggen G, Cuvelier C, Veys EM, De Vos M. The proportion of Th1 cells, which prevail in gut mucosa, is decreased in inflammatory bowel syndrome. *Clin Exp Immunol* 2001; 125: 383-390 [PMID: 11531945]

14 MacDonald TT, Monteleone G, Pender SL. Recent developments in the immunology of inflammatory bowel disease. *Scand J Immunol* 2000; 51: 2-9 [PMID: 10632969]

15 Hovhannisyan Z, Treatman J, Littman DR, Mayer L. Characterization of interleukin-17-producing regulatory T cells in inflamed intestinal mucosa from patients with inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology* 2011; 140: 957-965 [PMID: 21147109 DOI: 10.1053/j.gastro.2010.12.002]

16 Huang Z, Jiang Y, Yang Y, Shao J, Sun X, Chen J, Dong L, Zhang J. 3,3'-Diindolylmethane alleviates oxazolone-induced colitis through Th2/Th17 suppression and Treg induction. *Mol Immunol* 2013; 53: 335-344 [PMID: 23085552 DOI: 10.1016/j.molimm.2012.09.007]

17 Li Z, Arijs I, De Hertogh G, Vermeire S, Noman M, Bullens D, Coorevits L, Sagaert X, Schuit F, Rutgeerts P, Ceuppens JL, Van Assche G. Reciprocal changes of Foxp3 expression in blood and intestinal mucosa in IBD patients responding to infliximab. *Inflamm Bowel Dis* 2010; 16: 1299-1310 [PMID: 20196149 DOI: 10.1002/ibd.21229]

18 Chen Z, Lin F, Gao Y, Li Z, Zhang J, Xing Y, Deng Z, Yao Z, Tsun A, Li B. FOXP3 and RORγt: transcriptional regulation of Treg and Th17. *Int Immunopharmacol* 2011; 11: 536-542 [PMID: 21081189 DOI:

10.1016/j.intimp.2010.11.008]
19 Veltkamp C, Ruhwald R, Giesem T, Autschbach F, Kaden I, Veltkamp R, Sartor RB, Stremmel W. CD4+CD25+ cell depletion from the normal CD4+ T cell pool prevents tolerance toward the intestinal flora and leads to chronic colitis in immunodeficient mice. *Inflamm Bowel Dis* 2006; 12: 437-446 [PMID: 16775487]
20 Eastaff-Leung N, Mabarrack N, Barbour A, Cummins A, Barry S. Foxp3+ regulatory T cells, Th17 effector cells, and cytokine environment in inflammatory bowel disease. *J Clin Immunol* 2010; 30: 80-89 [PMID: 19936899 DOI: 10.1007/s10875-009-9345-1]
21 Chen Z, Laurence A, Kanno Y, Pacher-Zavisin M, Zhu BM, Tato C, Yoshimura A, Hennighausen L, O'Shea JJ. Selective regulatory function of Socs3 in the formation of IL-17-secreting T cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103: 8137-8142 [PMID: 16698929]
22 Dai J, Zhang GB, Gao N, Xi QH, Li YQ, Pang Z, Zhao Y, Zhao JM, Nie JS, Chen WC. [The expression of peripheral Th1 and Th17 cells in inflammatory bowel disease and its potential clinical value]. *Zhonghua Neike Zazhi* 2013; 52: 375-378 [PMID: 23945300]
23 Song L, Zhou R, Huang S, Zhou F, Xu S, Wang W, Yi F, Wang X, Xia B. High intestinal and systemic levels of interleukin-23/T-helper 17 pathway in Chinese patients with inflammatory bowel disease. *Mediators Inflamm* 2013; 2013: 425915 [PMID: 24382939]
24 Sharma S, Chopra K, Kulkarni SK, Agrewala JN. Resveratrol and curcumin suppress immune response through CD28/CTLA-4 and CD80 co-stimulatory pathway. *Clin Exp Immunol* 2007; 147: 155-163 [PMID: 17177975]
25 Huang J, Huang K, Lan T, Xie X, Shen X, Liu P, Huang H. Curcumin ameliorates diabetic nephropathy by inhibiting the activation of the SphK1-S1P signaling pathway. *Mol Cell Endocrinol* 2013; 365: 231-240 [PMID: 23127801 DOI: 10.1016/j.mce.2012.10.024]
26 Deguchi Y, Andoh A, Inatomi O, Yagi Y, Bamba S, Araki Y, Hata K, Tsujikawa T, Fujiyama Y. Curcumin prevents the development of dextran sulfate Sodium (DSS)-induced experimental colitis. *Dig Dis Sci* 2007; 52: 2993-2998 [PMID: 17429738]
27 Jacob A, Wu R, Zhou M, Wang P. Mechanism of the Anti-inflammatory Effect of Curcumin: PPAR-gamma Activation. *PPAR Res* 2007; 2007: 89369 [PMID: 18274631 DOI: 10.1155/2007/89369]
28 Chang JW, Hung SP, Wu HH, Wu WM, Yang AH, Tsai HL, Yang LY, Lee OK. Therapeutic effects of umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cell transplantation in experimental lupus nephritis. *Cell Transplant* 2011; 20: 245-257 [PMID: 20719085 DOI: 10.3727/096368910X520056]
29 Holzer U, van Royen-Kerkhof A, van der Torre P, Kuemmerle-Deschner J, Well C, Handgretinger R, Mueller I, Wulffraat N. Successful autologous stem cell transplantation in two patients with juvenile dermatomyositis. *Scand J Rheumatol* 2010; 39: 88-92 [PMID: 20132077 DOI: 10.3109/03009740903096622]
30 Zhou H, Guo M, Bian C, Sun Z, Yang Z, Zeng Y, Ai H, Zhao RC. Efficacy of bone marrow-derived mesenchymal stem cells in the treatment of sclerodermatous chronic graft-versus-host disease: clinical report. *Biol Blood Marrow Transplant* 2010; 16: 403-412 [PMID: 19925878 DOI: 10.1016/j.bbmt.2009.11.006]
31 He XW, He XS, Lian L, Wu XJ, Lan P. Systemic infusion of bone marrow-derived mesenchymal stem cells for treatment of experimental colitis in mice. *Dig Dis Sci* 2012; 57: 3136-3144 [PMID: 22752635 DOI: 10.1007/s10620-012-2290-5]
32 Ko IK, Kim BG, Awadallah A, Mikulan J, Lin P, Letterio JJ, Dennis JE. Targeting improves MSC treatment of inflammatory bowel disease. *Mol Ther* 2010; 18: 1365-1372 [PMID: 20389289 DOI: 10.1038/mt.2010.54]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2014年4月28日; 22(12): 1651-1657
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

文献综述 REVIEW

Nrf2及激动剂与肝脏疾病的关系

韩 菲, 郭沛然, 王 飞, 侯冬杰, 孙玉凤

韩菲, 王飞, 侯冬杰, 孙玉凤, 河北医科大学第二医院消化内科 河北省石家庄市 050000
郭沛然, 河北医科大学 河北省石家庄市 050000
韩菲, 主要从事中西医结合内科的研究.
作者贡献分布: 韩菲负责文献相关资料的搜集、整理及论文的撰写工作; 孙玉凤负责制定论文研究方向及论文修改; 郭沛然、王飞及侯冬杰负责收集相关资料.
通讯作者: 孙玉凤, 教授, 主任医师, 050000, 河北省石家庄市新华区和平西路215号, 河北医科大学第二医院消化内科.
sunyfey@163.com
收稿日期: 2013-11-26 修回日期: 2013-12-21
接受日期: 2013-12-27 在线出版日期: 2014-04-28

Nrf2 and Nrf2 activators in hepatic diseases

Fei Han, Pei-Ran Guo, Fei Wang, Dong-Jie Hou, Yu-Feng Sun

Fei Han, Fei Wang, Dong-Jie Hou, Yu-Feng Sun, the Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China
Pei-Ran Guo, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China
Correspondence to: Yu-Feng Sun, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Hebei Medical University, 215 Heping West Road, Xinhua District, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China. sunyfey@163.com
Received: 2013-11-26 Revised: 2013-12-21
Accepted: 2013-12-27 Published online: 2014-04-28

Abstract
Oxidative stress is evidently related to hepatic diseases. Nuclear erythroid-2 related factor 2 (Nrf2) is one of the most important regulators of cells' protection against oxidative stress. Nrf2 induces the transcription of a wide array of genes encoding antioxidant enzymes and detoxification enzymes, cleans reactive oxygen species and relieves apoptosis. This review aims to illustrate the Nrf2/Keap1-ARE antioxidant pathway, investigate its relation with hepatic diseases and discuss the potential therapeutic effect of Nrf2 activators.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Oxidative stress; Nrf2; Reactive oxygen species

Han F, Guo PR, Wang F, Hou DJ, Sun YF. Nrf2 and Nrf2 activators in hepatic diseases. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(12): 1651-1657 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1651.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i12.1651

摘要
氧化应激与肝脏疾病关系密切. 核因子E2相关因子2(Nuclear erythroid-2 related factor 2, Nrf2)是细胞抵御氧化应激的一个重要调控因子, 可诱导抗氧化酶及Ⅱ相解毒酶的表达, 清除活性氧族, 减轻细胞凋亡. 本文对Nrf2/Keap-ARE抗氧化通路进行概述, 探讨其与肝脏疾病的联系以及Nrf2激动剂潜在的治疗作用.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 氧化应激; 核因子E2相关因子2; 活性氧族

核心提示: 氧化应激是诸多肝脏疾病共同的发病机制, 核因子E2相关因子2(nuclear erythroid-2 related factor 2, Nrf2)作为机体重要的抗氧化蛋白, 可通过Keap-1/ARE特异激活, 从而发挥保护肝细胞作用. 其激动剂已在诸多基础实验中取得显著成效, 故Nrf2激动剂的开发显得尤为必要.

韩菲, 郭沛然, 王飞, 侯冬杰, 孙玉凤. Nrf2及激动剂与肝脏疾病的关系. 世界华人消化杂志 2014; 22(12): 1651-1657 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1651.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i12.1651

0 引言
核因子E2相关因子2(nuclear erythroid-2 related factor 2, Nrf2)是一个由氧化应激介导的转录因子, 伴随一系列下游目的基因以保护细胞. Nrf2近年来被当作治疗肝脏疾病的一个新靶点. 在常见肝病如非酒精性脂肪肝(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)、脂肪性肝炎(nonalcoholic steatohepatitis, NASH)、酒精性肝病和药物引起的肝损伤中, Nrf2的激活可延缓这些疾病的进程.

1 Nrf2的概述
Nrf2首次从人类白血病细胞系(K562)的互补DNA文库中克隆出来, 具有高度保守碱性亮氨

■背景资料
氧化应激贯穿于诸多肝脏疾病的整个过程, 且与胰岛素抵抗、脂代谢等机制密切相关, 核因子E2相关因子2(nuclear erythroid-2 related factor 2, Nrf2)是重要的抗氧化蛋白, 可激活下游HO-1等发挥抗氧化机制.

■同行评议者
胡国信, 副教授, 主任医师, 南昌大学第一附属医院传染科

■研发前沿
目前关于Nrf2及其激动剂的研究停留于基础实验, 临床相关研究较少, 大量药物如姜黄素等可特异激活Nrf2-Keap1通路. 然而Nrf2的激动剂尚未作为上市药品广泛应用于临床.

酸拉链结构(bZIP). 由于C端的DNA结合域和N端的酸性活化域, bZIP的氨基酸序列与之前证实的NF-E2及Nrf1高度相似. 此外, Nrf2在人体组织中普遍表达, 并在解毒组织尤其是肝、肾组织中表达较高[1].

抗氧化反应元件(antioxidant reactive element, ARE)是一段位于解毒基因上游启动子区域的DNA序列, Nrf2与之结合从而调控抗氧化酶的表达[2]. 在内环境稳态的情况下, Nrf2通过N端与Kelch样环氧氯丙烷相关蛋白1(Kelch-like ECH-associated protein1, Keap1)结合锚定在胞质内, 从而抑制Nrf2活化[3]. 当受到来自活性氧或亲核剂信号攻击后, Nrf2和keap1解离[4,5], 转位进入细胞核, 与一系列转录调节蛋白结合为异二聚体. 常见的交互作用包括与转录调节因子Jun和Fos的反应, 二者均为转录因子的活化蛋白1家族的成员[6,7]. 通过二聚化, 这些复合物与AREs结合一方面可激活转录, 如Jun-Nrf2复合物[6], 另一方面可抑制转录, 如Fos-Nrf2复合物[7]. 被激活或抑制ARE的位点决定了哪些下游基因的转录将受到这些因素调控. 本综述旨在强调Nrf2及其下游基因在细胞水平的作用, 包括药物代谢、活性氧族(reactive oxygen species, ROS)的清除、谷胱甘肽水平的调节以及应激蛋白的变化等. 如果Nrf2可以产生这些特定效应, 则可将Nrf2作为一个潜在的药物治疗以抵御肝细胞损伤.

2 Nrf2在肝损伤和肝病中的作用

作为代谢的第一站, 肝脏通常暴露在较高浓度的外源物和其他化学物质下, 因此肝脏具备一系列机制以抵御有害化学物质及其代谢产物. 尽管如此, 肝脏仍易受到中间活性物质引起的氧化损伤. 这是人类健康的一个巨大困境, 因为随着年龄增长, 机体抵御氧化应激的能力逐渐衰退, 使得年长个体更易产生肝损伤和肝脏疾病. 氧化损伤与一些肝病密切相关, 例如: NASH[8]、肝硬化[9]、急性肝炎[10], 甚至于肝癌[11]. 此外, 由于肝脏毒性效应, 无法进行更深层的药物试验, 氧化应激引发的肝损伤常阻碍治疗进展. 因此, 抵御毒性的能力以及降低肝脏的毒性易感性变得十分有价值.

大量文献提示在氧化应激过程中产生的第一、二阶段的药物代谢酶、外向转运蛋白以及其他细胞保护蛋白受到Nrf2调控. *Nrf2*基因敲除鼠的发展为研究Nrf2在疾病中的发病机制和抵御肝毒性的保护作用提供了良好平台. 除此之外, 新兴的Nrf2激动剂和抑制剂不断涌现并用于研究Nrf2信号通路.

*Nrf2*基因敲除鼠可用于观察细胞内谷胱甘肽(glutathione, GSH)合成力. GSH通过解毒有害化学物质、直接或间接以酶形式与有毒物质结合保护细胞免受氧化应激. 长期暴露在有毒物质下会消耗GSH并最终导致氧化应激. Nrf2的解毒作用将通过以下几种途径: 首先, 有研究发现*Nrf2*基因敲除鼠模型组肝细胞GSH水平下降, 表明Nrf2敲除潜在影响GSH的合成机制[12]. 除了该模型鼠缺乏GSH外, GSH与有毒化学物质的结合能力亦下降. N谷胱甘肽-S转移酶参与催化二者的结合, 而该酶在*Nrf2*基因敲除鼠体内的表达水平较低[13].

血红素加氧酶-1(或热休克蛋白32)(heme oxygenase-1, HO-1)是氧化应激过程中另一个受Nrf2调控的靶物质. HO-1通过降解促氧化作用的游离血红素生成CO及胆红素以抵御细胞内氧化应激. 目前已证实氧化应激以及*HO-1*启动子的ARE上游的Nrf2可诱导鼠Hepa细胞HO-1表达[14]. 此外, 野生型鼠体内提取的巨噬细胞通过有毒物质刺激可诱导HO-1生成, 而*Nrf2*基因敲除鼠HO-1表达未改变[15]. Reisman等[16]最近研究表明Nrf2激动剂CDDO-Im(一类三萜抗癌化合物)可诱导野生型鼠肝组织HO-1的表达, 而*Nrf2*基因敲除鼠HO-1表达未改变, 证实Nrf2在调控细胞保护蛋白方面发挥了十分重要的作用.

此外, 一些研究提示大鼠模型和除肝损伤、肝病之外的人生理功能有相似之处. 例如, *Nrf2*基因敲除鼠急性肾损伤加剧[17], 与此同时, 女性系统性红斑狼疮患者(一种伴随氧化应激及*Nrf2*基因G-653A位点突变的自身免疫性疾病)表现出严重肾炎[18]. 另一个相关案例体现在Nrf2的活化在皮肤癌发病中起一定作用. 研究表明, Nrf2被激活的大鼠皮肤癌发生率较低[19], 并且最近有关人类癌组织的一项研究表明皮肤鳞癌细胞*Nrf2*基因突变率较高[20].

3 Nrf2激动剂: 一类新的治疗药物

在过去的数年间, 众多天然的和人工合成的化合物已被证实在一系列的系统中可激活Nrf2. Nrf2的化学诱导剂按其化学结构归纳为10类. 这些化合物的其中一部分已用于临床试验以治疗多发性硬化症、肌营养不良、皮肤癌和慢性肾病等并取得一定疗效. 目前临床研究尚未开展到肝病领域, 通过总结Nrf2在其他疾病阶段所发

挥的治疗效果可推测Nrf2的活化可能缓解不同类型的肝脏损伤和疾病.

例如, Pergola在最近的一项研究中通过观察2型糖尿病合并慢性肾病(chronic kidney disease, CKD)患者给予bardoxolone(三萜类化合物, 一种抗氧化炎症调节因子)对肾功能的影响[21]. 最终发现, 经过4 wk给药肾小球滤过滤(glomerular filtration rate, GFR)稳固升高(血压未变化)且统计学有显著差异, 此外, 继续给予4 wk更高剂量时GFR仍持续升高. 在第56天同基础水平相比, 血肌酐水平下降, 相应的内生肌酐清除率上升. 实验过程中, 患者未有证据表现出肝毒性且血胆红素和乳酸脱氢酶水平均未改变. 同de Zeeuw等[22]的短尾猴研究结果一致, 经bardoxolone治疗的短尾猴肝脏组织病理学检查未表现出异常. 尽管, 该研究并未提到在不伴随严重不良反应的前提下, 经过更长时间给药是否仍维持该效应, bardoxolone及Nrf2的激活剂用于缓解肾病进程还是首次. 作为后续研究, 研究人员证实CKD患者经过治疗在第24和52周GFR显著升高[21], 表明该药物的治疗作用可长久维持并且bardoxolone可作为CKD患者的潜在治疗药物. 然而, 该领域的一些专家认为GFR的升高可能源于肾小球血流动力学的改变(尤其是球内压升高)而不是纤维化的改善[23,24]. 针对这些评论, 作者强调即使终止治疗后GFR仍持续升高4 wk, 表明这一结果并非与球内流体静力学压力改变一致.

除了CKD的相关研究之外, 最近研究发现bardoxolone在大鼠缺血模型中有一定抵御急性肾损伤(acute kidney injury, AKI)的能力[25]. 先前研究亦表明Nrf2的激动剂莱菔硫烷可一定程度阻止大鼠AKI的进程[26], 并且*Nrf2*基因敲除鼠缺血性的急性肾损伤较为恶化[17]. 同这些结论相比较, 肾组织缺血再灌注可导致血尿素氮浓度升高, Wu等[26]最近的研究表明经bardoxolone预处理可以阻止这一现象. 此外, 同未用药组的模型鼠相比, 给药组大鼠肾脏组织病理学表明肾损伤、炎症以及细胞凋亡程度较轻. 由于该实验发现给药组大鼠Nrf2、过氧化物酶增殖激活受体γ、HO-1 mRNA水平显著升高, 因此药物可能通过该途径抵御AKI的进程.

4 Nrf2激动剂在治疗肝损伤和肝脏疾病中的应用前景

尽管所有的临床有关Nrf2的研究目前都集中于肾病, 仍有大量的文献和动物研究表明Nrf2的活化可以预防或者潜在缓解肝脏疾病. 在Nrf2激动剂可用于治疗肝损伤和肝脏疾病之前, 需要进行大量基础和临床研究. 由于我国特殊的饮食生活结构, NAFLD、NASH、酒精性肝病和药物性肝损伤(drug induced liver injury, DILI)发病率较高, 因此研究Nrf2激动剂在临床肝病的应用前景尤为必要.

■相关报道
氧化应激作为近些年的热门话题之一, 与诸多疾病密切相关, 大量文献证实氧化应激对肝脏造成损伤从而引发一系列疾病, 通过激活机体抗氧化系统, 可有效抵御氧化应激引发的肝损伤.

4.1 NAFLD和NASH 多重研究表明, 非酒精性脂肪性肝病的进展源于多重机制共同作用从而导致细胞损伤, 凋亡, 炎症, 纤维化, 最终发展为非酒精性脂肪性肝炎[27]. 随着肝脏中甘油三酯的累积, 线粒体呼吸链损伤导致ROS生成过多[28]以及线粒体谷胱甘肽减少[29], 持续性ROS的产生可降低胰岛素敏感性并进一步阻止甘油三酯的排出[30,31]. NASH的其他特征包括超氧化物歧化酶和过氧化氢酶活性减低[32,33], 肝细胞内脂质过氧化增强. 已经证实, 脂质过氧化会阻碍核苷酸和蛋白质的合成从而引发细胞凋亡, 炎症反应和肝纤维化[34].

Sugimoto等[35]研究证实Nrf2在NASH中发挥一定作用, *Nrf2*基因敲除鼠会导致疾病的迅速进展. 在NASH的数个发病阶段内, Nrf2的活化可能成为一个潜在的治疗手段. 首先, 在疾病的初始阶段, 脂质在肝细胞内沉积, 通过给药CDDO-Im活化Nrf2可有效阻止野生型鼠肝脏脂质堆积, 而在*Nrf2*基因敲除鼠中未表现, 表明*Nrf2*基因活化可降低脂肪酸合成酶基因的表达[36]. 另一方面, Nrf2可能通过减轻炎症反应从而起到保护作用. 核转录因子-κB作为一个重要的与炎症反应相关的细胞信号因子, 有研究表明, 在细胞培养和啮齿类动物系统中, 一些化学治疗物质会同时诱导Nrf2的表达和NF-κB的抑制[37]. 此外, 在发病阶段, 通过对超氧化物歧化酶, 过氧化氢酶和抗氧化酶的活化可成为新的潜在治疗手段. Nrf2激动剂Protandim已用于临床试验并相应增加红细胞超氧化物歧化酶活性达30%, 过氧化氢酶活性达54%[38]. 最终, Nrf2的活化可调控转录生长因子-β(transforming growth factor-β, TGF-β)-血浆中的一种促纤维化信号因子, 从而减轻NASH中的纤维化程度. 最近一项研究表明, 在人类肝星状细胞系中莱菔硫烷通过Nrf2介导抑制TGF-β信号, 从而减轻肝脏纤维化[39]. 该结果最终体现在对肝星状细胞活化和纤维生成基因表达的抑制[39], 表明在肝脏中Nrf2的活化有助于抑制纤维生成. 该发现印证了先前的一份报道: 在鼠胚胎成纤维细胞中, Nrf2的过表达会

■**创新盘点**
目前多数文献着重于Nrf2的基础实验研究, 其临床相关数据较少, 本论文着重于Nrf2在未来临床相关的应用前景.

导致TGF-β表达的显著性下降从而抑制肝纤维化[40].

4.2 酒精性肝病 近乎1/5的酗酒者最终发展为酒精性肝炎, 1/3的人发展为肝硬化[34], 酒精性肝病已成为日益关注的话题. 由于大部分酒精代谢在肝脏中进行, 肝脏成为了酒精消耗过度引发损伤的主要场所. 酒精代谢主要通过3个酶学途径: 肝细胞乙醇脱氢酶对乙醇的氧化, 细胞色素P450 2E1(CYP2E1)催化的微粒体氧化以及脂肪酸乙酯合成酶催化的非氧化性代谢. 酒精引发肝损伤的途径很多: 首先, 乙醇脱氢酶把部分酒精转化为乙醛. 乙醛的产生诱导肝星状细胞胶原Ⅰ的表达并引发纤维化[34]; 另一方面, 乙醛诱导TGF-β的表达从而促进并增强人肝星状细胞的纤维生成[41]. 此外, 乙醛产物升高引起的重要下游效应包括: GSH减少, 脂质过氧化, ROS和乙醛加合物的累积[42]. 其次, CYP2E1介导的乙醇代谢发生在慢性酒精消耗过程中, 此时乙醇脱氢酶趋近饱和, 从而生成额外的乙醛、ROS和自由基. 由于NADPH氧化酶活性显著增强, CYP2E1生成大量的O^{2-}和H_2O_2, 二者皆为ROS的组成部分并导致氧化应激. 此外, 临床研究表明慢性乙醇消耗可诱导CYP2E1, 加剧其在肝细胞内发挥的氧化应激效应[43].

在酒精性肝病的发病机制中, 由于研究结果存在分歧, Nrf2是否起主导作用尚未可知. 很多人认为在正常CYP2E1的催化周期中, Nrf2的活化在对抗ROS引起的氧化应激方面至关重要. 临床前期的研究证实乙醇诱导的CYP2E1的表达上调了Nrf2及其靶蛋白HO-1[44]. 同时该研究表明, 通过小干扰RNA沉默细胞*Nrf2*基因, 乙醇诱导的ROS生成和脂质过氧化产物增多[44]. 此外, Nrf2对抗乙醇诱导损伤的最有力证据可能来自于*Nrf2*基因敲除鼠. 有研究表明, 当饲喂一定剂量乙醇时, 同野生型鼠相比, *Nrf2*基因敲除鼠表现出更高的肝脏相关死亡率[45]. 乙醇对于*Nrf2*基因敲除鼠的损害表现在脂肪生成增加, 细胞和线粒体内的谷胱甘肽减少以及Kupffer细胞介导的炎症反应增强[45]. 此外, 最近研究表明, Nrf2的活化会诱导参与磷酸戊糖途径(细胞产生NADPH的主要来源)的酶的基因编码, 从而导致*Nrf2*基因敲除鼠肝脏内NADPH浓度较低而无法抵御氧化应激损伤[46]. 该研究强有力指出Nrf2在乙醇引起的氧化应激中起保护作用. 然而, 有相对的研究认为尽管HO-1在保护机制中至关重要, 损伤期间HO-1的诱导机制独立于Nrf2. 其中一项研究显示长期饲喂乙醇的大鼠肝Nrf2表达降低[47]. ATF4作为AREs的另一调控因子, 可上调对抗氧化应激基因的表达[47]. Yeligar等[48]认为在Kupffer细胞中乙醇介导产生的HO-1主要由低氧诱导因子-1α调控而非Nrf2.

总之, 由于Nrf2药物激动剂并未作为一个预防该病的手段而试用于任何动物模型, 因此在缓解酒精性肝病这一领域的研究有待深入.

4.3 DILI 异生物由于其毒性不同可导致多种方式的肝损伤. 总体而言, 他们可通过活化Kupffer细胞或引起组织直接损伤从而引发肝脏一系列炎症反应, 包括: 活性中间体的形成, 蛋白加合物累积, 以及药物代谢酶的改变. 这一中间产物介导的毒性反应最终引发共价键结合, 脂质过氧化进而导致氧化应激.

N-乙酰对氨基酚(N-acetyl-p-aminophenol, APAP)在全世界广泛用于镇痛和退热, 是美国引发急性肝衰的主要原因, 他亦成为研究DILI潜在机制的模式药物. APAP的代谢导致高活性电子体的生成, 谷胱甘肽减少, 蛋白加合物生成以及氧化应激. APAP毒性反应产生的氧化应激暗示Nrf2在这一过程中的作用. 研究证实, 暴露在APAP下, 同野生型鼠相比*Nrf2*基因敲除鼠表现出更为严重的肝损伤和较高的死亡率[49-51], 野生型鼠Nrf2核转位速率提高了60 min[52]. 并且, Nrf2的激活物CDDO-Im通过诱导HO-1、Nqo1和谷氨酸-半胱氨酸连接酶保护野生型鼠免受APAP肝毒性损伤[16]. 此外, Keap-1敲除鼠肝脏呈现较高浓度的NADPH, 有助于机体防御氧化应激[46]. Wu等研究表明APAP毒性亦诱导肝细胞膜转运蛋白Mrp2、Mrp3和Mrp4的表达且与Nrf2关系密切[50,53], 提示他们在APAP解毒或代谢中十分重要. 除此之外, 最近研究显示, *Nrf2*基因敲除鼠更易遭受1-溴丙烷攻击导致肝细胞毒性[54]. 该化学物质诱发的肝细胞毒性反应包括: 谷胱甘肽减少, 丙二醛水平升高(脂质过氧化产物). 以上研究表明, Nrf2的激活可能潜在保护肝脏抵御DILI, 但更多研究有待证实这一假设.

5 结论

线粒体是ROS产生的主要场所之一, 肝脏富含线粒体因此极易遭受活性氧族的攻击从而引发氧化应激. Nrf2在肝细胞的保护和各项解毒酶的诱导表达中起关键作用, 可有效降低肝脏氧化应激的敏感性, 维持肝脏稳定的生理功能. 故有待更深入研究, 为临床治疗肝脏疾病提供新靶点.

6 参考文献

1 Moi P, Chan K, Asunis I, Cao A, Kan YW. Isolation of NF-E2-related factor 2 (Nrf2), a NF-E2-like basic leucine zipper transcriptional activator that binds to the tandem NF-E2/AP1 repeat of the beta-globin locus control region. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994; 91: 9926-9930 [PMID: 7937919 DOI: 10.1073/pnas.91.21.9926]

2 Aleksunes LM, Manautou JE. Emerging role of Nrf2 in protecting against hepatic and gastrointestinal disease. *Toxicol Pathol* 2007; 35: 459-473 [PMID: 17562481 DOI: 10.1080/01926230701311344]

3 Itoh K, Wakabayashi N, Katoh Y, Ishii T, Igarashi K, Engel JD, Yamamoto M. Keap1 represses nuclear activation of antioxidant responsive elements by Nrf2 through binding to the amino-terminal Neh2 domain. *Genes Dev* 1999; 13: 76-86 [PMID: 9887101 DOI: 10.1101/gad.13.1.76]

4 Kobayashi M, Yamamoto M. Molecular mechanisms activating the Nrf2-Keap1 pathway of antioxidant gene regulation. *Antioxid Redox Signal* 2005; 7: 385-394 [PMID: 15706085 DOI: 10.1089/ars.2005.7.385]

5 Itoh K, Tong KI, Yamamoto M. Molecular mechanism activating Nrf2-Keap1 pathway in regulation of adaptive response to electrophiles. *Free Radic Biol Med* 2004; 36: 1208-1213 [PMID: 15110385 DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2004.02.075]

6 Venugopal R, Jaiswal AK. Nrf2 and Nrf1 in association with Jun proteins regulate antioxidant response element-mediated expression and coordinated induction of genes encoding detoxifying enzymes. *Oncogene* 1998; 17: 3145-3156 [PMID: 9872330 DOI: 10.1038/sj.onc.1202237]

7 Venugopal R, Jaiswal AK. Nrf1 and Nrf2 positively and c-Fos and Fra1 negatively regulate the human antioxidant response element-mediated expression of NAD(P)H: quinone oxidoreductase1 gene. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996; 93: 14960-14965 [PMID: 8962164 DOI: 10.1073/pnas.93.25.14960]

8 Rolo AP, Teodoro JS, Palmeira CM. Role of oxidative stress in the pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis. *Free Radic Biol Med* 2012; 52: 59-69 [PMID: 22064361 DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2011.10.003]

9 Aldaba-Muruato LR, Moreno MG, Shibayama M, Tsutsumi V, Muriel P. Protective effects of allopurinol against acute liver damage and cirrhosis induced by carbon tetrachloride: modulation of NF-κB, cytokine production and oxidative stress. *Biochim Biophys Acta* 2012; 1820: 65-75 [PMID: 22056511]

10 Ivanov AV, Smirnova OA, Ivanova ON, Masalova OV, Kochetkov SN, Isaguliants MG. Hepatitis C virus proteins activate NRF2/ARE pathway by distinct ROS-dependent and independent mechanisms in HUH7 cells. *PLoS One* 2011; 6: e24957 [PMID: 21931870 DOI: 10.1371/journal.pone.0024957]

11 Hagen TM, Huang S, Curnutte J, Fowler P, Martinez V, Wehr CM, Ames BN, Chisari FV. Extensive oxidative DNA damage in hepatocytes of transgenic mice with chronic active hepatitis destined to develop hepatocellular carcinoma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994; 91: 12808-12812 [PMID: 7809125 DOI: 10.1073/pnas.91.26.12808]

12 Chan JY, Kwong M. Impaired expression of glutathione synthetic enzyme genes in mice with targeted deletion of the Nrf2 basic-leucine zipper protein. *Biochim Biophys Acta* 2000; 1517: 19-26 [PMID: 11118612 DOI: 10.1016/S0167-4781(00)00238-4]

13 Chanas SA, Jiang Q, McMahon M, McWalter GK, McLellan LI, Elcombe CR, Henderson CJ, Wolf CR, Moffat GJ, Itoh K, Yamamoto M, Hayes JD. Loss of the Nrf2 transcription factor causes a marked reduction in constitutive and inducible expression of the glutathione S-transferase Gsta1, Gsta2, Gstm1, Gstm2, Gstm3 and Gstm4 genes in the livers of male and female mice. *Biochem J* 2002; 365: 405-416 [PMID: 11991805 DOI: 10.1042/BJ20020320]

14 Gong P, Stewart D, Hu B, Li N, Cook J, Nel A, Alam J. Activation of the mouse heme oxygenase-1 gene by 15-deoxy-Delta(12,14)-prostaglandin J(2) is mediated by the stress response elements and transcription factor Nrf2. *Antioxid Redox Signal* 2002; 4: 249-257 [PMID: 12006176 DOI: 10.1089/152308602753666307]

15 Ishii T, Itoh K, Takahashi S, Sato H, Yanagawa T, Katoh Y, Bannai S, Yamamoto M. Transcription factor Nrf2 coordinately regulates a group of oxidative stress-inducible genes in macrophages. *J Biol Chem* 2000; 275: 16023-16029 [PMID: 10821856 DOI: 10.1074/jbc.275.21.16023]

16 Reisman SA, Buckley DB, Tanaka Y, Klaassen CD. CDDO-Im protects from acetaminophen hepatotoxicity through induction of Nrf2-dependent genes. *Toxicol Appl Pharmacol* 2009; 236: 109-114 [PMID: 19371629 DOI: 10.1016/j.taap.2008.12.024]

17 Liu M, Grigoryev DN, Crow MT, Haas M, Yamamoto M, Reddy SP, Rabb H. Transcription factor Nrf2 is protective during ischemic and nephrotoxic acute kidney injury in mice. *Kidney Int* 2009; 76: 277-285 [PMID: 19436334 DOI: 10.1038/ki.2009.157]

18 Córdova EJ, Velázquez-Cruz R, Centeno F, Baca V, Orozco L. The NRF2 gene variant, -653G/A, is associated with nephritis in childhood-onset systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2010; 19: 1237-1242 [PMID: 20507872 DOI: 10.1177/0961203310367917]

19 Liu J, Gu X, Robbins D, Li G, Shi R, McCord JM, Zhao Y. Protandim, a fundamentally new antioxidant approach in chemoprevention using mouse two-stage skin carcinogenesis as a model. *PLoS One* 2009; 4: e5284 [PMID: 19384424 DOI: 10.1371/journal.pone.0005284]

20 Kim YR, Oh JE, Kim MS, Kang MR, Park SW, Han JY, Eom HS, Yoo NJ, Lee SH. Oncogenic NRF2 mutations in squamous cell carcinomas of oesophagus and skin. *J Pathol* 2010; 220: 446-451 [PMID: 19967722 DOI: 10.1002/path.2653]

21 Pergola PE, Raskin P, Toto RD, Meyer CJ, Huff JW, Grossman EB, Krauth M, Ruiz S, Audhya P, Christ-Schmidt H, Wittes J, Warnock DG. Bardoxolone methyl and kidney function in CKD with type 2 diabetes. *N Engl J Med* 2011; 365: 327-336 [PMID: 21699484 DOI: 10.1159/000327599]

22 de Zeeuw D, Akizawa T, Audhya P, Bakris GL, Chin M, Christ-Schmidt H, Goldsberry A, Houser M, Krauth M, Lambers Heerspink HJ, McMurray JJ, Meyer CJ, Parving HH, Remuzzi G, Toto RD, Vaziri ND, Wanner C, Wittes J, Wrolstad D, Chertow GM. Bardoxolone methyl in type 2 diabetes and stage 4 chronic kidney disease. *N Engl J Med* 2013; 369: 2492-2503 [PMID: 24206459]

23 Rogacev KS, Bittenbring JT, Fliser D. Bardoxolone methyl, chronic kidney disease, and type 2 diabe-

■应用要点

目前临床治疗肝功能损伤药物有限, 鉴于氧化应激的重要地位, 通过研究Nrf2激动剂在肝病领域的研究, 可为临床提供新靶点.

■同行评价
本文较清楚地概述了Nrf2及激动剂，明确了氧化应激在肝脏疾病中的重要作用，为临床治疗肝脏疾病提供了新思路、新靶点，语言通顺，思路明晰，参考价值较高.

tes. *N Engl J Med* 2011; 365: 1745-1746; author reply 1745-1746 [PMID: 22047579]
24 Upadhyay A, Sarnak MJ, Levey AS. Bardoxolone methyl, chronic kidney disease, and type 2 diabetes. *N Engl J Med* 2011; 365: 1746; author reply 1746-1747 [PMID: 22047580]
25 McMahon GM, Forman JP. Bardoxolone methyl, chronic kidney disease, and type 2 diabetes. *N Engl J Med* 2011; 365: 1746; author reply 1746-1747 [PMID: 22047581]
26 Wu QQ, Wang Y, Senitko M, Meyer C, Wigley WC, Ferguson DA, Grossman E, Chen J, Zhou XJ, Hartono J, Winterberg P, Chen B, Agarwal A, Lu CY. Bardoxolone methyl (BARD) ameliorates ischemic AKI and increases expression of protective genes Nrf2, PPARγ, and HO-1. *Am J Physiol Renal Physiol* 2011; 300: F1180-F1192 [PMID: 21289052 DOI: 10.1152/ajprenal.00353.2010]
27 Koo SH. Nonalcoholic fatty liver disease: molecular mechanisms for the hepatic steatosis. *Clin Mol Hepatol* 2013; 19: 210-215 [PMID: 24133660 DOI: 10.3350/cmh.2013.19.3.210]
28 Begriche K, Igoudjil A, Pessayre D, Fromenty B. Mitochondrial dysfunction in NASH: causes, consequences and possible means to prevent it. *Mitochondrion* 2006; 6: 1-28 [PMID: 16406828 DOI: 10.1016/j.mito.2005.10.004]
29 Marí M, Caballero F, Colell A, Morales A, Caballeria J, Fernandez A, Enrich C, Fernandez-Checa JC, García-Ruiz C. Mitochondrial free cholesterol loading sensitizes to TNF- and Fas-mediated steatohepatitis. *Cell Metab* 2006; 4: 185-198 [PMID: 16950136 DOI: 10.1016/j.cmet.2006.07.006]
30 Houstis N, Rosen ED, Lander ES. Reactive oxygen species have a causal role in multiple forms of insulin resistance. *Nature* 2006; 440: 944-948 [PMID: 16612386 DOI: 10.1038/nature04634]
31 Pan M, Cederbaum AI, Zhang YL, Ginsberg HN, Williams KJ, Fisher EA. Lipid peroxidation and oxidant stress regulate hepatic apolipoprotein B degradation and VLDL production. *J Clin Invest* 2004; 113: 1277-1287 [PMID: 15124019]
32 Nobili V, Pastore A, Gaeta LM, Tozzi G, Comparcola D, Sartorelli MR, Marcellini M, Bertini E, Piemonte F. Glutathione metabolism and antioxidant enzymes in patients affected by nonalcoholic steatohepatitis. *Clin Chim Acta* 2005; 355: 105-111 [PMID: 15820484 DOI: 10.1016/j.cccn.2004.12.022]
33 Videla LA, Rodrigo R, Orellana M, Fernandez V, Tapia G, Quiñones L, Varela N, Contreras J, Lazarte R, Csendes A, Rojas J, Maluenda F, Burdiles P, Diaz JC, Smok G, Thielemann L, Poniachik J. Oxidative stress-related parameters in the liver of non-alcoholic fatty liver disease patients. *Clin Sci* (Lond) 2004; 106: 261-268 [PMID: 14556645]
34 Arias I. The Liver: Biology and Pathobiology. 5th ed. Wiley and Sons: Hoboken, NJ: 2009
35 Sugimoto H, Okada K, Shoda J, Warabi E, Ishige K, Ueda T, Taguchi K, Yanagawa T, Nakahara A, Hyodo I, Ishii T, Yamamoto M. Deletion of nuclear factor-E2-related factor-2 leads to rapid onset and progression of nutritional steatohepatitis in mice. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2010; 298: G283-G294 [PMID: 19926817 DOI: 10.1152/ajpgi.00296.2009]
36 Shin S, Wakabayashi J, Yates MS, Wakabayashi N, Dolan PM, Aja S, Liby KT, Sporn MB, Yamamoto M, Kensler TW. Role of Nrf2 in prevention of high-fat diet-induced obesity by synthetic triterpenoid CDDO-imidazolide. *Eur J Pharmacol* 2009; 620: 138-144 [PMID: 19698707 DOI: 10.1016/j.ejphar.2009.08.022]
37 Wakabayashi N, Slocum SL, Skoko JJ, Shin S, Kensler TW. When NRF2 talks, who's listening? *Antioxid Redox Signal* 2010; 13: 1649-1663 [PMID: 20367496 DOI: 10.1089/ars.2010.3216]
38 Nelson SK, Bose SK, Grunwald GK, Myhill P, McCord JM. The induction of human superoxide dismutase and catalase in vivo: a fundamentally new approach to antioxidant therapy. *Free Radic Biol Med* 2006; 40: 341-347 [PMID: 16413416 DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2005.08.043]
39 Oh CJ, Kim JY, Min AK, Park KG, Harris RA, Kim HJ, Lee IK. Sulforaphane attenuates hepatic fibrosis via NF-E2-related factor 2-mediated inhibition of transforming growth factor-β/Smad signaling. *Free Radic Biol Med* 2012; 52: 671-682 [PMID: 22155056 DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2011.11.012]
40 Choi HK, Pokharel YR, Lim SC, Han HK, Ryu CS, Kim SK, Kwak MK, Kang KW. Inhibition of liver fibrosis by solubilized coenzyme Q10: Role of Nrf2 activation in inhibiting transforming growth factor-beta1 expression. *Toxicol Appl Pharmacol* 2009; 240: 377-384 [PMID: 19647758 DOI: 10.1016/j.taap.2009.07.030]
41 Svegliati-Baroni G, Inagaki Y, Rincon-Sanchez AR, Else C, Saccomanno S, Benedetti A, Ramirez F, Rojkind M. Early response of alpha2(I) collagen to acetaldehyde in human hepatic stellate cells is TGF-beta independent. *Hepatology* 2005; 42: 343-352 [PMID: 16025520 DOI: 10.1002/hep.20798]
42 Dey A, Cederbaum AI. Alcohol and oxidative liver injury. *Hepatology* 2006; 43: S63-S74 [PMID: 16447273 DOI: 10.1002/hep.20957]
43 Girre C, Lucas D, Hispard E, Menez C, Dally S, Menez JF. Assessment of cytochrome P4502E1 induction in alcoholic patients by chlorzoxazone pharmacokinetics. *Biochem Pharmacol* 1994; 47: 1503-1508 [PMID: 7910460 DOI: 10.1016/0006-2952(94)90524-X]
44 Gong P, Cederbaum AI. Nrf2 is increased by CYP2E1 in rodent liver and HepG2 cells and protects against oxidative stress caused by CYP2E1. *Hepatology* 2006; 43: 144-153 [PMID: 16374848 DOI: 10.1002/hep.21004]
45 Lamlé J, Marhenke S, Borlak J, von Wasielewski R, Eriksson CJ, Geffers R, Manns MP, Yamamoto M, Vogel A. Nuclear factor-eythroid 2-related factor 2 prevents alcohol-induced fulminant liver injury. *Gastroenterology* 2008; 134: 1159-1168 [PMID: 18395094 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.01.011]
46 Wu KC, Cui JY, Klaassen CD. Beneficial role of Nrf2 in regulating NADPH generation and consumption. *Toxicol Sci* 2011; 123: 590-600 [PMID: 21775727 DOI: 10.1093/toxsci/kfr183]
47 Bardag-Gorce F, Oliva J, Lin A, Li J, French BA, French SW. Proteasome inhibitor up regulates liver antioxidative enzymes in rat model of alcoholic liver disease. *Exp Mol Pathol* 2011; 90: 123-130 [PMID: 21036165 DOI: 10.1016/j.yexmp.2010.10.013]
48 Yeligar SM, Machida K, Kalra VK. Ethanol-induced HO-1 and NQO1 are differentially regulated by HIF-1alpha and Nrf2 to attenuate inflammatory cytokine expression. *J Biol Chem* 2010; 285: 35359-35373 [PMID: 20833713 DOI: 10.1074/jbc.M110.138636]

49 Enomoto A, Itoh K, Nagayoshi E, Haruta J, Kimura T, O'Connor T, Harada T, Yamamoto M. High sensitivity of Nrf2 knockout mice to acetaminophen hepatotoxicity associated with decreased expression of ARE-regulated drug metabolizing enzymes and antioxidant genes. *Toxicol Sci* 2001; 59: 169-177 [PMID: 11134556 DOI: 10.1093/toxsci/59.1.169]
50 Aleksunes LM, Slitt AL, Maher JM, Augustine LM, Goedken MJ, Chan JY, Cherrington NJ, Klaassen CD, Manautou JE. Induction of Mrp3 and Mrp4 transporters during acetaminophen hepatotoxicity is dependent on Nrf2. *Toxicol Appl Pharmacol* 2008; 226: 74-83 [PMID: 17935745 DOI: 10.1016/j.taap.2007.08.022]
51 Chan K, Han XD, Kan YW. An important function of Nrf2 in combating oxidative stress: detoxification of acetaminophen. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; 98: 4611-4616 [PMID: 11287661 DOI: 10.1073/pnas.081082098]
52 Goldring CE, Kitteringham NR, Elsby R, Randle LE, Clement YN, Williams DP, McMahon M, Hayes JD, Itoh K, Yamamoto M, Park BK. Activation of hepatic Nrf2 in vivo by acetaminophen in CD-1 mice. *Hepatology* 2004; 39: 1267-1276 [PMID: 15122755 DOI: 10.1002/hep.20183]
53 Maher JM, Dieter MZ, Aleksunes LM, Slitt AL, Guo G, Tanaka Y, Scheffer GL, Chan JY, Manautou JE, Chen Y, Dalton TP, Yamamoto M, Klaassen CD. Oxidative and electrophilic stress induces multidrug resistance-associated protein transporters via the nuclear factor-E2-related factor-2 transcriptional pathway. *Hepatology* 2007; 46: 1597-1610 [PMID: 17668877 DOI: 10.1002/hep.21831]
54 Liu F, Ichihara S, Valentine WM, Itoh K, Yamamoto M, Sheik Mohideen S, Kitoh J, Ichihara G. Increased susceptibility of Nrf2-null mice to 1-bromopropane-induced hepatotoxicity. *Toxicol Sci* 2010; 115: 596-606 [PMID: 20211940 DOI: 10.1093/toxsci/kfq075]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



世界华人消化杂志 2014年4月28日; 22(12): 1658-1662
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

文献综述 REVIEW

重型急性胰腺炎肠内营养的临床应用进展

罗旭娟, 彭 燕

■背景资料
肠内营养(enteral-nutrition, EN)能可显著降低重型急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)患者的感染率、病死率, 不仅是一种营养支持方式, 更是治疗SAP的重要措施, EN在SAP中的应用逐渐受到重视.

罗旭娟, 彭燕, 泸州医学院附属医院消化内科 四川省泸州市 646000
罗旭娟, 硕士研究生, 主要从事急性胰腺炎的研究.
作者贡献分布: 本文由罗旭娟完成; 彭燕审校.
通讯作者: 彭燕, 教授, 主任医师, 646000, 四川省泸州市江阳区太平街25号, 泸州医学院附属医院消化内科.
1806857826@qq.com
电话: 0830-3165331
收稿日期: 2014-02-11 修回日期: 2014-03-19
接受日期: 2014-03-31 在线出版日期: 2014-04-28

Enteral nutrition in severe acute pancreatitis

Xu-Juan Luo, Yan Peng

Xu-Juan Luo, Yan Peng, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, Luzhou 646000, Sichuan Province, China
Correspondence to: Yan Peng, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, 25 Taiping Road, Jiangyang District, Luzhou 646000, Sichuan Province, China. 1806857826@qq.com
Received: 2014-02-11 Revised: 2014-03-19
Accepted: 2014-03-31 Published online: 2014-04-28

Abstract
Severe acute pancreatitis (SAP) patients often have high catabolism, negative nitrogen balance and high energy consumption, and the degree of negative nitrogen balance is directly related to the severity of the disease. The purpose of nutritional support is to establish positive nitrogen balance. In nearly a decade, evidence-based evidence suggests that enteral nutrition can reduce the incidence of pancreatic infection, organ failure and mortality. Enteral nutrition is not only a way of nutritional support, but also for the treatment of SAP. However, there are some debates over the timing, ways, nutrient solution composition and the use of ecological immune preparations. In this review, we focus on the proper timing, way and nutrient solution composition of EN.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Severe acute pancreatitis; Enteral nutrition

Luo XJ, Peng Y. Enteral nutrition in severe acute pancreatitis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(12): 1658-1662 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1658.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i12.1658

摘要
重型急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)患者处于高分解代谢的状态, 能量消耗大, 机体呈负氮平衡, 而负氮平衡的程度直接关系到疾病的严重程度. 营养支持的目的是建立积极的氮平衡. 近十年来的循证医学证据表明肠内营养可降低胰腺感染、器官功能衰竭的发生率和病死率. 肠内营养(enteral nutrition, EN)不仅是一种营养支持方式, 更是治疗SAP的重要措施. 但对于EN开始的时机、途径、营养液成分及生态免疫制剂的使用等方面却一直存在争论. 本文就EN开始的时间、方式及营养液成分等方面作一综述.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 重型急性胰腺炎; 肠内营养

核心提示: 本文重点探讨鼻胃管肠内营养(enteral nutrition)在重型急性胰腺炎(severe acute pancreatitis)治疗中的作用以及生态免疫制剂的应用, 以指导临床实践.

罗旭娟, 彭燕. 重型急性胰腺炎肠内营养的临床应用进展. 世界华人消化杂志 2014; 22(12): 1658-1662 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1658.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i12.1658

0 引言
大量研究显示重型急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)患者处于高分解代谢的应激状态, 特别是蛋白质的分解代谢显著增强, 使机体负氮平衡增加, 容易引起营养不良、感染率增加, 使病情进一步恶化, 因此营养支持治疗在SAP患者治疗中起着关键的作用[1-6]. 随着对SAP研究的深入, 营养支持方式已逐渐从肠外营养(parenteral nutrition, PN)向肠内营养(enteral nutrition,

■同行评议者
郝丽萍, 副教授, 华中科技大学同济医学院公共卫生学院营养与食品卫生学系

EN)转变. 国内外对于EN在SAP患者中的应用已经做了大量临床研究, 但对于EN开始的时机、途径以及EN制剂等方面却一直存在争论[4,7]. 本文就近年EN在SAP患者中的应用进展及相关问题作如下概述.

1 PN与EN

1.1 PN PN是指经静脉途径供给营养对患者进行营养支持. 对需要营养支持的SAP患者, 应用PN不刺激胰腺分泌, 能使胰腺得到充分“休息”. PN方便快捷, 通常SAP一经确诊, PN即可实施. 长期以来PN一直作为SAP营养支持的标准治疗措施. 近年来研究发现, PN容易引起肠道黏膜屏障功能受损致肠道细菌移位, 而增加肠源性感染的风险[8-12]. 据统计在SAP中感染相关并发症造成的死亡人数占总死亡人数的80%, 肠源性感染是其主要原因[13,14].

1.2 EN EN即是经胃肠道提供代谢需要的营养物质及其他各种营养素, 以保证患者能摄入足够蛋白质与热量的临床治疗方法. 与PN相比, EN更符合人的生理过程, 能够促进肠道蠕动, 维持肠道黏膜屏障功能的完整性, 使肠道细菌移位发生率降低[15-19]. Singh等[8]对SAP患者进行PN与EN的随机对照实验结果显示EN组感染率、病死率、治愈率分别是39.4%、12.7%、81.7%, 而PN组为66.1%、30.5%、59.3%, EN组住院时间明显缩短, 住院费用明显减少, 两组差异具有显著性. Quan等[20]的Meta分析结果同样显示, SAP患者应用EN的感染性并发症发生率、病死率、手术干预率、住院时间、住院费用等明显低于PN. 故认为SAP患者应用EN相较PN而言可显著降低感染并发症的发生, 降低死亡率[21,22].

2 EN时机的选择

SAP患者EN开始的最佳时间一直以来都是国内外研究争论的焦点. 我国在20世纪90年代中期, 因担心EN会刺激胰腺分泌加重病情, 故EN开始时间较迟, 主要集中在发病后1-2 wk. 到90年代末期, 陈丽莉等[23]通过空肠造瘘管对SAP术后患者实施EN, 将术后3-4 d开始EN的早期组与术后7 d开始EN的后期组患者进行对比, 结果显示早期组血浆白蛋白值升高较快、低蛋白血症的纠正比后期组早, 提出早期实施EN的安全性和可行性, 且早期EN可提高治愈率. 随着SAP诊疗技术的提高, 目前多主张入院后1-2 d开始行肠内营养[24]. Li等[25]对775例48 h内实施EN的SAP患者进行荟萃分析指出, SAP患者在入院48 h内施行EN可显著降低感染率、病死率、缩短住院时间、减少高血糖症的发生. 陈素梅等[26]的分析结果显示入院24 h后开始EN可显著降低感染、器官衰竭和死亡的发生率, 入院48 h内EN可明显降低手术、器官衰竭和死亡率. 在SAP患者胃肠道功能未恢复或腹胀、腹痛症状较重时, 可采用PN维持能量平衡, 待患者胃肠动力能够耐受后, 应尽早(发病48 h内)实施EN[26-28].

3 EN途径的选择

EN途径包括口服及经导管输入两种方式, 其中经导管输入包括鼻胃管、鼻空肠管、经皮胃造口术、经皮空肠造口术等[29]. SAP患者主要采用经导管方式输入. 因胰液的分泌主要靠胃肠激素来调节, 根据食物的刺激部位, 胰腺外分泌分为头相、胃相和肠相. 头相由食物的视觉、嗅觉等引发, 经迷走神经介导. 胃相胰液分泌由食物的扩张、胃酸分泌引起. 肠相是胰液分泌的主要部分, 约占整个消化期胰液分泌量的70%. 食物和胃酸进入十二指肠后发生, 食糜中的某些成分可刺激多种胃肠激素释放, 其中促胰泌素是促进胰液分泌的主要物质, 分别由十二指肠、空肠的S细胞和I细胞分泌, 且由十二指肠到空肠逐渐减少, 远端空肠分泌极少. 故从理论上分析, 营养素经由空肠远端输入, 可使胰腺分泌胰液降低到最低限度. 过去认为将鼻饲管置于空肠远端(Treitz韧带30 cm以下)在保证EN进行的同时可以有效减少胰腺的分泌, 而鼻胃管却会增加吸入性肺炎发生率和增加胰腺分泌的风险, 因此鼻空肠管一直被认为是SAP患者进行短期EN(2-3 wk)的最佳方式. 新的研究发现: 急性胰腺炎时胰腺的分泌功能发生了改变, 主要表现在外分泌功能受到抑制, 即当食物经过十二指肠甚至胃时, 可能对胰腺的分泌功能影响较小. 鉴于上述发现, 近年来国外一些学者对鼻胃管EN在重症急性胰腺炎患者中的临床疗效作了相关研究. Petrov等[30-32]经回顾分析鼻胃管在SAP患者中应用的研究提出, 相比鼻空肠管, 经鼻胃管途径进行EN对于SAP患者同样安全有效, 不会增加患者的病死率. Eatock等[33]通过SAP患者鼻胃管EN与鼻空肠管EN的随机对照实验表明, 鼻胃管EN与鼻空肠管EN在病死率、住院时间、并发症发生率、多器官功能衰竭发生率、入住ICU率、手术干预率、营养相关性疼痛及营养相关性不良事件等方面均无显著差异. 在

■研发前沿
根据EN对SAP治疗中的有效性, 探讨EN开始的最佳时间、方式及生态免疫制剂的应用等, 以提高SAP的治愈率.

■相关报道
近年来研究发现, EN可降低SAP患者的感染率、病死率、缩短住院时间、减少住院费用等, 但对于EN开始的时机、方式、营养制剂的选择等方面尚存在一定争论. 因此, 还需对EN在SAP中的应用进行大量研究, 以指导临床实践.

SAP患者中应用鼻胃管进行EN比鼻空肠管同样安全有效[34,35]. 近来, Singh等[36]的研究同样显示鼻胃管EN不会增加任何感染性并发症的发生率, 在住院时间、营养相关疼痛、肠道渗透性及内毒素的测定上, 两组结果相似, 鼻胃管EN并不次于鼻空肠管EN. Chang等[37]也指出SAP患者通过鼻胃管进行EN不仅安全有效, 患者也能很好的耐受. 相较鼻空肠管而言, 通过鼻胃管进行EN方便快捷, 床边即可进行, 不需要内镜或X线等技术、设备的介入, 价格相对便宜, 实用性更强, 更容易被患者及临床医生接受. 美国胃肠病学会[38]已将经鼻胃管与经鼻空肠进行肠内营养同样安全有效这一观点立入SAP治疗的实践指南指导临床应用. 故认为鼻胃管有替代鼻空肠管进行EN的可能性, 但还需大量高质量大样本的随机对照实验对其进行研究.

4 EN制剂的选择

4.1 分类及其特点 EN制剂根据氮源的来源分为氨基酸型、短肽型、整蛋白型3大类[39]. 氨基酸型、短肽型: 以蛋白水解物为氮源的主要来源, 两者均只需很少的消化过程就能被患者吸收, 适用于胃肠道功能受限的患者. 但氨基酸型比短肽型制剂渗透压高, 可使胃肠道分泌大量的水分, 引起患者腹胀、腹泻、腹痛、恶心、呕吐等不适. 而短肽型制剂, 渗透压与接近正常体液渗透压, 患者能很好地耐受, 能够有效促进SAP患者能量状况的恢复. 整蛋白型: 氮源来源以整蛋白和蛋白质游离物为主, 主要用于胃肠道功能较好的患者[40]. 整蛋白组与短肽组相比营养液引发的腹泻发生率并没有区别, 同时这两组之间热量与蛋白的摄入量也并没有区别,但短肽型费用较高[35]. 因此对于SAP患者EN早期应使用易于吸收的短肽型制剂, 待肠功能恢复后, 可考虑使用整蛋白型制剂.

4.2 生态免疫制剂 因谷氨酰胺、精氨酸、可溶性膳食纤维、益生元、益生素等有利于维护肠黏膜结构、减少细菌移位、控制全身炎症反应和避免肠源性败血症发生, 因此是否在SAP患者应用EN时添加这些特殊物质, 特别是谷氨酰胺及益生菌的补充成为近年来研究的热点.

谷氨酰胺在创伤、应激等情况下具有保护消化道黏膜的完整性、下调炎性介质表达, 是应激状态下胃肠道细胞重要的代谢燃料, 所有快速增殖的细胞都非常依赖谷氨酰胺作为能量的来源[41,42]. 虽然谷氨酰胺是一种非必需氨基酸, 但在机体遭受应激创伤后, 组织分解代谢增强, 谷氨酰胺消耗增加, 体内谷氨酰胺急剧下降, 从而导致以谷氨酰胺为主要燃料的肠黏膜细胞和免疫细胞发生功能障碍, 从而使细菌及内毒素移位, 导致脓毒血症和多器官功能障碍的发生[43]. 吕晓芳等[42]的随机对照研究结果示EN加谷氨酰胺组在第7、14天白蛋白和转铁蛋白含量显著高于EN组, 其负氮平衡纠正幅度亦大于EN组, 重症监护时间及出院时间均缩短, 差异具有显著性. 在SAP患者进行EN时, 添加谷氨酰胺能改善患者的营养和免疫状况, 保护肠道黏膜屏障, 从而降低感染并发症的发现率[42-46].

益生菌可改善宿主肠道菌群生态平衡, 通过减少小肠细菌的过度生长, 预防感染的发生, 恢复肠道屏障功能, 调节免疫系统而发挥有益作用. Cui等[47]的随机对照研究指出添加益生菌的EN组患者在减少促炎性细胞因子的产生、缩短胃肠道功能恢复时间、减少感染并发生及缩短住院时间方面显示出很大的优势. 但益生菌应用于SAP患者还存在一定争议, Besselink等[48]对298例SAP患者进行多中心随机双盲对照临床试验表明, 益生菌组中胰腺感染率为30%, 对照组为28%; 益生菌组死亡率为16%, 对照组为6%, 研究表明, SAP患者预防使用益生菌并没有减少感染并发症的发生, 反而引起肠缺血和增加死亡的风险. Sharma等[49]对50例SAP患者进行随机双盲对照试验显示, 益生菌组和对照组在住院时间、重症监护室停留时间和死亡率均无明显差异. 且对于SAP患者开始益生菌的最佳应用时间也尚未明确. 故认为目前还无法评估益生菌对SAP患者治疗的有效性, 还需大规模人群和长期的随机临床试验研究和临床循证医学研究.

5 EN的临床应用现状

虽然EN在SAP患者治疗的有效性和安全性已被大量的动物实验及临床实验证实, 但大部分临床医生在SAP患者选择营养支持时还是轻EN而重PN. Sun等[50]的调查发现, 临床内科医生中有43.3%在选择营养支持时使用PN, 而只有36.5%的医生会选择EN, 差异具有显著性. 究其原因, 可能存在以下几点: (1)患者不愿意安置EN管; (2)临床医生的偏好及习惯, EN治疗观念还没有深入人心[51]; (3)PN相对EN实施起来更方便, 不需要内镜及X线等技术设备的介入便可完成. 因此, 需要加强医务人员对于EN知识的培训, 提高置管操作人员的技术, 尽量减少患者因置管带

来的痛苦.

6 结论

EN作为一种新的治疗SAP的临床治疗方法, 越来越受到临床医生的重视, EN干预治疗SAP在降低感染发生率、住院时间和住院费用, 降低患者的病死率等方面已基本得到临床医生的共识. 但对于营养方式方面还有待于进一步研究, 关于鼻胃管是否可以替代鼻空肠管对SAP患者进行EN, 目前国内鲜有相关报道.

7 参考文献

1 Gustin D. [The role of nutrition support in acute pancreatitis]. *Lijec Vjesn* 2009; 131 Suppl 3: 3-5 [PMID: 23120841]
2 何文华, 吕农华. 急性胰腺炎的肠内营养. 中华消化杂志 2013; 33: 740-742
3 Ong JP, Fock KM. Nutritional support in acute pancreatitis. *J Dig Dis* 2012; 13: 445-452 [PMID: 22908969 DOI: 10.1111/j.1751-2980.2012.00611.x]
4 Meier RF, Beglinger C. Nutrition in pancreatic diseases. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2006; 20: 507-529 [PMID: 16782526 DOI: 10.1016/j.bpg.2006.01.004]
5 Meier R, Ockenga J, Pertkiewicz M, Pap A, Milinic N, Macfie J, Löser C, Keim V. ESPEN Guidelines on Enteral Nutrition: Pancreas. *Clin Nutr* 2006; 25: 275-284 [PMID: 16678943 DOI: 10.1016/j.clnu.2006.01.019]
6 O'Keefe SJ, McClave SA. Feeding the injured pancreas. *Gastroenterology* 2005; 129: 1129-1130 [PMID: 16143153 DOI: 10.1053/j.gastro.2005.06.077]
7 陈明, 李涛, 曾贵利, 柏志齐, 陈安兵, 陈国容, 龚建平. 渐进性联合营养支持治疗在重症急性胰腺炎中的作用. 重庆医学 2013; 39: 672-674
8 Singh A, Chen M, Li T, Yang XL, Li JZ, Gong JP. Parenteral nutrition combined with enteral nutrition for severe acute pancreatitis. *ISRN Gastroenterol* 2012; 2012: 791383 [PMID: 23304538 DOI: 10.5402/2012/791383]
9 李颖, 方喜, 吴俊伟. 肠内营养对急性胰腺炎患者肠黏膜通透性及细菌移位的影响. 中国现代普通外科进展 2010; 13: 945-949
10 Wu XM, Ji KQ, Wang HY, Li GF, Zang B, Chen WM. Total enteral nutrition in prevention of pancreatic necrotic infection in severe acute pancreatitis. *Pancreas* 2010; 39: 248-251 [PMID: 19910834 DOI: 10.1097/MPA.0b013e3181bd6370]
11 Xu CF, Huang XX, Shen YZ, Wang XP, Gong L, Wang YD. [The effects of enteral nutrition versus total parenteral nutrition on gut barrier function in severe acute pancreatitis]. *Zhonghua NeiKe ZaZhi* 2011; 50: 370-373 [PMID: 21624216]
12 Al-Omran M, Albalawi ZH, Tashkandi MF, Al-Ansary LA. Enteral versus parenteral nutrition for acute pancreatitis. *Cochrane Database Syst Rev* 2010; (1): CD002837 [PMID: 20091534 DOI: 10.1002/14651858.CD002837.pub2]
13 肖帅, 刘龙飞, 孙鑫国, 李峰, 张树友. 不同时机肠内营养对重症急性胰腺炎肠源性感染的影响. 实用医学杂志 2013; 29: 45-47
14 McClave SA. Nutrition support in acute pancreatitis. *Gastroenterol Clin North Am* 2007; 36: 65-74, vi [PMID: 17472875 DOI: 10.1016/j.gtc.2007.01.002]
15 Wang G, Wen J, Xu L, Zhou S, Gong M, Wen P, Xiao X. Effect of enteral nutrition and ecoimmunonutrition on bacterial translocation and cytokine production in patients with severe acute pancreatitis. *J Surg Res* 2013; 183: 592-597 [PMID: 23726433 DOI: 10.1016/j.jss.2012.12.010]
16 Kelly DG, Fleming CR. Nutritional considerations in inflammatory bowel diseases. *Gastroenterol Clin North Am* 1995; 24: 597-611 [PMID: 8809238]
17 Silk DB. Medical management of severe inflammatory disease of the rectum: nutritional aspects. *Baillieres Clin Gastroenterol* 1992; 6: 27-41 [PMID: 1316793 DOI: 10.1016/0950-3528(92)90016-8]
18 Dervenis C. Enteral nutrition in severe acute pancreatitis: future development. *JOP* 2004; 5: 60-63 [PMID: 15007186]
19 Karakan T, Ergun M, Dogan I, Cindoruk M, Unal S. Comparison of early enteral nutrition in severe acute pancreatitis with prebiotic fiber supplementation versus standard enteral solution: a prospective randomized double-blind study. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 2733-2737 [PMID: 17569144]
20 Quan H, Wang X, Guo C. A meta-analysis of enteral nutrition and total parenteral nutrition in patients with acute pancreatitis. *Gastroenterol Res Pract* 2011; 2011: 698248 [PMID: 21687619 DOI: 10.1155/2011/698248]
21 Petrov MS, Whelan K. Comparison of complications attributable to enteral and parenteral nutrition in predicted severe acute pancreatitis: a systematic review and meta-analysis. *Br J Nutr* 2010; 103: 1287-1295 [PMID: 20370944 DOI: 10.1017/S0007114510000887]
22 Yi F, Ge L, Zhao J, Lei Y, Zhou F, Chen Z, Zhu Y, Xia B. Meta-analysis: total parenteral nutrition versus total enteral nutrition in predicted severe acute pancreatitis. *Intern Med* 2012; 51: 523-530 [PMID: 22449657 DOI: 10.2169/internalmedicine.51.6685]
23 陈丽莉, 朱捷. 急性出血坏死性胰腺炎术后早期实施肠内营养的临床研讨. 中国普外基础与临床杂志 1999; 6: 355-365
24 高晓莉, 韩芳. 急性胰腺炎的肠内营养支持进展. 肝胆外科杂志 2012; 20: 394-396
25 Li JY, Yu T, Chen GC, Yuan YH, Zhong W, Zhao LN, Chen QK. Enteral nutrition within 48 hours of admission improves clinical outcomes of acute pancreatitis by reducing complications: a meta-analysis. *PLoS One* 2013; 8: e64926 [PMID: 23762266 DOI: 10.1371/journal.pone.0064926]
26 陈素梅, 熊光苏, 吴叔明. 不同时间开始的肠外营养与肠内营养对急性胰腺炎影响的对比. 中华临床营养杂志 2012; 20: 363-368
27 中华医学会消化病学分会胰腺疾病学组, 中华胰腺病杂志编辑委员会, 中华消化杂志编辑委员会. 中国急性胰腺炎诊治指南(2013, 上海). 中华消化杂志 2013; 33: 217-220
28 Wereszczynska-Siemiatkowska U, Swidnicka-Siergiejko A, Siemiatkowski A, Dabrowski A. Early enteral nutrition is superior to delayed enteral nutrition for the prevention of infected necrosis and mortality in acute pancreatitis. *Pancreas* 2013; 42: 640-646 [PMID: 23508012 DOI: 10.1097/MPA.0b013e318271bb61]
29 郑春辉, 周希环, 陈强谱. 肠内营养置管途径及选择.

■创新盘点

目前EN作为治疗SAP的关键措施在临床上得到广泛应用, 本文重点探讨鼻胃管EN在SAP治疗中的作用以及生态免疫制剂的应用, 以指导临床实践.

■同行评价

本文重型急性胰腺炎肠内营养的临床应用进展, 对临床开展对重型急性胰腺炎的营养治疗具有一定的指导意义.

中华临床医师杂志 2012; 6: 13-16

30 Petrov MS, Correia MI, Windsor JA. Nasogastric tube feeding in predicted severe acute pancreatitis. A systematic review of the literature to determine safety and tolerance. *JOP* 2008; 9: 440-448 [PMID: 18648135]

31 Petrov MS. Moving beyond the 'pancreatic rest' in severe and critical acute pancreatitis. *Crit Care* 2013; 17: 161 [PMID: 23837725]

32 Petrov MS, Windsor JA. Nutritional management of acute pancreatitis: the concept of 'gut rousing'. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2013; 16: 557-563 [PMID: 23799325 DOI: 10.1097/MCO.0b013e3283638ed1]

33 Eatock FC, Chong P, Menezes N, Murray L, McKay CJ, Carter CR, Imrie CW. A randomized study of early nasogastric versus nasojejunal feeding in severe acute pancreatitis. *Am J Gastroenterol* 2005; 100: 432-439 [PMID: 15667504 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2005.40587.x]

34 Kumar A, Singh N, Prakash S, Saraya A, Joshi YK. Early enteral nutrition in severe acute pancreatitis: a prospective randomized controlled trial comparing nasojejunal and nasogastric routes. *J Clin Gastroenterol* 2006; 40: 431-434 [PMID: 16721226 DOI: 10.1097/00004836-200605000-00013]

35 冯淑芬, 汤绍辉, 张小娟. 鼻胃管肠内营养在重症急性胰腺炎治疗中的疗效与耐受性分析. 解放军医学杂志 2013; 38: 141-146

36 Singh N, Sharma B, Sharma M, Sachdev V, Bhardwaj P, Mani K, Joshi YK, Saraya A. Evaluation of early enteral feeding through nasogastric and nasojejunal tube in severe acute pancreatitis: a noninferiority randomized controlled trial. *Pancreas* 2012; 41: 153-159 [PMID: 21775915 DOI: 10.1097/MPA.0b013e318221c4a8]

37 Chang YS, Fu HQ, Xiao YM, Liu JC. Nasogastric or nasojejunal feeding in predicted severe acute pancreatitis: a meta-analysis. *Crit Care* 2013; 17: R118 [PMID: 23786708 DOI: 10.1186/cc12790]

38 Tenner S, Baillie J, DeWitt J, Vege SS. American College of Gastroenterology guideline: management of acute pancreatitis. *Am J Gastroenterol* 2013; 108: 1400-115; 1416 [PMID: 23896955 DOI: 10.1038/ajg.2013.218]

39 董爱莲. 肠内营养制剂在临床中的应用评价. 中国实用医药 2013; 5: 120-121

40 周旋, 于锋. 国内外肠内营养最佳组成的研究进展. 药学与临床研究 2012; 20: 435-438

41 Curi R, Lagranha CJ, Doi SQ, Sellitti DF, Procopio J, Pithon-Curi TC, Corless M, Newsholme P. Molecular mechanisms of glutamine action. *J Cell Physiol* 2005; 204: 392-401 [PMID: 15795900 DOI: 10.1002/jcp.20339]

42 吕晓芳, 方立峰, 马瑞丽, 窦胜昔, 郑权. 早期肠内营养加用谷氨酰胺对重症急性胰腺炎患者营养状态的影响研究. 中国实用医药 2013; 5: 104-105

43 李颖, 方喜, 吴俊伟. 肠内营养对急性胰腺炎患者肠黏膜通透性及细菌移位的影响. 中国现代普通外科进展 2010; 13: 945-949

44 李炜. 早期肠内营养加用谷氨酰胺对重症急性胰腺炎患者细胞免疫和营养状态的影响. 中外医学研究 2013; 11: 3-4

45 Huang XX, Wang XP, Ma JJ, Jing DD, Wang PW, Wu K. [Effects of enteral nutrition supplemented with glutamine and arginine on gut barrier in patients with severe acute pancreatitis: a prospective randomized controlled trial]. *Zhonghua Yixue Zazhi* 2008; 88: 2407-2409 [PMID: 19087716]

46 Fuentes-Orozco C, Cervantes-Guevara G, Muciño-Hernández I, López-Ortega A, Ambriz-González G, Gutiérrez-de-la-Rosa JL, Gómez-Herrera E, Hermosillo-Sandoval JM, González-Ojeda A. L-alanyl-L-glutamine-supplemented parenteral nutrition decreases infectious morbidity rate in patients with severe acute pancreatitis. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 2008; 32: 403-411 [PMID: 18596311 DOI: 10.1177/0148607108319797]

47 Cui LH, Wang XH, Peng LH, Yu L, Yang YS. [The effects of early enteral nutrition with addition of probiotics on the prognosis of patients suffering from severe acute pancreatitis]. *Zhonghua Weizhongbing Jijiu Yixue* 2013; 25: 224-228 [PMID: 23660099]

48 Besselink MG, van Santvoort HC, Buskens E, Boermeester MA, van Goor H, Timmerman HM, Nieuwenhuijs VB, Bollen TL, van Ramshorst B, Witteman BJ, Rosman C, Ploeg RJ, Brink MA, Schaapherder AF, Dejong CH, Wahab PJ, van Laarhoven CJ, van der Harst E, van Eijck CH, Cuesta MA, Akkermans LM, Gooszen HG. Probiotic prophylaxis in predicted severe acute pancreatitis: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet* 2008; 371: 651-659 [PMID: 18279948 DOI: 10.1016/S0140-6736(08)60207-X]

49 Sharma B, Srivastava S, Singh N, Sachdev V, Kapur S, Saraya A. Role of probiotics on gut permeability and endotoxemia in patients with acute pancreatitis: a double-blind randomized controlled trial. *J Clin Gastroenterol* 2011; 45: 442-448 [PMID: 21135704 DOI: 10.1097/MCG.0b013e318201f9e2]

50 Sun E, Tharakan M, Kapoor S, Chakravarty R, Salhab A, Buscaglia JM, Nagula S. Poor compliance with ACG guidelines for nutrition and antibiotics in the management of acute pancreatitis: a North American survey of gastrointestinal specialists and primary care physicians. *JOP* 2013; 14: 221-227 [PMID: 23669469 DOI: 10.6092/1590-8577/871]

51 Davies AR, Morrison SS, Ridley EJ, Bailey M, Banks MD, Cooper DJ, Hardy G, McIlroy K, Thomson A. Nutritional therapy in patients with acute pancreatitis requiring critical care unit management: a prospective observational study in Australia and New Zealand. *Crit Care Med* 2011; 39: 462-468 [PMID: 21221003 DOI: 10.1097/CCM.0b013e318205df6d]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年4月28日; 22(12): 1663-1668
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

文献综述 REVIEW

IL-33/ST2系统在溃疡性结肠炎中的免疫调节

纪桂贤, 程 瑶, 高福来, 谢长顺, 杨 梅

纪桂贤, 高福来, 谢长顺, 杨梅, 秦皇岛市第一医院消化内科 河北省秦皇岛市 066000
程瑶, 秦皇岛市第一医院院前急救科 河北省秦皇岛市 066000
纪桂贤, 副主任医师, 主要从事溃疡性结肠炎的诊疗.
作者贡献分布: 纪桂贤与程瑶阅读文献, 总结并撰写文章; 高福来与杨梅负责文献的搜集与翻译; 谢长顺提供理论与写作指导.
通讯作者: 程瑶, 主治医师, 066000, 河北省秦皇岛市海港区文化路258号, 秦皇岛市第一医院院前急救科.
hexing4882@sina.com
收稿日期: 2014-01-06 修回日期: 2014-03-23
接受日期: 2014-03-28 在线出版日期: 2014-04-28

Immune modulation by the IL-33/ST2 system in ulcerative colitis

Gui-Xian Ji, Yao Cheng, Fu-Lai Gao, Chang-Shun Xie, Mei Yang

Gui-Xian Ji, Fu-Lai Gao, Chang-Shun Xie, Mei Yang, Department of Gastroenterology, the First Hospital of Qinhuangdao, Qinhuangdao 066000, Hebei Province, China
Yao Cheng, Department of Prehospital Emergency, the First Hospital of Qinhuangdao, Qinhuangdao 066000, Hebei Province, China
Correspondence to: Yao Cheng, Attending Physician, Department of Prehospital Emergency, the First Hospital of Qinhuangdao, 258 Wenhua Road, Haigang District, Qinhuangdao 066000, Hebei Province, China. hexing4882@sina.com
Received: 2014-01-06 Revised: 2014-03-23
Accepted: 2014-03-28 Published online: 2014-04-28

Abstract
The immune system prevents pathogens from entering and spreading in the body. Dysfunction of the immune system can activate an intestinal inflammatory response, leading to chronic diseases including inflammatory bowel diseases (IBD). Ulcerative colitis (UC) is a form of IBD of unknown etiology with increasing prevalence. There is an imbalance in the interleukin-33/homolog of sulfotransferase 2 (IL-33/ST2) axis in UC intestinal mucosa. This paper reviews the role of the IL-33/ST2 system in immunity of the intestinal mucosa and its importance in IBD, especially UC.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: IL-33/ST2 system; Ulcerative colitis; Immune modulation

Ji GX, Cheng Y, Gao FL, Xie CS, Yang M. Immune modulation by the IL-33/ST2 system in ulcerative colitis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(12): 1663-1668
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1663.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i12.1663

摘要
免疫系统防止病原体进入人体及体内传播, 免疫系统受损可以引起肠道炎症反应, 导致包括炎症性肠病(inflammatory bowel diseases, IBD)在内的慢性疾病. 溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是一种患病率增加且病因不明的炎症性肠病, UC患者肠黏膜中IL-33/ST2轴失衡. 本文就IL-33/ST2系统在肠道免疫中的作用及在IBD特别是UC中的重要性进行综述.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: IL-33/ST2系统; 溃疡性结肠炎; 免疫调节

核心提示: 肠道固有免疫系统防止病原体入侵, 免疫系统受损可引起肠道炎症反应. 总结各项研究结果认为: IL-33/ST2系统在上皮细胞炎症中具有抗炎和促炎的双重作用, 在炎症性肠病(inflammatory bowel diseases)特别是溃疡性结肠炎的病理过程中起到重要作用.

纪桂贤, 程瑶, 高福来, 谢长顺, 杨梅. IL-33/ST2系统在溃疡性结肠炎中的免疫调节. 世界华人消化杂志 2014; 22(12): 1663-1668
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1663.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i12.1663

0 引言
胃肠道自口腔延伸至肛门, 内含大量共生菌, 对食物进行物理性和化学性消化并摄取养分. 肠道免疫系统能识别微生物及食物蛋白质, 避免良性抗原引起炎症反应, 称为肠耐受. 该过程被破坏, 可激活免疫反应, 导致疾病发生, 如食物过敏、乳糜泻和包括溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)和克罗恩病(Crohn's disease, CD)在内的炎症性肠病(inflammatory bowel diseases, IBD). UC是发生在结肠和直肠的炎症和黏膜溃疡, 而CD则累及全胃肠道. 近年来, 白介素33(in-

■背景资料
炎症性肠病(inflammatory bowel diseases, IBD)是一种全球性疾病, 病因不明且患病率逐年增加. IBD的发病机制主要概括为: 环境因素作用于遗传易感因素, 在肠道菌群的参与下, 启动肠道免疫和非免疫系统, 免疫炎症反应表现为过度亢进和难以自限.

■同行评议者
魏继福, 研究员, 江苏省人民医院

■研发前沿
研究认为, IL-33/ST2系统是上皮细胞炎症反应平衡的关键, 本文主要阐述了IL-33/ST2系统在IBD特别是UC中的作用, 旨在为UC的治疗提供指导作用.

terleukin-33, IL-33)及其受体(homolog of sulfotransferase 2, ST2)被认为是上皮细胞炎症反应平衡的关键, UC患者血清ST2以及肠黏膜IL-33水平均增高[1], 血清ST2水平与疾病严重程度相关, 可能是疾病活动的标志[2]. 本文中, 我们将评价IL-33/ST2系统在肠黏膜和IBD特别是UC固有免疫中的作用.

1 肠道免疫和UC免疫改变

肠道免疫系统包括黏液层、黏膜上皮、固有层三道屏障, 屏障被破坏时, 免疫耐受性将会受到影响.

胃肠道表面覆盖一层黏液, 保护上皮细胞免受肠道抗原伤害, 为食团推进提供润滑作用. 胃肠道不同区域黏液数量和蛋白质组成不同, 由于细菌含量较高, 结肠黏液最为丰富, 主要成分为具有不同亚型的黏蛋白(mucin, MUC). 小肠中含量最丰富的黏蛋白包括MUC2、MUC3和MUC6, 结肠主要是MUC2, 胃肠道细胞也表达其他黏蛋白如MUC1、MUC3、MUC4等[3]. 不同MUC亚型导致黏液层与上皮细胞黏附性不一. MUC1牢固吸附于上皮层, 防止细菌入侵, MUC1缺陷小鼠($MUC1^{-/-}$)无法清除空肠弯曲菌, 导致全身性感染[4]. 杯状细胞合成分泌一些易清除黏液层的MUCS, 其分化部分依赖细菌的存在, 由于微生物更多, 结肠杯状细胞比十二指肠丰富. MUC2在结肠内最为丰富, 加之硫酸和唾液, 能结合水和病原体. 高尔基体内MUC2生物合成酶缺失可导致小鼠结肠炎发生发展[5]. 此外, MUC2可被肠道菌代谢, 作为一种能量来源[6]. $MUC2^{-/-}$动物自发出现结肠黏膜炎症, 有感染性腹泻、直肠脱垂甚至癌症, 与人类UC类似[7]. 经葡聚糖硫酸钠(dextran sulfate sodium, DSS)处理的野生型小鼠, 黏液层厚度变薄, 肠上皮对细菌通透性增加, 发展为结肠炎[8]. CD患者回肠MUC1和MUC4水平下降, 而MUC2、MUC5、MUC7和MUC6在病变处检测不到[9]. UC患者O-糖基化、硫酸化及MUC2的表达减少. 其他肠黏液蛋白成分包括三叶肽3(trefoil factor 3, TFF-3)、抵抗素样分子β(resistin like molecule-β, RELM-β)和蛋白质结合的Fcγ(Fcγ protein bindin, Fcgbp). TFF-3属于三叶因子家族, 存在于杯状细胞, 能保护上皮细胞、促进细胞迁移及阻断细胞凋亡, 与 MUC2蛋白共表达时, 可以结合到MUC2D区域, 黏液黏度增加. $TFF\text{-}3^{-/-}$小鼠比野生型小鼠更易形成DSS诱导的结肠炎, 动物过度表达TFF-3不易出现损伤和肠溃疡[10]. 血清TFF-3水平在活动期UC患者升高, 经糖皮质激素治疗后则下降, 但增加的血清TFF-3水平不能反映作为细胞凋亡信号的肠黏膜TFF-3含量[11]. RELM-β是杯状细胞分泌的富含半胱氨酸的蛋白质, 受到细菌和寄生虫刺激时, 诱导MUC2分泌增加. Fcgbp也由杯状细胞分泌, 通过二硫键与MUC2和TFF-3结合, 形成更大的黏液层凝聚力和黏度. Fcgbp结合到免疫球蛋白IgG Fc部分, 在炎症反应中固定于黏液层, 提高细菌的调理素作用[12].

肠黏膜上皮包括肠上皮细胞、杯状细胞和肠内分泌细胞, 通过紧密连接结合, 分隔身体和肠内容物. 肠上皮细胞吸收养分并分泌杀菌蛋白如防御素与抗菌肽; 杯状细胞分泌黏液; 肠内分泌细胞产生激素如5-羟色胺、P物质、促胰液素. 这些细胞和潘氏细胞位于隐窝基底, 分泌α防御素、磷脂酶A2、溶菌酶和其他抗菌肽[13]. 参与肠道免疫功能的还有存在于小肠淋巴滤泡中M细胞, 可转运和呈递微生物衍生的抗原给树突状细胞和巨噬细胞. 吞噬细胞表达受体感受病原相关分子模式(pathogen associated molecular patterns, PAMPs), 识别自体和异体分子. 病原体识别受体(pathogen recognition receptors, PRRs)表达于上皮细胞、巨噬细胞、中性粒细胞、树突状细胞, 激活吞噬作用、趋化性及效应分子产生, 有助于迟发免疫应答. 肠道PRRs中最重要的是膜Toll样受体(Toll-like receptor, TLRs)和细胞内核苷酸寡聚化结构域受体(nucleotide oligomerization domain receptor, NOD), TLR2、TLR4和TLR5分布于细胞表面, TLR3、TLR7和TLR9分布于胞内体膜, 识别某些PAMPs并激活NF-κB信号通路诱导促炎性基因. TLRs在肠腺隐窝特异表达[14]. TLR4在高尔基体内聚和上皮细胞辅助受体MD2低表达提示可能存在接触肠道抗原后防止TLRs激活促炎症信号的其他机制. TLR9位于肠上皮细胞质膜, 激活耐受性反应或核因子κB(nuclear factor kappa B, NF-κB)相关促炎性通路[15]. NOD受体能结合微生物产物. 这些受体表达在暴露于细菌的上皮细胞、巨噬细胞和树突状细胞中, 激活NF-κB和丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)途径协同TLRs产生细胞因子[16]. 报道称, UC患者肠上皮细胞细胞比例、杯状细胞含量与内质网应激反应均有变化, 对照组杯状细胞占结肠上皮细胞总数的55%, 活动期UC患者占33%[17]. 潘氏细胞通常存在于小肠中, 而UC患者结肠存在异位潘氏细胞, 分泌异常抗

菌蛋白如β-防御素和抗菌肽. UC患者肠黏膜存在非典型杯状细胞蛋白质, 内质网应激水平高于对照组[18], 可能改变细胞内钙水平和NF-κB信号通路的激活, 增加上皮通透性.

固有层作为肠道第三道屏障, 含有巨噬细胞、中性粒细胞、多形核细胞、树突状细胞、自然杀伤细胞和淋巴细胞等. 树突状细胞是粒细胞吞噬细胞, 能维持上皮完整性、吞噬管腔抗原, 在结合到CX3CR1的上皮细胞质膜表达, 还通过胞饮作用吞噬细胞外液, 参与淋巴结内T细胞抗原呈递, 启动适应性免疫反应, 包括免疫反应之间的中心环节[19]. IBD患者具有非典型树突状细胞表型[20], 树突状细胞聚集于发炎的肠道组织中, 可能与趋化因子CCL20表达增加有关, 该分子通过NF-κB调节诱导树突状和T细胞聚集. 与缓解期患者或健康人相比, UC和CD患者结肠$CD11c^+$树突状细胞表达TLR2、TLR4、CD40水平升高[21]. IBD患者树突状细胞识别细菌产物能力增强, 引起对共生细菌免疫应答的激活, 导致肠耐受缺失. 巨噬细胞和中性粒细胞、树突状细胞都是免疫系统主要的吞噬细胞, 通过吞噬体和溶酶体内的溶酶体酶降解捕获的病原体, 降解的肽片段结合到细胞表面的MHC-Ⅱ类分子, 结合树突状细胞, 发起抗原呈递. 单核细胞是存在于外周血的未成熟型巨噬细胞, 受到趋化因子IL-8和TGF-β刺激后成熟并迁移到组织, 活化后表达一些PRRs增加[22,23]. 肠道巨噬细胞有耐受性特点, PRRs和其他表面蛋白如CD14、CD80和CD86表达较低[24], 分泌IL-1、IL-6、IL-8数量有限, 当暴露于微生物时可表达高水平IL-1前体, 表明他们对黏膜耐受有积极作用[25]. 肠巨噬细胞与CX3CL1含量有关[26], 缺乏趋化因子受体的小鼠($CX3CR1^{-/-}$)由于巨噬细胞无法聚集到固有层易受到沙门氏菌感染[27]. IBD患者肠巨噬细胞分子表面CD14含量增加, NF-κB转录途径活化, 失去肠道免疫耐受. 粒细胞包括中性、嗜碱性及嗜酸性粒细胞. 中性粒细胞含量最丰富, 具有吞噬活性, 在免疫反应中有重要作用, 活化的中性粒细胞分泌抗菌分子、活性氧、炎性细胞因子和趋化因子, 吸引树突状细胞和巨噬细胞到黏膜[28], 与细菌成分相互作用. 中性粒细胞特异趋化因子IL-8主要由上皮细胞产生, IBD患者受损的上皮细胞IL-8分泌升高, 大量中性粒细胞聚集, 加剧肠道黏膜免疫应答[29]. 钙卫蛋白在IBD中浓度显著增加, 粪便钙卫蛋白可作为患者结肠镜检查前的筛选试验, 也作为监测UC和CD疗效的指标[30]. 嗜酸和嗜碱性粒细胞分泌的促炎性细胞因子及蛋白质对宿主防御寄生虫非常重要. IBD患者中嗜酸和嗜碱性粒细胞相关趋化因子如MCP-3表达增加, 表明他们在IBD中可能有重要作用[31]. IBD患者粪便嗜酸性粒细胞阳离子蛋白含量增加、小肠液及外周血嗜酸性粒细胞颗粒蛋白浓度增加以及活动期CD患者肠黏膜嗜酸性粒细胞含量增加[32]. 肥大细胞保护黏膜免受病原体和寄生虫损害, 在过敏性反应中有重要作用, 胞浆颗粒中含有大量的组胺、类胰蛋白酶、前列腺素PGD2、白三烯LTC4和趋化因子, 类胰蛋白酶通过激活PAR-2受体调节细胞间紧密连接, 影响肠上皮通透性. 活动期IBD患者肠黏膜肥大细胞数增加, 而对照组和缓解期患者尽管受损的黏膜组织可能有少量肥大细胞, 但细胞含量无显著差异[33]. 冷加压试验中, 缓解期IBD患者肥大细胞活化增加, 提示其活化与应激有关[34]. 上皮内γ/δT淋巴细胞是颗粒状胞浆的淋巴样细胞, 位于各器官尤其是肠、皮肤、肺和生殖道的上皮细胞. IBD患者上皮内淋巴细胞(intraepithelial lymphocytes, IELs)活化增加、IL-23产生和趋化因子含量增加, 导致干扰素-γ(interferon-γ, IFN-γ)、肿瘤坏死因子α(tumor necrosis factor alpha, TNF-α)、IL-2增加[35]. 为缺乏上皮内淋巴细胞γ/δ的结肠炎小鼠接种IELs, 可导致IFN-γ、TNF-α减少和TGF-β水平增加[36], 表明这些细胞在黏膜耐受中起到关键作用. 自然杀伤(natural killer, NK)细胞是一种颗粒状胞浆的淋巴样细胞, 能识别感染病毒或其他病原体的异常细胞, 活化后释放穿孔素和酶, 激活细胞凋亡. IBD患者肠黏膜固有层NK细胞数量增加[37], 可能是IBD患者肠黏膜细胞因子和生长因子含量失衡所致. NK细胞发育的关键分子如IL-15、IL-21和IL-23和其同源受体在UC患者肠黏膜中升高, 可能部分导致NK细胞活化. 有研究以IL-21R为靶点治疗IBD, 效果较好[38].

■创新盘点
关于IBD免疫调节异常的研究较多, 但并无统一定论, 目前大家逐渐关注到IL-33/ST2系统在IBD特别是UC中的调节作用, 我们对此进行总结阐述, 便于读者了解.

2 IL-33/ST2系统在UC中的作用

近年来, IL-33/ST2系统在IBD中的作用越来越受到重视. 研究认为, UC患者肠黏膜IL-33及ST2表达增加[1,39]. 血清可溶性ST2亚型(sST2)与肠黏膜ST2均与疾病严重程度相关, 作为反映UC活动的标志物[2]. IL-33和IL-1α、IL-1β及IL-18一样, 属于IL-1超家族, 分布在内皮细胞、成纤维细胞、平滑肌细胞、巨噬细胞和树突状细胞, 而ST2主要分布于肥大细胞、巨噬细胞和Th2淋巴

■应用要点
我们阅读总结了近年来部分相关文献, 对肠道固有免疫调节及IL-33/ST2在IBD特别是UC中的作用进行阐述, 旨在让大家认识、了解该系统, 对以后选择新的治疗靶点提供思路.

细胞[40]. *ST2*基因属于IL-1/TLRs受体超家族, 转录产品包括四个亚型: ST2L、sST2、ST2LV和ST2V, ST2L和sST2最丰富. IL-33识别ST2L, 促进与IL-1受体辅助蛋白受体二聚化, 受体复合物胞内TIR结构域磷酸化, 吸引MyD88、TRAF6和IRAK1-4聚集, 激活NF-κB和MAPK途径[41]. ST2也可与第二受体家族受体SIGIRR形成二聚体, 负向调节IL-33/ST2信号通路[42]. 也有研究认为, IL-33移位至胞核隔离NF-κB, 抑制转录活性, 可能在上皮细胞内作为转录因子[43], 故IL-33具有促炎和抗炎的双重作用. UC患者IL-33/ST2系统失衡, 肠黏膜IL-33的主要来源是上皮细胞和肌纤维母细胞, 主要靶细胞存在于固有层. 因此, IL-33对UC的影响主要是对上皮和固有层细胞及对分泌黏液质量的影响.

IBD患者黏蛋白表达失调, 可能源于细胞因子失衡. Th1(IL-2、IL-12、IFN-γ和TNF-α)和Th2型细胞因子(IL-4、IL-5和IL-13)在IBD患者表达上调, 激发不同转录因子途径如JAK/STAT和NF-κB, 诱导黏液分泌[44]. IL-33处理后小鼠肠道杯状细胞黏蛋白含量增加, 故IL-33可能也有黏膜分泌活性. *MUC2*基因启动区包含转录因子结合位点, 这个过程可能涉及NF-κB活化[45]. IL-33调节肠道杯状细胞的分泌产物特别是TFF-3和RELM-β的机制尚无报道, 但UC患者肠黏膜中IL-33和TFF-3含量异常[11]. 固有层细胞也是IL-33的来源, LPS刺激后小鼠巨噬细胞IL-33转录和细胞外液的蛋白水平增加, IL-33$^{-/-}$巨噬细胞经LPS刺激后比野生型巨噬细胞分泌IL-6和TNF-α水平降低, 用特异性抗体拮抗野生型巨噬细胞IL-33, 可部分恢复LPS诱导的细胞因子分泌[46]. IL-33在细胞因子如TNF-α、IL-1β、CXCL1和CCL3对中性粒细胞的趋化效应中起协同作用, 并直接调节中性粒细胞动员[47]. IL-33刺激后, 肥大细胞和嗜碱性粒细胞表面ST2表达增加, 分泌Th2细胞因子和趋化因子, 协同增加IgE介导的脱颗粒. 此外, IL-33诱导趋化因子介导的肥大细胞迁移[48]. 嗜酸性粒细胞表面表达低水平ST2, IL-33刺激后可诱导IL-8、IL-3、IL-5和GM-CSF(granulocyte macrophage colony stimulating factor)的产生, CD11b表达增加, 但趋化因子介导的细胞迁移未受影响[49]. 受到IL-33、IL-6、CD86和MHC Ⅱ刺激时, 树突细胞表达ST2增加[50], 使幼稚T细胞分化成Th2细胞, 直接刺激表面缺乏ST2表达的T细胞并不会出现这种情况.

近年来, 有关IL-33/ST2在上皮细胞的作用及其表达失衡对组织功能影响的研究取得了巨大进步, 但该系统在IBD病理过程的许多问题没有得到合理解释, 了解该炎症通路在肠道炎症中的影响, 对疾病的评估、治疗有一定价值.

3 结论

IL-33/ST2系统参与肠道免疫系统的调节, 被认为是上皮细胞炎症反应平衡的关键, 在UC等慢性炎症性肠病中, 主要通过对上皮细胞、固有层细胞及分泌黏液质量的影响起到促炎和抗炎的双重作用, 如何利用该靶点进行治疗是我们以后研究的方向.

4 参考文献

1 Beltrán CJ, Núñez LE, Díaz-Jiménez D, Farfan N, Candia E, Heine C, López F, González MJ, Quera R, Hermoso MA. Characterization of the novel ST2/IL-33 system in patients with inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2010; 16: 1097-1107 [PMID: 20014018 DOI: 10.1002/ibd.21175]

2 Díaz-Jiménez D, Núñez LE, Beltrán CJ, Candia E, Suazo C, Alvarez-Lobos M, González MJ, Hermoso MA, Quera R. Soluble ST2: a new and promising activity marker in ulcerative colitis. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 2181-2190 [PMID: 21633527 DOI: 10.3748/wjg.v17.i17.2181]

3 McGuckin MA, Lindén SK, Sutton P, Florin TH. Mucin dynamics and enteric pathogens. *Nat Rev Microbiol* 2011; 9: 265-278 [PMID: 21407243 DOI: 10.1038/nrmicro2538]

4 McAuley JL, Linden SK, Png CW, King RM, Pennington HL, Gendler SJ, Florin TH, Hill GR, Korolik V, McGuckin MA. MUC1 cell surface mucin is a critical element of the mucosal barrier to infection. *J Clin Invest* 2007; 117: 2313-2324 [PMID: 17641781]

5 Fu J, Wei B, Wen T, Johansson ME, Liu X, Bradford E, Thomsson KA, McGee S, Mansour L, Tong M, McDaniel JM, Sferra TJ, Turner JR, Chen H, Hansson GC, Braun J, Xia L. Loss of intestinal core 1-derived O-glycans causes spontaneous colitis in mice. *J Clin Invest* 2011; 121: 1657-1666 [PMID: 21383503 DOI: 10.1172/JCI45538]

6 Kim YS, Ho SB. Intestinal goblet cells and mucins in health and disease: recent insights and progress. *Curr Gastroenterol Rep* 2010; 12: 319-330 [PMID: 20703838 DOI: 10.1007/s11894-010-0131-2]

7 Velcich A, Yang W, Heyer J, Fragale A, Nicholas C, Viani S, Kucherlapati R, Lipkin M, Yang K, Augenlicht L. Colorectal cancer in mice genetically deficient in the mucin Muc2. *Science* 2002; 295: 1726-1729 [PMID: 11872843]

8 Johansson ME, Gustafsson JK, Sjöberg KE, Petersson J, Holm L, Sjövall H, Hansson GC. Bacteria penetrate the inner mucus layer before inflammation in the dextran sulfate colitis model. *PLoS One* 2010; 5: e12238 [PMID: 20805871 DOI: 10.1371/journal.pone.0012238]

9 Buisine MP, Desreumaux P, Leteurtre E, Copin MC, Colombel JF, Porchet N, Aubert JP. Mucin gene expression in intestinal epithelial cells in Crohn's

disease. *Gut* 2001; 49: 544-551 [PMID: 11559653]
10 Taupin D, Podolsky DK. Trefoil factors: initiators of mucosal healing. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2003; 4: 721-732 [PMID: 14506475]
11 Longman RJ, Poulsom R, Corfield AP, Warren BF, Wright NA, Thomas MG. Alterations in the composition of the supramucosal defense barrier in relation to disease severity of ulcerative colitis. *J Histochem Cytochem* 2006; 54: 1335-1348 [PMID: 16924127]
12 Albert TK, Laubinger W, Müller S, Hanisch FG, Kalinski T, Meyer F, Hoffmann W. Human intestinal TFF3 forms disulfide-linked heteromers with the mucus-associated FCGBP protein and is released by hydrogen sulfide. *J Proteome Res* 2010; 9: 3108-3117 [PMID: 20423149 DOI: 10.1021/pr100020c]
13 Bevins CL, Salzman NH. Paneth cells, antimicrobial peptides and maintenance of intestinal homeostasis. *Nat Rev Microbiol* 2011; 9: 356-368 [PMID: 21423246 DOI: 10.1038/nrmicro2546]
14 Abreu MT. Toll-like receptor signalling in the intestinal epithelium: how bacterial recognition shapes intestinal function. *Nat Rev Immunol* 2010; 10: 131-144 [PMID: 20098461 DOI: 10.1038/nri2707]
15 Lee J, Mo JH, Katakura K, Alkalay I, Rucker AN, Liu YT, Lee HK, Shen C, Cojocaru G, Shenouda S, Kagnoff M, Eckmann L, Ben-Neriah Y, Raz E. Maintenance of colonic homeostasis by distinctive apical TLR9 signalling in intestinal epithelial cells. *Nat Cell Biol* 2006; 8: 1327-1336 [PMID: 17128265]
16 Tada H, Aiba S, Shibata K, Ohteki T, Takada H. Synergistic effect of Nod1 and Nod2 agonists with toll-like receptor agonists on human dendritic cells to generate interleukin-12 and T helper type 1 cells. *Infect Immun* 2005; 73: 7967-7976 [PMID: 16299289]
17 Gersemann M, Becker S, Kübler I, Koslowski M, Wang G, Herrlinger KR, Griger J, Fritz P, Fellermann K, Schwab M, Wehkamp J, Stange EF. Differences in goblet cell differentiation between Crohn's disease and ulcerative colitis. *Differentiation* 2009; 77: 84-94 [PMID: 19281767 DOI: 10.1016/j.diff.2008.09.008]
18 Heazlewood CK, Cook MC, Eri R, Price GR, Tauro SB, Taupin D, Thornton DJ, Png CW, Crockford TL, Cornall RJ, Adams R, Kato M, Nelms KA, Hong NA, Florin TH, Goodnow CC, McGuckin MA. Aberrant mucin assembly in mice causes endoplasmic reticulum stress and spontaneous inflammation resembling ulcerative colitis. *PLoS Med* 2008; 5: e54 [PMID: 18318598 DOI: 10.1371/journal.pmed.0050054]
19 Coombes JL, Powrie F. Dendritic cells in intestinal immune regulation. *Nat Rev Immunol* 2008; 8: 435-446 [PMID: 18500229 DOI: 10.1038/nri2335]
20 Rutella S, Locatelli F. Intestinal dendritic cells in the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 3761-3775 [PMID: 21987618 DOI: 10.3748/wjg.v17.i33.3761]
21 Hart AL, Al-Hassi HO, Rigby RJ, Bell SJ, Emmanuel AV, Knight SC, Kamm MA, Stagg AJ. Characteristics of intestinal dendritic cells in inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology* 2005; 129: 50-65 [PMID: 16012934]
22 Fukata M, Vamadevan AS, Abreu MT. Toll-like receptors (TLRs) and Nod-like receptors (NLRs) in inflammatory disorders. *Semin Immunol* 2009; 21: 242-253 [PMID: 19748439 DOI: 10.1016/j.smim.2009.06.005]
23 Bortoluci KR, Medzhitov R. Control of infection by pyroptosis and autophagy: role of TLR and NLR. *Cell Mol Life Sci* 2010; 67: 1643-1651 [PMID: 20229126 DOI: 10.1007/s00018-010-0335-5]
24 Smith PD, Smythies LE, Shen R, Greenwell-Wild T, Gliozzi M, Wahl SM. Intestinal macrophages and response to microbial encroachment. *Mucosal Immunol* 2011; 4: 31-42 [PMID: 20962772 DOI: 10.1038/mi.2010.66]
25 Franchi L, Kamada N, Nakamura Y, Burberry A, Kuffa P, Suzuki S, Shaw MH, Kim YG, Núñez G. NLRC4-driven production of IL-1β discriminates between pathogenic and commensal bacteria and promotes host intestinal defense. *Nat Immunol* 2012; 13: 449-456 [PMID: 22484733 DOI: 10.1038/ni.2263]
26 Candia E, Díaz-Jiménez D, Langjahr P, Núñez LE, de la Fuente M, Farfán N, López-Kostner F, Abedrapo M, Alvarez-Lobos M, Pinedo G, Beltrán CJ, González C, González MJ, Quera R, Hermoso MA. Increased production of soluble TLR2 by lamina propria mononuclear cells from ulcerative colitis patients. *Immunobiology* 2012; 217: 634-642 [PMID: 22101184 DOI: 10.1016/j.imbio.2011.10.023]
27 Nicoletti C, Arques JL, Bertelli E. CXCR1 is critical for Salmonella-induced migration of dendritic cells into the intestinal lumen. *Gut Microbes* 2010; 1: 131-134 [PMID: 21327020 DOI: 10.4161/gmic.1.3.11711]
28 Clarke TB, Davis KM, Lysenko ES, Zhou AY, Yu Y, Weiser JN. Recognition of peptidoglycan from the microbiota by Nod1 enhances systemic innate immunity. *Nat Med* 2010; 16: 228-231 [PMID: 20081863 DOI: 10.1038/nm.2087]
29 MacDermott RP. Chemokines in the inflammatory bowel diseases. *J Clin Immunol* 1999; 19: 266-272 [PMID: 10535602]
30 Costa F, Mumolo MG, Ceccarelli L, Bellini M, Romano MR, Sterpi C, Ricchiuti A, Marchi S, Bottai M. Calprotectin is a stronger predictive marker of relapse in ulcerative colitis than in Crohn's disease. *Gut* 2005; 54: 364-368 [PMID: 15710984]
31 Chen W, Paulus B, Shu D, Wilson V. Increased serum levels of eotaxin in patients with inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol* 2001; 36: 515-520 [PMID: 11346206]
32 Coppi LC, Thomazzi SM, de Ayrizono ML, Coy CS, Fagundes WJ, Goes JR, Franchi GC, Nowill AE, Montes CG, Antunes E, Ferraz JG. Comparative study of eosinophil chemotaxis, adhesion, and degranulation in vitro in ulcerative colitis and Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2007; 13: 211-218 [PMID: 17206716]
33 Bischoff SC, Wedemeyer J, Herrmann A, Meier PN, Trautwein C, Cetin Y, Maschek H, Stolte M, Gebel M, Manns MP. Quantitative assessment of intestinal eosinophils and mast cells in inflammatory bowel disease. *Histopathology* 1996; 28: 1-13 [PMID: 8838115]
34 Farhadi A, Keshavarzian A, Van de Kar LD, Jakate S, Domm A, Zhang L, Shaikh M, Banan A, Fields JZ. Heightened responses to stressors in patients with inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol* 2005; 100: 1796-1804 [PMID: 16086717]
35 Liu Z, Yadav PK, Xu X, Su J, Chen C, Tang M, Lin H, Yu J, Qian J, Yang PC, Wang X. The increased expression of IL-23 in inflammatory bowel disease promotes intraepithelial and lamina propria lymphocyte inflammatory responses and cytotoxicity. *J*

■同行评价
本文层次分明, 表述较为清晰. 具有一定指导意义.

Leukoc Biol 2011; 89: 597-606 [PMID: 21227898 DOI: 10.1189/jlb.0810456]
36 Vivier E, Tomasello E, Baratin M, Walzer T, Ugolini S. Functions of natural killer cells. *Nat Immunol* 2008; 9: 503-510 [PMID: 18425107 DOI: 10.1038/ni1582]
37 Steel AW, Mela CM, Lindsay JO, Gazzard BG, Goodier MR. Increased proportion of CD16(+) NK cells in the colonic lamina propria of inflammatory bowel disease patients, but not after azathioprine treatment. *Aliment Pharmacol Ther* 2011; 33: 115-126 [PMID: 21083588 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2010.04499]
38 Monteleone G, Pallone F, Macdonald TT. Interleukin-21 as a new therapeutic target for immune-mediated diseases. *Trends Pharmacol Sci* 2009; 30: 441-447 [PMID: 19616319 DOI: 10.1016/j.tips.2009.05.006]
39 Kobori A, Yagi Y, Imaeda H, Ban H, Bamba S, Tsujikawa T, Saito Y, Fujiyama Y, Andoh A. Interleukin-33 expression is specifically enhanced in inflamed mucosa of ulcerative colitis. *J Gastroenterol* 2010; 45: 999-1007 [PMID: 20405148 DOI: 10.1007/s00535-010-0245-1]
40 Wood IS, Wang B, Trayhurn P. IL-33, a recently identified interleukin-1 gene family member, is expressed in human adipocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 2009; 384: 105-109 [PMID: 19393621 DOI: 10.1016/j.bbrc.2009.04.081]
41 Schmitz J, Owyang A, Oldham E, Song Y, Murphy E, McClanahan TK, Zurawski G, Moshrefi M, Qin J, Li X, Gorman DM, Bazan JF, Kastelein RA. IL-33, an interleukin-1-like cytokine that signals via the IL-1 receptor-related protein ST2 and induces T helper type 2-associated cytokines. *Immunity* 2005; 23: 479-490 [PMID: 16286016]
42 Bulek K, Swaidani S, Qin J, Lu Y, Gulen MF, Herjan T, Min B, Kastelein RA, Aronica M, Kosz-Vnenchak M, Li X. The essential role of single Ig IL-1 receptor-related molecule/Toll IL-1R8 in regulation of Th2 immune response. *J Immunol* 2009; 182: 2601-2609 [PMID: 19234154 DOI: 10.4049/jimmunol.0802729]
43 Ali S, Mohs A, Thomas M, Klare J, Ross R, Schmitz ML, Martin MU. The dual function cytokine IL-33 interacts with the transcription factor NF-κB to dampen NF-κB-stimulated gene transcription. *J Immunol* 2011; 187: 1609-1616 [PMID: 21734074 DOI: 10.4049/jimmunol.1003080]
44 Shuai K, Liu B. Regulation of JAK-STAT signalling in the immune system. *Nat Rev Immunol* 2003; 3: 900-911 [PMID: 14668806]
45 Ahn DH, Crawley SC, Hokari R, Kato S, Yang SC, Li JD, Kim YS. TNF-alpha activates MUC2 transcription via NF-kappaB but inhibits via JNK activation. *Cell Physiol Biochem* 2005; 15: 29-40 [PMID: 15665513]
46 Ohno T, Oboki K, Morita H, Kajiwara N, Arae K, Tanaka S, Ikeda M, Iikura M, Akiyama T, Inoue J, Matsumoto K, Sudo K, Azuma M, Okumura K, Kamradt T, Saito H, Nakae S. Paracrine IL-33 stimulation enhances lipopolysaccharide-mediated macrophage activation. *PLoS One* 2011; 6: e18404 [PMID: 21494550 DOI: 10.1371/journal.pone.0018404]
47 Hueber AJ, Alves-Filho JC, Asquith DL, Michels C, Millar NL, Reilly JH, Graham GJ, Liew FY, Miller AM, McInnes IB. IL-33 induces skin inflammation with mast cell and neutrophil activation. *Eur J Immunol* 2011; 41: 2229-2237 [PMID: 21674479 DOI: 10.1002/eji.201041360]
48 Schneider E, Petit-Bertron AF, Bricard R, Levasseur M, Ramadan A, Girard JP, Herbelin A, Dy M. IL-33 activates unprimed murine basophils directly in vitro and induces their in vivo expansion indirectly by promoting hematopoietic growth factor production. *J Immunol* 2009; 183: 3591-3597 [PMID: 19684081 DOI: 10.4049/jimmunol.0900328]
49 Cherry WB, Yoon J, Bartemes KR, Iijima K, Kita H. A novel IL-1 family cytokine, IL-33, potently activates human eosinophils. *J Allergy Clin Immunol* 2008; 121: 1484-1490 [PMID: 18539196 DOI: 10.1016/j.jaci.2008.04.005]
50 Rank MA, Kobayashi T, Kozaki H, Bartemes KR, Squillace DL, Kita H. IL-33-activated dendritic cells induce an atypical TH2-type response. *J Allergy Clin Immunol* 2009; 123: 1047-1054 [PMID: 19361843 DOI: 10.1016/j.jaci.2009.02.026]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年4月28日; 22(12): 1669-1675
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

研究快报 RAPID COMMUNICATION

高尔基体磷蛋白3基因过表达对胃癌细胞增殖的影响

农云翠, 赖铭裕, 苏 婷

农云翠, 赖铭裕, 苏婷, 广西医科大学第一附属医院老年消化内科 广西壮族自治区南宁市 530021
农云翠, 在读硕士, 主要从事胃癌发病机制的研究.
广西科学研究与技术开发计划基金资助项目, No. 桂科攻1140003A-13
作者贡献分布: 农云翠与赖铭裕对此文所作贡献均等; 此课题由赖铭裕与农云翠设计; 研究过程由农云翠、赖铭裕及苏婷操作完成; 研究所用新试剂与分析工具由赖铭裕提供; 数据分析由农云翠与苏婷完成; 本论文撰写由农云翠完成.
通讯作者: 赖铭裕, 教授, 530021, 广西壮族自治区南宁市双拥路6号, 广西医科大学第一附属医院老年消化内科.
mylai9223@163.com
收稿日期: 2013-11-28 修回日期: 2014-03-15
接受日期: 2014-03-19 在线出版日期: 2014-04-28

GOLPH3 gene overexpression promotes proliferation of gastric cancer cells

Yun-Cui Nong, Ming-Yu Lai, Ting Su

Yun-Cui Nong, Ming-Yu Lai, Ting Su, Department of Geriatric Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China
Supported by: the Science and Technical Development Program of Guangxi, No. gkg1140003A-13
Correspondence to: Ming-Yu Lai, Professor, Department of Geriatric Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, 6 Shuangyong Road, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. mylai9223@163.com
Received: 2013-11-28 Revised: 2014-03-15
Accepted: 2014-03-19 Published online: 2014-04-28

Abstract

AIM: To observe the effect of *GOLPH3* gene overexpression on the proliferation of gastric cancer cells.

METHODS: The lentivirus containing the *GOLPH3* gene was infected into gastric cancer cells, fluorescence microscopy was used to detect the expression of EGFP, and flow cytometry was applied to verify the infection efficiency. GOLPH3 overexpression was verified by quantitative real-time PCR (at the mRNA level) and Western blot (at the protein level). The expression of mTOR and p-mTOR proteins was detected by Western blot, and cell proliferation was assessed by MTT assay.

RESULTS: Gastric cancer cells expressing high levels of EGFP were successfully obtained, with an infection rate of 100%. *GOLPH3* expression was significantly up-regulated in SGC-7901 cells infected with the lentivirus containing the *GOLPH3* gene compared with SGC-7901 cells transduced with the empty vector or non-infected SGC-7901 cells ($P < 0.05$ for both). MTT assay showed that up-regulated GOLPH3 could significantly enhance the proliferation of gastric cancer cells ($P < 0.05$). Although the mTOR protein expression did not significantly differ between different groups of cells, but p-mTOR protein expression was enhanced in SGC-7901 cells infected with the lentivirus containing the *GOLPH3* gene compared with control cells ($P < 0.05$), suggesting that up-regulated *GOLPH3* could promote the protein expression of p-mTOR in SGC-7901 cells.

CONCLUSION: *GOLPH3* gene overexpression could promote the proliferation of gastric cancer cells by up-regulating the expression of p-mTOR in SGC-7901 cells.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: SGC-7901; Golgi phosphoprotein 3; Cell proliferation; Mammalian target of rapamycin

Nong YC, Lai MY, Su T. *GOLPH3* gene overexpression promotes proliferation of gastric cancer cells. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(12): 1669-1675 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1669.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i12.1669

摘要

目的: 观察高尔基体磷蛋白3(Golgi phosphoprotein 3, *GOLPH3*)基因过表达后胃癌细胞增殖的情况.

方法: 构建*GOLPH3*基因过表达重组慢病毒颗粒pGC-FU-GOLPH3-EGFP, 用慢病毒法感染胃癌细胞株SGC-7901, 利用荧光显微镜(Axiovert200)观察感染后细胞内EGFP表达的情况, 利用流式细胞技术检测慢病毒的感

■背景资料
高尔基体磷蛋白3(Golgi phosphoprotein 3, *GOLPH3*)基因, 是近年来才发现的一个可能致癌基因, 在多种恶性肿瘤中存在*GOLPH3*基因的高表达, *GOLPH3*基因导致肿瘤发生的具体机制仍不十分清楚, 尤其在胃癌中的研究甚少.

■同行评议者
葛海燕, 教授, 同济大学附属第十人民医院普外科

■研发前沿
目前已有研究发现*GOLPH3*基因在胃癌组织中高表达, 对胃癌的发生发展起着重要作用, 但其具体的作用机理还不清楚.

染效率, 采用实时荧光定量PCR(quantitative real-time polymerase chain reaction)和蛋白质印迹(Western blot)技术分别在基因水平和蛋白水平检测GOLPH3在SGC-7901-GOLPH3组(感染pGC-FU-GOLPH3-EGFP质粒的SGC-7901)、SGC-7901-empty-vector组(感染pGC-FU-EGFP质粒的SGC-7901)和SGC-7901-blank组(未感染慢病毒的SGC-7901)的表达水平; 以四唑蓝比色法(MTT)检测*GOLPH3*基因过表达后胃癌细胞增殖的情况; Western blot技术检测胃癌细胞SGC-7901稳转细胞株中哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)和磷酸化哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(p-mTOR)的表达水平.

结果: 建立了慢病毒感染率接近100%的胃癌细胞株SGC-7901, 在体外能够长期稳定表达绿色荧光蛋白; SGC-7901-GOLPH3组GOLPH3 mRNA和蛋白表达水平明显高于SGC-7901-empty-vector组和SGC-7901-blank组(均$P<0.05$); MTT法结果显示胃癌细胞*GOLPH3*基因过表达后, 增殖能力明显增强, 与SGC-7901-empty-vector组和SGC-7901-blank组相比差别有统计学意义(均$P<0.05$); SGC-7901-GOLPH3组、SGC-7901-empty-vector组和SGC-7901-blank组中mTOR总蛋白的表达无明显变化, 而SGC-7901-GOLPH3组p-mTOR蛋白表达量较SGC-7901-empty-vector组和SGC-7901-blank组明显升高, 与两对照组相比, 上调GOLPH3能明显促进SGC-7901-GOLPH3组p-mTOR蛋白的表达(均$P<0.05$).

结论: *GOLPH3*基因可能是通过上调mTOR信号通路中mTOR蛋白磷酸化水平来促进胃癌细胞增殖.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: **胃癌细胞株SGC-7901; 高尔基体磷蛋白3; 细胞增殖; 哺乳动物雷帕霉素靶蛋白**

核心提示: 本研究通过胃癌细胞株SGC-7901体外研究, 表明高尔基体磷蛋白3(Golgi phosphoprotein 3)基因可能是通过上调哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)信号通路中mTOR蛋白磷酸化水平来促进胃癌细胞生长增殖.

农云翠, 赖铭裕, 苏婷. 高尔基体磷蛋白3基因过表达对胃癌细胞增殖的影响. 世界华人消化杂志 2014; 22(12): 1669-1675
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1669.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i12.1669

0 引言

胃癌是人类常见的恶性肿瘤, 是全世界第2个最常见的肿瘤相关死亡原因[1-3]. 尽管近年来胃癌发病机制的研究取得了一定的进展, 但大多数患者确诊时已处于晚期并出现远处转移, 失去了手术治疗的机会, 导致胃癌病死率及复发率逐年升高. 高尔基体磷蛋白3(Golgi phosphoprotein 3, GOLPH3)是近年来才发现的一个可能致癌基因. Scott等[4]对多种实体肿瘤进行分析, 发现在肺癌、乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌等多种恶性肿瘤中存在GOLPH3过量表达. Hu等[5]采用实时荧光定量PCR(quantitative real-time polymerase chain reaction, qPCR)和免疫组织化学法分别对40例胃癌组织标本进行检测, 发现胃癌组织中存在*GOLPH3*基因过表达, 认为GOLPH3在胃癌发生发展中起着重要作用, 但其机制尚不清楚. 为探讨*GOLPH3*基因在胃癌细胞中的生物学作用, 本实验用含GOLPH3过表达的重组慢病毒颗粒感染胃癌细胞, 观察GOLPH3过表达后胃癌细胞增殖的情况, 为阐明胃癌发病机制及临床治疗应用奠定理论基础.

1 材料和方法

1.1 材料 人胃癌细胞株SGC-7901(中南大学湘雅细胞库); RPMI-1640培养基(HyClone公司); 胎牛血清(杭州四季青公司); 含*GOLPH3*基因过表达的重组慢病毒颗粒(上海吉凯基因化学技术有限公司构建); 兔抗人GOLPH3多克隆抗体ab91492(Abcam公司); 兔抗人哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)单克隆抗体、兔抗人p-mTOR单克隆抗体(CST公司); β-actin抗体KC-5A08(康成生物有限公司); 辣根过氧化物酶标记山羊抗兔二抗IgG(北京金桥公司); TRIzol总RNA提取试剂(Invitrogen公司); 逆转录试剂盒DRR047A(TaKaRa公司); 实时荧光定量PCR试剂(TaKaRa公司); *GOLPH3*和*β-actin*内参基因引物合成(宝生物工程公司); MTT(Solarbio公司).

1.2 方法

1.2.1 *GOLPH3*基因过表达重组慢病毒颗粒的构建和鉴定: 根据NCBI GenBank上登录的人类*GOLPH3*基因mRNA序列资料(登录号: NM-022130), 由上海吉凯基因化学技术有限公司合成设计, 并进行测序鉴定. 构建的*GOLPH3*基因过表达重组慢病毒颗粒命名pGC-FU-GOLPH3-EGFP.

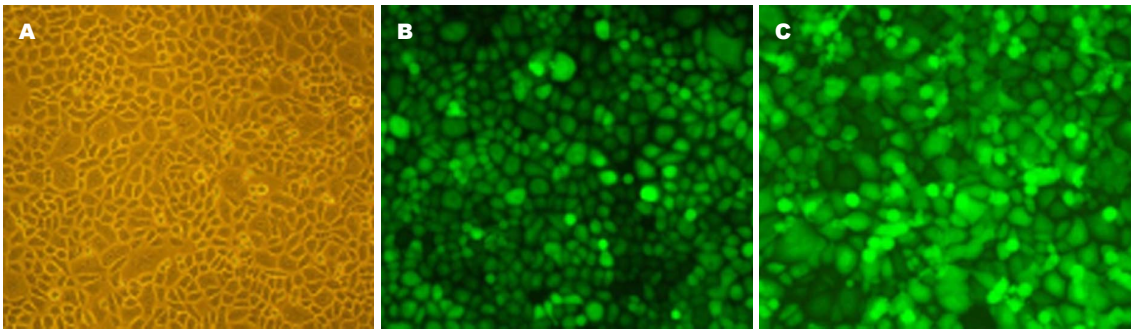


图 1 荧光显微镜下观察各组细胞中EGFP的表达(×100). A: SGC-7901-blank组; B: SGC-7901-empty-vector组; C: SGC-7901-GOLPH3组. GOLPH3: 高尔基体磷蛋白3.

1.2.2 细胞培养及慢病毒颗粒稳定感染: 胃癌细胞用含10%胎牛血清的1640培养基, 在37 ℃、5%CO_2培养条件下进行培养. 选用对数生长期的人胃癌细胞SGC-7901按4×10^4个/孔密度接种于6孔板, 培养至细胞密度达50%左右, 将细胞分为3组: SGC-7901-blank组(只含10%血清的培养基)、SGC-7901-empty-vector组(含空载体慢病毒颗粒5.0×10^8 TU/mL)、SGC-7901-GOLPH3组(含*GOLPH3*基因过表达重组慢病毒颗粒2.0×10^8 TU/mL), 然后按照慢病毒使用说明书进行感染, 感染24 h后常规换液.

1.2.3 流式细胞仪检测慢病毒感染率: 以SGC-7901-blank组细胞作为阴性对照, 慢病毒感染96 h后取各组细胞, 用0.25%胰酶消化细胞, 离心, 弃掉上清液, 用冷PBS洗涤2次(2000 r/min, 5 min), 最后用冷PBS吹打均匀至单细胞悬液, 细胞计数, 过滤, 上机检测.

1.2.4 qPCR检测慢病毒感染后各组胃癌细胞GOLPH3 mRNA的表达: TRIzol法提取SGC-7901-blank组、SGC-7901-empty-vector组、SGC-7901-GOLPH3组总RNA, 测定其浓度及纯度($A_{260/280}$为1.8-2.0). GOLPH3上游引物: 5'-ATCTGGATTACGTGGCTGTATGTTA-3', 下游引物: 5'-CGTTTCTGGAGGCTGAGTTTC-3', 扩增产物大小为187 bp; β-actin上游引物: 5'-TGGCACCCAGCACAATGAA-3', 下游引物: 5'-CTAAGTCATAGTCCGCCTAGAAGCA-3', 扩增产物大小为186 bp. 逆转录反应采用20 μL反应体系, 条件为95 ℃ 2 min, 42 ℃ 15 min. 以逆转录产物为模板进行qPCR反应: 采用20 μL反应体系, 95 ℃ 30 s, 1个循环(预变性)95 ℃ 5 s、60 ℃ 30 s, 40个循环(PCR反应). 以β-actin作为内参, 采用$2^{-\Delta\Delta CT}$法检测各组细胞GOLPH3 mRNA的相对表达量.

1.2.5 Western blot检测各组细胞中GOLPH3蛋白、mTOR蛋白、p-mTOR蛋白的表达: 用RIPA裂解液裂解细胞, 离心, 取上清液, 加入蛋白上样缓冲液混合(4∶1), 沸水煮5 min, 即得蛋白质样品. 将等量样品加入凝胶孔道中进行电泳, 100 mA稳流状态下转膜, 将蛋白转至聚偏二氟乙烯膜(polyvinylidene fluoride, PVDF膜), 用5%BSA封闭液封闭, 将膜放入一抗(1∶1000)稀释液中4 ℃孵育过夜, 次日置于二抗(1∶5000)稀释液中室温摇床1 h, TBST洗膜(5次×5 min), 胶片曝光显影, 以β-actin为内参.

1.2.6 MTT法: 取SGC-7901-blank组、SGC-7901-empty-vector组、SGC-7901-GOLPH3组细胞分别接种于96孔板, 种板密度为每孔4×10^3个/100 μL, 置于培养箱中培养. 分别于1、2、3、4、5 d加20 μL MTT溶液(5 mg/mL), 继续孵育, 4 h后吸净上清液, 加150 μL的DMSO, 室温避光振荡10 min, 酶标仪检测570 nm波长处每孔细胞的吸光度值, 绘制各组细胞生长曲线.

统计学处理 采用SPSS16.0软件统计数据, 计量资料以mean±SD表示, 多组均数比较采用单因素方差分析, 多个样本均数间多重比较采用SNK检验, P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 重组慢病毒颗粒在胃癌细胞SGC-7901内的荧光表达 将重组慢病毒颗粒pGC-FU-EGFP、pGC-FU-GOLPH3-EGFP分别感染胃癌细胞SGC-7901, 采用荧光显微镜观察EGFP在SGC-7901-blank组、SGC-7901-empty-vector组、SGC-7901-GOLPH3组细胞中的表达(图1).

2.2 流式细胞仪检测慢病毒感染效率 结果显示SGC-7901-blank组、SGC-7901-empty-vector组和SGC-7901-GOLPH3组细胞慢病毒感染率分别为0.4%、99.8%、100.0%(图2). 为此, 我们建立了目的基因感染率接近100%的胃癌SGC-7901

■相关报道
有研究显示*GOLPH3*基因可能是通过下调FOXO1转录因子的表达从而促进卵巢癌细胞增殖, 同时也有研究报道GOLPH3主要是通过调控RhoA的表达从而影响肿瘤细胞的侵袭和迁移.

■创新盘点

本研究结果显示*GOLPH3*基因过表达后能明显促进胃癌细胞的增殖, 其可能是通过上调mTOR信号通路中mTOR蛋白磷酸化水平来实现的, 具体的作用机制有待进一步研究.

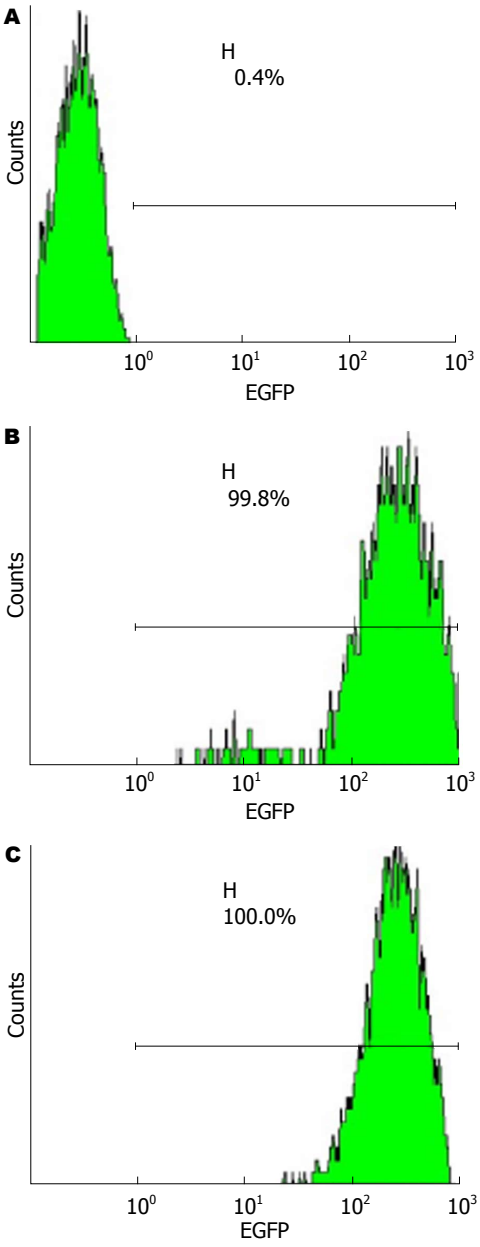


图 2 流式细胞仪检测各组细胞慢病毒感染效率. A: SGC-7901-blank组; B: SGC-7901-empty-vector组; C: SGC-7901-GOLPH3组. GOLPH3: 高尔基体磷蛋白3.

稳转细胞株, 在体外能够长期稳定表达绿色荧光蛋白.

2.3 GOLPH3 mRNA的表达 以$2^{-\Delta\Delta CT}$法统计相对表达量, SGC-7901-GOLPH3组GOLPH3 mRNA的表达强度(5.70±0.25)是SGC-7901-empty-vector组的5.88倍(P<0.05), 而SGC-7901-empty-vector组(0.97±0.09)与SGC-7901-blank组(1.01±0.07)GOLPH3 mRNA相对表达量无明显差异(P>0.05)(图3).

2.4 GOLPH3蛋白的表达 与SGC-7901-empty-vector组(0.65±0.03)和SGC-7901-blank组(0.64±0.04)相比, SGC-7901-GOLPH3组(1.71±0.53)GOLPH3蛋白量表达明显增强(P<0.05), 而SGC-7901-empty-vector组和SGC-7901-blank组表达值差异无统计学意义(P>0.05)(图4).

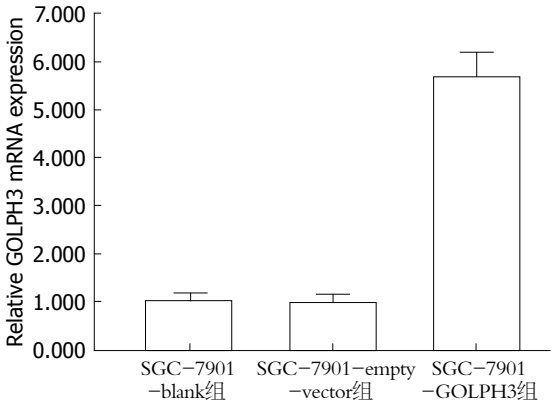


图 3 各组细胞GOLPH3 mRNA的相对表达量. GOLPH3: 高尔基体磷蛋白3.

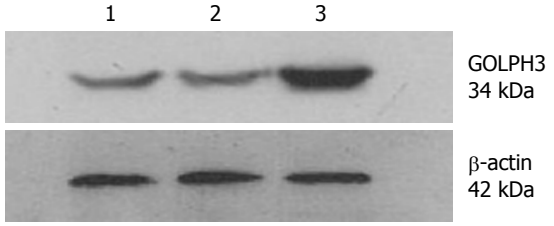


图 4 各组细胞GOLPH3蛋白的表达. 1: SGC-7901-blank组; 2: SGC-7901-empty-vector组; 3: SGC-7901-GOLPH3组. GOLPH3: 高尔基体磷蛋白3.

2.5 MTT法检测慢病毒感染后各组细胞生长的情况 结果显示两对照之间细胞生长状态无明显差异, 而SGC7901-GOLPH3组细胞增殖速度明显加快(62.45%±2.25% *vs* 4.68%±0.72%, P<0.05), 且随着时间延长, 差异逐渐加大, 证明*GOLPH3*基因过表达后近远期胃癌细胞的增殖能力显著增强(图5).

2.6 mTOR和p-mTOR蛋白的表达 结果显示3组细胞中mTOR蛋白表达量无明显差异, SGC-7901-blank组、SGC-7901-empty-vector组和SGC-7901-GOLPH3组中p-mTOR蛋白表达量分别为0.27±0.01、0.24±0.02、0.52±0.02, 与SGC-7901-empty-vector组和SGC-7901-blank组相比, SGC-7901-GOLPH3组中p-mTOR蛋白表达明显增强, 差异有统计学意义(P<0.05, 图6).

3 讨论

GOLPH3, 又称*GPP34*、*GMx33*、*MIDAS*, 由人染色体5p13基因编码, 是在对高尔基体进行蛋

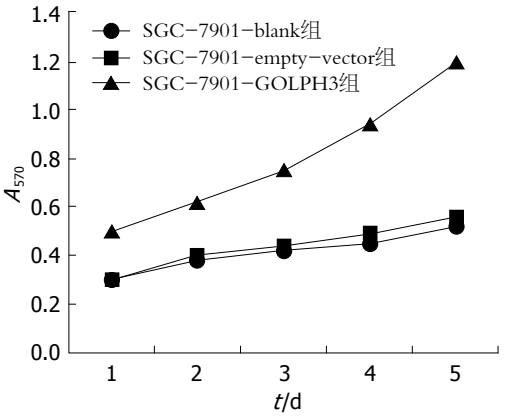


图 5 转染后各组细胞的生长曲线. GOLPH3: 高尔基体磷蛋白3.

白质组学分析时发现的, 他属于高尔基体基质蛋白, 从酵母到人类高度保守[6]. 以往研究表明, GOLPH3参与高尔基体正常形态的保持[7], 与蛋白质的糖基化修饰密切相关[8,9], 在高尔基体的分泌和囊泡转运中起着重要作用[10]. 越来越多的研究证实囊泡转运、蛋白质糖基化修饰在癌症中起着重要作用[11], GOLPH3参与囊泡转运、高尔基体的分泌和转运等生理过程, 提示GOLPH3在肿瘤发生发展过程起着重要作用.

Scott等[4]对多种实体肿瘤分析发现, *GOLPH3*在肺癌、乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌和黑色素瘤等多种恶性肿瘤中存在过表达, 提出*GOLPH3*可能是一个全新的致癌基因. Li等[12]在研究舌癌的过程中发现, GOLPH3在舌癌细胞中存在过表达. Wang等[13]应用免疫组织化学技术对正常食管组织及食管鳞状细胞癌组织分析发现, GOLPH3在食管鳞状细胞癌组织中亦存在过表达, 是食管癌预后的一个独立危险因素. 越来越多的研究发现GOLPH3在多种实体瘤中存在高表达, 包括舌癌[12]、食管癌[13]、胶质瘤[14]、前列腺癌[15]、乳腺癌[16]等, 提示GOLPH3在肿瘤发生发展中发挥着重要作用. 然而, GOLPH3在胃癌方面的研究甚少, 因此, 本实验通过构建*GOLPH3*基因过表达重组慢病毒颗粒, 拟探讨该基因过表达后对胃癌细胞SGC-7901增殖情况的影响.

慢病毒(lentivirus)载体是在人类免疫缺陷型病毒(human immunodeficiency virus)的基础上发展起来的基因治疗载体. 本实验所用的慢病毒载体系统由GV慢病毒载体系列、pHelper1.0载体和pHelper2.0载体三质粒组成, 通过对GV慢病毒载体的改造和病毒包装, 获得*GOLPH3*基因过表达重组慢病毒颗粒pGC-FU-GOLPH3-EGFP. 我们将其感染胃癌细胞, 感染复数(multiplicity of infection)值为70, 应用qPCR及Western blot技术检测胃癌细胞中GOLPH3在转染前后的表达差异. 结果发现, SGC-7901-GOLPH3组胃癌细胞中GOLPH3 mRNA及蛋白的表达较转染前有显著的升高($P<0.05$), 而SGC-7901-blank组和SGC-7901-empty-vector组GOLPH3 mRNA及蛋白的表达无明显的改变($P>0.05$), 提示*GOLPH3*基因过表达重组慢病毒载体构建成功, 并能明显上调胃癌细胞中GOLPH3的表达,可用于后续实验.

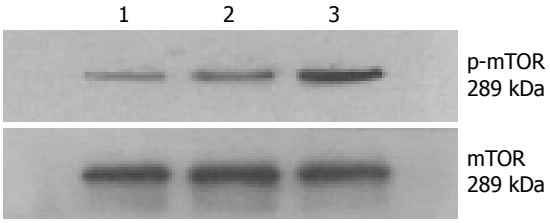


图 6 各组细胞mTOR蛋白和p-mTOR蛋白的表达. 1: SGC-7901-blank组; 2: SGC-7901-empty-vector组; 3: SGC-7901-GOLPH3组.

研究表明, 肿瘤的发生发展、浸润转移常涉及癌细胞的异常增殖. 我们的实验结果显示, *GOLPH3*基因的表达上调可促进胃癌细胞增殖, 由此表明*GOLPH3*基因对胃癌细胞的生物学行为有重要的影响, 但其具体的分子机制尚不清楚. Zhou等[17]体外实验发现, 下调*GOLPH3*基因后多形性胶质母细胞瘤细胞的迁移和侵袭能力明显降低, RhoA表达量也随之下降, 认为GOLPH3可能是通过调节RhoA的表达从而影响细胞的侵袭迁移能力. Zeng等[16]研究发现当下调或过表达乳腺癌细胞株MCF-7和MDA-MB-231中*GOLPH3*基因表达时, 细胞增殖能力相应地下降或增强, 并认为GOLPH3可能是通过减少转录因子FOXO1的表达来实现对乳腺癌细胞生长增殖的调控. 细胞生长受到多种信号通路复杂精细的调控, 信号传导系统的异常活化可引起细胞增殖凋亡改变、细胞去分化甚至恶变[18,19]. 越来越多的研究证实, PI3K-AKT-mTOR信号转导通路在多种肿瘤中处于活化状态, 在肿瘤细胞增殖、凋亡和侵袭转移方面发挥重要作用[20-22]. mTOR是PI3K-AKT-mTOR信号通路下游的一个关键分子, 其活性状态的改变与多种肿瘤的形成与进展密切相关[23-25]. 通常认为mTOR能够通过PI3K-AKT途经来感受外在信号的变化, 并发生磷酸化改变, 故通过检测其磷酸化状态能更

■应用要点

本实验阐述了*GOLPH3*基因可能是通过上调mTOR信号通路中mTOR蛋白磷酸化水平从而影响胃癌细胞生长增殖, 为阐明胃癌发病机制及临床治疗应用奠定理论基础, 同时也能为肿瘤分子靶向治疗提供一个突破点.

■同行评价
本文实验方法较先进, 研究结果对深入理解*GOLPH3*基因在胃癌发生发展中的作用提供了实验资料.

好地反映mTOR在肿瘤细胞中的功能状态. 孙丹凤等[26]采用免疫组织化学方法分析p-mTOR和p-4EBP1在胃癌组织中的表达, 发现两者在胃癌组织的阳性表达率均高于匹配的癌旁及正常组织, 认为mTOR信号通路在胃癌中存在被激活现象. 张志永等[27]亦采用免疫组织化学方法探讨p-mTOR在正常结肠组织及结肠癌组织中的表达, 结果发现相对于正常的结肠组织, 结肠癌组织中p-mTOR蛋白明显增加, 他们还发现, 被敲除mTOR后的结肠癌细胞增殖能力受到明显的抑制.

我们的研究结果显示, SGC-7901-GOLPH3组上调*GOLPH3*基因后细胞增殖能力明显增强, p-mTOR蛋白表达量也随之增加, 与SGC-7901-blank组和SGC-7901-empty-vector组相比差别有统计学意义($P<0.05$), 而3组细胞中mTOR总蛋白表达量无明显变化($P>0.05$), 表明SGC-7901-GOLPH3组胃癌细胞中存在mTOR信号转导通路高度活化, *GOLPH3*基因过表达能够上调胃癌细胞mTOR信号通路中mTOR蛋白磷酸化水平. Aronova等[28]研究发现mTOR与retromer转运复合体存在相关性, TOR与retromer的亚单位Vps35、Vps29活性有关. Scott等[29]进一步研究发现: *GOLPH3*作为一个新的癌基因也能与retromer转运复合体中的Vps35相互结合, 并能提高mTOR的活性, 进而激活mTOR下游关键信号分子, 认为GOLPH3是通过mTORC1和mTORC2途经促进人类肿瘤细胞生长增殖的. 这一新的发现提示我们*GOLPH3*基因可能是通过mTOR信号通路促进胃癌细胞SGC-7901的生长增殖的. 鉴于GOLPH3与蛋白质的糖基化、高尔基体的分泌和囊泡转运密切相关, 因此我们猜想GOLPH3可能是通过糖基化或囊泡运转来影响mTOR信号通路的, 但具体的机制尚不清楚.

由于传统的胃癌治疗方法难以达到好的治疗效果, 故胃癌的基因治疗是目前的研究热点之一. 我们的研究结果提示GOLPH3过表达后能促进胃癌细胞的增殖, 其可能是通过上调mTOR信号通路中mTOR蛋白磷酸化水平来实现的. 但本实验主要针对mTOR和p-mTOR蛋白进行检测, 而mTOR信号通路中还有很多相关信号分子没有做到相关检测, 还有*GOLPH3*基因是通过什么机制导致mTOR高度活化等方面没有做相关的研究, 阐明这一机制将会为胃癌患者的诊断、治疗及预后等提供参考价值. 因此, 我们期望通过对GOLPH3及其信号通路进行更加深入的研究, 揭示*GOLPH3*调控胃癌的具体机制, 为胃癌的基因治疗提供更多的依据.

4 参考文献

1 Brenner B, Hoshen MB, Purim O, David MB, Ashkenazi K, Marshak G, Kundel Y, Brenner R, Morgenstern S, Halpern M, Rosenfeld N, Chajut A, Niv Y, Kushnir M. MicroRNAs as a potential prognostic factor in gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 3976-3985 [PMID: 22046085 DOI: 10.3748/wjg.v17.i35.3976]

2 Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 69-90 [PMID: 21296855 DOI: 10.3322/caac.20107]

3 Lee KW, Park SR, Oh DY, Park YI, Khosravan R, Lin X, Lee SY, Roh EJ, Valota O, Lechuga MJ, Bang YJ. Phase I study of sunitinib plus capecitabine/cisplatin or capecitabine/oxaliplatin in advanced gastric cancer. *Invest New Drugs* 2013; 31: 1547-1558 [PMID: 24091982 DOI: 10.1007/s10637-013-0032-y]

4 Scott KL, Kabbarah O, Liang MC, Ivanova E, Anagnostou V, Wu J, Dhakal S, Wu M, Chen S, Feinberg T, Huang J, Saci A, Widlund HR, Fisher DE, Xiao Y, Rimm DL, Protopopov A, Wong KK, Chin L. GOLPH3 modulates mTOR signalling and rapamycin sensitivity in cancer. *Nature* 2009; 459: 1085-1090 [PMID: 19553991 DOI: 10.1038/nature08109]

5 Hu BS, Hu H, Zhu CY, Gu YL, Li JP. Overexpression of GOLPH3 is associated with poor clinical outcome in gastric cancer. *Tumour Biol* 2013; 34: 515-520 [PMID: 23132295 DOI: 10.1007/s13277-012-0576-z]

6 Bell AW, Ward MA, Blackstock WP, Freeman HN, Choudhary JS, Lewis AP, Chotai D, Fazel A, Gushue JN, Paiement J, Palcy S, Chevet E, Lafrenière-Roula M, Solari R, Thomas DY, Rowley A, Bergeron JJ. Proteomics characterization of abundant Golgi membrane proteins. *J Biol Chem* 2001; 276: 5152-5165 [PMID: 11042173 DOI: 10.1074/jbc.M006143200]

7 Dippold HC, Ng MM, Farber-Katz SE, Lee SK, Kerr ML, Peterman MC, Sim R, Wiharto PA, Galbraith KA, Madhavarapu S, Fuchs GJ, Meerloo T, Farquhar MG, Zhou H, Field SJ. GOLPH3 bridges phosphatidylinositol-4- phosphate and actomyosin to stretch and shape the Golgi to promote budding. *Cell* 2009; 139: 337-351 [PMID: 19837035 DOI: 10.1016/j.cell.2009.07.052]

8 Schmitz KR, Liu J, Li S, Setty TG, Wood CS, Burd CG, Ferguson KM. Golgi localization of glycosyltransferases requires a Vps74p oligomer. *Dev Cell* 2008; 14: 523-534 [PMID: 18410729 DOI: 10.1016/j.devcel.2008.02.016]

9 Wood CS, Schmitz KR, Bessman NJ, Setty TG, Ferguson KM, Burd CG. PtdIns4P recognition by Vps74/GOLPH3 links PtdIns 4-kinase signaling to retrograde Golgi trafficking. *J Cell Biol* 2009; 187: 967-975 [PMID: 20026658 DOI: 10.1083/jcb.200909063]

10 D'Angelo G, Vicinanza M, Di Campli A, De Matteis MA. The multiple roles of PtdIns(4)P -- not just the precursor of PtdIns(4,5)P2. *J Cell Sci* 2008; 121: 1955-1963 [PMID: 18525025 DOI: 10.1242/jcs.023630]

11 Mosesson Y, Mills GB, Yarden Y. Derailed endocytosis: an emerging feature of cancer. *Nat Rev Cancer* 2008; 8: 835-850 [PMID: 18948996 DOI: 10.1038/nrc2521]

12 Li H, Guo L, Chen SW, Zhao XH, Zhuang SM, Wang LP, Song LB, Song M. GOLPH3 overexpression correlates with tumor progression and poor prognosis in patients with clinically N0 oral tongue cancer. *J Transl Med* 2012; 10: 168 [PMID: 22905766 DOI: 10.1186/1479-5876-10-168]

13 Wang JH, Chen XT, Wen ZS, Zheng M, Deng JM, Wang MZ, Lin HX, Chen K, Li J, Yun JP, Luo RZ, Song LB. High expression of GOLPH3 in esophageal squamous cell carcinoma correlates with poor prognosis. *PLoS One* 2012; 7: e45622 [PMID: 23056210 DOI: 10.1371/journal.pone.0045622]

14 Zhou J, Xu T, Qin R, Yan Y, Chen C, Chen Y, Yu H, Xia C, Lu Y, Ding X, Wang Y, Cai X, Chen J. Overexpression of Golgi phosphoprotein-3 (GOLPH3) in glioblastoma multiforme is associated with worse prognosis. *J Neurooncol* 2012; 110: 195-203 [PMID: 22972189 DOI: 10.1007/s11060-012-0970-9]

15 Hua X, Yu L, Pan W, Huang X, Liao Z, Xian Q, Fang L, Shen H. Increased expression of Golgi phosphoprotein-3 is associated with tumor aggressiveness and poor prognosis of prostate cancer. *Diagn Pathol* 2012; 7: 127 [PMID: 23006319 DOI: 10.1186/1746-1596-7-127]

16 Zeng Z, Lin H, Zhao X, Liu G, Wang X, Xu R, Chen K, Li J, Song L. Overexpression of GOLPH3 promotes proliferation and tumorigenicity in breast cancer via suppression of the FOXO1 transcription factor. *Clin Cancer Res* 2012; 18: 4059-4069 [PMID: 22675169 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-11-3156]

17 Zhou X, Zhan W, Bian W, Hua L, Shi Q, Xie S, Yang D, Li Y, Zhang X, Liu G, Yu R. GOLPH3 regulates the migration and invasion of glioma cells though RhoA. *Biochem Biophys Res Commun* 2013; 433: 338-344 [PMID: 23500462 DOI: 10.1016/j.bbrc.2013.03.003]

18 Iwamoto K, Tashima Y, Hamada H, Eguchi Y, Okamoto M. Mathematical modeling and sensitivity analysis of G1/S phase in the cell cycle including the DNA-damage signal transduction pathway. *Biosystems* 2008; 94: 109-117 [PMID: 18606207 DOI: 10.1016/j.biosystems.2008.05.016]

19 Klinke DJ. Signal transduction networks in cancer: quantitative parameters influence network topology. *Cancer Res* 2010; 70: 1773-1782 [PMID: 20179207 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-09-3234]

20 Carson JD, Van Aller G, Lehr R, Sinnamon RH, Kirkpatrick RB, Auger KR, Dhanak D, Copeland RA, Gontarek RR, Tummino PJ, Luo L. Effects of oncogenic p110alpha subunit mutations on the lipid kinase activity of phosphoinositide 3-kinase. *Biochem J* 2008; 409: 519-524 [PMID: 17877460 DOI: 10.1042/BJ20070681]

21 Dai R, Chen R, Li H. Cross-talk between PI3K/Akt and MEK/ERK pathways mediates endoplasmic reticulum stress-induced cell cycle progression and cell death in human hepatocellular carcinoma cells. *Int J Oncol* 2009; 34: 1749-1757 [PMID: 19424594]

22 Park CM, Park MJ, Kwak HJ, Lee HC, Kim MS, Lee SH, Park IC, Rhee CH, Hong SI. Ionizing radiation enhances matrix metalloproteinase-2 secretion and invasion of glioma cells through Src/epidermal growth factor receptor-mediated p38/Akt and phosphatidylinositol 3-kinase/Akt signaling pathways. *Cancer Res* 2006; 66: 8511-8519 [PMID: 16951163 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-05-4340]

23 Annovazzi L, Mellai M, Caldera V, Valente G, Tessitore L, Schiffer D. mTOR, S6 and AKT expression in relation to proliferation and apoptosis/autophagy in glioma. *Anticancer Res* 2009; 29: 3087-3094 [PMID: 19661320]

24 Seeliger H, Guba M, Kleespies A, Jauch KW, Bruns CJ. Role of mTOR in solid tumor systems: a therapeutical target against primary tumor growth, metastases, and angiogenesis. *Cancer Metastasis Rev* 2007; 26: 611-621 [PMID: 17713840 DOI: 10.1007/s10555-007-9077-8]

25 Yu K, Shi C, Toral-Barza L, Lucas J, Shor B, Kim JE, Zhang WG, Mahoney R, Gaydos C, Tardio L, Kim SK, Conant R, Curran K, Kaplan J, Verheijen J, Ayral-Kaloustian S, Mansour TS, Abraham RT, Zask A, Gibbons JJ. Beyond rapalog therapy: preclinical pharmacology and antitumor activity of WYE-125132, an ATP-competitive and specific inhibitor of mTORC1 and mTORC2. *Cancer Res* 2010; 70: 621-631 [PMID: 20068177 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-09-2340]

26 孙丹凤, 张燕捷, 田筱青, 房静远. 哺乳动物雷帕霉素靶蛋白信号通路及其下游蛋白在胃癌组织中的活化及临床意义. 中华消化杂志 2013; 33: 166-170

27 张志永, 张谢夫. 哺乳动物雷帕霉素靶蛋白在人结肠癌中的表达及其对HT-29细胞增殖凋亡的影响. 中华医学杂志 2011; 91: 2899-2902

28 Aronova S, Wedaman K, Anderson S, Yates J, Powers T. Probing the membrane environment of the TOR kinases reveals functional interactions between TORC1, actin, and membrane trafficking in Saccharomyces cerevisiae. *Mol Biol Cell* 2007; 18: 2779-2794 [PMID: 17507646 DOI: 10.1091/mbc.E07-03-0274]

29 Scott KL, Chin L. Signaling from the Golgi: mechanisms and models for Golgi phosphoprotein 3-mediated oncogenesis. *Clin Cancer Res* 2010; 16: 2229-2234 [PMID: 20354134 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-09-1695]

编辑 田滢 电编 都珍珍

世界华人消化杂志 2014年4月28日; 22(12): 1676-1681
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

研究快报 RAPID COMMUNICATION

阿魏酸钠对大鼠肝纤维化的作用

杨 娟, 徐胜南, 王 敏, 彭丽萍, 周 琦

■背景资料
肝硬化是一种弥漫性肝损害疾病, 可引起一系列严重并发症, 防治肝纤维化的发展对于慢性肝病的预后意义重大.

杨娟, 成都市第一人民医院消化内科 四川省成都市 610041
徐胜南, 彭丽萍, 周琦, 华中科技大学同济医学院附属同济医院消化内科 湖北省武汉市 430030
王敏, 华中科技大学同济医学院附属同济医院急诊科 湖北省武汉市 430030
杨娟, 医师, 主要从事消化系统疾病的研究.
国家自然科学基金资助项目, No. 81070342
作者贡献分布: 本课题由周琦设计; 研究过程由杨娟、徐胜南、王敏及彭丽萍完成; 数据分析及写作由杨娟完成; 周琦审校.
通讯作者: 周琦, 副教授, 430030, 湖北省武汉市解放大道1095号, 华中科技大学同济医学院附属同济医院消化内科.
zhouqi@tjh.tjmu.edu.cn
电话: 027-83663334
收稿日期: 2014-01-26 修回日期: 2014-03-01
接受日期: 2014-03-18 在线出版日期: 2014-04-28

Effects of sodium ferulate on liver fibrosis in experimental cirrhotic rats

Juan Yang, Sheng-Nan Xu, Min Wang, Li-Ping Peng, Qi Zhou

Juan Yang, Department of Gastroenterology, the First People's Hospital of Chengdu, Chengdu 610041, Sichuan Province, China
Sheng-Nan Xu, Li-Ping Peng, Qi Zhou, Department of Gastroenterology, Tongji Hospital, Wuhan 430030, Hubei Province, China
Min Wang, Department of Emergency Medicine, Tongji Hospital of Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81070342
Correspondence to: Qi Zhou, Associated Professor, Department of Gastroenterology, Tongji Hospital of Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, 1095 Jiefang Road, Wuhan 430030, Hubei Province, China. zhouqi@tjh.tjmu.edu.cn
Received: 2014-01-26 Revised: 2014-03-01
Accepted: 2014-03-18 Published online: 2014-04-28

Abstract

AIM: To assess the effects of sodium ferulate on liver fibrosis in rats with experimental cirrhosis induced by bile duct ligation.

METHODS: Liver cirrhosis was experimentally induced in rats by bile duct ligation. Rats were divided into three groups: a control group, a model group and a treatment group, which were treated by sham-operation, bile duct ligation, and sodium ferulate injection after bile duct ligation, respectively. Biochemical parameters were measured. Body weight, liver weight and liver index were compared between groups. Pathological characteristics of liver tissues were observed by optical microscopy and transmission electron microscopy, and the integrated absorbance of hepatic α-smooth muscle actin was determined by immunohistochemistry.

RESULTS: Biochemical parameters did not differ between the model group and treatment group. Liver index in the model group increased compared with control rats (7.83% ± 0.57% *vs* 4.05% ± 0.17%, $P < 0.01$); after treatment, the index decreased significantly (7.08% ± 0.68% *vs* 7.83% ± 0.57%, $P < 0.05$). Pathological observation revealed that the degree of fibrosis and severity of hepatocyte damage in the treatment group were lower than those in the model group. Hepatic α-SMA content in the model group was significantly higher than that in the control group (113224.74 ± 45518.79 *vs* 4197.80 ± 1364.97, $P < 0.01$). After treatment with sodium ferulate, hepatic α-SMA content decreased in the treatment group compared with the model group (46451.65 ± 15600.56 *vs* 113224.74 ± 45518.79, $P < 0.05$).

CONCLUSION: Sodium ferulate has a therapeutic effect on liver fibrosis in rats with experimental cirrhosis induced by bile duct ligation.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Sodium ferulate; Liver fibrosis; α-SMA

Yang J, Xu SN, Wang M, Peng LP, Zhou Q. Effects of sodium ferulate on liver fibrosis in experimental cirrhotic rats. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(12): 1676-1681
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1676.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i12.1676

摘要

目的: 探索阿魏酸钠对胆管结扎所致大鼠实验性肝纤维化的作用.

方法: 用胆管结扎方法制作肝纤维化大鼠模

■同行评议者
刘绍能, 主任医师, 中国中医科学院广安门医院消化科

型. 将实验大鼠分为3组: 对照组、胆管结扎所致肝纤维化模型组、胆管结扎后阿魏酸钠治疗组. 检测、比较各组大鼠血清肝功能指标: 谷丙转氨酶(alanine transaminase, ALT)、谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)、白蛋白(albumin, ALB)、总胆红素(total bilirubin, TBIL)、直接胆红素(direct bilirubin, DBIL)、γ-谷氨酰基转移酶(γ-glutamyl transferase, γ-GGT). 称取各组大鼠体质量、肝脏重量并计算肝指数. 阿魏酸钠治疗对肝脏纤维化程度的影响通过显微镜下观察肝脏HE染色切片、透射电镜观察肝脏超微结构改变, 以及免疫组织化学检测肝脏α-平滑肌肌动蛋白(α-smooth muscle actin, α-SMA)表达积分吸光度值(integrated absorbance, IA)等综合评定.

结果: 用阿魏酸钠治疗后, 肝纤维化大鼠的肝功能较治疗前并无明显改善. 模型组大鼠的肝指数较对照组明显增加(7.83%±0.57% *vs* 4.05%±0.17%, $P<0.01$); 治疗组大鼠的肝指数与模型组比较有所减低(7.08%±0.68% *vs* 7.83%±0.57%, $P<0.05$). 病理观察提示, 治疗组大鼠肝脏纤维化程度及肝细胞破坏程度较模型组有所减低. 免疫组织化学检测提示模型组大鼠肝脏α-SMA表达量均高于对照组(113224.74±45518.79 *vs* 4197.80±1364.97, $P<0.01$); 经过阿魏酸钠处理后的治疗组大鼠肝脏α-SMA的表达量有所减低(46451.65±15600.56 *vs* 113224.74±45518.79, $P<0.05$).

结论: 阿魏酸钠对胆管结扎所致的实验性肝纤维化大鼠有抗肝纤维化作用.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 阿魏酸; 肝纤维化; α–SMA

核心提示: 肝硬化是一种弥漫性肝损害疾病, 防治肝纤维化的发展, 对于慢性肝病的预后意义重大. 本文以胆管结扎所致的肝纤维化大鼠为研究对象, 从血清学、病理学以及免疫组织化学等多个层面展开研究, 证实阿魏酸钠具有一定的抗肝纤维化作用.

杨娟, 徐胜南, 王敏, 彭丽萍, 周琦. 阿魏酸钠对大鼠肝纤维化的作用. 世界华人消化杂志 2014; 22(12): 1676-1681 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1676.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i12.1676

0 引言

肝硬化是一种以肝细胞坏死、肝脏纤维组织增生以及残留肝细胞结节状再生为病理特征的弥漫性肝损害疾病[1,2]. 肝脏纤维化可引起一系列严重并发症, 如门脉高压、腹水、肝性脑病、肝肾综合征等. 防治肝纤维化的发展, 对于慢性肝病的预后意义重大[3-9]. 有研究表明, 阿魏酸能抑制肾小管纤维化[10], 且具有护肝作用[11-15]. 我们以胆管结扎所致的实验性肝纤维化大鼠为研究对象, 观察、分析阿魏酸钠治疗后大鼠肝纤维化程度变化, 初步探索阿魏酸钠的抗肝纤维化作用, 以期为临床治疗提供新思路.

■研发前沿
本文以胆管结扎所致的实验性肝纤维化大鼠为研究对象, 观察、分析阿魏酸钠治疗后大鼠肝纤维化程度变化, 初步探索阿魏酸钠的抗肝纤维化作用, 以期为临床治疗提供新思路.

1 材料和方法

1.1 材料 SPF级♂Wistar大鼠50只, 体质量180-200 g, 购自湖北省疾控中心. 阿魏酸钠由广东阳江制药厂有限公司生产. 小鼠单克隆α-平滑肌肌动蛋白(α-smooth muscle actin, α-SMA)抗体、DAB试剂盒、苏木素等由武汉博士德生物工程有限公司提供; SP三步法免疫组织化学检测试剂盒由北京中杉金桥生物技术有限公司提供.

1.2 方法

1.2.1 动物模型的建立: 实验大鼠随机分为3组, 在麻醉条件下分别接受手术处理. 对照组大鼠($n=10$)经开腹手术但不作其余任何处理即关腹, 饲养4 wk; 模型组大鼠($n=10$)接受胆管结扎手术并继续饲养4 wk; 治疗组($n=10$)大鼠为在胆管结扎手术后第4 wk开始, 接受为期1 wk的经尾静脉注射阿魏酸钠治疗, 剂量为50 mg/kg[10,16].

1.2.2 血清肝功能的测定: 各组大鼠造模成功后, 在麻醉下开腹. 取5 mL注射器, 肝素浸润管壁后, 经下腔静脉抽取血液并转移至离心管, 置离心机于4 ℃恒温条件下以12000 r/min转速离心5 min, 取上清液分装于1.5 mL EP管中, 立即送武汉同济医院检验科检验肝功能指标: 谷丙转氨酶(alanine transaminase, ALT)、谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)、白蛋白(albumin, ALB)、总胆红素(total bilirubin, TBIL)、直接胆红素(direct bilirubin, DBIL)、γ-谷氨酰基转移酶(γ-glutamyltransferase, γ-GGT).

1.2.3 大鼠肝指数: 肝指数(%) = 肝脏质量/体质量×100%[17,18].

1.2.4 病理分析: (1)大鼠取血后, 分离大鼠肝脏, 用剪刀剪取肝脏碎片, 立即投入4%多聚甲醛中固定. 取固定后的肝脏组织, 经梯度乙醇脱水、二甲苯透明、石蜡包埋等步骤制作成蜡块保存. 将蜡块切成厚度为4 μm切片, 经HE染色后, 在显

■相关报道
国内外近年均未见关于阿魏酸钠对肝纤维化作用及其机制的详细报道. 国外研究表明, 阿魏酸能抑制肾小管纤维化, 且具有护肝作用. 国内有报道指出, 从肝脏显微结构的变化看来, 阿魏酸具有一定的抗纤维化作用; 阿魏酸治疗能显著降低肝硬化患者的门脉压力.

表 1 各组大鼠肝功能指标统计表 (n = 10)

分组	ALT(U/L)	AST(U/L)	ALB(g/L)	TBIL(μmol/L)	DBIL(μmol/L)	γ-GGT(U/L)
对照组	30.4 ± 11.2[b]	120.5 ± 60.4[a]	36.1 ± 3.2[b]	0.48 ± 0.20[b]	0.40 ± 0.51[b]	1.91 ± 1.12[b]
模型组	98.4 ± 40.8	391.5 ± 227.2	22.2 ± 4.1	119.4 ± 24.1	85.3 ± 47.2	84.1 ± 31.2
治疗组	90.6 ± 22.4	347.5 ± 99.3	25.8 ± 2.7	106.9 ± 48.5	62.4 ± 45.0	80.8 ± 36.7

[a]P<0.05, [b]P<0.01 *vs* 模型组. ALT: 谷丙转氨酶; AST: 谷草转氨酶; ALB: 白蛋白; TBIL: 总胆红素; DBIL: 直接胆红素; γ-GGT: γ-谷氨酰基转移酶.

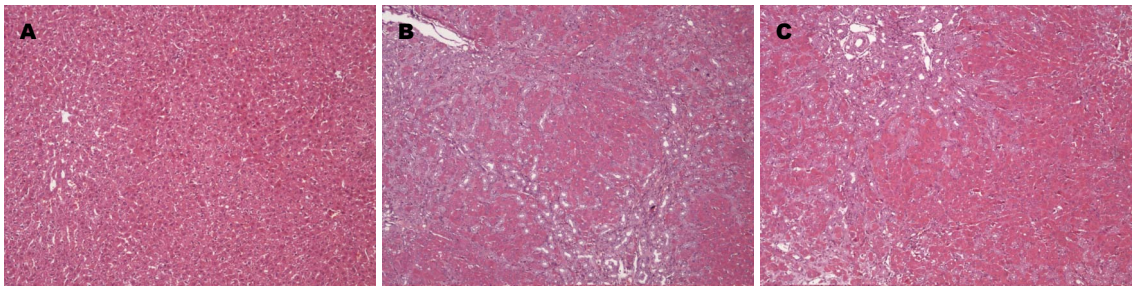


图 1 光镜下观察各组大鼠肝脏HE染色切片(×100). A: 对照组; B: 模型组; C: 治疗组.

微镜下观察比较不同组间大鼠肝脏组织的病理变化; (2)各组大鼠在麻醉处死后, 在1 min内用锋利刀片分别取下1条大小约1 mm×1 mm×5 mm的肝脏组织, 投入2.5%戊二醛预固定2 h. 之后经过锇酸固定、脱水、包埋、超薄切片等步骤, 将组织制作成电镜标本, 在常规透射电镜下观察比较不同组间大鼠肝脏组织的超微结构变化.

1.2.5 免疫组织化学检测α-SMA的表达: 将肝脏石蜡包埋标本切成厚度为4 μm切片, 常规脱蜡至水. 3%过氧化氢室温孵育15 min以灭活内源性过氧化物酶, PBS洗涤. 采用微波抗原修复, 经1-2 h自然冷却至室温, PBS洗涤3次. 向组织切片上滴加试剂盒中A液(山羊血清封闭液), 切片置湿盒中室温孵育15 min, 倾去, 勿洗. 将小鼠来源一抗α-SMA(稀释比例1∶100)滴加到切片上, 置湿盒中于4 ℃冰箱中孵育过夜. 次日取出湿盒, 室温中静置1 h, PBS洗涤. 滴加试剂盒中试剂B(生物素标记二抗工作液), 室温孵育30 min, PBS洗涤. 滴加试剂盒中试剂C(HRP标记链霉卵白素工作液), 室温孵育30 min, PBS洗涤后用DAB试剂盒显色, 光镜下控制反应时间. 经苏木素复染、梯度乙醇脱水、二甲苯头透明等处理后, 待切片自然风干, 封片, 光镜下观察, α-SMA阳性产物呈棕黄色. 各实验组分别选取6张切片, 每张切片在高倍镜下随机选取至少5个完整而不重叠的视野, 用Image-Pro Plus 6.0软件测定每个视野下阳性反应的IA值[19-20].

统计学处理 计量资料用mean±SD表示. 用SPSS19.0软件统计数据, 采取单因素方差分析(数据满足方差齐性用Bonferroni检验; 不满足方差齐性用Dunn检验). P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 血清肝功能的测定 模型组大鼠的肝功能各项指标(除ALB减低外)均明显高于对照组. 用阿魏酸钠治疗后, 肝纤维化大鼠的肝功能较治疗前并无明显改善(表1).

2.2 肝指数 计算出各组大鼠的肝指数分别为: 对照组: 4.05%±0.17%, 模型组: 7.83%±0.57%, 治疗组: 7.08%±0.68%. 与对照组相比, 模型组的肝指数明显增加(P<0.01); 治疗组的肝指数与模型组比较有所减低(P<0.05).

2.3 病理分析

2.3.1 经光镜观察各组大鼠肝脏HE染色切片: 通过在镜下观察模型大鼠的肝脏HE染色切片, 我们发现, 对照组大鼠肝小叶结构正常, 肝细胞索排列整齐, 肝窦结构清晰, 未见水肿和坏死肝细胞(图1A). 模型组大鼠肝脏纤维组织增生, 部分区域有假小叶结构形成, 间质内弥漫性淋巴细胞浸润, 肝细胞有不同程度的水肿和坏死(图1B). 治疗组大鼠肝脏组织炎症反应、纤维组织增生程度及肝细胞水肿、坏死程度较模型组有所减轻(图1C).

2.3.2 经透射电镜观察各组大鼠肝脏超微结构:

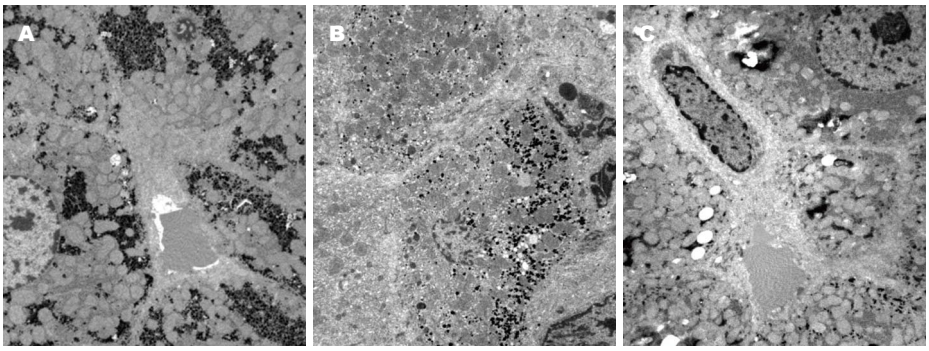


图 2 电镜下观察各组大鼠肝脏超微结构(标尺5 μm). A: 对照组; B: 模型组; C: 治疗组.

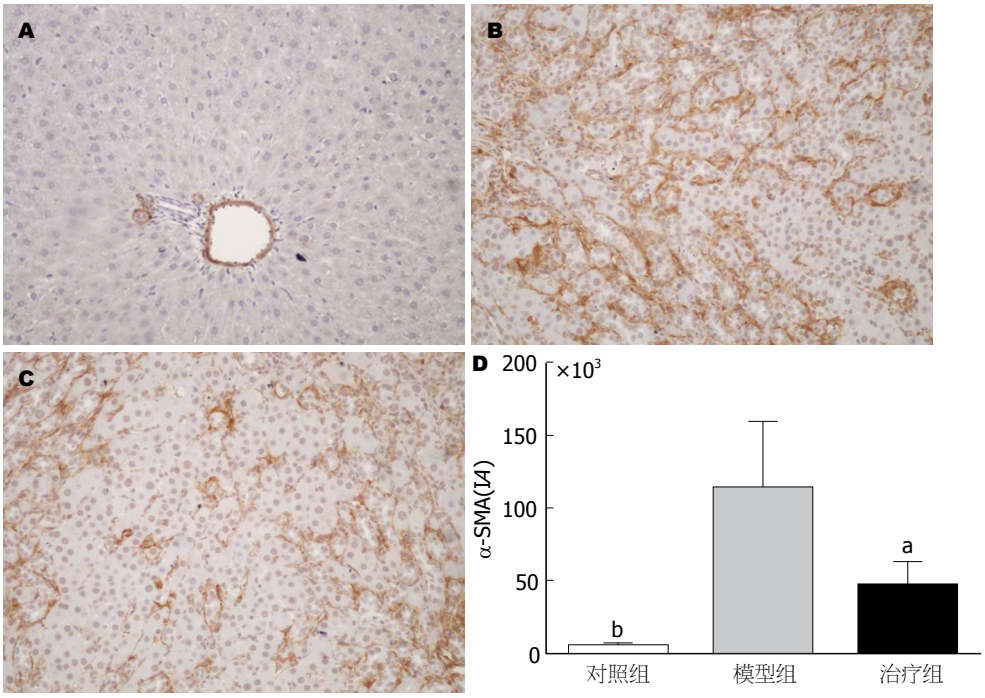


图 3 免疫组织化学检测大鼠肝脏组织中α-SMA的表达. A: 对照组(×200); B: 模型组(×200); C: 治疗组(×200); D: 各组大鼠肝脏α-SMA表达统计图. [a]*P*<0.05, [b]*P*<0.01 *vs* 模型组. α-SMA: α-平滑肌肌动蛋白.

对照组大鼠肝脏组织细胞形态清晰, 结构完整, 胞浆粗面内质网、线粒体、核糖体丰富, 肝窦周间隙未见纤维沉积(图2A); 模型组肝细胞坏死明显, 结构紊乱, 细胞器大量破坏, 细胞间隙增宽, 窦周及细胞间隙均有大量胶原纤维沉积(图2B); 治疗组: 肝细胞坏死较轻, 部分肝细胞胞浆内出现肿胀空泡和脂滴, 窦周间隙偶见少量胶原纤维(图2C).

2.4 α-SMA在肝脏组织中的表达 α-SMA在肝脏组织中的表现为胞浆中深浅不一的棕黄色. 在对照组正常大鼠肝脏中, α-SMA蛋白主要表达于血管壁, 统计IA值为4197.80±1364.97; 模型组大鼠肝脏α-SMA除血管壁有阳性表达以外, 汇管区、纤维间隔及邻近肝窦也有大量表达, IA值增加至113224.74±45518.79, 表达量明显增多(*P*<0.01 *vs* 对照组). 经过阿魏酸钠处理后, 治疗组大鼠肝脏α-SMA的阳性表达面积较模型组减少、阳性染色减轻, IA值减少为46451.65±15600.56(*P*<0.05 *vs* 模型组), (图3).

3 讨论

肝硬化是病毒性肝炎、酒精性肝炎、自身免疫性肝炎等各种慢性肝病发展的晚期阶段, 而肝纤维化是其形成的病理基础[1,21-23]. 抗肝纤维化是肝硬化的基础治疗措施, 可延缓肝硬化的进展, 改善肝硬化患者的预后. 目前对肝纤维化的治疗药物, 根据其作用机制, 主要包括抑制肝脏炎症和免疫反应、抗氧化损伤、抑制肝星状细

■创新盘点
本文以胆管结扎所致的实验性肝纤维化大鼠为研究对象, 从血清学、病理学以及免疫组织化学等多个层面研究阿魏酸钠治疗后大鼠肝纤维化程度变化, 探索阿魏酸钠的抗肝纤维化作用.

■应用要点
本文从血清学、病理学以及免疫组织化学等多个层面研究阿魏酸钠治疗后大鼠肝纤维化程度变化, 以期为阿魏酸对肝硬化治疗作用的相关研究及临床治疗提供新的思路.

胞激活、抑制细胞外基质(extracellular matrix, ECM)合成及加速ECM降解这几大类别[24-26].

阿魏酸是当归、川芎等中药材水溶性提取物中主要单体活性成分, 属于酚酸类化合物, 具有抗血小板聚集、抗炎、抗氧化等作用[27-29], 不良反应少, 临床多运用于肿瘤、肾脏及心血管等相关疾病的治疗[30-32], 而对肝脏疾病的临床应用较少见. Huang等[33]研究指出, 阿魏酸治疗后能显著降低肝硬化患者的门脉压力, 其具体机制尚未阐明. 前面我们提到, 阿魏酸具有保护肝细胞损伤的作用. 有研究指出, 在肝脏慢性损伤的过程中均伴有不同程度的氧化应激, 后者参与诱导枯否氏细胞及肝星状细胞活化, 促进肝细胞损伤, 在肝纤维化的发生过程中起着一定作用[34-36]. 既然阿魏酸具有抗氧化作用已为我们所熟知, 其或许对肝纤维化能起对应的抑制作用.

在本实验中, 我们用胆管结扎的方法制作大鼠肝纤维化模型. 实验表明, 阿魏酸钠治疗后, 肝纤维化大鼠肝功能指标有所改善, 但其统计学意义并不显著. 经阿魏酸钠治疗后的大鼠肝指数较模型组有所减低, 表明阿魏酸钠治疗能够改善肝脏充血肿大, 减轻肝损伤. 实验大鼠造模结束后, 对大鼠肝脏进行HE染色并观察, 可以了解胆管结扎手术是否成功, 更重要的是, 通过比较各组大鼠肝脏HE染色切片, 我们发现, 治疗组大鼠肝脏组织炎症反应、纤维组织增生程度较模型组有所减轻. 同时, 通过在透射电镜下观察各组大鼠肝脏超微结构的变化, 表明经过阿魏酸钠治疗后的大鼠肝细胞损害明显减轻, 窦周及细胞间隙的胶原纤维沉积量有所减少. 上述实验结果从形态学上表明阿魏酸钠具有保护肝细胞损伤的作用, 而且能够减轻肝脏纤维化程度. 本实验对α-SMA蛋白表达的研究表明, 经过阿魏酸钠治疗后, 大鼠肝脏α-SMA表达量明显减少. 肝脏纤维化形成的中心环节是门脉周围及窦周富α-SMA肌成纤维细胞的产生及增殖[37-39]. 因此, 我们推断, 阿魏酸作用可以使肝脏α-SMA蛋白表达下降, 从而使肝纤维化形成过程受阻.

总之, 本实验表明, 阿魏酸钠对胆管结扎所致的实验性肝纤维化化大鼠有抗肝纤维化作用. 其机制或许一方面源于阿魏酸的抗氧化作用, 使氧化应激引起的肝损伤及肝纤维化作用减弱; 另一方面, 阿魏酸使肝脏α-SMA表达减少, 纤维形成过程受阻. 阿魏酸作为一种安全、不良反应少的药物, 其对肝纤维化的具体作用机制尚需展开深入的基础试验及临床病例研究, 以使其在临床抗肝纤维化治疗方面发挥作用.

4 参考文献

1 Schuppan D, Afdhal NH. Liver cirrhosis. *Lancet* 2008; 371: 838-851 [PMID: 18328931 DOI: 10.1016/S0140-6736(08)60383-9]
2 Brandão DF, Ramalho LN, Ramalho FS, Zucoloto S, Martinelli Ade L, Silva Ode C. Liver cirrhosis and hepatic stellate cells. *Acta Cir Bras* 2006; 21 Suppl 1: 54-57 [PMID: 17013515 DOI: 10.1590/S0102-86502006000700013]
3 Prelipcean CC. [Portal hypertension in liver cirrhosis]. *Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi* 2001; 105: 63-68 [PMID: 12092160]
4 Schuster MJ. [Complications of liver cirrhosis: portal hypertension, gastroesophageal varices and ascites]. *Praxis* (Bern 1994) 2003; 92: 1427-1434 [PMID: 14526628]
5 Kuiper JJ, de Man RA, van Buuren HR. Review article: Management of ascites and associated complications in patients with cirrhosis. *Aliment Pharmacol Ther* 2007; 26 Suppl 2: 183-193 [PMID: 18081661 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2007.03482.x]
6 Wong F. Management of ascites in cirrhosis. *J Gastroenterol Hepatol* 2012; 27: 11-20 [PMID: 21916992 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2011.06925.x]
7 Moriwaki H, Shiraki M, Iwasa J, Terakura Y. Hepatic encephalopathy as a complication of liver cirrhosis: an Asian perspective. *J Gastroenterol Hepatol* 2010; 25: 858-863 [PMID: 20546438 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2010.06242.x]
8 Carl DE, Sanyal A. The management of hepatorenal syndrome. *Minerva Gastroenterol Dietol* 2009; 55: 207-226 [PMID: 19305378]
9 Aguillon D, Seguin P, Mallédant Y. [Hepatorenal syndrome: from physiopathology to treatment]. *Ann Fr Anesth Reanim* 2003; 22: 30-38 [PMID: 12738017 DOI: 10.1016/S0750-7658(02)00851-1]
10 Meng LQ, Tang JW, Wang Y, Zhao JR, Shang MY, Zhang M, Liu SY, Qu L, Cai SQ, Li XM. Astragaloside IV synergizes with ferulic acid to inhibit renal tubulointerstitial fibrosis in rats with obstructive nephropathy. *Br J Pharmacol* 2011; 162: 1805-1818 [PMID: 21232035 DOI: 10.1111/j.1476-5381.2011.01206.x]
11 Rukkumani R, Priyanka A, Sankar P, Menon VP. Ferulic acid influences hepatic expression pattern of matrix metalloproteinases during alcohol and PUFA induced toxicity. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2012; 16: 2147-2153 [PMID: 23280033]
12 Guo Y, Wu XQ, Zhang C, Liao ZX, Wu Y, Wang H. Protective effect of sodium ferulate on acetaldehyde-treated precision-cut rat liver slices. *J Med Food* 2012; 15: 557-562 [PMID: 22404575 DOI: 10.1089/jmf.2011.1915]
13 Kim HY, Park J, Lee KH, Lee DU, Kwak JH, Kim YS, Lee SM. Ferulic acid protects against carbon tetrachloride-induced liver injury in mice. *Toxicology* 2011; 282: 104-111 [PMID: 21291945 DOI: 10.1016/j.tox.2011.01.017]
14 Chotimarkorn C, Ushio H. The effect of trans-ferulic acid and gamma-oryzanol on ethanol-

induced liver injury in C57BL mouse. *Phytomedicine* 2008; 15: 951-958 [PMID: 18424018 DOI: 10.1016/j.phymed.2008.02.014]
15 Rukkumani R, Aruna K, Suresh Varma P, Padmanabhan Menon V. Hepatoprotective role of ferulic acid: a dose-dependent study. *J Med Food* 2004; 7: 456-461 [PMID: 15671689 DOI: 10.1089/jmf.2004.7.456]
16 Alam MA, Sernia C, Brown L. Ferulic acid improves cardiovascular and kidney structure and function in hypertensive rats. *J Cardiovasc Pharmacol* 2013; 61: 240-249 [PMID: 23188120 DOI: 10.1097/FJC.0b013e31827cb600]
17 Yuan LP, Chen FH, Ling L, Bo H, Chen ZW, Li F, Zhong MM, Xia LJ. Protective effects of total flavonoids of Bidens bipinnata L. against carbon tetrachloride-induced liver fibrosis in rats. *J Pharm Pharmacol* 2008; 60: 1393-1402 [PMID: 18812033 DOI: 10.1211/jpp/60.10.0016]
18 柳怿, 李继强. 依那普利对大鼠肝纤维化的预防和治疗作用. 世界华人消化杂志 2004; 12: 2119-2122
19 Xu Q, Liu X, Chen W, Zhang Z. Inhibiting adenoid cystic carcinoma cells growth and metastasis by blocking the expression of ADAM 10 using RNA interference. *J Transl Med* 2010; 8: 136 [PMID: 21171968 DOI: 10.1186/1479-5876-8-136]
20 Piao RL, Brigstock DR, Zhu J, Zhang ML, Gao RP. Clinical significance of connective tissue growth factor in hepatitis B virus-induced hepatic fibrosis. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 2280-2286 [PMID: 22611323 DOI: 10.3748/wjg.v18.i18.2280]
21 Ito K, Shiraki K, Sakai T, Yoshimura H, Nakano T. Portal hypertensive colopathy in patients with liver cirrhosis. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 3127-3130 [PMID: 15918202]
22 孟晓丹, 向国卿, 贺小虎, 王炳元. 肝硬化病因及临床特点分析178例. 世界华人消化杂志 2006; 14: 1880-1884
23 姜慧卿, 张晓岚. 肝纤维化的发生机制. 世界华人消化杂志 2000; 8: 687-689
24 蒋树林, 姚希贤, 孙玉凤. 肝纤维化的治疗. 世界华人消化杂志 2000; 8: 684-686
25 朱颖炜, 朱焱, 林勇, 谢渭芬. 药物治疗肝纤维化现状. 世界华人消化杂志 2005; 13: 367-370
26 高润平, 齐晓艳. 肝纤维化的发生机制与治疗进展. 世界华人消化杂志 2006; 14: 2263-2269
27 Srinivasan M, Sudheer AR, Menon VP. Ferulic Acid: therapeutic potential through its antioxidant property. *J Clin Biochem Nutr* 2007; 40: 92-100 [PMID: 18188410 DOI: 10.3164/jcbn.40.92]
28 胡益勇, 徐晓玉. 阿魏酸的化学和药理研究进展. 中成药 2006; 28: 253-255
29 黄珍辉, 盛文兵, 傅榕廖, 刘燕群, 黄培, 彭彩云. 阿魏酸酯类衍生物的药理作用及合成研究进展. 中国医药导报 2012; 9: 8-10
30 刘文林, 杨晓风, 胡晓红. 阿魏酸钠的临床应用. 中国医药指南 2009; 7: 80-81
31 Yin H, Yan X, Yang KH. [Systematic review on sodium ferulate for treatment of diabetic nephropathy]. *Zhongguo Zhongxiyi Jiehe Zazhi* 2009; 29: 970-974 [PMID: 20329603]
32 Wang BH, Ou-Yang JP. Pharmacological actions of sodium ferulate in cardiovascular system. *Cardiovasc Drug Rev* 2005; 23: 161-172 [PMID: 16007232 DOI: 10.1111/j.1527-3466.2005.tb00163.x]
33 Huang Z, Wei W, Zhong Q. [Effect of sodium ferulate on hemodynamics in hepatic cirrhosis patients with portal hypertension]. *Zhongguo Zhongxiii Jiehe Zazhi* 2008; 28: 640-642 [PMID: 18822917]
34 张晓岚, 王占魁, 姜慧卿. 氧化应激与肝纤维化. 临床肝脏病杂志 2007; 23: 226-229
35 Natarajan SK, Thomas S, Ramamoorthy P, Basivireddy J, Pulimood AB, Ramachandran A, Balasubramanian KA. Oxidative stress in the development of liver cirrhosis: a comparison of two different experimental models. *J Gastroenterol Hepatol* 2006; 21: 947-957 [PMID: 16724977 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2006.04231.x]
36 Lv P, Luo HS, Zhou XP, Chireyath Paul S, Xiao YJ, Si XM, Liu SQ. Thalidomide prevents rat liver cirrhosis via inhibition of oxidative stress. *Pathol Res Pract* 2006; 202: 777-788 [PMID: 17030452 DOI: 10.1016/j.prp.2006.08.002]
37 Elsharkawy AM, Oakley F, Mann DA. The role and regulation of hepatic stellate cell apoptosis in reversal of liver fibrosis. *Apoptosis* 2005; 10: 927-939 [PMID: 16151628 DOI: 10.1007/s10495-005-1055-4]
38 Atzori L, Poli G, Perra A. Hepatic stellate cell: a star cell in the liver. *Int J Biochem Cell Biol* 2009; 41: 1639-1642 [PMID: 19433304 DOI: 10.1016/j.biocel.2009.03.001]
39 Senoo H, Yoshikawa K, Morii M, Miura M, Imai K, Mezaki Y. Hepatic stellate cell (vitamin A-storing cell) and its relative--past, present and future. *Cell Biol Int* 2010; 34: 1247-1272 [PMID: 21067523 DOI: 10.1042/CBI20100321]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

■同行评价

本文将阿魏酸钠引入肝纤维化的治疗, 是一种尝试. 通过胆管结扎方法制作肝纤维化大鼠模型, 研究阿魏酸钠对该模型大鼠的作用, 证实了阿魏酸钠对胆管结扎所致的实验性肝纤维化大鼠有抗肝纤维化作用. 本研究实验设计合理, 资料详细, 结果可信, 有一定参考价值.

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2014年4月28日; 22(12): 1682-1687
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

研究快报 RAPID COMMUNICATION

隔药饼灸对功能性胃肠病肝郁脾虚模型大鼠SP与肠道敏感性的影响

刘未艾, 常小荣, 吴清明, 刘 密, 张国山, 石 佳, 章海凤

■背景资料
功能性胃肠病(functional gastrointestinal disorders, FGIDs)是一种生物-心理-社会病症, 其病因复杂繁多, 发病机制多与胃肠运动障碍、内脏敏感性增高、黏膜免疫和炎症反应、脑肠轴异常及精神-心理、社会因素等有关. 内脏高敏感性一直被认为是FGIDs发生的主要机制之一. 历代资料表明, FGIDs是针灸临床的优势病种, 隔药饼灸被广泛而有效地运用于FGIDs的防治之中.

刘未艾, 吴清明, 湖南中医药大学第二附属医院针灸-脑病科 湖南省长沙市 410005
常小荣, 刘密, 张国山, 石佳, 章海凤, 湖南中医药大学针灸推拿学院 湖南省长沙市 410007
刘未艾, 副主任医师, 博士研究生, 主要从事针灸治病机制的研究.
国家973计划理论专项课题基金资助项目, No. 2009CB522904
国家自然科学基金课题基金资助项目, Nos. 81173326, 81303049
长沙市科技计划重点基金资助项目, No. K1005020-31
湖南省高校创新平台开放基金资助项目, No. 12K087
高等学校博士学科点专项科研基金资助项目, No. 20124323110001
湖南省科技计划基金资助项目, No. 2011SK3095
湖南省中医药管理局基金资助项目, No. 2013117
作者贡献分布: 此课题由常小荣、刘未艾及刘密设计; 动物模型制作与指标检测分析由章海凤、石佳及张国山完成; 论文写作由刘未艾、常小荣及吴清明完成.
通讯作者: 常小荣, 教授, 410007, 湖南省长沙市韶山中路113号, 湖南中医药大学针灸推拿学院. xrchang1956@163.com
电话: 0731-88458187
收稿日期: 2014-02-19 修回日期: 2014-03-19
接受日期: 2014-03-28 在线出版日期: 2014-04-28

Influence of herbal cake-separatedmoxibustion on substance P expression and intestinal sensitivity in rats with functional gastrointestinal disorders due to syndrome of liver stagnation and spleen deficiency

Wei-Ai Liu, Xiao-Rong Chang, Qing-Ming Wu, Mi Liu, Guo-Shan Zhang, Jia Shi, Hai-Feng Zhang

Wei-Ai Liu, Qing-Ming Wu, Department of Acupuncture-Encephalopathy, the Second Affiliated Hospital of Hunan University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Changsha 410005, Hunan Province, China
Xiao-Rong Chang, Mi Liu, Guo-Shan Zhang, Jia Shi, Hai-Feng Zhang, College of Acu-moxibustion and Massage, Hunan University of Traditional Chinese Medicine, Changsha 410007, Hunan Province, China
Supported by: the National Key Basic Research Program ("973" Program), No. 2009CB52290; the National Natural Science Foundation of China, Nos. 81173326 and 81303049; the Key Science and Technology Program of Changsha, No. K1005020-31; the Hunan Provincial Colleges and Universities Innovation Platform Open Fund Project, No. 12K087; the Higher School Specialized Research Fund for the Doctoral Program, No. 20124323110001; the Hunan Science and Technology Program, No. 2011SK3095; the State Administration of Traditional Chinese Medicine of Hunan Province, No. 2013117

■同行评议者
郑培永, 副教授, 上海中医药大学脾胃病研究所, 上海中医药大学附属龙华医院消化内科

Correspondence to: Xiao-Rong Chang, Professor, the College of Acu-moxibustion and Massage, Hunan University of Traditional Chinese Medicine, 113 Shaoshan Middle Road, Changsha 410007, Hunan Province, China. xrchang1956@163.com
Received: 2014-02-19 Revised: 2014-03-19
Accepted: 2014-03-28 Published online: 2014-04-28

Abstract

AIM: To observe the influence of herbal cake-separated moxibustion on the expression of substance P (SP) and intestinal sensitivity in rats with functional gastrointestinal disorders due to syndrome of liver stagnation and spleen deficiency and to explore the possible mechanism underlying the therapeutic effects of herbal cake-separated-moxibustion against functional gastrointestinal disorders.

METHODS: Sixty SD rats were randomly and equally divided into five groups: blank group, model group, herbal cake-separatedmoxibustion group, Xiaoyaosan group and domperidone group. Except for the blank group, the other four groups underwent modeling by applying chronic restraint stress + excessive fatigue + irregular food + tail clipping + shaking for 21 consecutive days. The herbal cake-separatedmoxibustion group underwent herbal cake-separated moxibustion for 14 d, while the Xiaoyaosan group and domperidone group were given Xiaoyaosan and domperidone by gavage for the same duration, respectively. At the end of the experiment, intestinal sensitivity was determined by intestinal water injection rate when the abdominal withdrawal reflex score was 3 points, and the expression of SP in the tissues of the hypothalamus, spinal cord, gastric antrum and colon were measured by Western blot.

RESULTS: The intestinal water injection rate was significantly higher in the herbal cake-separated moxibustion group, Xiaoyaosan group and domperidone group than in the model group (0.8308 mL ± 0.2364 mL, 0.9217 mL ± 0.1752 mL, 0.8000 mL ± 0.1924 mL *vs* 0.5775 mL ± 0.1103

mL, $P < 0.01$ for all), while the expression of SP (relative grey value) in the tissues of the hypothalamus, spinal cord, gastric antrum and colon was significantly lower in herbal cake-separated moxibustion group, Xiaoyaosan group and domperidone group than in the model group (hypothalamus: 0.6780 ± 0.0220, 0.6840 ± 0.0288, 0.6933 ± 0.0278 *vs* 0.8998 ± 0.0239; spinal cord: 0.4430 ± 0.0393, 0.4763 ± 0.0308, 0.4628 ± 0.0185 *vs* 0.5563 ± 0.0261; gastric antrum: 0.5690 ± 0.0292, 0.5546 ± 0.0261, 0.5583 ± 0.0163 *vs* 0.6821 ± 0.0224; colon: 0.5556 ± 0.0209, 0.5705 ± 0.0282, 0.5823 ± 0.0361 *vs* 0.7477 ± 0.0210, $P < 0.01$ for all). There were no significant differences in the above parameters among the three treatment groups ($P > 0.05$ for all).

CONCLUSION: Herbal cake-separated moxibustion can improve intestinal sensitivity possibly by reducing the expression of SP in rats with functional gastrointestinal disorders due to syndrome of liver stagnation and spleen deficiency.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Herbal cake-separatedmoxibustion; Functional gastrointestinal disorders; Liver-qi stagnation and spleen-qi deficiency; SP; Intestinal sensitivity

Liu WA, Chang XR, Wu QM, Liu M, Zhang GS, Shi J, Zhang HF. Influence of herbal cake-separatedmoxibustion on Substance P expression and intestinal sensitivity in rats with functional gastrointestinal disorders due to syndrome of liver stagnation and spleen deficiency. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(12): 1682-1687 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1682.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i12.1682

摘要

目的: 观察隔药饼灸对功能性胃肠病(functional gastrointestinal disorders, FGIDs)肝郁脾虚型模型大鼠组织中SP及肠道敏感性的影响, 探讨隔药饼灸治疗FGIDs的可能的作用机制.

方法: 60只SD大鼠按照随机数字表法随机分为空白组、模型组、隔药饼灸组、逍遥散组和多潘立酮组5组, 每组12只, 除空白组外其余4组采用复合病因造模法(慢性束缚应激+过度疲劳+饮食失节+夹尾+摇晃)造模, 连续21 d; 再按被试因素施加方法每天进行隔药饼灸和逍遥散、多潘立酮灌胃14 d. 分组治疗2 wk后, 采用腹壁撤离反射检测肠道敏感性, 用Western blot法检测下丘脑、脊髓、胃窦和结肠组织中SP的含量.

结果: 隔药饼灸组、逍遥散组与多潘立酮组大鼠的肠道注水量明显高于模型组, SP含量明显低于模型组, 差异均有高度统计学意义($P<0.01$)(肠道注水量: 0.8308 mL±0.2364 mL, 0.9217 mL±0.1752 mL, 0.8000 mL±0.1924 mL *vs* 0.5775 mL±0.1103 mL,下丘脑中的SP含量: 0.6780±0.0220, 0.6840±0.0288, 0.6933±0.0278 *vs* 0.8998±0.0239; 脊髓中的SP含量: 0.4430±0.0393, 0.4763±0.0308, 0.4628±0.0185 *vs* 0.5563±0.0261; 胃窦中的SP含量: 0.5690±0.0292, 0.5546±0.0261, 0.5583±0.0163 *vs* 0.6821±0.0224; 结肠中的SP含量: 0.5556±0.0209, 0.5705±0.0282, 0.5823±0.0361 *vs* 0.7477±0.0210, 均$P<0.01$), 但三组间比较差异无统计学意义($P>0.05$).

结论: 隔药饼灸能和逍遥散、多潘立酮一样通过下调各组织中SP的含量, 从而达到改善肠道敏感性的作用, 这可能是其治疗FGIDs的另一作用机制.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 隔药饼灸; 功能性胃肠病; 肝郁脾虚模型; SP; 肠道敏感性

核心提示: 纠正异常的脑肠肽表达, 调节脑-肠互动的异常可能是隔药饼灸治疗功能性胃肠病(functional gastrointestinal disorders)的重要途径.

刘未艾, 常小荣, 吴清明, 刘密, 张国山, 石佳, 章海凤. 隔药饼灸对功能性胃肠病肝郁脾虚模型大鼠SP与肠道敏感性的影响. 世界华人消化杂志 2014; 22(12): 1682-1687 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1682.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i12.1682

0 引言

大量研究证实, 功能性胃肠病(functional gastrointestinal disorders, FGIDs)是一种生物-心理-社会病症, 其病因复杂繁多, 发病机制多与胃肠运动障碍、内脏敏感性增高、黏膜免疫和炎症反应、脑肠轴异常及精神-心理、社会因素等有关. 内脏高敏感是指引起内脏疼痛或不适的刺激阈值降低、内脏对生理性刺激产生不适感或对伤害性刺激反应强烈的现象. 内脏高敏感性一直被认为是功能性胃肠道疾病发生的主要机制之一[1]. SP作为重要的脑肠肽之一, 与内脏感觉过敏的产生和传递有密切联系. 历代资料表

■研发前沿

胃肠道动力障碍和感觉异常是FGIDs的主要病理生理学基础. 目前对灸法治疗FGIDs的临床研究较多, 通过动物实验来研究其机制的报道较少, 因此使得灸法疗效缺少客观公认的评价. 本实验旨在前期研究的基础上, 进一步观察隔药饼灸对FGIDs肝郁脾虚模型大鼠SP的含量与肠道敏感性的影响, 从而探讨隔药饼灸治疗FGIDs肝郁脾虚证另一可能的作用机制, 为临床合理应用灸法治疗本病提供重要的参考依据.

■相关报道
近年来有学者研究发现FD大鼠存在明显的胃肠感觉过敏, 模型大鼠血浆及各组织中SP的含量增高, 通过降低模型大鼠SP含量, 可减弱背角神经元兴奋性, 提高内脏痛阈, 消除肠道过敏而发生作用, 与本实验所得结果一致.

明, FGIDs是针灸临床的优势病种, 隔药饼灸有助于针灸临床更好地发挥中医辨证论治的特色和优势, 具有能提高艾灸与中药外敷治疗的疗效、适应症广、节约药材、操作方便、安全性好、无不良反应作用、实用性强的优势, 被广泛而有效地运用于FGIDs的防治之中. 目前认为胃肠道动力障碍和感觉异常是FGIDs的主要病理生理学基础[2]. 本课题组前期探讨了隔药饼灸改善FGIDs胃肠动力障碍的可能作用机制, 证实隔药饼灸通过升高血清中胃动素(motilin, MTL)和胃泌素(gastrin, GAS), 降低VIP的水平, 增加组织中Ghrelin蛋白的表达, 从而达到促进胃排空和小肠推进作用[3-5]. 本实验旨在前期研究的基础上, 进一步观察隔药饼灸对FGIDs肝郁脾虚模型大鼠SP的含量与肠道敏感性的影响, 从而探讨隔药饼灸治疗FGIDs肝郁脾虚证另一可能的作用机制.

1 材料和方法

1.1 材料 健康Sprague-Dawley大鼠, 雌雄各半, 体质量220-250 g, 月龄3-4 mo. 由湖南中医药大学实验动物中心提供(动物合格证号: SCXK<湘>2009-0004; 动物级别: SPF; 饲料来源: 合格证号: SCXK<湘>2009-0009; 动物饲养环境实验室合格证号: SCXK<湘>2009-0001). 大鼠自由摄食及饮水, 饲养温度20%-25%, 湿度50%-70%. TGL-18R台式冷冻离心机(深圳黑马); TS-92摇床(其林贝尔); 164-5050电泳仪(Bio-rad); DYCZ-24EN电泳槽(北京六一); DYCZ-40A转膜仪(北京六一); Santa Cruz公司生产的goat SP抗体(批号: SC-23558); SP试剂盒(维尔生物科技有限公司); 多潘立酮(片剂, 10 mg/片)(西安杨森制药有限公司, 批号: 120117119); 中药饮片(购自湖南中医药大学第二附属医院中药房); 逍遥散水煎剂[6]. 自制的简易艾灸底座.

1.2 方法

1.2.1 分组: SD健康大鼠70只(SPF级), 编号. 按随机数字表将大鼠随机分为空白组和模型储备组, 其中空白组12只(雌雄各半), 造模结束后, 取造模成功的48只大鼠再按随机数字表法随机分为4组, 每组12只(雌雄各半), 实验最终共分为A空白组、B模型组、C隔药饼灸组、D逍遥散组和E多潘立酮组5组, 每组12只.

1.2.2 造模及给药: 参照岳利峰等[7]采用复合病因法造模, 用慢性束缚应激+过度疲劳+饮食失节的方法, 束缚时加夹尾30 min、摇晃5 min. 实验前全部动物进行预游泳, 剔除游泳时间少于10 min、大于20 min的大鼠, 预游泳合格造模大鼠每天上午8:00置于束缚盒中束缚限制3 h, 同时夹尾30 min、摇晃5 min,下午2:00置于盛有(22 ℃±1 ℃)的温水大塑料桶中游泳10 min. 隔日足量给食, 隔日禁食, 连续3 wk. 空白组正常饲养, 不做任何处理; 模型组造模后行捆绑束缚30 min, 并灌服生理盐水, 灌胃容积均为1 mL/100 g体质量(下同); 隔药饼灸组造模后行隔药饼灸30 min, 并灌服生理盐水; 逍遥散组造模后行捆绑束缚30 min, 灌服逍遥散5.85 g/(kg·d); 多潘立酮组造模后行捆绑束缚30 min, 灌服多潘立酮2.7 mg/(kg·d), 共14 d.

1.2.3 施灸: (1)选穴: Ⅰ组: 双侧肝俞、脾俞、足三里; Ⅱ组: 双侧章门、期门及中脘. 取穴定位: 参照新世纪全国高等中医院校规划教材《实验针灸学》[8]及华兴邦的大鼠穴位图谱[9]对所选穴位进行定位. 艾炷: 选用苏州东方艾绒厂生产的“神灸300灸”艾炷(型号: 东方一型, 批号20100812). 隔药饼的药物组成及药饼制作: 取柴胡、茯苓、白术、白芍、陈皮、防风等药按等比例剂量粉碎为末, 过200目筛备用, 使用时加冰片、氮酮促透剂用醋调成糊状, 通过自制的艾灸底座模具捏压成厚约2 mm、直径为1 cm的药饼; (2)隔药饼灸法: 每日8:00AM将大鼠捆绑束缚于鼠板上, 取穴定位剪毛后用细绳将放置好药饼的艾灸底座固定在穴位上, 然后将直径为0.5 cm±0.2 cm的艾炷穿过自制模具的铁纤放在药饼上, 点燃施灸, 待艾炷燃完且余热散尽后, 再换另一壮, 每穴连续灸5壮(约30 min), 1次/d, Ⅰ组、Ⅱ组穴位隔日交替施灸, 连续治疗2 wk.

1.2.4 取材及检测: (1)标本的采集与处理: 实验结束后, 禁食24 h, 以20%乌拉坦4 mL/kg腹腔内注射麻醉, 予腹主动脉采血后, 每组随机取6只大鼠的下丘脑、脊髓、胃窦和结肠的组织各100 mg, -80 ℃条件下保存, 用蛋白印迹分析法检测各组织中SP蛋白的含量水平; (2)用Western blot蛋白印迹分析法检测下丘脑、脊髓、胃窦和结肠组织中SP蛋白含量(检测单位: 长沙维尔生物有限公司). 取保存于-80 ℃的组织块(约100 mg), 洗净放入玻璃匀浆器内, 加入500 μL的预冷RIPA裂解液使其充分在冰上匀浆, 将其转移至1.5 mL的离心管. 于4 ℃以12000 r/min离心5 min, 吸取上清即为组织蛋白. 将蛋白加入5×Loading buffer 沸水浴5 min后进行SDS-PAGE稳压电泳. 浓缩胶电压约为60 V, 分离胶120 V, 待

表 1 各组大鼠不同组织中的SP含量比较 (mean ± SD, n = 6)

分组	下丘脑	脊髓	胃窦	结肠
空白组	0.6113 ± 0.0795	0.4208 ± 0.0206	0.5090 ± 0.0115	0.5162 ± 0.0142
模型组	0.8998 ± 0.0239[b]	0.5563 ± 0.0261[b]	0.6821 ± 0.0224[b]	0.7477 ± 0.0210[b]
隔药饼灸组	0.6780 ± 0.0220[d]	0.4430 ± 0.0393[d]	0.5690 ± 0.0292[d]	0.5556 ± 0.0209[d]
逍遥散组	0.6840 ± 0.0288[d]	0.4763 ± 0.0308[d]	0.5546 ± 0.0261[d]	0.5705 ± 0.0282[d]
多潘立酮组	0.6933 ± 0.0278[d]	0.4628 ± 0.0185[d]	0.5583 ± 0.0163[d]	0.5823 ± 0.0361[d]

[b]P<0.01 *vs* 空白组; [d]P<0.01 *vs* 模型组.

表 2 各组大鼠治疗后肠道注水量情况比较 (mean ± SD, n = 12, mL)

分组	肠道注水量
空白组	0.9533 ± 0.1232
模型组	0.5775 ± 0.1103[b]
隔药饼灸组	0.8308 ± 0.2364[d]
逍遥散组	0.9217 ± 0.1752[d]
多潘立酮组	0.8000 ± 0.1924[d]

[b]P<0.01 *vs* 空白组; [d]P<0.01 *vs* 模型组.

溴酚蓝电泳至胶底部时终止电泳. 利用稳流300 mA, 湿转1 h将胶上的蛋白转移至PVDF膜. 用PBS溶液配制5%的脱脂奶粉为封闭液, 将膜浸入后, 室温放置1 h; 用封闭液将一抗按照一定比例稀释, 将膜与一抗孵育, 4 ℃过夜; 孵育结束, TBST洗3次, 每次15 min; 用封闭液以1∶3000稀释HRP标记的二抗, 常温下孵育50 min; 孵育结束, TBST洗3次, 每次15 min. 使用ECL化学发光液与膜孵育3 min, 在暗盒内与X胶片曝光数秒至数分钟; 显影冲洗保存. 采用Image-Pro Plus6.0图像分析软件, 记录每条蛋白电泳带的灰度值, 进行相对定量分析; (3)肠道敏感性的测定[10]: 实验结束后, 各组大鼠禁食24 h, 采用腹壁撤离反射测定肠道敏感性, 先用络合碘局部消毒肛门, 然后将用石蜡油润滑后的8 F导尿管(导管直径2 mm, 球囊最大容量3 mL, 注水后最大直径2 cm)经肛门插入, 球囊末端放在距离肛门3-5 cm左右, 用棉线把导尿管和大鼠尾巴根部固定. 将其放在平台上, 待大鼠适应后, 逐渐注水使球囊扩张, 观察大鼠腹部抬起且背部拱起时(AWR评分3分)所需的注水量, 每次直肠扩张持续30 s, 重复进行3次, 每次间隔5 min, 取平均值(评分标准: 0分: 大鼠对结肠扩张无行为学反应; 1分: 结肠扩张时身体静止不动, 头部运动减少; 2分: 结肠扩张时腹肌收缩, 但腹部未抬离桌面; 3分: 结肠扩张时腹肌收缩并抬离桌面; 4分: 结肠扩张时骨盆抬起, 身体呈弓形).

统计学处理 用SPSS16.0软件进行处理. 全部计量资料用mean±SD表示, 所有数据都进行正态性和方差齐性检验. 满足正态性时, 采用单因素方差分析, 组间比较若方差齐时采用方差分析-LSD检验, 方差不齐时用方差分析Tamhane's T2检验; 不满足正态性时选择秩和检验. P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 各组大鼠下丘脑、脊髓、胃窦和结肠组织中SP含量的影响 如表1和图1所示: 与A组相比, B组大鼠下丘脑、脊髓、胃窦和结肠部位的SP含量是显著升高的, 差异有高度统计学意义(P<0.01), 说明造模成功大鼠各组织中的SP含量是上升的; 与B组相比, C、D、E组大鼠各组织中的SP含量是显著下降的, 差异均有高度统计学意义(P<0.01), 但三组间比较差异无统计学意义(P>0.05), 说明隔药饼灸、逍遥散和多潘立酮灌服一样能使大鼠各组织中的SP含量显著下降, 其作用基本相当.

2.2 隔药饼灸对各组大鼠肠道敏感性的影响 如表2所示: 与A组相比, B组大鼠肠道注水量明显下降, 差异均有高度统计学意义(P<0.01), 说明造模处理后会增加大鼠肠道的敏感性; 与B组相比, C、D、E组大鼠肠道注水量明显升高, 差异均有高度统计学意义(P<0.01), 但三组间比较差异无统计学意义(P>0.05), 说明隔药饼灸、逍遥散和多潘立酮灌服均能改善大鼠的肠道高敏感性, 使敏感性降低, 其效应相当.

3 讨论

FGIDs是生理、精神心理和社会因素相互作用

■创新盘点

脑肠轴异常-肝郁脾虚是FGIDs的根源, 脑肠轴概念的提出为进一步认识精神心理因素对胃肠道病理生理的影响提供了理论基础, 为探索胃肠病发病机制提供了新的研究层面. 本实验以FGIDs肝郁脾虚模型大鼠为受试对象, 从脑肠轴途径探讨隔药饼灸治疗FGIDs肝郁脾虚证可能的作用机制.

■应用要点
通过实验观察分析, 隔药饼灸能和逍遥散、多潘立酮一样通过降低下丘脑、脊髓、胃窦和结肠部位的SP的含量从而达到改善肠道敏感性的作用, 使胃肠感觉异常功能得到改善, 消化系运动恢复正常, 从而起到防治FGIDs的效果, 为临床上应用隔药饼灸治疗功能性胃肠病提供了一定的理论和实验依据.

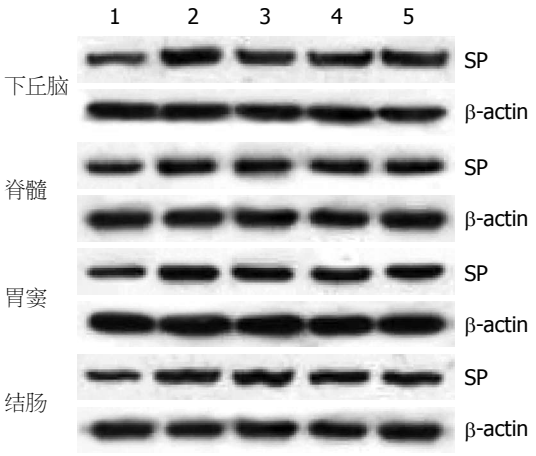


图 1 SP在各组大鼠不同组织中的表达. 1: 空白组; 2: 模型组; 3: 隔药饼灸组; 4: 逍遥散组; 5: 多潘立酮组.

而产生的复杂的消化系统功能性综合病症. 早在九十年代的研究就显示, 心理社会因素与FGIDs的发生、发展及预后相关[11], 有国外学者统计了常见的FGIDs和精神症状的关系, 发现54%-100%患者有不同程度的心理障碍, 其中焦虑、抑郁多见[12,13], 精神心理因素参与被认为在此类疾病发生和发展中起重要作用[14]. 祖国医学中没有FGIDs的病名, 而将其归属于“胃脘痛”、“嘈杂”、“痞满”、“反酸”、“呕吐”、“泄泻”、“便秘”、“梅核气”等范畴, 其发病机制与肝脾密切相关, 肝郁脾虚为胃肠功能紊乱的病理本质. 正如清代名医叶天士在《临证指南医案》中所言: “肝为起病之源, 胃为传病之所”, “肝病必犯土, 是侮其所胜也, 克脾则腹胀, 便溏或不爽”. 《医方考》言: “泻责之脾, 痛责之肝, 肝责之实, 脾责之虚, 脾虚肝实, 故令痛泻.” 不论是忧思过度气结于中, 还是郁怒伤肝使肝失疏泄; 不论是肝失疏泄在先, 脾气虚弱在后, 或是脾虚在先, 木乘在后, 肝失疏泄和脾气虚弱都是其主要病机, 不可分割. 肝郁脾虚, 肝脾失和是FGIDs的症结所在, 本质所在. 肝郁脾虚就其实质而言为不良情绪刺激影响了肝的疏泄条畅及脾升胃降的动态平衡, 导致功能性胃肠病的产生. 这也就是现代医学的生理-心理-社会疾病模式, 内外环境的应激反应, 情志变化可以通过肝郁(神经递质、激素及功能变化)导致脾虚(胃肠动力、吸收、激素分泌异常及免疫失调等), 实质上就是脑肠轴之间的联系[15]. 脑肠轴之间的联系是反映“肝郁脾虚”的“功能网络”多条线中的一条主线. 虽然FGIDs脑肠轴异常与肝郁脾虚病理机制分属于两个不同医学体系, 但由于彼此间认识高度一致, 学术界一致认为中医学调肝运脾治疗FGIDs的作用机制与调节其脑肠轴功能有关[16]. 脑肠轴异常-肝郁脾虚是FGIDs的根源, 脑肠轴概念的提出为进一步认识精神心理因素对胃肠道病理生理的影响提供了理论基础, 为探索胃肠病发病机制提供了新的研究层面.

随着近年神经胃肠病学的研究进展, 使我们摒弃了以往认为FGIDs的症状主要是由胃肠道动力异常所致的观点, 意识到FGIDs的症状与许多因素如动力、内脏敏感性的改变、黏膜免疫、炎症功能的改变以及中枢神经系统和肠神经系统调节功能的变化相关. 目前研究证实动力和感觉的异常是FGIDs病理生理学的主要特征, 这种异常由胃肠神经、自主神经、中枢神经多个层面经多种神经介子介导产生, 并可有神经-内分泌-免疫网络参与, 故提出脑肠轴概念, 初步揭示了脑肠之间的相互关系. 脑-肠轴通过借助神经内分泌免疫网络的双向环路来参与胃肠功能的调节, 一方面患者对内脏刺激的感知可通过脑对应激、心理因素等的加工来影响; 另一方面表现在内脏刺激的信息、可通过上行传入神经传递至中枢进行加工整理, 再通过传出神经系统来影响胃肠功能. 功能性胃肠疾病是动力和感觉异常的脑肠轴调节障碍所致, 这一观点的提出具有划时代的意义, 为人们研究FGIDs的发病机制提供了重要的理论基础.

随着对FGIDs和脑肠轴的深入研究, 我们发现中枢神经系统、肠神经系统及相关脑肠肽所组成的脑肠轴机制在FGIDs的演变过程中起着非常重要的作用, 尤其是各种脑肠肽. 不同的脑肠肽的作用机制不尽相同, 脑肠肽对肠道运动的兴奋或抑制作用, 由于种属的差别以及作用于肠道的不同部位而有不同的反应. 但多种脑肠肽在分子水平上发生的改变所引起的宏观结果作用在一起, 就在FGIDs的发生上起了很大作用. SP是由11个氨基酸组成的多肽类物质, 是第一个被确认的、双重分布的脑肠肽, 他可以以激素和神经递质的形式参与胃肠道运动的调控, 主要分布于CNS、脊髓背根和ENS, 小部分分布于肠嗜铬细胞, 其中以胃肠道和CNS浓度最高; SP主要来源于含SP的节后神经元, 这种神经纤维通过特异的神经通路对胃平滑肌产生很强的刺激作用, 广泛分布于胃肠道及神经系统, 能加强肠道平滑肌收缩、肠蠕动和胃排空, 并且能

刺激胆囊收缩, 参与机体多种生理功能的调控, 对胃肠功能的调节起着重要的作用[17]. 作为兴奋性运动神经元递质, SP能抑制胃肠道黏膜分泌, 刺激肠道运动, 同时又存在于感觉神经元内, 可作为内脏感觉神经递质向中枢神经系统传递免疫细胞发出的信息(如炎症引起的疼痛), 成为神经-免疫系统相互关系的重要环节[18]. 有学者研究发现[19,20]FD大鼠存在明显的胃肠感觉过敏, 模型大鼠血浆中SP的含量增高[21], 通过降低模型大鼠血浆SP含量, 可减弱背角神经元兴奋性, 提高内脏痛阈, 消除肠道过敏而发生作用[22], 与本实验所得结果一致.

在本实验中, 我们采用Western blot方法检测隔药饼灸对FGIDs肝郁脾虚模型大鼠下丘脑、脊髓和胃肠组织中SP含量的影响, 从脑肠轴途径探讨隔药饼灸治疗FGIDs的作用机制. 结果显示, 模型组大鼠SP含量在各组织部位中表达升高, 与文献报道一致[21]. 隔药饼灸能和逍遥散、多潘立酮一样通过降低下丘脑、脊髓、胃窦和结肠部位SP的含量从而达到改善肠道敏感性的作用, 使胃肠感觉异常功能得到改善, 消化系运动恢复正常, 从而起到防治FGIDs的效果. 纠正异常的脑肠肽表达, 调节脑-肠互动的异常可能是隔药饼灸治疗FGIDs的重要途径, 揭示了隔药饼灸治疗FGIDs的相关作用机制, 为临床上应用隔药饼灸治疗功能性胃肠病提供了一定的理论和实验依据. 深入研究脑-肠关系, 有利于更好的理解一些胃肠疾病的发病机制, 揭示出药物作用的新靶点, 为研究一些新的治疗胃肠疾病的方法以及探索老药新用提供了理论依据, 在基础和临床研究中都有很强的指导意义.

4 参考文献

1 邹多武. 内脏高敏感在胃肠功能性疾病中的作用. 中华消化杂志 2006; 26: 427-428
2 刘新光. 功能性消化不良与胃肠动力异常. 中华消化杂志 2002; 22: 44
3 刘未艾, 何亚敏, 刘密, 刘金芝, 常小荣, 章海凤. 隔药饼灸对肝郁脾虚型功能性胃肠病大鼠胃排空、小肠推进功能影响等效性随机平行对照研究. 实用中医内科杂志 2013; 27: 79-82
4 刘未艾, 郁保生, 章海凤, 刘密, 常小荣. 隔药饼灸对功能性胃肠病(肝郁脾虚型) 大鼠胃肠动力及胃肠激素的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21: 1002-1007
5 刘未艾, 常小荣, 张国山, 刘密, 石佳, 章海凤. 隔药饼灸对功能性胃肠病肝郁脾虚模型大鼠Ghrelin与胃肠动力的影响. 中华中医药杂志 2013; 28: 1560-1564
6 敖海清, 孙琪, 富文俊, 王文竹, 徐志伟. 逍遥散对慢性应激状态下大鼠海马神经细胞内糖皮质激素受体表达的影响. 中医药学报 2010; 38: 58-62
7 岳利峰, 丁杰, 陈家旭, 岳广欣, 梁媛, 霍素坤, 李晶晶. 肝郁脾虚证大鼠模型的建立与评价. 北京中医药大学学报 2008; 31: 394-399
8 李忠仁. 实验针灸学. 北京: 中国中医药出版社, 2003: 314-319
9 华兴邦, 李辞蓉, 周浩良, 宋大鲁, 胡元亮. 大鼠穴位图谱的研制. 实验动物与动物实验 1991; (1): 1-3
10 车娅, 王鑫, 李武良, 李萍. 心理应激对大鼠肠道敏感性及血浆孤啡肽含量的影响. 中国临床研究 2010; 23: 446-448
11 李瑜元. 功能性胃肠病的精神心理因素及治疗. 国外医学内科学分册 1998; 25: 105-107
12 Walker EA, Roy-Byrne PP, Katon WJ. Irritable bowel syndrome and psychiatric illness. *Am J Psychiatry* 1990; 147: 565-572 [PMID: 2183631]
13 Talley NJ, Fett SL, Zinsmeister AR, Melton LJ. Gastrointestinal tract symptoms and self-reported abuse: a population-based study. *Gastroenterology* 1994; 107: 1040-1049 [PMID: 7926457]
14 旺建伟, 金颖慧, 齐德英, 胥风华, 赵文静. 痛泻要方对脑肠肽含量的作用与脑–肠轴调控相关性的实验研究. 中医药信息 2011; 28: 15-17
15 蔡淦, 张玉喜, 刘群, 雷云霞, 丛军, 张正利. 肝郁证、脾虚证、肝郁脾虚证下丘脑、蓝斑CRF含量变化研究. 上海中医药杂志 2006; 40: 1-3
16 霍清萍. 从肠易激综合征脑肠轴学说谈肝郁脾虚病理机制. 中国中西医结合消化杂志 2005; 13: 318-320
17 邓丽君, 李静, 陆杰. P物质对胃肠感觉传入功能的影响. 重庆医科大学学报 2009; 34: 428-431
18 陈元方. 胃肠激素概述. 中华消化杂志 1996; 16: 45
19 胡学军, 邓时贵, 黄穗平. 健脾理气方对功能性消化不良模型大鼠CGRP和SP表达的影响. 中华中医药学刊 2011; 26: 1612-1614
20 魏玮, 郝建军, 薛凯旋, 田俊. 胃康宁胶囊对功能性消化不良大鼠胃窦黏膜CGRP和SP的影响. 上海中医药大学学报 2009; 23: 61-63
21 沈天华, 沈洪, 吴坚, 朱长乐, 申龙树. 半夏泻心汤对功能性消化不良大鼠模型血浆P物质及胃窦黏膜CGRP的影响. 中华中医药杂志 2011; 26: 2737-2739
22 李铁男, 王兵, 刘影, 马腾飞. 菝葜提取物对肠易激综合征大鼠血浆SP、CGRP含量的影响. 中医药学报 2011; 39: 26-28

编辑 田滢 电编 鲁亚静

■同行评价
本文设计合理, 方法详细, 结果可信, 具有一定指导意义.

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2014年4月28日; 22(12): 1688-1693
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

研究快报 RAPID COMMUNICATION

参苓白术散对脾虚湿困型溃疡性结肠炎大鼠结肠组织AQP4蛋白及mRNA表达的影响

李姿慧, 王 键, 蔡荣林, 孙 娟, 叶铭钢

■背景资料
溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是一种病因和发病机制尚未明确的慢性肠道非特异性炎症性疾病, 中医学认为, 其多属“肠澼”、“肠风”、“泄泻”或“便血”等范畴, 脾虚湿困证是UC临床常见证候. 多项研究表明, 健脾化湿法有效方剂参苓白术散治疗UC疗效明确, 但是有关其作用机制的研究却鲜见报道.

李姿慧, 王键, 孙娟, 叶铭钢, 安徽中医药大学中医临床学院 安徽省合肥市 230038
蔡荣林, 安徽中医药大学针灸经络研究所 安徽省合肥市 230038
李姿慧, 讲师, 医学博士, 主要从事中医治则治法的理论与实验研究.
国家自然科学基金资助项目, Nos. 81173172, 81302901
安徽省自然科学基金资助项目, No. 1308085QH155
安徽省高等学校自然科学研究重点基金资助项目, No. KJ2011A184
作者贡献分布: 李姿慧与王键对此文所作贡献均等; 此课题由王键与李姿慧设计; 研究过程由李姿慧、蔡荣林、孙娟及叶铭钢操作完成; 研究所用试剂与分析工具由王键与李姿慧提供; 数据分析由李姿慧、王键及蔡荣林完成; 本论文写作由李姿慧与王键完成.
通讯作者: 王键, 教授, 博士生导师, 230038, 安徽省合肥市梅山路103号, 安徽中医药大学. wangjian6301@163.com
电话: 0551-65169179
收稿日期: 2013-10-31 修回日期: 2014-01-01
接受日期: 2014-01-08 在线出版日期: 2014-04-28

Effect of Shenlin Baizhu powder on expression of AQP4 in ulcerative colitis rats with syndrome of dampness stagnancy due to spleen deficiency

Zi-Hui Li, Jian Wang, Rong-Lin Cai, Juan Sun, Ming-Gang Ye

Zi-Hui Li, Jian Wang, Juan Sun, Ming-Gang Ye, School of Traditional Chinese Medicine, Anhui University of Traditional Chinese Medicine, Hefei 230038, Anhui Province, China
Rong-Lin Cai, Research Institute of Acupuncture and Moxibustion, Anhui University of Traditional Chinese Medicine, Hefei 230038, Anhui Province, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, Nos. 81173172 and 81302901; the Natural Science Research Project of Anhui Province, No. 1308085QH155; the National Basic Research Program of China University Science Research Project of Anhui Province, No. KJ2011A184
Correspondence to: Jian Wang, Professor, School of Traditional Chinese Medicine, Anhui University of Traditional Chinese Medicine, 103 Meishan Road, Hefei 230038, Anhui Province, China. wangjian6301@163.com
Received: 2013-10-31 Revised: 2014-01-01
Accepted: 2014-01-08 Published online: 2014-04-28

Abstract

AIM: To investigate the effect of Shenlin Baizhu powder on expression of aquaporin 4 (AQP4) in ulcerative colitis (UC) rats with syndrome of dampness stagnancy due to spleen deficiency.

METHODS: Forty rats were divided into a normal control group, a model control group, a Shenlin Baizhu group and a sulfasalazine group, with 10 rats in each group. UC was induced in rats by environmental and diet interventions combined with trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS) and ethanol. The expression of AQP4 protein and mRNA in colonic tissues was detected by immunohistochemistry and fluorescence quantitative PCR, respectively.

RESULTS: The expression of AQP4 protein and mRNA in the model control group was significantly lower than that in the normal group (0.764 ± 0.051 *vs* 0.358 ± 0.033, 28.288 ± 1.578 *vs* 28.296 ± 1.142, $P < 0.05$). The expression of AQP4 protein and mRNA in the sulfasalazine group and Shenlin Baizhu group significantly increased and was significantly higher compared with that in the model group (0.752 ± 0.059 *vs* 0.358 ± 0.033, 28.103 ± 1.395 *vs* 28.288 ± 1.578, 0.487 ± 0.046 *vs* 0.358 ± 0.033, 27.711 ± 1.638 *vs* 28.288 ± 1.578, $P < 0.05$). There was a significant difference in the expression of AQP4 protein and mRNA between the sulfasalazine group and Shenlin Baizhu group (0.752 ± 0.059 *vs* 0.487 ± 0.046, 28.103 ± 1.395 *vs* 27.711 ± 1.638, $P < 0.05$).

CONCLUSION: Shenlin Baizhu powder could significantly improve the expression of AQP4 protein and mRNA in UC and promote the repair of the intestinal mucosa.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Shenlin Baizhu powder; Ulcerative colitis; Syndrome of dampness stagnancy due to spleen deficiency; Aquaporin 4

Li ZH, Wang J, Cai RL, Sun J, Ye MG. Effect of Shenlin Baizhu powder on expression of AQP4 in ulcerative

■同行评议者
黄颖秋, 教授, 本溪钢铁(集团)总医院消化内科

colitis rats with syndrome of dampness stagnancy due to spleen deficiency. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(12): 1688-1693 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1688.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i12.1688

摘要

目的: 探讨参苓白术散对脾虚湿困型溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)大鼠结肠组织中水通道蛋白4(aquaporin 4, AQP4)蛋白及mRNA表达的影响.

方法: Wistar大鼠40只, 随机分为正常对照组、模型对照组、柳氮磺吡啶组、参苓白术散组, 每组10只, 脾虚湿困型UC大鼠模型的复制采用环境与饮食干预结合三硝基苯磺酸(trinitrobenzene sulfonic acid, TNBS)/乙醇灌肠法, 运用免疫组织化学法、荧光定量PCR法检测并比较各组大鼠结肠组织AQP4蛋白及mRNA表达的变化.

结果: 模型对照组AQP4蛋白及mRNA表达量低于正常对照组(0.764±0.051 *vs* 0.358±0.033, 28.288±1.578 *vs* 28.296±1.142, $P<0.05$), 参苓白术散组和柳氮磺吡啶组大鼠结肠组织AQP4表达平均光密度及AQP4 mRNA表达较模型对照组显著升高, 其间差异有统计学意义(0.752±0.059 *vs* 0.358±0.033, 28.103±1.395 *vs* 28.288±1.578, 0.487±0.046 *vs* 0.358±0.033, 27.711±1.638 *vs* 28.288±1.578, $P<0.05$), 参苓白术散组大鼠结肠组织AQP4表达平均光密度与柳氮磺吡啶组比较差异亦有统计学意义(0.752±0.059 *vs* 0.487±0.046, 28.103±1.395 *vs* 27.711±1.638, $P<0.05$).

结论: 参苓白术散治疗可以明显改善UC大鼠结肠组织中AQP4的表达, 促进肠黏膜的修复.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 参苓白术散; 脾虚湿困证; 溃疡性结肠炎; 水通道蛋白4

核心提示: 参苓白术散能增强脾虚湿困型溃疡性结肠炎大鼠的结肠组织中水通道蛋白4(aquaporin 4, AQP4)的表达, 改善脾运化水液的功能, 促进机体水液代谢功能的恢复. 因此, 参苓白术散改善结肠组织中AQP4的表达可能是其改善脾主运化功能的重要生物学机制之一.

李姿慧, 王键, 蔡荣林, 孙娟, 叶铭钢. 参苓白术散对脾虚湿困型溃疡性结肠炎大鼠结肠组织AQP4蛋白及mRNA表达的影响. 世界华人消化杂志 2014; 22(12): 1688-1693 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1688.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i12.1688

0 引言

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是一种病因和发病机制尚未明确的慢性肠道非特异性炎症性疾病, 中医学认为, UC多属“肠澼”、“肠风”、“泄泻”或“便血”等范畴, 脾虚湿困证是UC临床常见证候[1,2]. 多项研究表明, 健脾化湿法有效方剂参苓白术散治疗UC疗效明确[1,3], 但是有关其作用机制的研究却鲜见报道. 近年来有研究发现湿病与水通道蛋白(aquaporin, AQP)密切相关[4]. 本研究选取健脾化湿法有效方剂参苓白术散, 运用现代分子生物学研究技术观察参苓白术散对脾虚湿困型UC大鼠AQP4蛋白及mRNA表达的影响, 初步探讨参苓白术散治疗脾虚湿困型UC的部分作用机制, 以进一步揭示湿病及其化湿法的生物学机制, 促进中医水液代谢障碍理论的深入研究.

1 材料和方法

1.1 材料 40只健康清洁级Wistar大鼠, 雌雄各半, 体质量200 g±20 g[南京医科大学实验动物中心提供, 合格证号: SCXK(苏)20080004]. 大鼠适应性常规普食喂养3 d后随机分为正常对照组、模型对照组、柳氮磺吡啶组、参苓白术散组, 每组10只. 参苓白术散水煎液组方为: 人参15 g、茯苓15 g、薏苡仁9 g、白术15 g、桔梗6 g、莲子肉9 g、缩砂仁6 g、陈皮9 g、甘草(炒)9 g、白扁豆(姜汁浸, 去皮)12 g、山药15 g均购自安徽中医药大学门诊部, 由安徽中医药大学中药制剂室提供制剂; 2,4,6-三硝基苯磺酸[(trinitrobenzene sulfonic acid, TNBS), 由Sigma公司生产]、rabbit anti-AQP4(H-80): ZS-20812、柳氮磺吡啶肠溶片(上海中西三维药业有限公司, 批号: 20101212)、通用型二抗试剂盒(PV-6000)、引物及探针合成(Invitrogen公司)、TRIzol Reagent (Invitrogen公司, 货号: 15596-026)、Taq DNA聚合酶(Fermentas公司, 美国)、DAB(北京中杉金桥生物技术有限公司, ZLI-9032)、逆转录试剂盒(RevertAid™ first Strand cDNA Synthesis Kit, Fermentas公司, 货号: 00064525)、荧光定量试剂(TaKaRa公司). 101-A恒温干燥箱(宁波自动化仪表厂)、FA2004型电子天平(上海天平仪器厂生产)、OLYMPUS

■研发前沿
中医药治疗UC具有独特的优势, 采用中药复方治疗UC的作用机制研究还有待于进一步深入研究. 近年来有研究发现湿病与水通道蛋白密切相关. 水通道蛋白(aquaporin, AQP)的表达失常可能是UC发生的重要病理机制, 肠道AQP的正常表达可能是治疗UC的分子生物学基础之一.

■相关报道
诸多研究证明, 脾虚湿困是UC的基本病机, 采用具有健脾化湿作用的有效方剂参苓白术散治疗脾虚湿困型UC, 疗效显著. AQP与中医理论的肺、脾、肾等脏功能密切相关. 已有相关研究发现, AQP蛋白的表达水平与湿阻中焦证、脾胃湿热证、便秘、腹泻等病证的发生有一定的关系.

■创新盘点

本研究选取健脾化湿法有效方剂参苓白术散，运用现代分子生物学研究技术观察参苓白术散对脾虚湿困型UC大鼠AQP4蛋白及mRNA表达的影响，初步探讨参苓白术散治疗脾虚湿困型UC的部分作用机制，以进一步揭示湿病及其化湿法的生物学机制，促进中医水液代谢障碍理论的深入研究.

表 1 引物及探针

引物		序列
actin	Forward Primer	5'-GACTACCTCATGAAGATCCTCACC-3'
	Reverse Primer	5'-TCTCCTTAATGTCACGCACGATT-3'
	Probe	5'-CGGCTAC AGCTTC ACCACCACGGC-3'
水通道蛋白4	Forward Primer	5'-TGAATCCAGCTCGA TCCTTTG-3'
	Reverse Primer	5'-TATCCAGTGGTTT TCCCAGTTTC-3'
	Probe	5'-CCCTGCAGTTATCATG-3'

BX51荧光显微镜(日本OLYMPUS光学工业株式会社)、LEICA ASP200自动切片机(LEICA公司)、PCR仪(美国ABI公司, ABI2720)、荧光定量PCR仪(美国ABI公司, ABI7500)、DP801形态学显微图像分析系统(捷达科技发展有限公司)、TB-718自动包埋机(泰维电子设备有限公司)、GSM凝胶图像分析管理系统(美国Sim公司, Bio-pro CN-UV型).

1.2 方法

1.2.1 模型复制: 脾虚湿困型UC大鼠模型的复制采用环境与饮食干预结合TNBS/乙醇灌肠法[5], 每日8:00至16:00将大鼠置于2 cm深的水中, 控制睡眠8 h, 单日禁食, 并给予2 mL 4 ℃生理盐水灌胃1次, 双日给予充足饲料和4 mL猪油灌胃1次, 连续20 d. 第21天, 脾虚湿困型UC组大鼠24 h禁食不禁水, 用10%水合氯醛(3 mL/kg)麻醉, 经肛门按照12∶5将5%的TNBS与500 mL/L乙醇混合物(其中TNBS 120 mg/kg)0.8 mL注入距肛门上段约8 cm处, 然后将大鼠头部向下持续倒置1 min使溶液充分渗入大鼠肠腔内, 再将大鼠头部倾斜放置至自然清醒, 自由饮食.

1.2.2 实验处理: 正常对照组大鼠给予常规喂养, 生理盐水2 mL/只灌胃每日1次, 并参照造模方法予肛门灌肠生理盐水0.8 mL/只. 模型复制成功后, 参苓白术散组大鼠予参苓白术散煎剂灌胃, 按照《药理实验方法学》“不同动物等效剂量折算系数表”折算出参苓白术散煎剂的大鼠用药剂量为12 g/(kg•d), 柳氮磺吡啶组大鼠给予0.5 g/(kg•d)柳氮磺吡啶灌胃, 正常对照组和模型对照组大鼠给予10 mL/(kg•d) 0.9%生理盐水灌胃, 连续14 d. 实验结束后, 将大鼠用10%水合氯醛(3 mL/kg)麻醉, 开腹, 暴露结肠, 从肛门向上纵向剪开大鼠结肠组织, 取病变最明显处(约肛门上8 cm)的肠组织约1 cm×1 cm, 用生理盐水冲洗干净, 分别置于10%多聚甲醛溶液和液氮中保存备用.

1.2.3 观察指标与测定: 免疫组织化学法观察各组大鼠结肠组织AQP4表达. 将固定后的结肠组织进行石蜡包埋, 切片成5 μm, 常规脱蜡, 蒸馏水冲洗5 min, 再用PBS浸泡5 min, 枸橼酸液加热修复, H_2O_2冲洗5 min, 3%H_2O_2室温孵育6 min, 滴加一抗, rabbit anti-AQP3/AQP4 (H-80): ZS-20812, 工作浓度1∶100, 置于4 ℃冰箱过夜; 滴加通用型二抗通用型二抗(PV-6000), 室温20 min, DBA显色后常规脱水, 中性树胶封片. 镜检、图像采集、记录其平均每100个细胞中的平均光密度(每张切片选取3-5个不重叠视野, 测定每个视野下的平均光密度).

荧光定量PCR法检测各组大鼠结肠组织AQP4 mRNA表达的变化. 取大鼠结肠组织约50 mg, 剪碎后加入1 mL TRIzol, 匀浆后提取总RNA; 0.2 mL EP管中加入10 μmol/L Oligo(dT)1 μL、总RNA 8 μL、DEPC水3 μL, 轻轻混匀后离心; PCR仪上5 min 65 ℃加热, 3 min冰浴; 在上述EP管中加入10 mmol/L dNTP Mix 2 μL、5×Reaction Buffer 4.0 μL、RevertAid™ M-MuLV Reverse Transcriptase 1 μL、Ribolock™ Rnase inhibitor 1 μL; 42 ℃ 60 min, 70 ℃ 5 min; 取出上述反应液, 即为cDNA, -80 ℃保存备用; 取出cDNA 2 μL作为荧光定量的模板进行PCR反应. 引物及探针如表1. 结果判定及测量方法为: relative quantification study, 分析所采用的指标为: $2^{-\Delta\Delta Ct}$.

统计学处理 所有实验数据以mean±SD表示, 采用SPSS17.0软件进行处理, 各组间均数比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA), 组间均数的两两比较采用最小显著差数法, 以P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 免疫组织化学法检测AQP4表达的变化情况 模型对照组AQP4表达量低于正常对照组(P<0.05), 柳氮磺吡啶组和参苓白术散组大鼠结肠组织AQP4表达的平均光密度较模型对照组

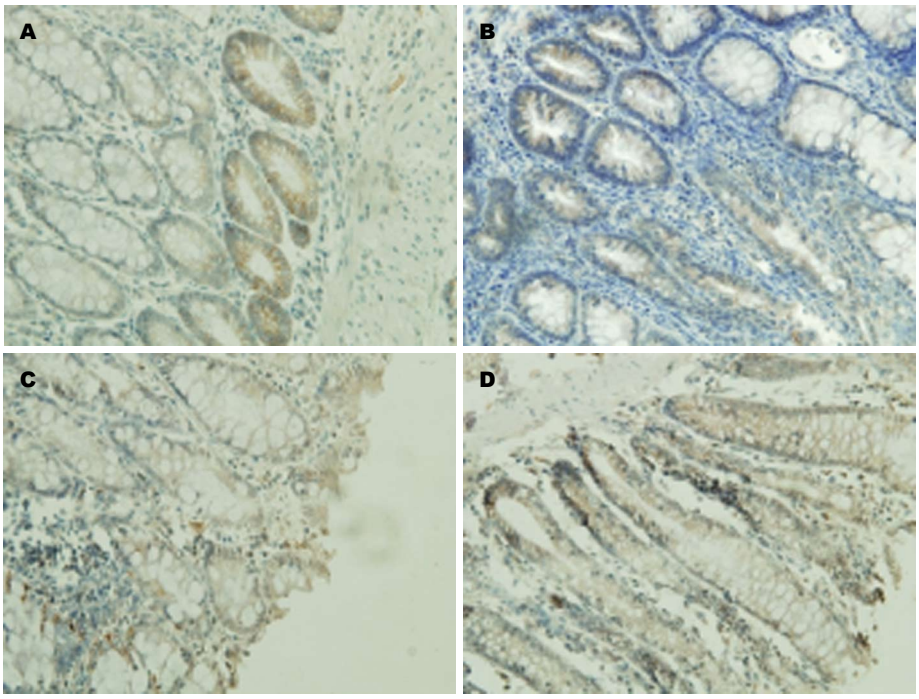


图 1 各组大鼠结肠AQP4免疫组织化学染色(SP × 400). A: 正常对照组; B: 模型对照组; C: 参苓白术散组; D: 柳氮磺吡啶组. AQP4: 水通道蛋白4.

■应用要点

本研究发现参苓白术散治疗可以明显改善UC大鼠结肠组织中AQP的表达, 促进肠黏膜的修复. 通过对脾虚湿困型UC大鼠结肠组织AQP表达及参苓白术散干预作用的研究, 可进一步深入揭示AQP在脾虚湿困型UC发病过程中的作用机制, 对不断阐明湿病发生的生物学基础和健脾化湿法的作用机制与途径具有重要的意义.

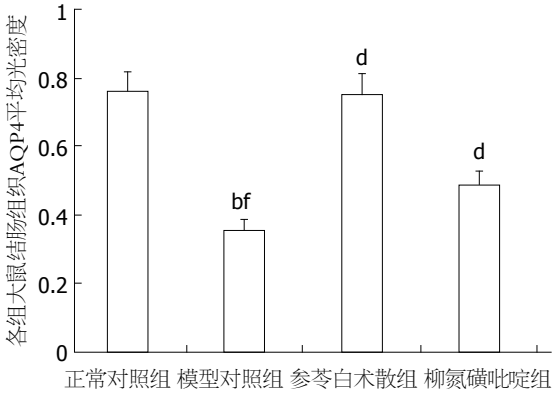


图 2 各组大鼠结肠组织AQP4平均光密度比较. $^{b}P<0.01$ *vs* 正常对照组; $^{d}P<0.01$ *vs* 模型对照组; $^{f}P<0.01$ *vs* 参苓白术散组. AQP4: 水通道蛋白4.

显著升高, 其间差异有统计学意义($P<0.05$), 参苓白术散组大鼠结肠组织AQP4表达的平均光密度值与柳氮磺吡啶组比较差异亦有统计学意义($P<0.05$). 提示参苓白术散治疗可以明显改善UC大鼠结肠组织中AQP4的表达, 且其作用优于柳氮磺嘧啶(图1, 2).

2.2 荧光定量PCR法检测AQP 4 mRNA表达的变化情况

2.2.1 结肠组织AQP4 mRNA表达定量分析: 从图3可知, 标准品的起始拷贝数不同, 达到荧光域值(threhsold)的PCR循环次数不同, 起始拷贝数越高, 达到荧光域值的循环次数越少. 扩增曲线显示荧光强度和初始拷贝数呈良好的线性关系.

2.2.2 各组大鼠结肠组织AQP4 mRNA表达比较: 由图4可知, 模型对照组大鼠结肠组织中AQP4 mRNA表达均较正常对照组明显降低, 其间差异有统计学意义($P<0.05$). 参苓白术散组大鼠结肠组织中AQP4 mRNA表达与模型对照组比较显著升高, 其间差异有统计学意义($P<0.05$). 提示参苓白术散治疗可显著改善大鼠结肠组织AQP4 mRNA表达.

3 讨论

湿邪致病因其具有潜隐性、兼挟性及迁延性等特点, 几乎存在于各系统的疾病中, 病种繁多. 对于湿病的治疗, 历代医家都极为重视对脾脏生理功能的恢复, 《素问·至真要大论》已有“诸湿肿满, 皆属于脾”的认识, 认为诸多水湿病证, 其病变根本原因是脾的运化水液功能失调. 在诸多医籍医案中或明确提出健脾化湿, 或虽未提及健脾化湿法, 但也已蕴含健脾化湿之意.

诸多研究证明, 脾虚湿困是UC的基本病机, 采用具有健脾化湿作用的有效方剂参苓白术散治疗脾虚湿困型UC, 疗效显著. 一项对1989-2003年国内医学杂志中治疗UC的1369篇实验研究论文进行综合分析发现, 单纯中药治疗和中西药结合治疗UC的总有效率均在90%以上, 其中参苓白术散等是中医治疗UC的主要方剂[6]. 有研究报道参苓白术散能明显修复胃肠黏膜屏障、改善胃肠动力的作用[7,8]. 阮家安[9]用参苓白术散辨证加减治疗慢性泄泻总有效率达91.11%, 谭巨涛[10]以加味参苓白术散配合灌肠

■名词解释
AQP作为膜内在蛋白质, 是细胞膜上转运水的特异性孔道, 与水通透性密切相关, 目前已在哺乳动物体内发现了13种AQP亚类, 对不同种类细胞膜的跨膜水转运发挥着重要的介导作用, 能显著增加细胞膜的透水性, 对保持生命体内稳态水平衡具有关键的作用.

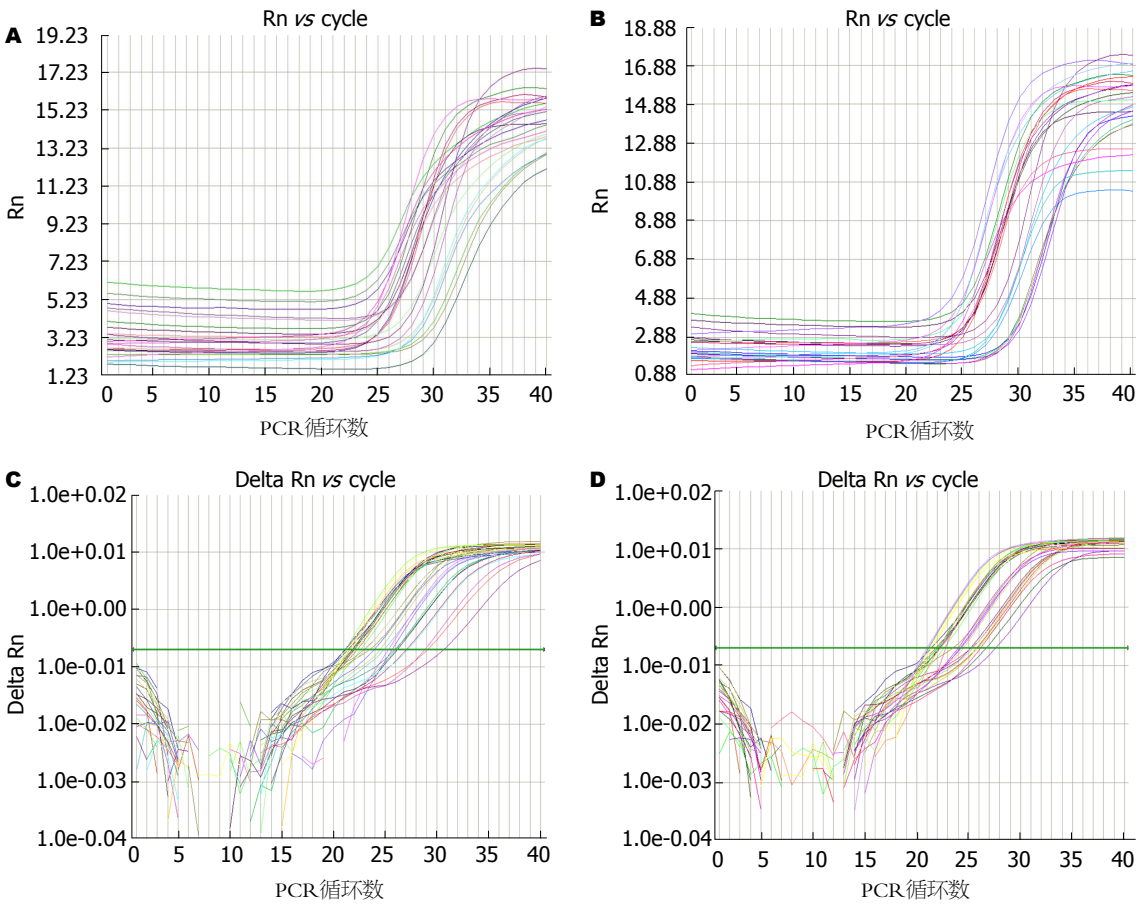


图 3 扩增曲线与扩增图谱. A: β-actin的扩增曲线; B: AQP4样本的扩增曲线; C: β-actin的扩增图谱; D: AQP4样本的扩增图谱. Rn: 荧光信号强度; Rn *vs* cycle: 荧光信号强度与PCR循环之间的关系; AQP4: 水通道蛋白4.

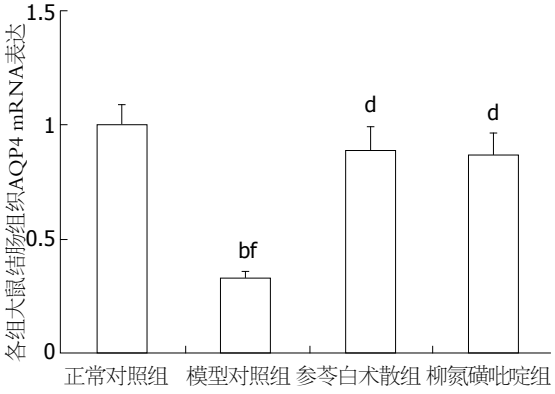


图 4 各组大鼠结肠组织AQP4 mRNA表达比较. $^{b}P<0.01$ *vs* 正常对照组; $^{d}P<0.01$ *vs* 模型对照组; $^{f}P<0.01$ *vs* 参苓白术散组. AQP4: 水通道蛋白4.

来治疗慢性UC, 总有效率96.9%. 我们还在前期研究中发现, 参苓白术散可以有效改善脾虚湿困型UC大鼠血清表皮生长因子、血清和结肠组织超氧化物歧化酶、丙二醛水平, 从而促进肠黏膜的修复[11,12].

近年来研究表明, AQP广泛存在于人体肺、胃、肠、肾、脑等器官. 祖国医学认为, 肺、脾、肾三脏发挥着对人体内水液代谢过程的重要调节作用, 提示我们, AQP与中医理论的肺、脾、肾等脏功能密切相关. 已有相关研究发现, AQP蛋白的表达水平与湿阻中焦证、脾胃湿热证、便秘、腹泻等病证的发生有一定的关系.

周正等[13-15]通过研究发现, 脾胃湿热证患者AQP4的蛋白及mRNA表达明显升高, 而脾气虚证患者AQP4蛋白及mRNA表达均低下, 认为脾气虚证和脾胃湿热证在水液代谢方面有不同的变化, 其发生机制可能与AQP4的异常表达有关. 另有研究认为在腹泻状态下, 大鼠结肠组织AQP4的表达显著降低, 致使结肠黏膜对肠腔内的水分吸收减少, 从而引起大便溏薄等症状[16], 五苓散能够显著提高小鼠结肠组织AQP4 mRNA的表达[17]. 诸多研究提示AQP4在体内调节水代谢方面起着重要作用, 因此, 我们推测肠道AQP的表达失常可能是UC发生的重要病理机制, 肠道AQP的正常表达可能是治疗UC的分子生物学基础之一.

本实验结果发现模型对照组大鼠结肠组织

中AQP4蛋白及 mRNA表达均明显降低, 与正常对照组比较差异有统计学意义(P<0.05). 参苓白术散组大鼠结肠组织中AQP4蛋白及mRNA的表达与模型对照组比较显著升高, 差异有统计学意义(P<0.05). 脾虚湿困型UC大鼠的结肠组织中AQP4出现低表达, 表明脾运化水液功能降低, 而参苓白术散能增强脾虚湿困型UC大鼠的结肠组织中AQP4的表达, 改善脾运化水液的功能, 促进机体水液代谢功能的恢复. 因此, 参苓白术散改善结肠组织中AQP4的表达可能是其改善脾主运化功能的重要生物学机制之一.

总之, 通过对脾虚湿困型UC大鼠结肠组织AQP表达及参苓白术散干预作用的研究, 可进一步深入揭示AQP在脾虚湿困型UC发病过程中的作用机制, 对不断阐明湿病发生的生物学基础和健脾化湿法的作用机制与途径具有重要的意义.

4 参考文献

1 李惠霞. 参苓白术散加减配合中药灌肠治疗脾虚湿困型溃疡性结肠炎47例. 辽宁中医杂志 2008; 35: 866
2 岳宏, 王天芳, 陈剑明, 杨璐, 赵丹, 赵燕, 吴秀艳, 屈凯, 于丽丽, 赵绂诚. 溃疡性结肠炎常见中医证候及证候要素的现代文献研究. 北京中医药大学学报 2010; 33: 306-308
3 李楠. 参苓白术散合中药灌肠治疗溃疡性结肠炎62例. 中医研究 2011; 24: 46-47
4 李姿慧, 王键, 蔡荣林. 湿病与水通道蛋白的相关性研究进展. 中西医结合学报 2011; 9: 5-10
5 李姿慧, 王键, 蔡荣林, 王又闻, 胡建鹏. 脾虚湿困型溃疡性结肠炎大鼠模型的建立与评价. 中西医结合学报 2012; 10: 918-924
6 陈曦, 欧阳钦, 胡仁伟, 李国栋, 李希诗. 我国溃疡性结肠炎治疗性研究文献分析. 四川医学 2005; 26: 376-378
7 杨旭东, 张杰, 王崴. 参苓白术散对脾虚小鼠肠保护作用及其机制的研究. 牡丹江医学院学报 2009; 30: 9-11
8 张仲林, 钟玲, 臧志和, 辛志伟. 参苓白术散对动物胃肠动力影响的实验研究. 时珍国医国药 2009; 20: 3151-3152
9 阮家安, 缪峰. 参苓白术散加减治疗慢性泄泻45例. 陕西中医学院学报 2009; 32: 35-36
10 谭巨涛. 加味参苓白术散配合灌肠治疗慢性溃疡性结肠炎临床观察. 山西中医 2011; 27: 14-15
11 李姿慧, 王键, 王又闻, 蔡荣林, 孙娟, 叶铭钢. 参苓白术散对脾虚湿困型溃疡性结肠炎大鼠血清EGF、SOD、MDA的影响. 世界华人消化杂志 2012; 20: 410-413
12 李姿慧, 王键, 蔡荣林, 王又闻, 胡建鹏, 江爱娟. 参苓白术散对溃疡性结肠炎大鼠超氧化物歧化酶及丙二醛的影响. 中医杂志 2012; 53: 1764-1767
13 周正, 劳绍贤, 黄志新, 黄烈平, 张向菊, 胡斌. 脾胃湿热证与水通道蛋白4基因表达的关系. 中国中西医结合消化杂志 2004; 12: 71-73
14 周正, 劳绍贤, 黄志新, 黄烈平, 张向菊, 匡忠生, 胡斌. 从水通道蛋白4的表达探讨脾胃湿热证的机理. 广州中医药大学学报 2004; 21: 369-372
15 周正, 劳绍贤, 黄志新, 黄烈平, 张向菊, 匡忠生. 慢性浅表性胃炎(脾胃湿热证)与水通道蛋白4表达关系的研究. 中医杂志 2004; 45: 371-372
16 王晓玲, 王俊平. 腹泻大鼠结肠水通道蛋白4表达与分布的研究. 山西医药杂志 2007; 36: 1079-1081
17 刘洋, 苏凤哲, 徐华洲, 于文涛. 五苓散对腹泻模型小鼠结肠AQP-4 mRNA表达的影响. 中国中医基础医学杂志 2005; 11: 197-198

编辑 郭鹏 电编 都珍珍

■同行评价

本文选题较新颖, 研究方法科学, 实验数据充分, 结论客观. 采用分子生物学技术, 初步探讨了参苓白术散治疗溃疡性结肠炎的作用机制, 为中医水液代谢障碍理论的进一步研究提供了实验依据, 有一定的学术价值.

世界华人消化杂志 2014年4月28日; 22(12): 1694-1698
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

氩离子凝固术在食管狭窄中的应用

喻文强, 陆晓珍, 周喜汉, 何守搞, 苏建伟

■背景资料
近年来食管狭窄的内镜治疗手段发展较快, 也有多家医院氩离子凝固术(argon plasma coagulation, APC)应用于食管良恶性狭窄的治疗, 但在不同的疾病中选择何种治疗方案, 各治疗方案的优劣仍值得进一步探讨.

喻文强, 陆晓珍, 周喜汉, 何守搞, 苏建伟, 广西右江民族医学院附属医院消化内科 广西壮族自治区百色市 533000
喻文强, 主治医师, 主要从事消化系肿瘤的研究.
百色市科学研究与技术开发计划基金资助项目, No. 百科计20120125
作者贡献分布: 喻文强与陆晓珍对此文所作贡献均等; 此课题由喻文强、陆晓珍及周喜汉设计; 研究过程由喻文强、陆晓珍、周喜汉、何守搞及苏建伟操作完成; 研究所用材料与分析工具由周喜汉提供; 数据分析由喻文强与陆晓珍完成; 本论文写作由喻文强、陆晓珍及周喜汉完成.
通讯作者: 喻文强, 主治医师, 533000, 广西壮族自治区百色市中山二路18号, 右江民族医学院附属医院消化内科.
yyfyywq@163.com
电话: 0776-2825103
收稿日期: 2013-12-10 修回日期: 2014-03-18
接受日期: 2014-03-31 在线出版日期: 2014-04-28

Application of argon plasma coagulation in treatment of esophageal strictures

Wen-Qiang Yu, Xiao-Zhen Lu, Xi-Han Zhou, Shou-Gao He, Jian-Wei Su

Wen-Qiang Yu, Xiao-Zhen Lu, Xi-Han Zhou, Shou-Gao He, Jian-Wei Su, Division of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China
Supported by: The Baise Science and Technology Development Fund, No. 20120125
Correspondence to: Wen-Qiang Yu, Attending Physician, Division of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Youjiang Medical University for Nationalities, 18 Zhongshan Er Road, Baise 533000, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. yyfyywq@163.com
Received: 2013-12-10 **Revised:** 2014-03-18
Accepted: 2014-03-31 **Published online:** 2014-04-28

Abstract

AIM: To assess the application value of argon plasma coagulation in the treatment of esophageal strictures.

METHODS: A comparative study of 112 patients with short-segment esophageal stenosis or in-stent restenosis was performed. The relief of dysphagia was compared between an argon plasma coagulation group and a simple bougie dilatation group or between an argon plasma coagulation group and a second stenting group.

RESULTS: The response rates in the argon plasma coagulation group was significantly better than those in the simple bougie dilatation group during follow-up periods of 3 months (68.57% *vs* 42.86%, $P < 0.05$) and 6 months (34.29% *vs* 10.71%, $P < 0.05$). The response rates in the argon plasma coagulation group and second stenting group were not statistically significant during follow-up periods of 1 and 3 months, but the response rate in the second stenting group was better after 6 months (50.00% *vs* 21.74%, $P < 0.05$).

CONCLUSION: Endoscopic argon plasma coagulation can effectively relieve short-segment esophageal stenosis and restenosis after stenting, representing a safe and effective method.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Esophageal stenosis; Endoscopic; Argon plasma coagulation

Yu WQ, Lu XZ, Zhou XH, He SG, Su JW. Application of argon plasma coagulation in treatment of esophageal strictures. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(12): 1694-1698 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1694.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i12.1694

摘要

目的: 探讨氩离子凝固术在食管狭窄中的应用价值.

方法: 通过对112例短段食管狭窄及支架置入术后再狭窄的对照研究, 比较氩离子凝固术与单纯探条扩张术组及氩离子凝固术与二次支架置入术组吞咽困难缓解情况.

结果: 氩离子凝固术组在3 mo和6 mo的随访期有效率高于单纯探条扩张术组(68.57% *vs* 42.86%, $P<0.05$)和(34.29% *vs* 10.71%, $P<0.05$), 差异有统计学意义; 氩离子凝固术与二次支架置入术在1 mo和3 mo随访期差异无统计学意义, 6 mo二次支架置入术效果好于氩离子凝固术(50.00% *vs* 21.74%, $P<0.05$).

■同行评议者
毛高平, 教授, 解放军空军总医院; 姜慧卿, 教授, 河北医科大学第二医院消化科

结论: 内镜下氩离子凝固术能有效解除短段的食管狭窄及支架置入术后再狭窄, 是一种安全有效的方法.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 食管狭窄; 内镜; 氩离子凝固术

核心提示: 氩离子凝固术(argon plasma coagulation, APC)治疗短段食管狭窄效果优于单纯探条扩张术, 在治疗支架置入术后再狭窄的效果与二次支架置入术效果相当, 但APC治疗具有更简便, 可重复操作的特点, 因此APC在食管狭窄的治疗中是一种安全有效的方法.

喻文强, 陆晓珍, 周喜汉, 何守搞, 苏建伟. 氩离子凝固术在食管狭窄中的应用. 世界华人消化杂志 2014; 22(12): 1694-1698
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1694.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i12.1694

0 引言

食管狭窄是指食管局部直径缩小至一定程度后, 影响进食, 出现以进食困难为主要症状的一系列疾病, 包括良性狭窄和恶性狭窄. 除外科手术外, 内镜下治疗目前被认为是一种疗效确切的治疗方法. 氩离子凝固术(argon plasma coagulation, APC)作为一种新型的非接触式电凝技术, 可控制电凝深度, 达到精确的电凝效果. 我院自2008年开始将APC应用于短段食管狭窄(狭窄段长度≤3 cm)及支架置入术后再狭窄的治疗, 取得了较好的疗效, 现总结如下.

1 材料和方法

1.1 材料 选自我院2008-06/2013-06行内镜下治疗的食管狭窄共112例, 其中短段食管狭窄63例, 支架置入术后再狭窄49例, 男79例, 女33例; 年龄32-81岁, 平均52.4岁±13岁. 病程1-13 mo. 狭窄病变长度0.5-11 cm, 狭窄处直径2-9 mm. 吞咽困难分级参照Stooler分级[1](0级: 无症状, 能正常进食; Ⅰ级: 能进软食; Ⅱ级: 能进半流质饮食; Ⅲ级: 仅能进流质饮食; Ⅳ级: 不能进食, 水也不能咽下), 其中0级0例、Ⅰ级0例、Ⅱ级12例、Ⅲ级68 例、Ⅳ32例. 操作过程中所用胃镜为Olympus GIF-H260电子胃镜, 扩张器为Savary锥形硅胶扩张器, 引导导丝为前段装有安全弹簧头的Savary Gilliard导丝, 食管支架均为国产支架(南京微创公司产), 单喇叭口形, 一般选用直径20 mm、喇叭口直径23 mm、喇叭口裸露10 mm的覆膜支架, 支架长60-140 mm. 所用氩离子治疗仪为ERBE ICC200、APC300多功能氩离子凝固仪.

1.2 方法

1.2.1 分组: 将入选病例根据病种分为A、B两组, 每组根据治疗方案又分为1、2两个小组: A组: 狭窄段长度≤3 cm, 采用单纯APC治疗或扩张术, 共入选63 例, 其中A1组(APC治疗组)35例, A2组(探条扩张术组)28例; B组: 为支架置入术后再狭窄, 采用单纯APC治疗或重复支架置入, 共49例, 其中B1组(APC治疗组)23例, B2组(再次支架置入组)26例. 各组患者情况如表1, 两组临床资料对比无差别(P>0.05).

1.2.2 操作步骤: 术前一般先行食管碘油造影了解狭窄程度及狭窄段长度, 征得患者同意并签字后, 常规进镜检查, 内镜下再次确认食管狭窄的程度及原因. 治疗方案的选择根据狭窄长度、病因以及患者意愿决定, 对于长度≤3 cm的短段狭窄可直接给予APC治疗, 经内镜活检孔送入APC导管, 伸出内镜先端部, 至病灶上方0.5-1.0 cm处, 从狭窄上端中央向周边进行治疗, 每次2-3 s, 自下而上进行电凝治疗. APC治疗后, 病灶表面泛白、泛黄甚至出现黝黑样变, 治疗后局部坏死组织较多时, 用活检钳钳除. 也可选择单纯探条扩张, 扩张术采用Savary锥形硅胶扩张器, 经内镜活检管道送入Savary Gilliard导丝, 通过狭窄段后留置导丝, 拔出内镜后依次用不同直径的Savary探条行扩张治疗, 一般将狭窄处直径扩张至1.1 cm, 以使内镜能顺利通过为止. 对于支架置入术后再狭窄的患者, 不论是肉芽肿还是肿瘤组织生长导致的支架上端或支架内狭窄, 可给予二次支架置入术, 置入前先予探条扩张至内镜能顺利通过, 然后再次进镜, 观察测量病变的长度, 病变上端距门齿的距离, 支架长度为病变长度加4 cm, 同时需保证第二枚支架与原支架有1 cm以上的重叠, 使用标志笔在支架推送器管鞘上标出拟放置的支架上端距门齿位置, 再次置入导丝, 沿导丝导入支架推送器, 松开保险装置后缓慢退出管鞘, 支架充分释放后退出推送器, 再次进镜确认支架安放情况. 支架置入术后再狭窄的患者行APC电凝方法同上.

1.2.3 疗效判定: 术后1 wk、1、3和6 mo通过复查胃镜、食道钡餐造影及询问患者吞咽情况进行随访, 疗效判定以术后胃镜能通过狭窄段、X线吞钡狭窄段顺畅, 吞咽功能晋级的级别≥1级或无吞咽困难作为有效, 否则作无效. 有效率为

■研发前沿
将APC与传统的治疗方法如探条扩张和支架置入进行对比, 发现APC在短段食管狭窄及支架置入术后再狭窄治疗方面具有一定的优势.

■相关报道
Schubert等在2003年就报道用APC治疗食管和肠道吻合口狭窄并取得成功, 显示了良好的效果; 近年来康秀峰等通过动物实验证实当输出功率为 60 W或以下时, 损伤很难达黏膜下层, 因此APC在食管病变的治疗中安全.

■创新盘点
本研究应用APC治疗短段食管狭窄和支架置入术后再狭窄，并首次与单纯探条扩张和二次支架置入进行比较，显示APC能有效解除短段的食管狭窄及支架置入术后再狭窄，是一种安全有效的方法.

表 1 两组一般临床资料

分组	*n*	男	女	年龄(岁)	狭窄直径	Stooler分级
A1	35	24	11	49.1±9	2-8 mm	Ⅱ级2例, Ⅲ级20例, Ⅳ13例
A2	28	21	7	51.0±11	2-9 mm	Ⅱ级4例, Ⅲ级19例, Ⅳ5例
B1	23	15	8	53.6±13	3-7 mm	Ⅱ级3例, Ⅲ级12例, Ⅳ8例
B2	26	19	7	52.8±14	3-7 mm	Ⅱ级3例, Ⅲ级17例, Ⅳ6例

A1组: APC治疗组; A2组: 探条扩张术组; B1组: APC治疗组: B2组: 再次支架置入组.

表 2 治疗后各组情况对比 %(*n*1/*n*)

分组	有效率			
	1 wk后	1 mo后	3 mo后	6 mo后
A1	100.00(35/35)	91.43(32/35)	68.57(24/35)	34.29(12/35)
A2	100.00(28/28)	75.00(21/28)	42.86(12/28)[a]	10.71(3/28)[a]
B1	100.00(23/23)	86.96(20/23)	56.52(13/23)	21.74(5/23)
B2	100.00(26/26)	96.15(25/26)	80.77(21/26)	50.00(13/26)[c]

[a]*P*<0.05 *vs* A1组; [c]*P*<0.05 *vs* B1组. A1组: APC治疗组; A2组: 探条扩张术组; B1组: APC治疗组: B2组: 再次支架置入组.

首次治疗后在随访时间段有效病例数/本组病例总数×100%.

统计学处理 采用SPSS13.0统计软件进行统计分析. 计量资料的比较采用*t*检验, 计数资料的比较用χ^2检验. *P*<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

手术过程中, 未出现穿孔, 大出血等严重不良反应, 个别患者操作中有局部出血, 术后给予禁食及止血药物治疗后无明显消化系出血症状, 大部分患者出现胸骨后疼痛不适, 可耐受, 持续4-5 d后基本缓解, 少数二次支架置入的患者有吞咽不适, 不影响正常进食. 随访观察, 两组患者术后早期, 食欲均明显改善, 体重增加, 生活质量明显提高. A1组35例患者共进行APC治疗66次, 随访期间再发狭窄的患者进行了2-5次APC治疗, 可重复性好. 其中2例反复出现狭窄的患者改行支架置入术, 1例再发狭窄后放弃治疗, 6 mo内死亡3例. A2组28例患者共进行扩张治疗41次, 随访期间再发狭窄的大部分患者进行了2-3次扩张治疗, 其中5例再发狭窄的患者改行支架置入术, 6 mo内死亡2例, 3例放弃治疗. B1组23例患者共进行APC治疗47次, 6 mo内死亡5例; B2组26例共放置二次支架26枚, 6 mo死亡6例, 5例患者因再次支架置入后仍出现狭窄改行APC治疗后梗阻解除, 2例放弃治疗.

各组治疗后随访期间吞咽困难缓解情况如表2. A组内APC治疗效果优于单纯扩张, 尤其是在3 mo和6 mo时效果明显, 差异具有统计学意义(*P*<0.05). B组内再次支架置入术优于单纯APC治疗, 但近期内(1 mo和3 mo)差异无统计学意义(*P*>0.05), 6 mo后比较差异具有统计学意义(*P*<0.05).

3 讨论

食管狭窄按性质分为良性狭窄和恶性狭窄. 良性狭窄以瘢痕性狭窄最为多见, 常见原因包括损伤性食管狭窄、食管炎及手术后食管狭窄. 恶性狭窄主要是指食管癌引起的狭窄, 食管癌是常见的一种消化系肿瘤, 我国是世界上食管癌高发地区之一, 占各部位癌症死亡的第2位, 仅次于胃癌[2]. 不管是哪种原因引起的食管狭窄均导致患者吞咽困难. 长期以来, 对不能手术的患者, 临床除静脉营养和造瘘进行姑息治疗外无其他更好的方法, 患者往往经受极大的痛苦, 生活质量严重下降. 即使手术成功, 食管癌术后吻合口狭窄仍是其术后常见的并发症[3]. 近年来, 随着内镜治疗技术的提高和内镜治疗器械的发展, 内镜治疗已广泛用于食管的良恶性狭窄. 临床上常采用的方法包括内镜下萨氏探条或球囊

扩张术、支架置入术、化疗药物注射法、Nd:YAG激光凝固术等, 尤其是支架置入术得到了广泛的推广[4-6], 但安放覆膜支架后, 增生的肉芽组织或恶性组织可以从两端向内生长, 因此食管支架置入后的再狭窄是国内外公认的棘手问题[7], 目前尚无满意的解决方法. 近年来有专家尝试用APC治疗食管狭窄, 尤其是在支架置入术后再狭窄的病例, 积累了一些经验, 也取得了一定的成就. 吴萍等[8]对11例支架置入术后再狭窄进行APC再通治疗, 术后总有效率达100%, 由肉芽组织增生引起的再狭窄, 术后6-7 mo仍可进食半流质食物; 由癌组织向腔内生长引起的再狭窄, 疗效可维持至术后l-4 mo. 姜辉等[9]报道36例再狭窄患者共进行APC治疗40次, 总有效率100%. 王胜炳等[10]对37例支架置入术后再狭窄的患者共行 48 次治疗, 全部病例经1-2次的治疗后均能进食半流质饮食, 总有效率为100%. 我们的研究也显示, B组中行二次支架置入和APC术的患者比较, 术后1 wk梗阻解除的效果无明显差异(96.15% *vs* 86.96%, $P>0.05$), 术后1 mo比较(80.77% *vs* 56.52%, $P>0.05$)虽然二次支架置入好于APC治疗, 但差异无统计学意义, 而在6 mo的随访中, 再次支架置入效果好于一次的APC治疗(50.00% *vs* 21.74%, $P<0.05$), 但因食管癌一般多位于食管中段[2], 支架置入术后再狭窄的上缘往往距门齿距离短, 很多患者无法再行第二枚支架的安置. 而APC具有可重复操作性, 且不受狭窄位置的影响, 对镍钛合金支架影响小, 费用低廉, 患者不良反应少, 再通效果较好等特点, 且再狭窄的患者可反复行APC治疗, 达到长期再通的效果. 因此对食管癌金属支架置入术后再狭窄是一种安全有效的方法, 值得临床推广.

在短段的狭窄尤其是良性狭窄中, 支架因支撑部位长度短, 容易出现移位, 且良性狭窄支架置入后往往取出困难, 并且有肉芽组织向支架两端生长而造成再狭窄的可能, 一般较少采用支架置入. 探条扩张术是一种以机械性撕裂狭窄处而扩张狭窄段的方法, 作为一种传统的内镜治疗手段, 在食管狭窄治疗中应用时间较长, 对食管狭窄扩张效果确切[11,12], 但探条扩张术再通时间段短, 再狭窄率高[13], 且治疗过程中患者疼痛明显. APC是通过连续性的电凝对狭窄处组织进行灼烧, 使组织脱水、干燥、凝固坏死, 随后脱落而解除梗阻, 高频电流随氩离子束可自动流向尚未凝固或未完全凝固的创面, 具有深度可控, 部位精准的特点[14,15], 在A组的研究中显示, APC和探条扩张术在1 mo内的随访时间有效率无显著差异(91.43% *vs* 75.00%, $P>0.05$), 但3 mo和6 mo的随访显示APC效果优于探条扩张术(68.57% *vs* 42.86%, $P<0.05$)和(34.29% *vs* 10.71%, $P<0.05$), 考虑与APC可造成病变处组织全部或大部消融, 病灶不容易复发有关. 因此, 对于短段的食管狭窄, 我们认为APC效果要好于单纯探条扩张术.

总之, APC治疗为解除短段的食管狭窄及支架置入术后再狭窄提供了一种安全有效的方法. 目前内镜治疗方法众多, 如何选择合适的治疗方案, 以及这些治疗措施对于生存期的改变目前还没有确定的结论, 我们期待更多的研究证实.

■应用要点

本文通过对APC、探条扩张及二次支架置入术在治疗短段食管狭窄和支架置入术后再狭窄的有效率进行比较, 显示APC是一种较为简便有效的内镜治疗方法, 对内镜医师在选择治疗方案有一定的参考价值.

4 参考文献

1 王章流, 刘爱琴. 内镜下扩张治疗食管贲门癌术后吻合口狭窄43例. 世界华人消化杂志 2006; 14: 1940-1941
2 吴在德, 吴肇汉, 郑树, 安洪, 汪建平. 外科学(第七版). 北京: 人民卫生出版社, 2008: 349
3 李宝玉, 陈进忠, 苏虹, 蒋丽娟, 廖素珠. 食管贲门癌术后吻合口狭窄的内镜治疗. 中华消化内镜杂志 2004; 21: 355-356
4 Keller R, Flieger D, Fischbach W, Christl SU. Self-expanding metal stents for malignant esophago-gastric obstruction: experience with a new design covered nitinol stent. *J Gastrointestin Liver Dis* 2007; 16: 239-243 [PMID: 17925915]
5 苏琼. 经胃镜下食管支架置入术在治疗食管狭窄中的临床应用. 中国内镜杂志 2010; 16: 551-553
6 孙杰, 刘文天, 王邦茂, 张庆瑜, 吕宗舜. 内镜下支架置入术治疗消化道狭窄273例. 世界华人消化杂志 2011; 19: 644-649
7 Mayoral W, Fleischer D, Salcedo J, Roy P, Al-Kawas F, Benjamin S. Nonmalignant obstruction is a common problem with metal stents in the treatment of esophageal cancer. *Gastrointest Endosc* 2000; 51: 556-559 [PMID: 10805841 DOI: 10.1016/s0016-5107(00)70289-6]
8 吴萍, 张海燕, 吴明波, 吕亚丽, 范志宁, 张葆鹿, 博周甜.食管支架植入术后再狭窄的氨离子凝固术再通治疗. 中华消化内镜杂志 2005; 22: 352-353
9 姜辉, 金珍成, 陈伟训. 氩等离子凝固术在食管支架置入术后再狭窄的应用. 山东医药 2008; 48: 140-141
10 王胜炳, 汪福群, 张德强, 曾安祥. 氩离子凝固术在食管支架植入术后再狭窄中的应用. 临床医学工程 2011; 18: 1218-1219
11 许丰, 李红亮, 徐月梅, 戚旭飞, 李小平. 内镜下探条扩张术与X线透视下水囊扩张术治疗食管良性狭窄的回顾性分析. 中国内镜杂志 2011; 17: 182-183
12 陈章兴, 戴益琛, 朱小三, 谢军培, 傅育卡, 曾伟, 连清娜, 桑巧芳, 林园园, 詹小娟. 放射治疗联合扩张术治疗晚期食管癌26例. 世界华人消化杂志 2010; 18: 2809-2811
13 熊观瀛, 王翔, 王敏, 文卫, 范志宁. 黏膜下激素注射联合扩张治疗难治性食管良性狭窄. 中国内镜杂志 2009; 15: 21-23
14 潘志刚, 苏东星, 肖晨, 陆才金, 陈庆州, 林敬楠. 内镜下氩离子凝固术治疗上消化道疾病的临床研究. 微创

■同行评价
本文例数较多, 效果较好, 结果可信. 文章的结论对这些病例的临床处理和有关内镜治疗方法的选择具有较好的借鉴意义.

医学 2011; 6: 208-210
15 康秀峰, 刘培君, 袁月, 王志中, 代剑华, 彭贵勇. 氩离子凝固术治疗食管病变的安全性研究. 第三军医大学学报 2013; 35: 1009-1013

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

• 消息 •

中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》影响因子0.873

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

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

世界华人消化杂志 2014年4月28日; 22(12): 1699-1702
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

新疆食管癌肉瘤的临床病理特征

马遇庆, 李巧新, 马 红, 李新霞, 李俊芝, 刘 铭, 刘 霞, 张 巍

马遇庆, 李巧新, 马红, 李新霞, 李俊芝, 刘铭, 刘霞, 张巍, 新疆医科大学第一附属医院病理科 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830054
马遇庆, 主任医师, 博士研究生, 主要从事新疆食管癌、胸科疾病的病理诊断及分子机制的研究.
国家自然科学基金资助项目, No. 81260308
作者贡献分布: 马遇庆与李巧新对此文所作贡献均等; 此课题由马遇庆设计; 研究过程由马遇庆、李巧新、马红、李新霞及刘霞完成; 试剂由张巍提供; 数据分析与图像采集由李俊芝与刘铭完成; 论文写作由马遇庆完成; 论文修改由张巍完成.
通讯作者: 张巍, 教授, 主任医师, 830054, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市鲤鱼山南路137号, 新疆医科大学第一附属医院病理科. zwyhr100@163.com
电话: 0991-4366106
收稿日期: 2014-01-02 修回日期: 2014-03-25
接受日期: 2014-04-03 在线出版日期: 2014-04-28

Clinicopathological features of esophageal carcinosarcoma in Xinjiang

Yu-Qing Ma, Qiao-Xin Li, Hong Ma, Xin-Xia Li, Jun-Zhi Li, Ming Liu, Xia Liu, Wei Zhang

Yu-Qing Ma, Qiao-Xin Li, Hong Ma, Xin-Xia Li, Jun-Zhi Li, Ming Liu, Xia Liu, Wei Zhang, Department of Pathology, First Affiliated Hospital, Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81260308
Correspondence to: Wei Zhang, Professor, Chief Physician, Department of Pathology, First Affiliated Hospital, Xinjiang Medical University, 137 Liyushan South Road, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. zwyhr100@163.com
Received: 2014-01-02 Revised: 2014-03-25
Accepted: 2014-04-03 Published online: 2014-04-28

Abstract

AIM: To explore the clinicopathological characteristics of and diagnostic criteria for carcinosarcoma of the esophagus.

METHODS: The clinical features, histologic and immunohistochemical findings, and the result of fluorescence in situ hybridization in five cases of esophageal carcinosarcoma were analyzed. A review of the literature was also performed.

RESULTS: Among the five cases, four were male (4 *vs* 1). There were 3 Han patients, and the other two cases were Uighur and Kazak, respectively. Macroscopically, the tumor was usually located at the lower part of the esophagus with a polyp-like appearance. The tumor size varied, with the largest diameter being 5 cm. Microscopically, the pattern of carcinoma and sarcoma might be separately distributed or mixed with each other as well. All of the 5 cases in the current study were squamous carcinoma mixed with fibrosarcoma. Immunohistochemically, the carcinomatous pattern was positive for cytokeratin (CK) CK5/6 and p63, and negative for Vimetin; the sarcoma pattern was positive for Vimetin, and negative for CK, CK5/6 and p63. There was no overlap expression for the markers of interest between the carcinoma region and sarcoma region. In situ hybridization analysis showed negative EBER expression.

CONCLUSION: Esophageal carcinosarcoma is a less aggressive malignant tumor composed of two elements (carcinoma and sarcoma). The entity needs to be distinguished from sarcomatoid carcinoma, squamous cell carcinoma, undifferentiated sarcoma and inflammatory pseudotumor.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Esophageal neoplasm; Carcinosarcoma; Immunohistochemistry

Ma YQ, Li QX, MH, Li XX, Li JZ, Liu M, Liu X, Zhang W. Clinicopathological features of esophageal carcinosarcoma in Xinjiang. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(12): 1699-1702 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1699.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i12.1699

摘要

目的: 探讨食管癌肉瘤的临床病理特点、诊断、鉴别诊断及生物学行为.

方法: 回顾5例食管癌肉瘤的临床病理资料, 采用HE、免疫组织化学及原位杂交检测, 结合文献进行分析.

■背景资料
食管癌肉瘤较少见, 仅占食管恶性肿瘤的1%左右. 食管癌肉瘤大体上多呈息肉样生长, 临床预后较好, 术前活检诊断中易误诊为鳞状细胞癌、肉瘤及炎性假瘤等. 从临床病理特征、免疫学表型、鉴别诊断及预后进行系统的讨论, 以期对其进一步认识.

■同行评议者
陈洪, 医学博士, 主任医师, 副教授, 硕士研究生导师, 东南大学附属中大医院消化科; 李苏宜, 教授, 主任医师, 东南大学附属中大医院肿瘤科

结果: 食管癌肉瘤多见于中老年男性, 本组汉族3例, 维吾尔族1例, 哈萨克族1例, 肿瘤多位于食管中下段, 大体检查5例均为息肉样肿块凸向腔内, 有蒂与食管壁相连, 肿瘤最大径5 cm, 镜下组织有两种结构, 癌和肉瘤成分, 癌的区域和肉瘤成分相互独立, 或相互参杂. 5例癌的成分均为鳞状细胞癌, 其中1例高分化、1例中分化、2例低分化及1例未分化. 肉瘤成分均为纤维肉瘤. 免疫组织化学显示: 5例中癌成份广谱细胞角蛋白(cytokeratin, CK)(+), 高分子量角蛋白(CK5/6)(+), p63(+), 波形蛋白(vimetin)(-); 肉瘤成份vimetin(+), CK(-), 高分子量角蛋白(CK5/6)(-), p63(-); 癌与肉瘤区域在上皮和间叶标记中均无重叠. 原位杂交: EBER(-).

结论: 食管癌肉瘤是具有癌和肉瘤两种成份的恶性肿瘤, 其恶性程度较低, 需要与肉瘤样癌、鳞状细胞癌和未分化肉瘤做鉴别诊断. 其组织来源是否是同一干细胞还有待进一步研究.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 食管肿瘤; 癌肉瘤; 免疫组织化学

核心提示: 食管癌肉瘤与鳞状细胞癌、肉瘤及炎性假瘤不易区别, 在临床诊断工作中, 应结合临床病史、影像学结果, 参考免疫组织化学结果进行诊断.

马遇庆, 李巧新, 马红, 李新霞, 李俊芝, 刘铭, 刘霞, 张巍. 新疆食管癌肉瘤的临床病理特征. 世界华人消化杂志 2014; 22(12): 1699-1702 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1699.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i12.1699

0 引言

食管癌肉瘤较少见, 仅占食管恶性肿瘤的1%左右[1-3]. 食管癌肉瘤大体上多呈息肉样生长, 临床预后较好, 术前活检诊断中易误诊为鳞状细胞癌、肉瘤及炎性假瘤等. 现将我院收集的5例食管癌肉瘤资料, 结合文献复习进行报道, 并从临床病理特征、免疫学表型、鉴别诊断及预后进行系统的讨论, 以期对其进一步认识.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2003-01/2012-10新疆医科大学第一附属医院外检病理诊断食管癌肉瘤的病例5例. 临床资料如表1. 所用一抗包括细胞角蛋白(cytokeratin, CK)(浓度1∶120); 上皮膜抗原(epithelial membrane antigen, EMA)(浓度1∶200); 高分子量角蛋白(CK5/6, 浓度1∶100)、 p63(浓度1∶100), 波形蛋白(Vimetin, 浓度1∶100)、结蛋白(desmin, 浓度1∶100)、平滑肌肌动蛋白(smooth muscle actin, SMA)(浓度1∶100)、S-100(浓度1∶600)、胶质纤维酸性蛋白(glial fibrillary acidic protein, GFAP)(浓度1∶100)、p53(浓度1∶100)和Ki-67(浓度1∶130). 试剂均购自基因科技(上海)有限公司.

1.2 方法 (1)对食管癌肉瘤的病例5例, 均经重新切片, 分别进行HE染色和补做免疫组织化学标记; (2)免疫组织化学采用EnVision二步法, 具体步骤包括脱蜡、水化组织切片; 预处理组织切片, 热修复; PBS冲洗, 3次×5 min; 一抗37 ℃孵育60 min; PBS冲洗, 3次×5 min; EnVision二抗室温孵育30 min; PBS冲洗, 3次×5 min; DAB显色, 光镜下控制; 蒸馏水漂洗; 复染及封片. (3)免疫组织化学结果判定标准: 阳性信号呈棕黄/褐色颗粒状, CK、EMA、CK5/6、Vimetin、Desmin、SMA及GFAP阳性信号定位于胞浆及胞膜, p63、S-100、p53及Ki-67定位于细胞核. 每张切片随机选取有肿瘤组织的10个高倍视野(10×40), 计数1000个细胞, 根据阳性细胞数占所计数细胞的百分数进行判断: 阳性细胞数<10%为阴性(-); 阳性细胞数≥10%为阳性(+). (4)收集临床病史、影像学结果.

2 结果

2.1 分布 食管癌肉瘤的发病率约占新疆医科大学第一附属医院同期食管癌患者的0.25%(5/2000)[4].

2.2 影像学 本组5例中均为息肉样型肿块凸向腔内.

2.3 病理检查 大体检查5例均为息肉样肿块凸向腔内, 有蒂与食管壁相连, 肿瘤最大径5 cm, 镜下组织有两种结构, 癌和肉瘤成分, 癌的区域和肉瘤成分相互独立, 或相互参杂, 5例癌的成分均为鳞状细胞癌, 其中1例的鳞状细胞癌是高分化, 并且可见部分区域高分化鳞状细胞癌的成分与正常黏膜鳞状细胞有移行区域(图1A), 而且深部区域两种成分相互参杂(图1B); 1例的鳞状细胞癌成分为低分化, 肿瘤侵入周围肌组织, 在肌间穿插生长, 浸润成分仅为鳞状细胞癌(图1C); 另外3例鳞状细胞癌成分分别为中分化, 低分化和未分化, 肉瘤的成分均为纤维肉瘤, 且癌的成分

■研发前沿
食管癌肉瘤是具有癌和肉瘤两种成份的恶性肿瘤, 其恶性程度较低, 需要与肉瘤样癌、鳞状细胞癌和未分化肉瘤做鉴别诊断. 结合临床病史、影像结果, 采用免疫组织化学法, 进行病理诊断, 有助于该疾病的诊断.

■创新盘点
本文总结了近十年食管癌肉瘤诊断的相关文献, 对食管癌肉瘤的诊断及鉴别诊断进行了较为详细完整的阐述.

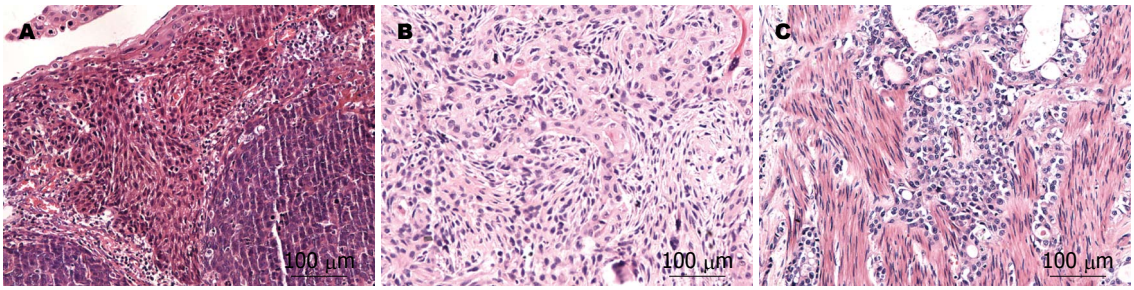


图 1 食管癌肉瘤不同病理变化(HE × 200). A: 癌成分为高分化鳞状细胞癌, 高分化鳞状细胞癌与正常黏膜鳞状细胞有移行区域; B: 癌成分为高分化鳞状细胞癌, 深部区域高分化鳞状细胞癌与肉瘤成分相互参杂; C: 癌成分为低分化鳞状细胞癌, 瘤组织侵入肌组织, 在肌间穿插生长, 浸润成分仅为鳞状细胞癌.

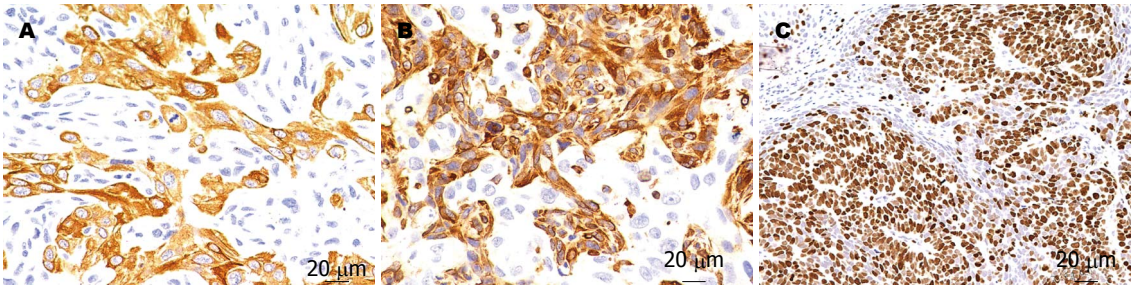


图 2 食管癌肉瘤免疫组织化学标记. A: 癌成分表达CK(EnVision法 × 400); B: 肉瘤成分表达Vimetin(EnVision法 × 400); C: Ki-67 80%(+)(EnVision法 × 200).

表 1 食管癌肉瘤临床资料

临床参数	性别		年龄(岁)		民族			部位			症状		治疗		随访	
	男	女	范围	平均	汉族	维吾尔族	哈萨克族	食管上段	食管中段	食管下段	吞咽时有异物感	无	手术切除	姑息治疗	有	无
	4	1	60-70	66	3	1	1	1	2	2	5	0	5	0	0	5

与肉瘤的成分免疫表型无重叠(图2A, 2B). 侵犯深度2例侵及食管黏膜下层, 3例侵及深肌层. 本组中淋巴结均未见癌转移. 其中1例术前曾行食管中段活检, 示: 大片坏死组织, 炎性肉芽组织及不全角化的鳞状上皮, 肉芽组织内见散在异型细胞, 癌不能排除.

2.4 免疫组织化学 本组5例食管癌肉瘤中癌的区域: CK(+), CK5/6(+), EMA(+), p63(+), Vimetin(-); 肉瘤区域Vimetin(+), CK(-),CK5/6(-), p63(-), Desmin(-), SMA(-), S-100(-), GFAP(-), p53(+), Ki-67 60%-80%(+), 图2C, 所有病例癌与肉瘤区域在上皮和间叶标记中均无重叠.

2.5 原位杂交 5例标本EBER(-).

3 讨论

癌肉瘤是一种以上皮性和间叶性恶性肿瘤成分并存为特征的恶性肿瘤. 非常少见, 这些肿瘤多见于老年患者, 且以男性居多.并偶可伴有血清白介素-6增高[5]. 本组5例中, 男性4例, 女性1例, 平均年龄66岁. 患者临床症状主要为无明显诱因出现吞咽阻挡感、缺乏典型的进行性加重症状, 胸背部放射痛, 消瘦不明显, 病史相对较长. 临床梗阻程度及预后好于食管鳞状细胞癌. 呈息肉样凸向腔内且有短蒂与食管壁相连, 并且伴有大片出血. 因为是息肉样生长, 所以早期就会有症状, 因而临床上呈现比典型鳞癌较早的分期[6]. 影像学上, 肿瘤多位于食管中下段, 肿瘤常发自食管一侧壁, 呈一较大的充盈缺损, 基底部狭窄, 管壁柔软, 表面多为光滑完整, 四周黏膜无明显破坏, 一般不伴有食管腔的狭窄, 病变大小与梗阻情况不成正比[7]. 本组中仅有一例表现为管腔明显狭窄, 扩张度差, 其余病例均不伴有食管腔的狭窄.

大体上, 肿瘤多呈息肉样凸向腔内且有短

■应用要点
本文为临床病理科医生对食管癌肉瘤的诊断提供较科学的依据.

■同行评价
本文具有较好的创新性, 内容具有科学性, 对食管癌肉瘤的临床病理诊断具有一定的指导意义.

蒂与食管壁相连[8], 并且伴有大片出血. 组织学上, 这类肿瘤呈双向生长方式, 同时包含上皮和间叶的成分. 上皮成分多出现在基底部或者临近黏膜处; 上皮成分具有明确特征的鳞状细胞成分(浸润性鳞状细胞癌和/或附近黏膜鳞状细胞的不典型增生); 浸润性的鳞状细胞癌可呈现高-低分化; 也有其他类型的癌, 包括基底样型、神经内分泌分化, 腺样, 腺囊性, 或者未分化的生长模式[1,9], 本研究中的病例分别呈现出鳞状细胞癌的不同分化程度, 但未见其他类型的癌, 不同部位的核分裂非常活跃. 有研究显示间叶成分完全未分化, 或显示骨, 软骨, 或平滑肌分化[10], 本组5例中的均呈未分化肉瘤改变, 未见其他分化方向. 同发生在其他解剖部位的癌肉瘤一样, 此类肿瘤中癌的成分通常为CK和EMA阳性, 而vimentin典型地仅仅阳在肉瘤细胞[10], 与本组结果相似. 也曾有报道病例出现局灶S-100和myoglobin阳性[11], 但本组的免疫表型未呈现此特点.

食管癌肉瘤需要与以下疾病做鉴别诊断: (1)肉瘤样癌, 均可以呈双向分化, 不同的是肉瘤样癌中的所有成分CK阳性, 而癌肉瘤中的间叶成分CK阴性; (2)鳞状细胞癌, 当癌肉瘤以鳞状细胞癌成分为主时, 需要与其鉴别, 特别是食管镜活检取材时, 因取材较表浅, 仅见鳞状细胞癌成分和少许梭形细胞, 有时会将梭形细胞误以为是反应的纤维母细胞, 而误诊为鳞状细胞癌; (3)未分化肉瘤, 同理, 当癌肉瘤以肉瘤成分为主时, 易误以为是肉瘤, 需要多处取材, 并借助免疫组织化学检查寻找癌的成分; (4)炎性假瘤, 癌肉瘤在术前活检时, 可见多种成分包括炎性肉芽组织、梭形细胞及丰富的血管, 如取材部位异性不明显, 易误诊为炎性假瘤.

肿瘤转移可以是任何一种成分或者同时有两种成分. 提示预后的常用指标*TP53*突变在两种成分中都出现. 复发和转移病例通常会生长迅速, 侵袭性强. 淋巴结转移较为少见, 且转移成份多为肉瘤[11,12]. 虽然曾有一段时间学者认为癌肉瘤中的两种成分均是从多潜能干细胞分化而来的[13], 将肉瘤样癌和癌肉瘤当做是同一肿瘤的不同亚型[14], 但是本组的HE形态学及免疫组织化学标记结果更支持“该肿瘤仍然可能是两种独立的恶性肿瘤细胞克隆”[10,15]的观点.

4 参考文献

1 Iezzoni JC, Mills SE. Sarcomatoid carcinomas (carcinosarcomas) of the gastrointestinal tract: a review. *Semin Diagn Pathol* 1993; 10: 176-187 [PMID: 8367625]
2 Sano A, Sakurai S, Kato H, Suzuki S, Yokobori T, Sakai M, Tanaka N, Inose T, Sohda M, Nakajima M, Fukai Y, Miyazaki T, Ojima H, Hosoya Y, Enomoto T, Kanda T, Ajioka Y, Kuwano H. Expression of receptor tyrosine kinases in esophageal carcinosarcoma. *Oncol Rep* 2013; 29: 2119-2126 [PMID: 23546020 DOI: 10.3892/or.2013.2371]
3 张百华, 杨文静, 王永刚, 张宏图. 食管癌肉瘤临床特点及外科治疗预后分析. 中华外科杂志 2012; 50: 256-259
4 马红, 阿仙姑•哈斯木, 伊利亚尔•夏合丁, 林晨, 马遇庆. 新疆地区不同民族2863例食管癌患者临床病理资料回顾性分析. 肿瘤防治研究 2013; 40: 853-855
5 Hayama S, Okushiba S, Shichinohe T, Hirano S, Tanaka E, Kondo S. Esophageal carcinosarcoma presenting as a fever with elevated serum interleukin-6. *Ann Thorac Surg* 2011; 91: 1288-1290 [PMID: 21440168 DOI: 10.1016/j.athoracsur.2010.09.064]
6 Fenoglio-Preiser CM, Noffsinger AE, Stemmermann G, Lantz PE, IsaacsonPG. Gastrointestinal Pathology. 3rd Ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2007: 11-134
7 江定. 食管癌肉瘤影像学表现与病理对照分析. 肿瘤基础与临床 2009; 22: 426-427
8 Gubler C, Bauerfeind P. Endoscopically resected giant esophageal carcinosarcoma. *Endoscopy* 2013; 45 Suppl 2 UCTN: E288-E289 [PMID: 24008470 DOI: 10.1055/s-0033-1344406]
9 Robertson NJ, Rahamim J, Smith ME. Carcinosarcoma of the oesophagus showing neuroendocrine, squamous and glandular differentiation. *Histopathology* 1997; 31: 263-266 [PMID: 9354897]
10 Bosman FT, Carneiro F, Hruban RH, Hruban, Theise ND, Word Health Organization classification of tumours. WHO classification of tumours of the digestive system. 4th Edition. Lyon: IARC, 2010: 40-44
11 Robert D.Odze, John R. Goldblum. Surgical pathology of the GI tract, liver, biliary tract, and pancreas. Saunders Elsevier, 2009
12 王锡平, 王桂芬, 罗红波, 周英泽. 食管癌肉瘤伴淋巴结纤维肉瘤转移1例. 现代诊断与治疗 2013; 14; 1001-8174
13 罗红波, 周英泽, 王桂芬, 徐滨, 王锡平, 王敏. 食管癌肉瘤组织形态学及蛋白表达研究. 现代医药卫生 2013; 9; 1285-1287
14 吕祥瑞, 潘苗苗, 彭春. 7例食管癌肉瘤临床病理分析. 肿瘤基础与临床 2009; 22: 231-232
15 Lauwers GY, Grant LD, Scott GV, Carr NJ, Sobin LH. Spindle cell squamous carcinoma of the esophagus: analysis of ploidy and tumor proliferative activity in a series of 13 cases. *Hum Pathol* 1998; 29: 863-868 [PMID: 9712430]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年4月28日; 22(12): 1703-1708
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

食管癌术后肺部并发症的危险因素分析859例

黄明芳, 刘德森, 潘 琪, 陈远岷, 黄重庆

黄明芳, 刘德森, 潘琪, 陈远岷, 黄重庆, 广西医科大学附属肿瘤医院胸外科 广西壮族自治区南宁市 530021
黄明芳, 主要从事胸部肿瘤的外科诊治与综合治疗的研究.
作者贡献分布: 本课题由刘德森与黄明芳设计; 研究过程由黄明芳、潘琪、陈远岷及黄重庆共同完成; 数据整理由黄明芳与刘德森共同完成; 数据分析由黄明芳与潘琪完成; 本论文写作由黄明芳与刘德森完成.
通讯作者: 刘德森, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 530021, 广西壮族自治区南宁市河堤路71号, 广西医科大学附属肿瘤医院胸外科. desenliu57@hotmail.com
收稿日期: 2014-01-06 修回日期: 2014-03-15
接受日期: 2014-03-19 在线出版日期: 2014-04-28

Risk factors for pulmonary complications in patients with esophageal cancer after esophagectomy: Analysis of 859 cases

Ming-Fang Huang, De-Sen Liu, Qi Pan, Yuan-Min Chen, Chong-Qing Huang

Ming-Fang Huang, De-Sen Liu, Qi Pan, Yuan-Min Chen, Chong-Qing Huang, Department of Thoracic Surgery, Affiliated Tumor Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China
Correspondence to: De-Sen Liu, Professor, Chief Physician, Department of Thoracic Surgery, Affiliated Tumor Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. desenliu57@hotmail.com.
Received: 2014-01-06 Revised: 2014-03-15
Accepted: 2014-03-19 Published online: 2014-04-28

Abstract

AIM: To investigate possible risk factors for postoperative pulmonary complications (POPCs) in patients after esophageal cancer resection to provide a basis for individualized prevention and treatment of POPCs.

METHODS: We retrospectively analyzed the data for 859 patients who underwent esophagectomy for esophageal cancer from June 1986 to June 2012 at our hospital, and observed the rate of POPCs. All possible factors influencing the occurrence of POPCs were included in our research. Independent risk factors for POPCs were evaluated by multiple logistic regression analysis.

RESULTS: A total of 144 patients had POPCs, the majority of which were nosocomial pneumonia (9.90%), pleural effusion (5.47%) and respiratory failure (2.10%). The results of logistic regression analysis showed that POPCs were associated with age, long-term heavy smoking, diabetes, history of tuberculosis, American Society of Anesthesiology (ASA) score, one lung ventilation, other complications after surgery, and FEV1%pred ($P < 0.05$ for all).

CONCLUSION: Age, long-term heavy smoking, diabetes, history of tuberculosis, ASA score, one lung ventilation, other complications after surgery, and FEV1%pred are independent risk factors for POPCs. In order to decrease the incidence of POPCs, high-risk patients having independent risk factors, especially those having multiple independent risk factors, should receive individualized perioperative intervention.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Esophagectomy; Surgical treatment; Pulmonary complication; Risk factors

Huang MF, Liu DS, Pan Q, Chen YM, Huang CQ. Risk factors for pulmonary complications in patients with esophageal cancer after esophagectomy: Analysis of 859 cases. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(12): 1703-1708
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1703.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i12.1703

摘要

目的: 探讨食管癌患者手术后肺部并发症(postoperative pulmonary complication, POPC)的危险因素, 为个体化防治POPC提供依据.

方法: 对1986-06/2012-06于我院行食管癌手术的859例患者资料进行回顾性分析, 统计食管癌术后各种肺部并发症的发生情况, 对所有可能的因素纳入研究. 采用Logistic多元回归的统计学方法分析食管癌切除术后POPC发生的独立危险因素.

结果: 共有144例患者发生肺部并发症(占

■背景资料
食管癌是最常见的消化系恶性肿瘤之一, 目前术后肺部并发症(postoperative pulmonary complication, POPC)逐渐下降, 但肺部并发症却逐渐升高且居首. 这种趋势引起临床医生的注意, 所以探讨食管癌术后肺部并发症的危险因素, 防治术后肺部并发症具有重要意义.

■同行评议者
张力为, 副教授, 新疆医科大学第一附属医院胸外科

■创新盘点

本研究应用Logistic回归分析通过大宗病例对美国麻醉师协会(American Society of Anesthesiologists, ASA)分级、肺通气方式与肺功能等因素进行研究, 分析术后肺部并发症的独立危险因素, 同时结合临床对ASA分级、肺通气方式与肺功能等行肺部并发症多因素研究的较少.

16.76%), 最常见的POPC为肺炎(9.90%)、胸腔积液(5.47%)和呼吸衰竭(2.10%). 分析显示: 食管癌POPC与年龄、长期大量吸烟、糖尿病、肺结核病史、美国麻醉师协会(American Society of Anesthesiologists, ASA)分级、单肺通气、术后其他并发症及FEV1%pred有关(P<0.05).

结论: 年龄、长期大量吸烟、糖尿病、肺结核病史、ASA分级、单肺通气、术后其他并发症、FEV1%pred等都是食管癌患者POPC的独立危险因素. 对具有独立危险因素, 特别是同时具有多个独立危险因素的高危患者应加强围手术期个体化干预; 注重完善患者术前准备, 改善各器官功能状况; 指导患者进行合理有效的肺功能锻炼, 以降低肺部并发症的发生.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 食管癌; 外科治疗; 肺部并发症; 危险因素

核心提示: 本研究发现患者的年龄、长期大量吸烟、糖尿病、单肺通气、肺结核病史、术后其他并发症、FEV1%pred及美国麻醉师协会(American Society of Anesthesiologists)分级是食管癌手术后肺部并发症发生的独立危险因素, 加强对危险因素的防治是目前临床研究的课题.

黄明芳, 刘德森, 潘琪, 陈远岷, 黄重庆. 食管癌术后肺部并发症的危险因素分析859例. 世界华人消化杂志 2014; 22(12): 1703-1708 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1703.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i12.1703

0 引言

食管癌是最常见的消化系恶性肿瘤之一, 外科治疗仍是目前治疗手段中最好和首选的方法. 近年来随着手术技术、麻醉和围术期监护水平的发展, 食管癌切除术后的病死率已大大降低, 但肺部并发症的发生率逐渐增高, 并取代吻合口漏上升为第1位[1]. 目前国内外在研究食管癌切除术后肺部并发症(postoperative pulmonary complication, POPC)的危险因素, 包括患者年龄、体重指数、糖尿病、吸烟状态、术中液体出入量、术后其他并发症等多种因素[2,3]. 但是同时结合美国麻醉师协会(American Society of Anesthesiologists, ASA)分级、肺通气方式、肺功能等因素分析研究的较少, 各种危险因素之间又互相作用等, 本研究采用Logistic多元回归分析方法分析其独立的危险因素.

1 材料和方法

1.1 材料 收集1986-06/2012-06在我科行食管癌切除术859例患者的临床资料, 其中颈段4例, 胸上段106例, 胸中段550例, 胸下段199例. 男664例, 女195例; 男女之比为3.41∶1. 年龄28-80岁(平均57.45岁). 术前经食管胃镜确诊为食管癌, 术后病理示鳞癌837例、腺癌7例、腺鳞癌4例, 其他11例. 肿瘤分期以2010年美国癌症联合委员会(American Joint Committee on Cancer, AJCC)的TNM分期为标准. 即: 0-Ⅰ期23例占2.68%, Ⅱ期443例占51.57%, Ⅲ期377例占43.89%, Ⅳ期16例占1.86%. 研究指标: 性别、年龄、长期大量吸烟[吸烟指数≥400(支×年)]、糖尿病、肺结核病史、术前化疗、术前营养状况、肿瘤位置、手术方式及吻合部位、吻合方式、手术时间、TNM分期、浸润深度、淋巴结转移情况、ASA分级、通气方式、术后其他并发症、术前FVC、FVC%pred、FEV1、FEV1%pred及FEV1/FVC%等22个因素对食管癌POPC的影响.

1.2 方法

1.2.1 手术方式: A: 左胸组(左胸切口+胸内吻合): 403例. 根据吻合部位的不同又分为弓上吻合组: 264例, 弓下吻合组: 139例; B: 左胸颈组(左胸切口+左颈部吻合): 272例; C: 右胸腹颈组(右胸、腹部切口+右颈部吻合): 160例; D:右胸腹组(右胸、腹部切口+右胸顶吻合): 24例.

1.2.2 术后死亡和POPC的定义: 术后死亡指患者术后30 d内死亡; POPC指术后30 d内发生的与胸腔或肺有关的并发症[包括肺炎、胸腔积液、呼吸衰竭、气胸/肺复张不良、脓胸、急性呼吸窘迫综合征(acute respiratory distress syndrome, ARDS)、支气管痉挛、胃气管瘘、肺水肿].

统计学处理 采用SPSS16.0统计软件进行统计处理. 计量资料的比较采用t检验, 计数资料的比较采用χ^2检验; 对所有研究变量进行Logistic多元回归分析, 以确定独立危险因素; P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 手术方式与POPC发生率及死亡率关系 术后死亡率1.40%(12例)及POPC发生率16.76%(144例), 因POPC死亡者占58.3%(7/12). 5种手术方式的死亡率及POPC发生率差异均无统计学意义(P>0.05)(表1).

表 1 不同手术方式的手术死亡率和POPC发生率

分组	n	%	手术死亡		POPC	
			n	死亡率(%)	n	发生率(%)
左胸(弓上)	264	30.73	4	1.52	50	18.94
左胸(弓下)	139	16.18	4	2.88	23	16.55
左胸(左颈)	272	31.66	1	0.37	39	14.34
右胸上腹(右颈)	160	18.63	3	1.88	25	15.63
右胸上腹(右胸顶)	24	2.79	0	0	7	29.17

POPC: 手术后肺部并发症.

■同行评价
本文大组病例分析食管癌术后肺部并发症的危险因素, 立题较好, 为今后的食管癌手术后管理提供依据, 具有一定临床使用价值.

2.2 POPC种类和发生率 144例(16.76%)患者发生POPC, 最常见的POPC为肺炎85例(9.90%)、胸腔积液47例(5.47%)和呼吸衰竭18例(2.10%), 其次为气胸/肺复张不良17例(1.98%), 脓胸15例(1.75%), ARDS 4例(0.47%), 胃气管瘘1例(0.12%), 支气管痉挛1例(0.12%), 肺水肿1例(0.12%).

2.3 POPC危险因素的单因素分析 在22个变量中, 单因素分析示: POPC组患者的年龄、长期大量吸烟、糖尿病、肺结核病史、ASA≥3级比率、身体质量指数(body mass index, BMI)<18 kg/m^{2}比率、单肺通气, 术前FVC、FVC%pred、FEV1、FEV1%pred、FEV1/FVC%及术后其他并发症与无POPC组患者之间的差异有统计学意义(P<0.05), 而其余9个变量与POPC没有明显关系(P>0.05), 均被排除(表2).

2.4 POPC危险因素的Logistic多因素分析 将上述22个变量赋值后同时引入Logistic多因素分析显示: 年龄、长期大量吸烟、糖尿病、肺结核病史、ASA分级、单肺通气、术后其他并发症、FEV1%pred是食管癌POPC的独立危险因子(P<0.05), 其他变量均被排除(表3).

3 讨论

目前国内外对POPC危险因素的研究有助于患者的选择和术后管理, 为个体化预防及治疗POPC提供依据, 更好的指导临床医生在实践中的工作. 食管癌POPC是影响手术疗效的重要因素, 其发生率为18%-44%, 居术后并发症首位[4]. 我们的研究中, POPC的发生率为16.76%, 其中最常见的POPC为肺炎(9.90%)、胸腔积液(5.47%)和呼吸衰竭(2.10%). 围术期食管癌肺部并发症是多因素协同作用的结果[5]. 肺部并发症是近年来食管癌术后最主要的并发症, 是导致死亡的最主要危险因素.

患者≥60岁361例(42.03%), <60岁498例(57.97%), POPC发生率分别为21.88%、13.05%. 长期大量吸烟患者316例(36.79%), 其余543例(63.21%), POPC发生率分别为21.84%、13.81%. 术前合并糖尿病或肺结核病史患者POPC的危险性是没有糖尿病或结核病史患者的2.91倍、2.70倍. 患者的年龄、吸烟史及糖尿病史都是食管癌POPC的独立影响因素[6]. 60岁以上老年患者POPC发生率为年轻患者的3倍[7]. 多因素分析表明患者年龄≥60岁、长期大量吸烟、肺结核病史及糖尿病与POPC密切相关(P<0.05), OR值分别为1.695、1.608、2.641、3.932, 为术后独立危险因素, POPC风险增加, 明显高于没有肺部并发症组患者.

术中单肺通气166例(19.32%), 双肺通气693例(80.68%), 单肺通气肺部并发症40例(24.10%), 双肺通气肺部并发症104例(15.01%), 单肺通气肺部并发症是双肺通气的1.61倍. 据报道, 食管癌患者单肺通气术后肺部感染率显著高于双肺通气患者(1.48倍), 虽然单肺通气开胸侧肺萎陷, 一方面为手术者提供清晰的手术野, 同时也减少了手术者对开胸侧肺泡的挤压、摩擦[8]. 但是单肺通气作为一种非生理性通气方式其带来的一系列肺部并发症如低氧血症、肺不张、复张性肺水肿等不容忽视[9]. 据报道, 单肺通气期间高潮气量、通气高气道压及单肺通气时间是患者术后急性肺损伤(acute lung injury)和ARDS发病的独立危险因素[10]. 本研究显示单肺通气肺部并发症高于双肺通气的患者, 差异有统计学意义(P<0.05), 单肺通气是POPC的独立危险因素.

ASA≥3级, ASA<3级患者POPC发生率分别为23.96%、15.86%. 开胸食管癌切除手术不仅切除了病变的食管及断肋骨, 有的还切除部分肺组织, 则影响胸廓的完整性和通气力学机制, 故不难理解ASA分级与食管癌切除术后POPC的发生

表 2 有POPC与无POPC患者的临床资料比较

参数	有POPC患者		无POPC患者		t值/χ^2值	P值
	n	%	n	%		
n	144	16.76	715	83.24	–	–
年龄(岁)	59.94 ± 9.09		56.94 ± 8.87		3.68	0
吸烟指数(支×年)					9.215	0.002
≥400	69	47.92	247	34.55		
< 400	75	52.08	468	65.45		
糖尿病					16.598	0
有	12	8.33	14	1.96		
无	132	91.67	701	98.04		
肺结核病史					14.123	0
有	12	8.33	16	2.24		
无	132	91.67	699	97.76		
ASA分级					4.009	0.045
1–2级	121	84.03	642	89.79		
3–5级	23	15.97	73	10.21		
术前营养状况					4.679	0.031
BMI < 18 kg/m^2	40	27.78	141	19.72		
BMI≥18 kg/m^2	104	72.22	574	80.28		
通气方式					7.929	0.005
双肺	104	72.22	589	82.38		
单肺	40	27.78	126	17.62		
术后其他并发症					69.676	0
有	54	37.5	74	10.39		
无	90	62.6	641	89.65		
FVC(L)	2.54 ± 0.66		2.75 ± 0.66		3.459	0.001
FVC%pred	74.63 ± 14.40		81.30 ± 15.75		4.698	0
FEV1(L)	2.00 ± 0.56		2.20 ± 0.56		4.272	0
FEV1%pred	73.72 ± 14.98		81.54 ± 16.40		5.296	0
FEV1/FVC%	78.77 ± 9.70		81.05 ± 9.85		2.543	0.011

POPC: 手术后肺部并发症.

表 3 POPC危险因素的Logistic多因素分析

变量	偏回归系数	标准误	wald χ^2值	P值	OR值	95%可信区间	
						下限	上限
年龄	0.528	0.203	6.769	0.009	1.695	1.139	2.524
长期大量吸烟	0.475	0.203	5.485	0.019	1.608	1.081	2.393
糖尿病	1.369	0.449	9.302	0.002	3.932	1.631	9.479
肺结核病史	0.971	0.448	4.694	0.03	2.641	1.097	6.358
ASA分级	0.402	0.202	3.97	0.046	1.494	1.007	2.218
单肺通气	0.491	0.223	4.431	0.035	1.635	1.034	2.583
术后其他并发症	1.587	0.228	48.371	0	4.887	3.125	7.642
FEV1%pred	0.953	0.228	17.503	0	2.595	1.66	4.056

POPC: 手术后肺部并发症.

有关. 有研究显示较高的ASA分级是患者接受上腹部手术和开胸非心脏手术后心脏和肺部并发症发生的重要危险因素[11,12]. 本研究单因素分析显示ASA≥3级为危险因素(P = 0.045), 多因素分

析显示ASA分级的OR值为1.494, $P = 0.046$, 为食管癌POPC的独立危险因素.

POPC组患者术前肺功能指标与无POPC组之间的比较差异有统计学意义($P<0.05$). 患者FEV1<2 L、FEV1≥2 L POPC发生率分别为23.38%, 12.73%; FEV1%pred<65%、FEV1%pred≥65% POPC发生率分别为30.67%、13.83%. 术前存在的肺功能异常与术后食管癌肺部并发症的发生紧密相关, DeMeester等[13]认为FEV1<2 L者术后并发症增多. Holden等[14]研究表明, FEV1<1.6 L和术后FEV1<40%的患者术后并发症和死亡率均明显增加. 美国大样本数据显示FEV1占预计值百分比小于60%与术后并发症显著相关[15]. Avendano等[16]认为FEV1/FVC%降低表示肺功能受损, FEV1%pred<65%手术后发生心肺并发症的风险很大. Cai等[17]报道, 术前肺功能较差的高龄食管癌患者, 术后小潮气量通气可防止并减少肺不张的发生率. 本研究中, 多因素分析FEV1%pred的OR值为2.595, $P = 0.000$, 为食管癌POPC的独立危险因素.

术前存在营养不良者占21.07%. 患者BMI<18 kg/m^2、BMI≥18 kg/m^2 POPC发生率为22.10%、15.34%. 由于饮食困难, 肿瘤消耗等原因, 在食管癌患者中营养不良是比较多见的[18]. 近年来营养支持理念的提出, 积极改善患者的营养状况, 从而减少手术后并发症, 已逐渐被临床医生认可[19]. 本研究显示营养不良的单因素分析与POPC发生率有关($P<0.05$), 但多因素分析显示无统计学意义. 对于术前已经存在营养不良的患者, 应该术前予积极纠正, 术后早期给与肠内营养提高患者免疫功能, 减少肺部感染等并发症.

食管癌术后其他并发症发生率为14.90%, 可引起POPC达42.19%, 为POPC的危险因素($P<0.05$), 其中吻合口瘘、胸胃瘘分别为4.31%、1.28%, 心血管并发症发生率为4.19%, 导致POPC发生率分别为51.35%、54.55%、19.44%. 多因素分析显示术后其他并发症是POPC的独立危险因素($P = 0.000$), OR值为4.887, 尤其是吻合口瘘及胸胃瘘患者导致POPC的危险度更高, 需及时处理. 有研究显示[20]胃镜直视下金属钛夹夹闭吻合口瘘的治疗为患者提供一种安全有效的治疗方法.

随着食管癌微创技术变得越来越流行, 其旨在减少手术创伤和手术并发症, 在手术安全性方面具备优势, 尤其是降低POPC方面优势显著. 荷兰Biere等[21]一项多中心、非盲、随机对照试验研究显示相对于传统开胸手术, 微创手术的死亡率和肺部并发症更低, 值得我们下一步进行研究.

总之, 年龄、长期大量吸烟、糖尿病、单肺通气、肺结核病史、术后其他并发症、FEV1%pred及以患者一般情况和各器官功能状态为基础的ASA分级是食管癌POPC发生的独立预测因子, POPC的发生是食管癌术后患者死亡的主要原因; 对高危患者应加强围手术期个体化干预, 需特别注意完善术前准备, 改善患者的各器官功能状况, 进行合理有效的肺功能锻炼, 以尽可能地减少POPC的发生.

4 参考文献

1 雷程, 王海江, 尹东, 党诚学. 689例食管癌切除术后并发症情况分析. 中国肿瘤临床 2009; 36: 1040-1043
2 Akutsu Y, Matsubara H. Perioperative management for the prevention of postoperative pneumonia with esophageal surgery. *Ann Thorac Cardiovasc Surg* 2009; 15: 280-285 [PMID: 19901880]
3 黄晓波, 李春玲. 食管癌术后肺部并发症的危险因素分析. 华西医学 2012; 27: 1338-1341
4 Jiao WJ, Wang TY, Gong M, Pan H, Liu YB, Liu ZH. Pulmonary complications in patients with chronic obstructive pulmonary disease following transthoracic esophagectomy. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 2505-2509 [PMID: 16688794]
5 D'journo XB, Michelet P, Avaro JP, Trousse D, Giudicelli R, Fuentes P, Doddoli C, Thomas P. [Respiratory complications after oesophagectomy for cancer]. *Rev Mal Respir* 2008; 25: 683-694 [PMID: 18772826]
6 Ferguson MK, Celauro AD, Prachand V. Prediction of major pulmonary complications after esophagectomy. *Ann Thorac Surg* 2011; 91: 1494-1500; discussion 1500-1 [PMID: 21524462]
7 孙玉鹗, 主编. 胸外科手术学. 第2版. 北京: 人民军医出版社, 2004: 14
8 王丽君, 高蓉, 许仄平, 万梅方, 鲁振, 顾连兵. 食管癌根治术患者单/双肺通气术后肺部感染的发生情况. 临床麻醉学杂志 2012; 28: 844-846
9 Slinger P. Perioperative lung injury. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol* 2008; 22: 177-191 [PMID: 18494396]
10 Licker M, de Perrot M, Spiliopoulos A, Robert J, Diaper J, Chevalley C, Tschopp JM. Risk factors for acute lung injury after thoracic surgery for lung cancer. *Anesth Analg* 2003; 97: 1558-1565 [PMID: 14633519]
11 Schussler O, Alifano M, Dermine H, Strano S, Casetta A, Sepulveda S, Chafik A, Coignard S, Rabbat A, Regnard JF. Postoperative pneumonia after major lung resection. *Am J Respir Crit Care Med* 2006; 173: 1161-1169 [PMID: 16474029]
12 Alam N, Park BJ, Wilton A, Seshan VE, Bains MS, Downey RJ, Flores RM, Rizk N, Rusch VW, Amar D. Incidence and risk factors for lung injury after lung cancer resection. *Ann Thorac Surg* 2007; 84: 1085-191; discussion 1091 [PMID: 17888952]
13 DeMeester TR, Barlow AP. Surgery and current

management for cancer of the esophagus and cardia: Part II. *Curr Probl Surg* 1988; 25: 535-605 [PMID: 2460292]
14 Holden DA, Rice TW, Stelmach K, Meeker DP. Exercise testing, 6-min walk, and stair climb in the evaluation of patients at high risk for pulmonary resection. *Chest* 1992; 102: 1774-1779 [PMID: 1446488]
15 Wright CD, Kucharczuk JC, O'Brien SM, Grab JD, Allen MS. Predictors of major morbidity and mortality after esophagectomy for esophageal cancer: a Society of Thoracic Surgeons General Thoracic Surgery Database risk adjustment model. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2009; 137: 587-95; discussion 596 [PMID: 19258071]
16 Avendano CE, Flume PA, Silvestri GA, King LB, Reed CE. Pulmonary complications after esophagectomy. *Ann Thorac Surg* 2002; 73: 922-926 [PMID: 11899202]
17 Cai H, Gong H, Zhang L, Wang Y, Tian Y. Effect of low tidal volume ventilation on atelectasis in patients during general anesthesia: a computed tomographic scan. *J Clin Anesth* 2007; 19: 125-129 [PMID: 17379125]
18 Haverkort EB, Binnekade JM, de Haan RJ, Busch OR, van Berge Henegouwen MI, Gouma DJ. Suboptimal intake of nutrients after esophagectomy with gastric tube reconstruction. *J Acad Nutr Diet* 2012; 112: 1080-1087 [PMID: 22889637]
19 冯希源, 王玉琼, 罗碧如. 围手术期营养支持在胃癌患者中的应用现状. 华西医学 2012; 27: 317-320
20 李玮浩, 赵松, 崔广晖, 郭海周. 内镜下钛夹治疗食管癌胃癌术后吻合口瘘. 中国内镜杂志 2013; 19: 516-518
21 Biere SS, van Berge Henegouwen MI, Maas KW, Bonavina L, Rosman C, Garcia JR, Gisbertz SS, Klinkenbijl JH, Hollmann MW, de Lange ES, Bonjer HJ, van der Peet DL, Cuesta MA. Minimally invasive versus open oesophagectomy for patients with oesophageal cancer: a multicentre, open-label, randomised controlled trial. *Lancet* 2012; 379: 1887-1892 [PMID: 22552194]

编辑 田滢 电编 都珍珍

世界华人消化杂志 2014年4月28日; 22(12): 1709-1712
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

泌特治疗功能性消化不良的临床疗效及其对患者胃排空的影响

邸 岩, 高炳霞, 齐 颖, 宋丹萍, 苗 丽

邸岩, 高炳霞, 齐颖, 宋丹萍, 苗丽, 首都医科大学附属北京世纪坛医院干部医疗科 北京市 100038
邸岩, 主治医师, 主要从事功能性胃肠病的研究.
作者贡献分布: 此课题由邸岩设计; 高炳霞指导; 研究过程由邸岩、齐颖、宋丹萍及苗丽操作完成; 数据分析由邸岩完成; 本论文写作由邸岩与高炳霞完成.
通讯作者: 邸岩, 主治医师, 100038, 北京市海淀区羊坊店铁医路10号, 首都医科大学附属北京世纪坛医院干部医疗科5层医生办. 652470700@163.com
电话: 010-63926700
收稿日期: 2014-01-15 修回日期: 2014-03-03
接受日期: 2014-03-12 在线出版日期: 2014-04-28

Mite improves gastric emptying in patients with functional dyspepsia

Yan Di, Bing-Xia Gao, Ying Qi, Dan-Ping Song, Li Miao

Yan Di, Bing-Xia Gao, Ying Qi, Dan-Ping Song, Li Miao, Special Medical Treatment, Beijing Shijitan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100038, China
Correspondence to: Yan Di, Attending Physician, Special Medical Treatment, Beijing Shijitan Hospital, Capital Medical University, 10 Yangfangdian Tieyi Road, Haidian District, Beijing 100038, China. 652470700@163.com
Received: 2014-01-15 Revised: 2014-03-03
Accepted: 2014-03-12 Published online: 2014-04-28

Abstract

AIM: To explore the effect of Mite on gastric emptying in patients with functional dyspepsia (FD).

METHODS: One hundred and two patients with FD were randomly divided into either an experimental group or a control group. The control group was treated with mosapride citrate tablets, while the experimental group was treated with Mite on the basis of mosapride citrate tablets. The clinical effects and index of gastric emptying were compared between the two groups.

RESULTS: The significant improvement rate and the total response rate were significantly higher in the experimental group than in the control group (58.82% *vs* 39.22%, 94.12% *vs* 70.59, $P < 0.05$). The rates of gastric emptying and the total rate of gastric emptying at 2 and 5 h in the experimental group were significantly higher than those in the control group (23.53% *vs* 11.76%, 94.12% *vs* 52.94%, 55.00% *vs* 30.00%, 95.00% *vs* 65.00%, $P < 0.05$).

CONCLUSION: Treatment with Mite can improve gastric emptying in FD patients.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Mite; Functional dyspepsia; Clinical effects; Gastric emptying

Di Y, Gao BX, Qi Y, Song DP, Miao L. Mite improves gastric emptying in patients with functional dyspepsia. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(12): 1709-1712
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1709.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i12.1709

摘要

目的: 探讨泌特治疗功能性消化不良(functional dyspepsia, FD)的临床疗效及其对患者胃排空的影响效果.

方法: 按照随机数字表法将世纪坛医院门诊收治的102例FD患者均分为实验组和对照组, 对照组患者给予枸橼酸莫沙必利片治疗, 实验组患者在此基础上给予泌特治疗, 比较两组患者临床疗效及胃排空情况.

结果: 实验组患者治疗显效率和总有效率均明显高于对照组(58.82% *vs* 39.22%, 94.12% *vs* 70.59%), 差异具有统计学意义($P<0.05$); 实验组2 h和5 h胃全排空率和胃总排空率均明显高于对照组(23.53% *vs* 11.76%、94.12% *vs* 52.94%、55.00% *vs* 30.00%、95.00% *vs* 65.00%), 差异具有统计学意义($P<0.05$).

结论: 泌特治疗功能性消化不良疗效显著, 能够明显改善患者胃排空情况, 是药物治疗功能性消化不良的首选.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

■背景资料
功能性消化不良是常见的消化系功能性疾病, 消化不良症候群是消化专业门诊最常见的就诊人群, 占就诊总人群的8.3%. 亚洲人群中消化不良和功能性消化不良(functional dyspepsia, FD)的患病率分别为8%-30%和8%-23%, 我国居民中FD的患病率为23.5%-69%. FD临床治疗主要包括促动力药物、抑酸药物、根除幽门螺杆菌等, 其中促动力药物治疗能够有效改善大多数患者的临床症状. 但目前FD临床治疗缺乏规范, 复发率较高. 泌特在改善机体碳水化合物、脂肪、蛋白质等方面的消化和吸收, 有着很好的效果.

■同行评议者
许文燮, 教授, 博士生导师, 上海交通大学基础医学院, 病理、生理与病理生理系

■研发前沿
功能性消化不良临床发病率较高，发患者群年龄分布较为广泛，其病因及发病机制尚无明确的研究结果.

关键词: 泌特; 功能性消化不良; 疗效; 胃排空

核心提示: 本研究按照随机数字表法将世纪坛医院门诊收治的102例功能性消化不良患者均分为实验组和对照组, 对照组患者给予枸橼酸莫沙必利片治疗, 实验组患者在此基础上给予泌特治疗, 比较两组患者临床疗效及胃排空情况. 实验组患者治疗显效率和总有效率均明显高于对照组, 差异具有统计学意义(P<0.05); 实验组2和5 h胃全排空率和胃总排空率均明显高于对照组, 差异具有统计学意义(P<0.05). 泌特治疗功能性消化不良疗效显著, 能够明显改善患者胃排空情况, 是药物治疗功能性消化不良的首选.

邸岩, 高炳霞, 齐颖, 宋丹萍, 苗丽. 泌特治疗功能性消化不良的临床疗效及其对患者胃排空的影响. 世界华人消化杂志 2014; 22(12): 1709-1712 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1709.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i12.1709

0 引言

功能性消化不良(functional dyspepsia, FD)是指一组表现为上腹部疼痛或烧灼感、餐后上腹饱胀和早饱感的症候群, 可伴食欲不振、嗳气、恶心或呕吐等. 血生化和内镜等检查无异常发现, 其临床表现难以用器质性疾病解释[1]. FD是常见的消化系功能性疾病, 消化不良症候群是消化专业门诊最常见的就诊人群, 占就诊总人群的8.3%. 亚洲人群中消化不良和FD的患病率分别为8%-30%和8%-23%, 我国居民中FD的患病率为23.5%-69.0%. FD临床治疗主要包括促动力药物、抑酸药物、根除幽门螺杆菌等, 其中促动力药物治疗能够有效改善大多数患者的临床症状[2]. 但目前FD临床治疗缺乏规范, 复发率较高. 泌特在改善机体碳水化合物、脂肪、蛋白质等方面的消化和吸收, 有着很好的效果. 尝试采取泌特联合枸橼酸莫沙必利片治疗FD, 取得了较为满意的临床疗效, 现报道如下.

1 材料和方法

1.1 材料 选择2010-06/2013-06北京世纪坛医院干部医疗科消化门诊就诊的102例FD患者作为研究对象. 所有患者均符合RomeⅢ中FD相关诊断标准[3], 经胃镜检查确诊. 临床主要表现为餐后饱胀、早饱感、上腹痛、上腹烧灼感, 部分患者伴有恶心、上腹痛、呕吐、厌食、嗳气等症状, 诊断前症状出现至少6 mo, 且近3 mo符合以上诊断标准. 排除伴有外上消化道器质性病变、腹部手术史、严重脏器功能不全以及全身性疾病者. 所有患者入选前1 wk均停止使用任何影响消化系功能的药物. 按照随机数字表法利用随机号码表抽取样本, 将102例患者均分为实验组和对照组, 两组患者在性别、年龄、体质量等上差异无统计学意义(P>0.05, 表1), 具有可比性. 所有患者均签署知情同意书.

1.2 方法

1.2.1 治疗: 两组患者均给予枸橼酸莫沙必利片(瑞琪)(江苏豪森药业股份有限公司, 国药准字H19990315, 规格: 5 mg×12片)治疗, 口服1片/次, 3次/d, 餐前服用; 实验组患者在此基础上加用泌特(复方阿嗪米特肠溶片)(扬州一洋制药有限公司, 国药准字H20000232, 规格: 75 mg×20片)治疗, 口服2片/次, 3次/d, 餐后服用. 两组患者均连续治疗4 wk后观察临床疗效.

1.2.2 胃排空检查: 两组患者均于治疗结束后采用X线钡条法复查胃排空. 患者进食标准餐后口服1粒含20根钡条的胶囊, 分别于餐后2 h、5 h拍摄X线片, 拍摄前5 min口服1包产气粉[5]. 计算两组患者餐后2、5 h胃全排空率和胃总排空率. 胃全排空率 = 胃部钡条全部排出例数/总例数×100%; 胃总排空率 = 各组已排出胃内钡条总数/各组吞服钡条总数×100%.

1.2.3 疗效评价标准: 显效: 临床症状基本消失且治疗结束后2 mo内无复发; 有效: 临床症状基本消失, 治疗结束后2 mo内复发; 无效: 临床症状未改善或加重[6]. 总有效率 = (显效+有效)/总病例数×100%.

统计学处理 本研究数据均采用SPSS18.0进行统计学处理, 计量资料采用mean±SD表示, 差异性比较使用t检验, 记数资料比较使用χ^2检验, P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 两组患者临床疗效比较 实验组患者治疗显效率和总有效率均明显高于对照组, 差异具有统计学意义(P<0.05)(表2).

2.2 两组患者胃全排空率和胃总排空率比较 实验组2和5 h胃全排空率和胃总排空率均明显高于对照组, 差异具有统计学意义(P<0.05)(表3). 实验组患者治疗前及治疗后试餐后5 h胃排空X线片如图1.

3 讨论

FD临床发病率较高, 发病人群年龄分布较为广

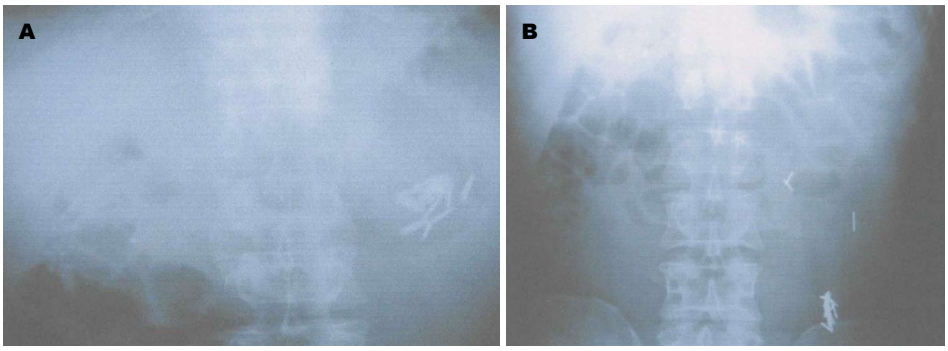


图 1 实验组患者治疗前后试参后5 h胃排空X线片. A: 治疗前; B: 治疗后.

表 1 两组患者临床资料比较 (n = 51)

分组	性别n(%)		平均年龄(岁)	平均体质量指数(kg/m^2)
	男性	女性		
实验组	28(54.90)	23(45.10)	33.82 ± 8.13	20.33 ± 4.08
对照组	27(52.94)	24(47.06)	34.57 ± 8.76	19.96 ± 4.42

表 2 两组患者临床疗效比较 [n = 51, n(%)]

分组	显效	有效	无效	总有效
实验组	30(58.82)[a]	18(35.29)	3(5.88)[a]	48(94.12)[a]
对照组	20(39.22)	16(31.37)	15(29.41)	36(70.59)

[a]P<0.05 *vs* 对照组.

表 3 两组患者胃全排空率和胃总排空率比较 [n = 51, %(n1/n)]

分组	胃全排空率		胃总排空率	
	2 h	5 h	2 h	5 h
实验组	23.53(12/51)[a]	94.12(48/51)[a]	55.00(11/20)[a]	95.00(19/20)[a]
对照组	11.76(6/51)	52.94(27/51)	30.00(6/20)	65.00(13/20)

[a]P<0.05 *vs* 对照组.

泛, 其病因及发病机制尚无明确研究结果. 相关专家指出, FD发病与胃肠动力障碍、胃底舒张功能降低、胃电活动异常、内脏感觉过敏、心理因素以及环境因素等均具有紧密联系[7].

人体胃部从解剖学上可分为近端胃和远端胃, 其中近端胃由胃底和近端1/3胃体组成, 具有独特肌电特性、神经支配特征及运动形式, 具有调节胃排空及容纳食物的重要功能[8]. 临床研究表明, 多数FD患者存在近端胃动力障碍[9]. 目前临床检测近端胃动力指标的方法较多, 其中电子恒压器法为金标准, 能够准确显示出患者近端胃的敏感性、顺应性及胃扩张容积[10]. 相关临床研究表明FD患者存在近端胃对食物的容受性舒张功能降低, 这也是导致患者产生早饱、腹胀等临床症状的主要原因. 因此, 促动力药物为首选治疗药物.

枸橼酸莫沙必利片为新型促胃肠动力药物, 能够通过刺激胃肠道胆碱能中间神经元及肌间神经丛的5-羟色胺4(5-hydroxy tryptamine 4, 5-HT4)受体兴奋增加乙酰胆碱分泌, 改善胃肠动力, 但不会对胃酸分泌, 对小肠或结肠无明显药效[11]; 泌特由胰酶、纤维素酶、阿嗪米特和二甲硅油组成, 能够较为全面的补充胰酶, 刺激胆汁分泌, 促进食物消化吸收[12]. 另外, 其对于使用

■应用要点
泌特治疗功能性消化不良疗效显著, 能够明显改善患者胃动力及胃排空情况, 是药物治疗功能性消化不良的首选.

■同行评价
本研究内容实用，虽然创新性一般，但是对临床医师有一定参考价值.

促胃动力药物治疗效果不佳的患者也有较好的疗效[13]. 本研究结果显示, 实验组患者治疗显效率和总有效率均明显高于对照组, 差异具有统计学意义(P<0.05). 表明泌特能够有效改善患者胃动力, 临床疗效显著.

胃排空障碍是FD患者胃肠动力障碍的重要表现, 其在FD患者胃运动功能评估和指导治疗上具有重要意义[14]. 目前腹部X线透视法仍为临床检查胃排空的主要方法, 与核素扫描结果十分接近, 具有操作简单、经济实惠等临床优势[15]. 本研究中实验组2 h和5 h胃全排空率和胃总排空率均明显高于对照组, 差异具有统计学意义. 表明泌特联合枸橼酸莫沙必利片在改善患者胃排空上具有确切疗效.

总之, 泌特治疗功能性消化不良疗效显著, 能够明显改善患者胃动力及胃排空情况, 是药物治疗功能性消化不良的首选.

4 参考文献

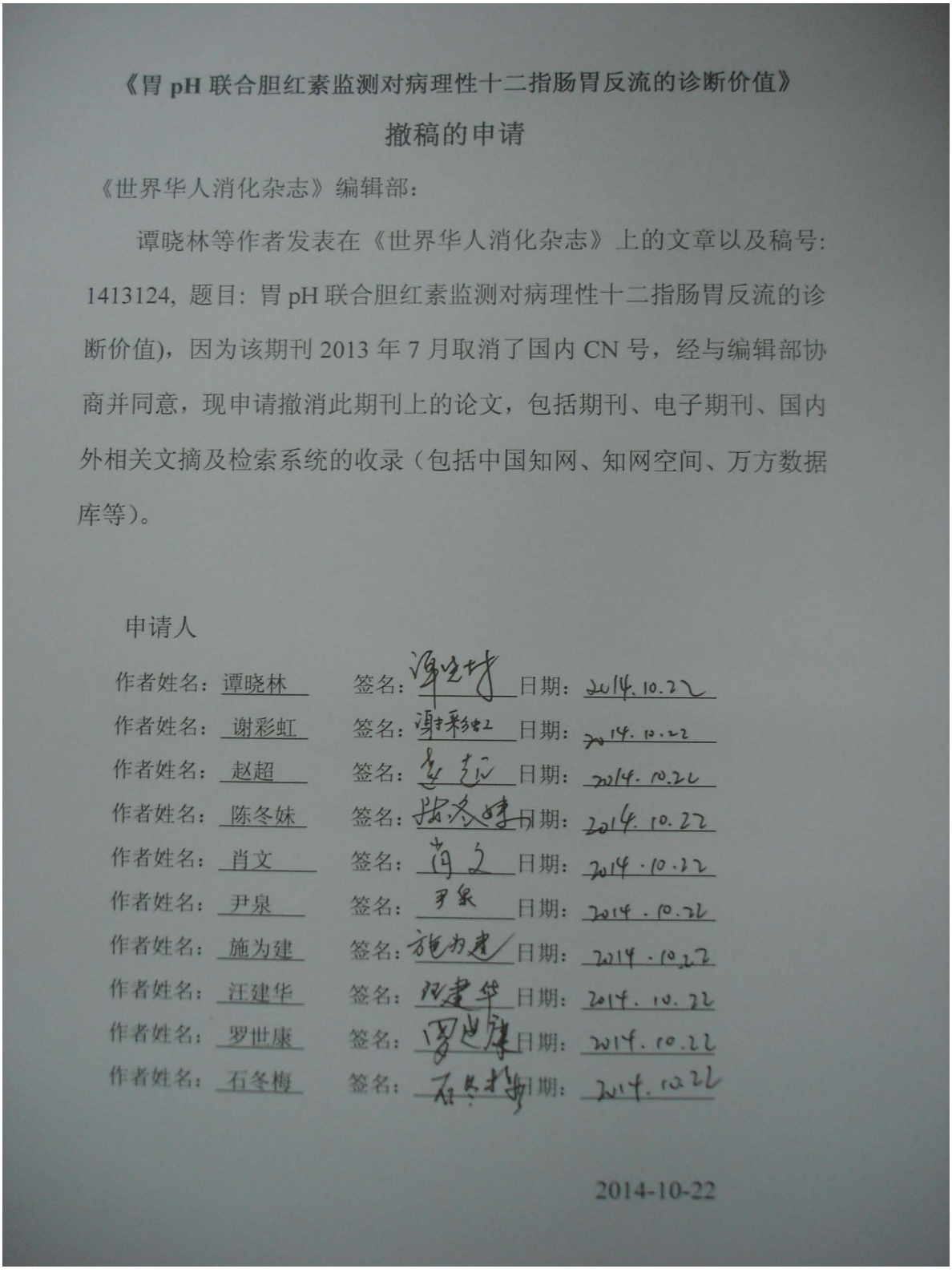
1 仝甲钊, 曲波, 王蓓蓓, 白梅. 功能性消化不良的发病机制. 世界华人消化杂志 2013; 21: 785-790
2 韩瑞, 张春晖, 范宏宇. 功能性消化不良的治疗进展. 中国现代药物应用 2011; 05: 137-138
3 侯晓华. 功能性消化不良的症状与诊断. 临床消化病杂志 2009; 21: 327-328
4 刘纯伦, 李章勇, 方晓杰, 王伟, 任超世, 潘敏. 功能性消化不良病人胃动力检测初步探讨. 中国医学物理学杂志 2008; 25: 657-659, 702
5 侯叶廷, 苏秉忠, 张占军, 陈平. 功能性消化不良与功能性便秘胃排空情况及其相互关系的研究. 现代消化及介入诊疗 2012; 17: 205-207, 211
6 Ochi M, Tominaga K, Iketani T, Kadouchi K, Tanigawa T, Shiba M, Watanabe T, Fujiwara Y, Oshitani N, Higuchi K, Kiriike N, Arakawa T. Perfectionism underlying psychological background correlated with the symptoms of functional dyspepsia. *J Gastroenterol* 2008; 43: 699-704 [PMID: 18807131 DOI: 10.1007/s00535-008-2210-9]
7 黄尧. 功能性消化不良的治疗. 亚太传统医药 2010; 06: 182-183
8 徐茜茜, 张艳丽, 姚树坤. 功能性消化不良患者近端胃适应性功能检测技术的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21: 2530-2536
9 郭文娟, 张艳丽, 姚树坤, 尹立杰, 颜珏, 李红磊. 功能性消化不良症状和近端胃功能的关系. 世界华人消化杂志 2012; 20: 1623-1629
10 Liu ML, Liang FR, Zeng F, Tang Y, Lan L, Song WZ. Cortical-limbic regions modulate depression and anxiety factors in functional dyspepsia: a PET-CT study. *Ann Nucl Med* 2012; 26: 35-40 [PMID: 21953211 DOI: 10.1007/s12149-011-0537-4]
11 房玉亮, 周磊. 复方阿嗪米特肠溶片治疗功能性消化不良疗效观察. 中华全科医学 2010; 08: 604-605
12 郝云龙. 舒肝解郁胶囊联合马来酸曲美布丁胶囊、复方阿嗪米特肠溶片治疗功能性消化不良疗效观察. 临床消化病杂志 2011; 23: 240-242
13 De la Roca-Chiapas JM, Solís-Ortiz S, Fajardo-Araujo M, Sosa M, Córdova-Fraga T, Rosa-Zarate A. Stress profile, coping style, anxiety, depression, and gastric emptying as predictors of functional dyspepsia: a case-control study. *J Psychosom Res* 2010; 68: 73-81 [PMID: 20004303 DOI: 10.1016/j.jpsychores.2009.05.013]
14 刘冰, 杨晓锋, 齐志军, 杨会芳, 冯红. 舒肝片对肝胃不和型功能性消化不良患者胃排空的影响. 河北中医药学报 2012; 27: 28-29
15 Okumura T, Tanno S, Ohhira M, Tanno S. Prevalence of functional dyspepsia in an outpatient clinic with primary care physicians in Japan. *J Gastroenterol* 2010; 45: 187-194 [PMID: 19997854 DOI: 10.1007/s00535-009-0168-x]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年4月28日; 22(12): 1713-1719
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

胃pH联合胆红素监测对病理性十二指肠胃反流的诊断价值

谭晓林, 谢彩虹, 赵 超, 陈冬妹, 肖 文, 尹 泉, 施为建, 汪建华, 罗世康, 石冬梅



《胃 pH 联合胆红素监测对病理性十二指肠胃反流的诊断价值》

撤稿的申请

《世界华人消化杂志》编辑部：

谭晓林等作者发表在《世界华人消化杂志》上的文章以及稿号：1413124，题目：胃 pH 联合胆红素监测对病理性十二指肠胃反流的诊断价值)，因为该期刊 2013 年 7 月取消了国内 CN 号，经与编辑部协商并同意，现申请撤消此期刊上的论文，包括期刊、电子期刊、国内外相关文摘及检索系统的收录（包括中国知网、知网空间、万方数据库等）。

申请人

作者姓名：谭晓林 签名：谭晓林 日期：2014.10.22

作者姓名：谢彩虹 签名：谢彩虹 日期：2014.10.22

作者姓名：赵超 签名：赵超 日期：2014.10.22

作者姓名：陈冬妹 签名：陈冬妹 日期：2014.10.22

作者姓名：肖文 签名：肖文 日期：2014.10.22

作者姓名：尹泉 签名：尹泉 日期：2014.10.22

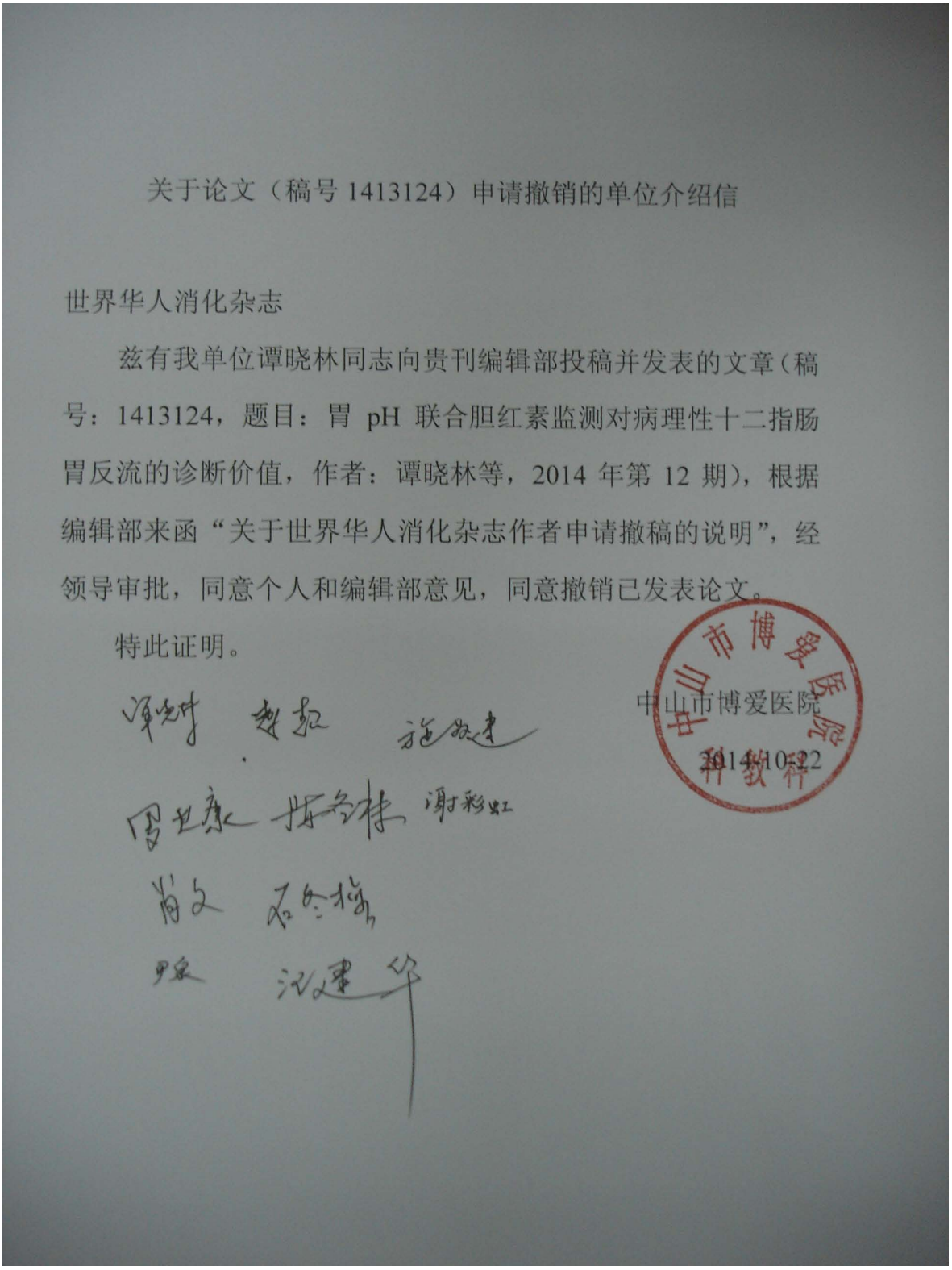
作者姓名：施为建 签名：施为建 日期：2014.10.22

作者姓名：汪建华 签名：汪建华 日期：2014.10.22

作者姓名：罗世康 签名：罗世康 日期：2014.10.22

作者姓名：石冬梅 签名：石冬梅 日期：2014.10.22

2014-10-22



关于论文（稿号 1413124）申请撤销的单位介绍信

世界华人消化杂志

兹有我单位谭晓林同志向贵刊编辑部投稿并发表的文章（稿号：1413124，题目：胃 pH 联合胆红素监测对病理性十二指肠胃反流的诊断价值，作者：谭晓林等，2014 年第 12 期），根据编辑部来函“关于世界华人消化杂志作者申请撤稿的说明”，经领导审批，同意个人和编辑部意见，同意撤销已发表论文。

特此证明。

中山市博爱医院

2014-10-22

世界华人消化杂志 2014年4月28日; 22(12): 1720-1724
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

SOX方案与XELOX方案同步放疗治疗术后复发胃癌的疗效

白 桦, 梅家转, 栗 敏, 肖 鹏

■背景资料
如何提高中老年患者胃癌术后复发的疗效, 是困扰临床医生的难题, 循证医学证据表明同步放化疗可以提高其生存率, 我们进行了一项临床试验评价替吉奥/奥沙利铂(gimeracil and oteracil potassium capsules/oxaliplatin, S-1/L-OHP, SOX)方案与卡培他滨/奥沙利铂(capecitabine/oxaliplatin, CAP/L-OHP, XELOX)方案同步放疗在中老年晚期复发胃癌的临床疗效和安全性, 为中老年胃癌术后复发选择合理的治疗方案提供参考.

白桦, 梅家转, 栗敏, 肖鹏, 南方医科大学附属郑州人民医院肿瘤科 河南省郑州市 450003
白桦, 主治医师, 主要从事消化系肿瘤综合治疗的研究.
郑州市科技攻关基金资助项目, No. 20120803
作者贡献分布: 白桦、梅家转、栗敏及肖鹏共同负责临床资料的收集与试验的实施; 数据分析与论文撰写由白桦与梅家转共同完成; 审校由梅家转完成.
通讯作者: 梅家转, 主任医师, 450003, 河南省郑州市黄河路33号, 南方医科大学附属郑州人民医院肿瘤科.
zzrmyyzlkzr@126.com
电话: 0371-67077276
收稿日期: 2013-12-12 修回日期: 2014-01-23
接受日期: 2014-02-18 在线出版日期: 2014-04-28

Efficacy of SOX regimen versus XELOX regimen in concurrent chemoradiotherapy for postoperative recurrent gastric carcinoma

Hua Bai, Jia-Zhuan Mei, Min Li, Peng Xiao

Hua Bai, Jia-Zhuan Mei, Min Li, Peng Xiao, Department of Oncology, the People's Hospital Affiliated to Southern Medical University, Zhengzhou 450003, Henan Province, China
Supported by: the Medical Science and Technology Foundation of Zhengzhou City, No. 20120803
Correspondence to: Jia-Zhuan Mei, Chief Physician, the People's Hospital Affiliated to Southern Medical University, Zhengzhou 450003, HenanProvince, China. zzrmyyzlkzr@126.com
Received: 2013-12-12 Revised: 2014-01-23
Accepted: 2014-02-18 Published online: 2014-04-28

Abstract

AIM: To evaluate the efficacy and safety of SOX regimen (S-1 + L-OHP) versus XELOX regimen (capecitabine + L-OHP) in concurrent chemoradiotherapy for postoperative recurrent gastric carcinoma.

METHODS: Sixty-six elderly patients with postoperative recurrent gastric cancer were randomly divided into two groups: an SOX group (n = 34) and a XELOX group (n = 32). The SOX group received oral S-1 (< 1.25 m^2, 40 mg; 1.25-1.5 m^2, 50 mg; > 1.5 m^2, 60 mg), twice daily, d1-14; L-OHP (85 mg/m^2, d1); and three-dimensional conformal radiation (1.8 Gy/d, 5 d/wk and the total dose was 45 Gy). The XELOX group was treated with capecitabine (2000 mg/m^2, separated to twice, d1-14), plus the same regimen of radiation and L-OHP as those in the SOX group. Each cycle lasted three weeks. The efficacy and toxicity were evaluated after two cycles of treatment.

RESULTS: The efficacy and toxicity could be evaluated in 66 cases. There were no significant differences in the overall response rate (55.9% *vs* 46.9%), median time to progression (TTP) (6.3 mo *vs* 5.8 mo) or median overall survival (OS) (12.8 mo *vs* 12.2 mo) (P > 0.05) between the two groups. The most common toxicities in the two groups were neutropenia, thrombopenia, nausea, vomiting and diarrhea, all of which could be tolerated. However, the incidence of hand-foot syndrome was significantly higher in the SOX group than in the XELOX group (P < 0.05).

CONCLUSION: The efficacy of chemoradiotherapy based on the SOX regimen for postoperative recurrent gastric carcinoma is better than that of concurrent chemoradiotherapy based on the XELOX regimen in terms of well-tolerated toxicity.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Gastric carcinoma; Oxaliplatin; S-1; Capecitabine; Concurrent radiotherapy

Bai H, Mei JZ, Li M, Xiao P. Efficacy of SOX regimen versus XELOX regimen in concurrent chemoradiotherapy for postoperative recurrent gastric carcinoma. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(12): 1720-1724 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1720.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i12.1720

摘要

目的: 观察同步放疗联合替吉奥/奥沙利铂(gimeracil and oteracil potassium capsules/oxaliplatin, S-1/L-OHP, SOX)方案与卡培他滨/奥沙利铂(capecitabine/oxaliplatin, CAP/L-OHP, XELOX)方案治疗术后复发老年胃癌的安全性和疗效.

方法: 66例老年胃癌术后复发患者, 随机分

■同行评议者
刘占举, 教授, 同济大学附属上海市第十人民医院

为2组, SOX组34例, 给予替吉奥(<1.25 m^2, 40 mg; 1.25-1.5 m^2, 50 mg; >1.5 m^2, 60 mg), 早晚2次, 口服, d1-14; 奥沙利铂85 mg/m^2, d1; 三维适应放疗45 Gy(1.8 Gy/d, 5 d/wk); XELOX组32例: 卡培他滨(2000 mg/m^2, 早晚2次, 口服, d1-14), 奥沙利铂和放疗方案同SOX组, 21 d为1周期, 2周期后, 评价疗效和不良反应.

结果: SOX组和XELOX组总有效率(overall response rate, ORR)分别为55.9%和46.9%, 疾病控制率(disease control rate, DCR)分别82.4%和68.8%, 中位进展时间分别为6.3、5.8 mo, 中位生存时间分别为12.8、12.2 mo, 差异均无统计学差异(P>0.05). 两组主要不良反应为中性粒细胞减少、血小板减少等, 差异无统计学意义(P>0.05), XELOX组手足综合征发生率高于SOX组, 差异有统计学意义(P<0.05).

结论: 两组疗效相似, 但SOX方案同步三维适形放疗耐受性优于XELOX方案同步三维适形放疗, 手足综合征发生率较低, 值得进一步临床研究推广.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 胃癌; 奥沙利铂; 替吉奥; 卡培他滨; 同步放疗

核心提示: 我们评价了替吉奥/奥沙利铂(gimeracil and oteracil potassium capsules/oxaliplatin, S-1/L-OHP, SOX)方案与卡培他滨/奥沙利铂(capecitabine/oxaliplatin)方案同步放疗治疗中老年胃癌术后复发的临床疗效和安全性, 结果表明两组临床疗效相似, 但SOX方案组手足综合征发生率较低, 耐受性更好, 可以作为老年局部复发晚期胃癌的一种有效治疗方案.

白桦, 梅家转, 栗敏, 肖鹏. SOX方案与XELOX方案同步放疗治疗术后复发胃癌的疗效. 世界华人消化杂志 2014; 22(12): 1720-1724
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1720.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i12.1720

0 引言

胃癌是最常见的恶性肿瘤之一, 世界范围内, 发病率居男性第4位, 女性第5位, 我国胃癌发病率为33.14/10万, 世界人口标化率为23.09/10万, 居恶性肿瘤第2位, 死亡率为23.34/10万, 世界人口标化率为16.39/10万, 居恶性肿瘤死因第3位, 男性高于女性, 且胃癌死亡率随着年龄增长为上升, 65岁组以上发病率更高[1,2], 手术为主的综合治疗成为推荐的治疗模式之一, 5年生存率为20%-25%, 术后复发是死亡的主要原因, 循证医学证据表明, 术后放化疗可以进一步提高生存率[3,4]. 对于胃癌术后复发的老年患者, 考虑到特殊体质, 耐受性较差, 同步放化疗有利于提高局部控制率, 延长生存期. 我科采用奥沙利铂(oxaliplatin, L-OHP)联合替吉奥(gimeracil and oteracil potassium capsules, S-1)或卡培他滨(capecitabine, CAP)同步三维适形放疗方案治疗治疗66例胃癌术后复发患者, 取得较好的临床疗效, 现将临床结果报道如下, 为临床选择有效、安全的辅助治疗方案治疗胃癌术后复发的老年患者提供指导.

■研发前沿
中老年患者胃癌术后复发的辅助治疗是胃癌临床研究的热点, 辅助化疗与辅助放化疗孰优孰劣还没有定论, 临床治疗中在注重疗效的同时, 更需要考虑治疗耐受性和患者的依从性, 如何选择最佳的化疗方案, 尤其是适合中老年患者的化疗方案以及联合放疗的时间选择和剂量选择等等, 都亟待得到更多的循证医学证据支持.

1 材料和方法

1.1 材料 选择2008-06/2011-08我科收治66例的胃癌术后复发患者, 全部行全胃或胃次全切除并D2淋巴结清扫术; 男性36例, 女性32例; 年龄60-78岁, 中位年龄70岁; 高分化腺癌12例, 中分化腺癌16例, 低分化腺癌28例, 黏液腺癌8例, 印戒细胞癌2例; 既往术前未接受化疗和/或放疗, 术后接受化疗2到6周期, 但均未使用过奥沙利铂、卡培他滨和替吉奥, 与本试验间隔时间>1 mo, 治疗前均经组织病理学和CT(computed tomography, CT)、磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)等检查证实至少有一个可测量的复发或转移病灶, 临床分期均为Ⅲ/Ⅳ期. Karnofsky评分>70分, 预计生存期≥3 mo, 心、肝、肾、肺等重要器官功能基本正常, 排除放化疗禁忌症, 无外周神经疾病; 采用双盲操作, 按临床试验随机对照原则, 分为SOX方案(替吉奥, 规格20 mg, 批号: H20080803, 山东新时代药业有限公/奥沙利铂, 规格50 mg, 批号: H20000337, 江苏恒瑞医药股份有限公司)组34例和XELOX方案(卡培他滨, 规格0.5 g, 批号: H2007302, 上海罗氏制药有限公司/奥沙利铂, 规格50 mg, 批号: H20000337, 江苏恒瑞医药股份有限公司)组32例, 两组患者临床资料间无显著性差异. 治疗前签知情同意书和放化疗知情同意书.

1.2 方法

1.2.1 治疗: SOX组给予奥沙利铂联合替吉奥同步三维适形放疗, 奥沙利铂, 85 mg/m^2, d1; 替吉奥根据体表面积给药40-60 mg(<1.25 m^2, 40 mg; 1.25-1.5 m^2, 50 mg; >1.5 m^2, 60 mg), 早晚口服, d1-14, 停药7 d, 21 d重复; 三维适形放疗, 增强CT模拟定位, 明确病灶, 由放疗科、影像科及物理师共同勾画靶区, 靶体积(clinical target

■相关报道
循证医学证据表明, SOX方案与XELOX方案在胃癌中显示出较好的临床疗效, 樊翠珍等研究表明奥沙利铂/卡培他滨与奥沙利铂/S-1方案治疗进展期胃癌的疗效相当, 不良反应均可耐受. 刘芳等研究表明三维适形放疗联合卡培他滨/奥沙利铂方案治疗老年胃癌能降低局部复发率,延长生存期,可作为老年胃癌术后的一种有效治疗方法. 我们研究表明SOX方案联合三维适形放疗组手足综合征发生率较低, 更易被老年患者耐受, 且经济费用相对低廉, 可以作为中老年胃癌术后复发的一种有效治疗方案.

表 1 两组主要不良反应比较 (n)

不良反应	XELOX组	SOX组	χ^2	*P*值
白细胞减少			0.106	0.745
Ⅰ-Ⅱ度	19	17		
Ⅲ-Ⅳ度	2	4		
血小板减少			0.030	0.862
Ⅰ-Ⅱ度	8	9		
Ⅲ-Ⅳ度	3	2		
恶心呕吐			0.229	0.632
Ⅰ-Ⅱ度	15	13		
Ⅲ-Ⅳ度	1	2		
手足综合征			10.616	0.001
Ⅰ-Ⅱ度	15	5		
Ⅲ-Ⅳ度	3	1		
腹泻			0.186	0.666
Ⅰ-Ⅱ度	7	6		
Ⅲ-Ⅳ度	0	0		
肝功能异常			0.194	0.660
Ⅰ-Ⅱ度	6	5		
Ⅲ-Ⅳ度	0	0		

SOX: 替吉奥/奥沙利铂; XELOX: 卡培他滨/奥沙利铂.

volume, CTV)包括吻合口和淋巴结引流区, 在CTV基础上外放0.5-0.8 cm为计划靶体积(planning target volume, PTV), 95%等剂量曲线包括PTV, 同时注意保护器官, 经三维重建, 以PTV几何中心为照射野中心, 应用西门子直线加速器6MV-X线照射, 1.8 Gy/次, 1次/d, 5次/wk 总剂量45 Gy. XELOX组: 给予卡培他滨: 2000 mg/(m^2•d)早晚2次, 口服, 14 d, 停药7 d, 21 d重复]. 奥沙利铂和三维适形放疗方案同SOX组. 治疗期间常规应用保胃、保肝、止吐等支持治疗, 骨髓抑制着者给予人粒细胞集落自己因子注射, 出现手足综合征给予口服维生素B_6、涂抹凡士林软膏, 腹泻较严重者给予思密达、易蒙停等对症治疗, 必要时延迟放化疗, 或适当减量, 疾病进展、患者拒绝、出现严重不良反应等不适合继续治疗则终止治疗, 2周期后评价疗效, 有效及稳定者继续SOX方案或XELOX方案化疗, 最多接受6个周期, 采用电话随访至2013-07, 每月随访1次.

1.2.2 观测指标: 疗效及不良反应评定标准: 按照WHO实体瘤客观评价标准, 分为完全缓解(complete response, CR)、部分缓解(partial response, PR)、稳定(stable disease, SD)和进展(progressive disease, PD). 以CR+PR计算总有效率(overall response rate, ORR). 根据NCI-CTC2.0标准评价治疗不良反应. 总生存时间(overall survival, OS)为从本方案治疗的开始日期至死亡或末次随诊的时间, 疾病进展时间(time to progression, TTP)为从本方案治疗的开始日期至客观证据表明疾病进展的时间.

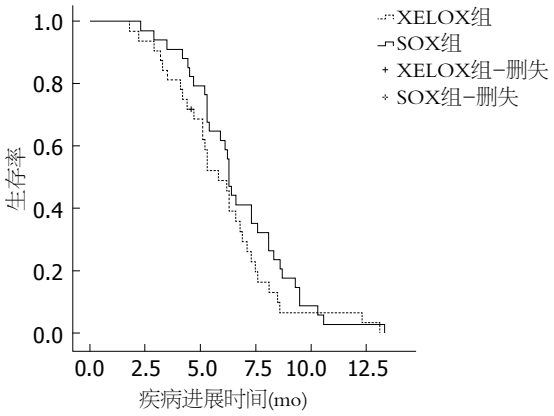


图 1 两组TTP的比较. SOX: 替吉奥/奥沙利铂; XELOX: 卡培他滨/奥沙利铂.

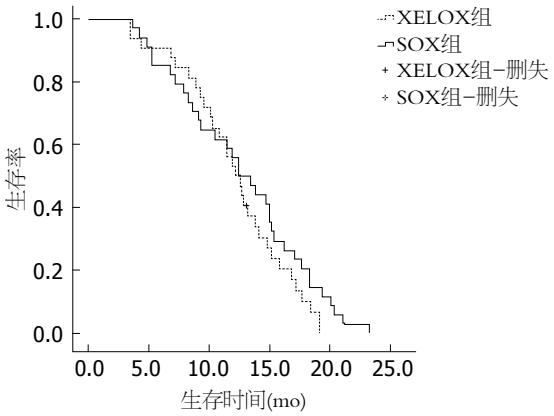


图 2 两组OS的比较. SOX: 替吉奥/奥沙利铂; XELOX: 卡培他滨/奥沙利铂.

统计学处理 所有试验数据采用SPSS17.0版软件进行统计学分析, 组间差异比较采用χ^2检验, 总体生存率采用Kaplan-Meier分析, 化疗反应的等级资料采用非参数秩和检验, 检验水准$\alpha = 0.05$. $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 治疗依从性 66例患者均完成同步放化疗后又给予原化疗方案(SOX方案和XELOX方案)继续化疗1-5周期, 中位疗程为3个周期, 期间出现的不良反应经对症处理均可恢复或好转, 依从性较好, 并收集完整的临床资料进行相关评估.

2.2 近期疗效 66例均可评价疗效, SOX组CR 2例,

PR 17例, SD 9例, PD 6例, XELOX组CR 1例, PR 14例, SD 7例, PD 10例, 两组总有效率(CR+PR)分别为55.9%和46.9%, 疾病控制率(CR+PR+SD)分别82.4%和68.8%, 但差异均无统计学差异(P>0.05).

2.3 不良反应 两组患者均未出现治疗相关性死亡, 未见因严重不良反应而停药者, 两组共有常见的不良反应主要为中性粒细胞减少、血小板减少、恶心呕吐、乏力, 以Ⅰ-Ⅱ度为主, 差异无统计学意义(P>0.05), XELOX组手足综合征的发生率高于试验组, 差异有统计学意义(P<0.05)(表1).

2.4 远期疗效 SOX组无失访病例, XELOX组1例失访, 平均随访时间12.6 mo, XELOX组、SOX组组中位TTP分别为5.8 mo(95%CI: 4.8-6.8 mo)、6.3 mo(95%CI: 6.0-6.6 mo), 中位OS分别为12.8 mo(95%CI: 10.9-14.6 mo)、12.2 mo(95%CI: 10.6-13.7 mo), 采用Log-rank检验对TTP和OS曲线进行分析, χ^2分别为1.655和1.394(P>0.05), 差异均无统计学意义(图1, 2).

3 讨论

目前, 对于可切除的胃癌, D2根治性切除术成为推荐标准术式, 但术后复发后的挽救治疗, 还没有公认的标准方案之一, 基于美国INT0116试验, 肯定了氟尿嘧啶/亚叶酸钙方案联合放疗在胃癌术后辅助治疗中的价值[4], 而英国MAGIC试验表明ECF方案[表阿霉素(epirubicin)+顺铂(cisplatin)+氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-FU)]化疗方案在胃癌围手术期化疗中的地临床获益[5], 基于日本ACTS-GC试验(adjuvant chemotherapy trial of S-1 for gastric cancer, ASTS-GC)和韩国CLASSIC临床试验结果, 胃癌D2根治性术后, 替吉奥或卡培他滨/奥沙利铂方案辅助化疗成为推荐的治疗模式[6-14].

替吉奥是二代5-FU类药物, 由替加氟、吉美嘧啶和奥替拉西钾组成的复方制剂, 生物利用度高, 并能降低5-FU引起的消化系不良反应[10]. 卡培他滨是一种新型靶向口服药物, 能在肿瘤组织内转化为氟尿嘧啶发挥抗肿瘤作用. 替吉奥和卡培他滨作为氟尿嘧啶的替代剂型, 在胃癌辅助治疗中, 临床疗效确切, 且给药更方便, 值得临床进一步研究[8,14]. Bang等[9]研究一项前瞻、多中心、随机、对照的III期临床试验, 入组Ⅱ/III期胃癌1035例, 行D2根治性切除术后, 随机分为两组, 试验组给予卡培他滨/奥沙利铂方案化疗, 对照组观察, 两组中位随访时间分别为34.2 mo、34.3 mo, 3年DFS分别为74%和59%, 不良反应主要为恶心、中性粒细胞减少和食欲下降, 可以耐受, 表明对于胃癌D2根治性切除术后, 卡培他滨/奥沙利铂方案化疗是合理的选择. ACTS-GC试验长期随访结果显示, 相对于单纯手术组, 术后S-1辅助化疗组, 5年总生存率分别为71.1%、61.1%, 5年无复发生存率分别为65.4%和53.1%, 结果表明, S-1辅助化疗延长了Ⅱ/III期胃癌D2根治性术后的OS和RFS[11], 与Tatebe等[12]报道相似. 樊翠珍等[13]研究表明奥沙利铂/卡培他滨与奥沙利铂/S-1方案治疗进展期胃癌的疗效相当, 不良反应均可耐受. 刘芳等[15]研究也表明三维适形放疗联合卡培他滨/奥沙利铂方案治疗老年胃癌能降低局部复发率, 延长生存期, 可作为老年胃癌术后的一种有效治疗方法.

我们进一步研究评价SOX方案对比XELOX方案同步三维适形放疗治疗老年胃癌术后复发的疗效及其不良反应, 结果表明两组总有效率分别为55.9%和46.9%, 中位TTP分别为6.3 mo和5.8 mo, 中位OS分别为12.8 mo和12.2 mo, 尽管无统计学意义(P>0.05), 但也有一定的延长, 且XELOX组手足综合征发生率显著高于SOX组, 差异有统计学意义(P<0.05), 其他不良反应发生率无统计学意义.

总之, SOX方案联合放疗与XELOX方案联合放疗治疗老年胃癌术后复发, 临床疗效相似, 尽管没有统计学意义, 但也有一定的延长, 且安全性更高, 更易被老年患者耐受, 可以作为中老年直胃癌的一种有效治疗方案, 另外, 本试验由于样本量小、随访时间较短, 以及如何优放疗与化疗组合的方案等, 因此, 需要扩大样本, 进一步探究更有效、安全的辅助治疗方案, 不断提高术后复发老年胃癌患者的生活质量, 延长生存期.

■创新盘点

我们研究主要评价SOX方案与XELOX方案联合放疗治疗中老年复发晚期胃癌的临床疗效及其不良反应, 结果表明两组疗效相似, 但SOX方案组手足综合征发生率较低, 易被老年患者耐受, 且经济费用相对低廉, 可以作为老年复发晚期胃癌的一种有效治疗方案.

4 参考文献

1 邹小农, 孙喜斌, 陈万青, 郑荣寿, 张思维, 代珍, 刘卫东, 赵德利. 2003-2007年中国胃癌发病与死亡情况分析. 肿瘤 2012; 32: 109-114

2 Guggenheim DE, Shah MA. Gastric cancer epidemiology and risk factors. *J Surg Oncol* 2013; 107: 230-236 [PMID: 23129495 DOI: 10.1002/jso.23262]

3 Meyer HJ, Wilke H. Treatment strategies in gastric cancer. *Dtsch Arztebl Int* 2011; 108: 698-705; quiz 706 [PMID: 22114638 DOI: 10.3238/arztebl.2011.0698]

4 Macdonald JS, Smalley SR, Benedetti J, Hundahl

■同行评价

本文主要评价SOX方案与XELOX方案同步三维适形放疗治疗中老年复发胃癌的临床疗效和安全性, 结果表明两组疗效相似, 但SOX方案组手足综合征发生率较低, 耐受性更好, 为中老年复发胃癌术后复发的临床治疗提供参考.

SA, Estes NC, Stemmermann GN, Haller DG, Ajani JA, Gunderson LL, Jessup JM, Martenson JA. Chemoradiotherapy after surgery compared with surgery alone for adenocarcinoma of the stomach or gastroesophageal junction. *N Engl J Med* 2001; 345: 725-730 [PMID: 11547741 DOI: 10.1056/NEJMoa010187]

5 Cunningham D, Allum WH, Stenning SP, Thompson JN, Van de Velde CJ, Nicolson M, Scarffe JH, Lofts FJ, Falk SJ, Iveson TJ, Smith DB, Langley RE, Verma M, Weeden S, Chua YJ. Perioperative chemotherapy versus surgery alone for resectable gastroesophageal cancer. *N Engl J Med* 2006; 355: 11-20 [PMID: 16822992 DOI: 10.1056/NEJMoa055531]

6 Knight G, Earle CC, Cosby R, Coburn N, Youssef Y, Malthaner R, Wong RK. Neoadjuvant or adjuvant therapy for resectable gastric cancer: a systematic review and practice guideline for North America. *Gastric Cancer* 2013; 16: 28-40 [PMID: 22467061 DOI: 10.1007/s10120-012-0148-3]

7 Taketa T, Sudo K, Wadhawa R, Blum MM, Ajani JA. Adjuvant therapy in gastric cancer: what is the optimal approach? *Curr Oncol Rep* 2013; 15: 146-151 [PMID: 23355076 DOI: 10.1007/s11912-013-0298-4]

8 Park SC, Chun HJ. Chemotherapy for advanced gastric cancer: review and update of current practices. *Gut Liver* 2013; 7: 385-393 [PMID: 23898376 DOI: 10.5009/gnl.2013.7.4.385]

9 Bang YJ, Kim YW, Yang HK, Chung HC, Park YK, Lee KH, Lee KW, Kim YH, Noh SI, Cho JY, Mok YJ, Kim YH, Ji J, Yeh TS, Button P, Sirzén F, Noh SH. Adjuvant capecitabine and oxaliplatin for gastric cancer after D2 gastrectomy (CLASSIC): a phase 3 open-label, randomised controlled trial. *Lancet* 2012; 379: 315-321 [PMID: 22226517 DOI: 10.1016/S0140-6736(11)61873-4]

10 Miura K, Shirasaka T, Yamaue H, Sasaki I. S-1 as a core anticancer fluoropyrimidine agent. *Expert Opin Drug Deliv* 2012; 9: 273-286 [PMID: 22235991 DOI: 10.1517/17425247.2012.652945]

11 Sasako M, Sakuramoto S, Katai H, Kinoshita T, Furukawa H, Yamaguchi T, Nashimoto A, Fujii M, Nakajima T, Ohashi Y. Five-year outcomes of a randomized phase III trial comparing adjuvant chemotherapy with S-1 versus surgery alone in stage II or III gastric cancer. *J Clin Oncol* 2011; 29: 4387-4393 [PMID: 22010012 DOI: 10.1200/JCO.2011.36.5908]

12 Tatebe S, Tsujitani S, Nakamura S, Shimizu T, Yamane N, Nishidoi H, Kurisu Y, Kanayama H, Ogawa H, Ikeguchi M. Feasibility study of alternate-day S-1 as adjuvant chemotherapy for gastric cancer: a randomized controlled trial. *Gastric Cancer* 2013 Aug 15. *[Epub ahead of print]*[PMID: 23948997 DOI: 10.1007/s10120-013-0289-z]

13 江志敏, 魏莹, 张媛冬, 周思维, 杨琼, 谢德荣. 间接比较亚裔人群Ⅱ-Ⅲ期胃癌D2根治术后的辅助化疗方案. 中华胃肠外科杂志 2013; 16: 534-537

14 樊翠珍, 初玉平, 戴红. 卡培他滨联合奥沙利铂与替吉奥联合奥沙利铂治疗进展期胃癌的对比研究. 临床肿瘤学杂志 2011; 16: 725-727

15 刘芳. 老年胃癌患者术后三维适形放疗同步XELOX方案化疗的临床疗效. 中国老年学杂志 2012; 32: 1396-1398

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年4月28日; 22(12): 1725-1729
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

不同临床分型对肝肾综合征患者病情及预后评估的价值

景照峰, 刘 剑, 胡 蓉, 晏家华, 罗 敏

景照峰, 刘剑, 胡蓉, 晏家华, 罗敏, 贵州省六盘水市人民医院 贵州省六盘水市 553001
景照峰, 副主任医师, 主要从事内科的相关研究.
作者贡献分布: 此课题由刘剑设计; 研究过程由景照峰与刘剑完成; 数据分析由胡蓉、晏家华及罗敏完成; 写作由景照峰、刘剑、胡蓉、晏家华及罗敏共同完成.
通讯作者: 景照峰, 副主任医师, 553001, 贵州省六盘水市钟山西路56号, 贵州省六盘水市人民医院. 4962482@qq.com
收稿日期: 2014-01-20 修回日期: 2014-03-15
接受日期: 2014-03-19 在线出版日期: 2014-04-28

Liver and kidney function and complications in patients with different types of hepatorenal syndrome

Zhao-Feng Jing, Jian Liu, Rong Hu, Jia-Hua Yan, Min Luo

Zhao-Feng Jing, Jian Liu, Rong Hu, Jia-Hua Yan, Min Luo, Department of Urology, Liupanshui People's Hospital, Liupanshui 553001, Guizhou Province, China
Correspondence to: Zhao-Feng Jing, Associate Chief Physician, Department of Urology, Liupanshui People's Hospital, 56 Zhongshan West Road, Liupanshui 553001, Guizhou Province, China. 4962482@qq.com
Received: 2014-01-20 Revised: 2014-03-15
Accepted: 2014-03-19 Published online: 2014-04-28

Abstract

AIM: To explore the liver and kidney function and complications in patients with hepatorenal syndrome (HRS) of different types.

METHODS: Ninety-six patients with HRS were randomly divided into either a type Ⅰ HRS group (n = 63) or a type Ⅱ HRS group (n = 63). All of them received routine treatment. The INR, SCr, TBil, Alb, Child-Pugh classes, MELD scores and complications were compared between the two groups.

RESULTS: The levels of SCr and TBil in the type Ⅰ HRS group were higher than those in the type Ⅱ HRS group (448.08 mmol/L ± 180.33 mmol/L *vs* 159.94 mmol/L ± 28.16 mmol/L, 262.80 mmol/L ± 159.08 mmol/L *vs* 125.04 mmol/L ± 76.43 mmol/L, P < 0.05 for both). There were no significant differences in the levels of INR and Alb (2.09 g/L ± 0.68 g/L *vs* 1.73 g/L ± 0.45 g/L, 26.72 g/L ± 4.73 g/L *vs* 23.99 g/L ± 9.89 g/L, P > 0.05 for both) or Child-Pugh classes (0.00% *vs* 0.00%, 18.18% *vs* 25.40%, 81.82% *vs* 74.60%, P > 0.05 for all). As to MELD scores, the percentage of cases with a MELD score between 10-19 was significantly lower in the type Ⅰ HRS group than in the type Ⅱ HRS group (6.06% *vs* 57.14%, P < 0.05), but the percentages of cases with a MELD score between 30-39 and > 40 were significantly higher in the type Ⅰ HRS group than in the type Ⅱ HRS group (39.39% *vs* 3.17%, 12.12% *vs* 0.00%, P < 0.05 for both). The rates of ascites and infection in the type Ⅰ HRS group were higher than those in the type Ⅱ HRS group (78.79% *vs* 53.97%, 75.76% *vs* 42.86%, P < 0.05), although there were no significant differences in the rates of digestive tract hemorrhage and hepatic encephalopathy (21.21% *vs* 39.68%, 72.73% *vs* 57.14%, P > 0.05 for both).

CONCLUSION: Child-Pugh class, MELD score and indexes of liver function can be used to assess the condition and prognosis of patients with hepatorenal syndrome. The survival rate can be improved by reasonable treatment and efficient prevention of complications.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Clinical typing; Hepatorenal syndrome; Liver and kidney function; Complications

Jing ZF, Liu J, Hu R, Yan JH, Luo M. Liver and kidney function and complications in patients with different types of hepatorenal syndrome. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(12): 1725-1729 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1725.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i12.1725

摘要

目的: 探讨不同临床分型肝肾综合征(hepatorenal syndrome, HRS)患者肝肾功能及并发症情况.

方法: 按照临床分型将我院收治的96例HRS患者分为Ⅰ型HRS组33例和Ⅱ型HRS组63例, 两组患者均给予常规综合治疗, 比较两

■背景资料
肝肾综合征(hepatorenal syndrome, HRS)是在严重肝疾病基础上发生的肾功能衰竭, 患者肾脏无器质性病变, 临床主要表现为血肌酐升高、氮质血症以及尿量异常减少等. HRS临床分型为Ⅰ型HRS和Ⅱ型HRS, 二者预后效果均较差, 患者生存期较短、死亡率较高. 目前临床上对HRS发病机制尚无完全研究结果, 也无特异性治疗药物, 临床治疗仍以保肝、利尿、抗感染、营养支持等常规综合治疗为主.

■同行评议者
陈红松, 研究员, 北京大学人民医院肝病研究所

■研发前沿
临床研究表明，肝硬化患者可发生心肌收缩力下降、电生理紊乱或心腔扩大等病理改变，这些因素可能是HRS发病的重要影响因素，这也是HRS流行病学特征与肝硬化十分相似的原因.

组患者肝功能相关指标[国际标准化比值(international normalized ratio, INR)、血肌酐(serum creatinine, SCr)、总胆红素(total bilirubin, TBil)、白蛋白(albumin, Alb)]、Child-Pugh分级、MELD评分及并发症情况.

结果: Ⅰ型HRS组患者SCr和TBil水平均明显高于Ⅱ型HRS组(448.08 mmol/L±180.33 mmol/L *vs* 159.94 mmol/L±28.16 mmol/L)、(262.80 mmol/L±159.08 mmol/L *vs* 125.04 mmol/L±76.43 mmol/L), 差异具有统计学意义(P<0.05); 两组患者INR和Alb水平比较(2.09 g/L±0.68 g/L *vs* 1.73 g/L±0.45 g/L)、(26.72 g/L±4.73 g/L *vs* 23.99 g/L±9.89g/L), 差异无统计学意义(P>0.05); 两组患者Child-Pugh分级情况比较(0.00% *vs* 0.00%、18.18% *vs* 25.40%、81.82% *vs* 74.60%), 差异无统计学意义(P>0.05); Ⅰ型HRS组10-19分患者数量明显低于Ⅱ型HRS组(6.06% *vs* 57.14%), 30-39分和>40分患者数量明显高于Ⅱ型HRS组(39.39% *vs* 3.17%、12.12% *vs* 0.00%), 差异具有统计学意义(P<0.05); Ⅰ型HRS组患者腹水和感染发生率均明显高于Ⅱ型HRS组(78.79% *vs* 53.97%、75.76% *vs* 42.86%), 差异具有统计学意义(P<0.05); 两组患者消化道出血和肝性脑病发生率比较(21.21% *vs* 39.68%、72.73% *vs* 57.14%), 差异无统计学意义(P>0.05).

结论: Child-Pugh、MELD评分以及肝功能指标检测对患者病情及预后进行联合评估, 合理调整治疗方案, 采取有效预防措施, 防止并发症发生, 以提高患者生存率.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 临床分型; 肝肾综合征; 肝肾功能; 并发症

核心提示: 本研究中Ⅰ型肝肾综合征(hepatorenal syndrome, HRS)患者和Ⅱ型HRS患者在Child-Pugh分级分布上无明显差异, 而在MELD评分分布上Ⅰ型HRS组10-19分患者数量明显低于Ⅱ型HRS组, 30-39分和>40分患者数量明显高于Ⅱ型HRS组, 差异具有统计学意义, 与相关研究报道相符. 目前不能够对两种评分方法的优劣做出明确比较, 总体来看Ⅱ型HRS患者评分情况优于Ⅰ型HRS, 表明其在预后效果上较Ⅰ型HRS稍好. 临床上需结合两种评分结果对患者病情及预后进行评估, 合理调整治疗方案以提高患者生存率.

景照峰, 刘剑, 胡蓉, 晏家华, 罗敏. 不同临床分型对肝肾综合征患者病情及预后评估的价值. 世界华人消化杂志 2014; 22(12): 1725-1729 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1725.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i12.1725

0 引言

肝肾综合征(hepatorenal syndrome, HRS)是在严重肝疾病基础上发生的肾功能衰竭, 患者肾脏无器质性病变, 临床主要表现为血肌酐(serum creatinine, SCr)升高、氮质血症以及尿量异常减少等[1]. HRS临床分型为Ⅰ型HRS和Ⅱ型HRS, 二者预后效果均较差, 患者生存期较短、死亡率较高[2]. 本研究旨在分析HRS患者的肝肾功能及并发症情况, 对进一步诊治不同临床分型的HRS患者提供参考, 报道如下.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2010-10/2013-10我院收治的96例HRS患者作为研究对象. 所有患者均符合2010年欧洲肝脏研究协会制定的《肝硬化腹水、自发性细菌性腹膜炎、肝肾综合征临床实践指南》[3]中HRS相关诊断标准, 且经常规检查和实验室检查确诊. 按照患者临床分型将96例患者分为Ⅰ型HRS组33例和Ⅱ型HRS组63例, 两组患者在性别、年龄、肝病病程及生存情况等上差异无统计学意义(P>0.05)(表1), 具有可比性.

1.2 方法

1.2.1 治疗: 两组患者均给予常规综合治疗, 包括肝硬化及重症肝炎对症治疗、抗感染治疗、营养支持治疗、纠正水电解质及酸碱平衡治疗、利尿治疗以及血管活性药物(奥曲肽、特利加压素等)治疗等. 注意忌用非甾体类抗炎药或造影剂等肾毒性药物[4], 利尿剂谨慎使用, 预防利尿过度. 发生自发性细菌性腹膜炎者使用高效抗生素和白蛋白治疗, 注意预防消化系出血[5]. 所有患者均未接受手术治疗.

1.2.2 观察指标: 比较两组患者肝功能相关指标[国际标准化比值(international normalized ratio, INR)、SCr、总胆红素(total bilirubin, TBil)、白蛋白(albumin, Alb)]、Child-Pugh分级[6]、MELD评分及并发症情况. MELD评分 = 10×[0.957×In(血清肌酐mg/dL)+0.378×In(血清胆红素mg/dL)+1.120×In(INR)+0.63×(病因: 酒精性及胆汁淤积性肝硬化为0, 其他病因为1)[7].

统计学处理 本研究数据均采用SPSS18.0进行统计学处理, 计量资料采用mean±SD表示, 差异性比较使用t检验, 记数资料比较使用χ^2检验,

表 1 两组患者临床资料比较

分组	n	性别		平均年龄(岁)	平均肝病病程(年)	生存情况	
		男性	女性			存活	死亡
Ⅰ型HRS组	33	26	7	54.82±9.13	4.44±1.27	9	24
Ⅱ型HRS组	63	50	13	55.57±9.76	4.17±1.33	25	38

HRS: 肝肾综合症.

表 2 两组患者肝功能相关指标水平比较

分组	n	INR	SCr(mmol/L)	TBil(mmol/L)	Alb(g/L)
Ⅰ型HRS组	33	2.09±0.68	448.08±180.33[a]	262.80±159.08[a]	26.72±4.73
Ⅱ型HRS组	63	1.73±0.45	159.94±28.16	125.04±76.43	23.99±9.89

[a]*P*<0.05 *vs* Ⅱ型HRS组. HRS: 肝肾综合症; INR: 国际标准化比值; SCr: 血肌酐; TBil: 总胆红素; Alb: 白蛋白.

表 3 两组患者Child-pugh分级情况比较 n(%)

分组	n	A级	B级	C级
Ⅰ型HRS组	33	0(0.00)	6(18.18)	27(81.82)
Ⅱ型HRS组	63	0(0.00)	16(25.40)	47(74.60)

HRS: 肝肾综合症.

表 4 两组患者MELD评分情况比较 n(%)

分组	n	10-19分	20-29分	30-39分	>40分
Ⅰ型HRS组	33	2(6.06)[a]	14(42.42)	13(39.39)[a]	4(12.12)[a]
Ⅱ型HRS组	63	36(57.14)	25(39.68)	2(3.17)	0(0.00)

[a]*P*<0.05 *vs* Ⅱ型HRS组. HRS: 肝肾综合症.

表 5 两组患者并发症发生情况比较 n(%)

分组	n	腹水	消化道出血	肝性脑病	感染
Ⅰ型HRS组	33	26(78.79)[a]	7(21.21)	24(72.73)	25(75.76)[a]
Ⅱ型HRS组	63	34(53.97)	25(39.68)	36(57.14)	27(42.86)

[a]*P*<0.05 *vs* Ⅱ型HRS组. HRS: 肝肾综合症.

P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 两组患者肝功能相关指标水平比较 Ⅰ型HRS组患者SCr和TBil水平均明显高于Ⅱ型HRS组, 差异具有统计学意义(*P*<0.05); 两组患者INR和Alb水平比较, 差异无统计学意义(*P*>0.05)(表2).

2.2 两组患者Child-Pugh分级情况比较 两组患者Child-Pugh分级情况比较, 差异无统计学意义(*P*>0.05)(表3).

2.3 两组患者MELD评分情况比较 Ⅰ型HRS组

■相关报道

临床研究表明, 晚期肝癌患者多伴有一种或多种并发症, 而在并发症发生后病情会出现迅速恶化甚至死亡, 部分学者认为并发症也是HRS发病及加重的重要诱因.

■应用要点
Child-pugh、MELD评分以及肝功能指标检测对患者病情及预后进行联合评估, 合理调整治疗方案, 采取有效预防措施, 防止并发症发生, 以提高患者生存率.

10-19分患者数量明显低于Ⅱ型HRS组, 30-39分和>40分患者数量明显高于Ⅱ型HRS组, 差异具有统计学意义(P<0.05)(表4).

2.4 两组患者并发症发生情况比较 Ⅰ型HRS组患者腹水和感染发生率均明显高于Ⅱ型HRS组, 差异具有统计学意义(P<0.05); 两组患者消化道出血和肝性脑病发生率比较, 差异无统计学意义(P>0.05)(表5).

3 讨论

目前临床上对HRS发病机制尚无完全研究结果, 也无特异性治疗药物, 临床治疗仍以保肝、利尿、抗感染、营养支持等常规综合治疗为主[8]. 该病的病理过程主要为: 终末期肝脏疾病引起门静脉高压和肝功能衰退, 造成CO、NO、胰高血糖素以及内源性阿片类物质等内源性舒血管因子分泌增多, 增加了血液循环阻力, 引起动脉扩张(尤其是心脏动脉扩张)造成有效循环血量下降, 交感神经系统和肾素血管紧张素醛固酮系统被激活, 随之引起代偿性心率加速及心肌收缩力增强[9]. 随着病情进一步进展, 心输出量增加幅度不能够有效改善循环血容量减少情况, 即可导致肾脏血管收缩, 患者肾内血管收缩导致肾脏血流灌注减少、肾小球滤过率下降, 最终引发肾功能衰竭[10]. 临床研究表明, 肝硬化患者可发生心肌收缩力下降、电生理紊乱或心腔扩大等病理改变, 这些因素可能是HRS发病的重要影响因素, 这也是HRS流行病学特征与肝硬化十分相似的原因[11].

Child-Pugh分级法是临床评估肝硬化患者病情及肝脏储备功能的标准, 而MELD评分是人工肝脏移植的标准. 两种评分标准均与血清胆红素和INR有紧密联系. 因此, 二者存在一定相关性. 临床研究表明, 部分病例在两种评分上存在较大差异, 分析其原因主要为肝硬化病因不同[12]. 本研究中Ⅰ型HRS患者和Ⅱ型HRS患者在Child-Pugh分级分布上无明显差异, 而在MELD评分分布上Ⅰ型HRS组10-19分患者数量明显低于Ⅱ型HRS组, 30-39分和>40分患者数量明显高于Ⅱ型HRS组, 差异具有统计学意义, 与上述研究报道相符. 目前不能够对两种评分方法的优劣做出明确比较, 总体来看Ⅱ型HRS患者评分情况优于Ⅰ型HRS, 表明其在预后效果上较Ⅰ型HRS稍好. 临床上需结合两种评分结果对患者病情及预后进行评估, 合理调整治疗方案以提高患者生存率.

INR、SCr、TBil和Alb均为显示肝功能的重要生化指标. INR与机体凝血功能有紧密联系, 对肝功能衰退有预测价值; SCr不能被肾小管吸收且排泄较少, SCr水平升高提示肾小球滤过率下降, 能够反映肾脏受损程度; 肝脏是摄取、合成和排泄胆红素的器官, TBil水平可反映肝功能受损情况[13]; 血清Alb则是由肝脏合成, 具有维持血浆胶体渗透压以及代谢运输等作用, 约占血浆Alb的40%-60%, 能够直接反映肝合成功能[14]. 本研究中Ⅰ型HRS组患者SCr和TBil水平均明显高于Ⅱ型HRS组, 表明Ⅰ型HRS患者肝脏功能受损更加严重.

临床研究表明, 晚期肝癌患者多伴有一种或多种并发症, 而在并发症发生后病情会出现迅速恶化甚至死亡, 部分学者认为并发症也是HRS发病及加重的重要诱因[15]. 本研究中Ⅰ型HRS组患者腹水和感染发生率均明显高于Ⅱ型HRS组, 主要是由于Ⅰ型HRS患者肝病更加严重. 无论是Ⅰ型HRS组患者还是Ⅱ型HRS患者, 并发症的发生都是严重影响预后的因素, 需要采取有效预防措施.

总之, Child-Pugh、MELD评分以及肝功能指标检测对患者病情及预后进行联合评估, 合理调整治疗方案, 采取有效预防措施, 防止并发症发生, 以提高患者生存率.

4 参考文献

1 王静艳, 刘沛. 肝肾综合征的发病机制的研究进展. 世界华人消化杂志 2004; 12: 2668-2670
2 陈道荣, 陶小红, 王丕龙. Ⅰ型肝肾综合征的临床分析. 胃肠病学和肝病学杂志 2009; 18: 231-232
3 冯鑫, 闫杰. 2010年欧洲肝脏研究协会《肝硬化腹水、自发性细菌性腹膜炎、肝肾综合征临床实践指南》简介. 胃肠病学和肝病学杂志 2011; 20: 291-294
4 张焕强, 聂鑫, 吴斌, 宋昊岚, 高宝秀, 罗通行, 胥劲, 李贵星. 内毒素血症与肝肾综合征的关系研究. 实用肝脏病杂志 2012; 15: 539-541
5 Ni J, McLoughlin RM, Brodovitch A, Moulin P, Brouckaert P, Casadei B, Feron O, Topley N, Balligand JL, Devuyst O. Nitric oxide synthase isoforms play distinct roles during acute peritonitis. *Nephrol Dial Transplant* 2010; 25: 86-96 [PMID: 19706695 DOI: 10.1093/ndt/gfp415]
6 刘鹏亮, 孙杰生, 王炳元, 秦永军. 肝硬化患者Child-Pugh分级与血小板生成素的关系. 世界华人消化杂志 2010; 18: 392-396
7 Nomura T, Kubota Y, Kitanaka A, Kurokouchi K, Inage T, Saigo K, Iseki K, Baba N, Yamaoka G, Arai T, Taminato T. Immature platelet fraction measurement in patients with chronic liver disease: a convenient marker for evaluating cirrhotic change. *Int J Lab Hematol* 2010; 32: 299-306 [PMID: 19694836 DOI: 10.1111/j.1751-553X.2009.01184.x]
8 倪燕娜, 郭传勇. 肝肾综合征早期诊断和预后评估研

究进展. 胃肠病学和肝病学杂志 2011; 20: 975-978
9 董建平, 田国保, 谢雯, 张维燕, 张黔英, 曾争. 终末期肝病肾脏损坏的临床与病理关系. 世界华人消化杂志 2008; 16: 2184-2187
10 钟晓琴, 周飞. 血管活性物质与肝肾综合征发病机制的研究进展. 实用心脑肺血管病杂志 2013; 21: 03-05
11 郭莲怡, 刘沛. 肝肾综合征肾血管收缩机制的研究进展. 世界华人消化杂志 2008; 16: 982-986
12 Wong F, Raina N, Richardson R. Molecular adsorbent recirculating system is ineffective in the management of type 1 hepatorenal syndrome in patients with cirrhosis with ascites who have failed vasoconstrictor treatment. *Gut* 2010; 59: 381-386 [PMID: 19710033 DOI: 10.1136/gut.2008.174615.]
13 傅强, 唐彤宇. 肝肾综合征的研究进展. 临床肝胆病杂志 2010; 26: 557-560
14 Narahara Y, Kanazawa H, Sakamoto C, Maruyama H, Yokosuka O, Mochida S, Uemura M, Fukui H, Sumino Y, Matsuzaki Y, Masaki N, Kokubu S, Okita K. The efficacy and safety of terlipressin and albumin in patients with type 1 hepatorenal syndrome: a multicenter, open-label, explorative study. *J Gastroenterol* 2012; 47: 313-320 [PMID: 22038555 DOI: 10.1007/s00535-011-0485-8.]
15 刘正刚. 肝硬化患者发生肝肾综合征的危险因素分析. 中国当代医药 2011; 18: 37-39

编辑 田滢 电编 鲁亚静

■同行评价
本研究设计实用, 结果可靠, 对临床医师有一定的参考价值.

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版)

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

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

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

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2014年4月28日; 22(12): 1730-1733
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

不明原因肝损害的诊断特点和肝组织病理特征115例

陈学平, 罗志刚, 曹丽玲, 杨 姝, 张琳英, 尤丽英, 杨晋辉, 唐映梅

■背景资料
肝功能损害的原因众多, 对肝功能异常但用常规方法不能明确病因的患者, 称为不明原因肝损害. 部分疾病缺乏特异诊断方法而诊断困难, 甚至到了肝硬化肝功能失代偿期仍未能明确诊断.

陈学平, 罗志刚, 曹丽玲, 杨姝, 张琳英, 昆明市第一人民医院消化内科 云南省昆明市 650011
尤丽英, 昆明市第一人民医院干疗科 云南省昆明市 650011
杨晋辉, 唐映梅, 昆明医科大学第二附属医院肝胆胰内科 云南省昆明市 650101
陈学平, 主治医师, 主要从事胃肠肝胆胰疾病的基础与临床的研究.
云南省卫生科技计划基金资助项目, No. 2012WS0102
作者贡献分布: 此课题由陈学平设计; 资料收集由陈学平、曹丽玲、杨姝、张琳英、尤丽英及唐映梅完成; 论文写作由陈学平完成; 罗志刚与杨晋辉指导和审校.
通讯作者: 陈学平, 主治医师, 650011, 云南省昆明市青年路504号, 昆明市第一人民医院消化内科. cxp2005235@163.com
电话:0871-63188200-2532
收稿日期: 2014-01-20 修回日期: 2014-03-10
接受日期: 2014-03-12 在线出版日期: 2014-04-28

Diagnostic characteristics and hepatic histopathology in 115 patients with liver injury of unknown reasons

Xue-Ping Chen, Zhi-Gang Luo, Li-Ling Cao, Shu Yang, Lin-Ying Zhang, Li-Ying You, Jin-Hui Yang, Ying-Mei Tang

Xue-Ping Chen, Zhi-Gang Luo, Li-Ling Cao, Shu Yang, Lin-Ying Zhang, Department of Gastroenterology, the First People's Hospital of Kunming, Kunming 650011, Yunnan Province, China
Li-Ying You, Department of Geriatrics, the First People's Hospital of Kunming, Kunming 650011, Yunnan Province, China
Jin-Hui Yang, Ying-Mei Tang, Department of Hepatopancreatobiliary, the Second Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650101, Yunnan Province, China
Supported by: Health Science and Technology Foundation of Yunnan Province Bureau of Health, No. 2012WS0102
Correspondence to: Xue-Ping Chen, Attending Physician, Department of Gastroenterology, the First People's hospital of Kunming, 504 Qingnian Road, Kunming 650011, Yunnan Province, China. cxp2005235@163.com
Received: 2014-01-20 Revised: 2014-03-10
Accepted: 2014-03-12 Published online: 2014-04-28

Abstract

AIM: To improve the awareness of liver injury of unknown causes by analyzing the diagnostic and pathological features of unexplained liver injury.

METHODS: A total of 115 patients with liver injury of unknown reasons were enrolled in this study. The biochemical and immunological features, as well as virus markers, abdominal imaging findings and hepatic histopathology were analyzed.

RESULTS: A definite diagnosis was achieved by liver biopsy in 109 patients. Among them, 38 were diagnosed with primary biliary cirrhosis (PBC), and the main pathological feature was non-suppurative inflammation in the bile duct; 31 with autoimmune hepatitis (AIH), which showed obvious interface inflammation in liver tissue; 27 with nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD), which showed visible hepatic steatosis and ballooning degeneration; 4 with occult hepatitis B, which presented with portal inflammation and infiltration of lymphocytes and were positive for HBcAg and/or HBsAg as revealed by immunohistochemistry; 2 with hepatic amyloidosis, which showed a lot of eosin amyloid deposits reactive with Congo red in liver cells and blood sinus; 2 with hemochromatosis, which showed obvious iron pigment deposition in liver cells; 2 with glycogen storage disease, which showed extensive hyaline degeneration in hepatic cells and was positive for Dpas; 1 with schistosomiasis with schistosome eggs detected microscopically; 1 with toxoplasmosis, and electron microscopy revealed Toxoplasma gondii rhoptry; 1 with Dubin-Johnson syndrome, which showed thick, dark brown pigment particles in liver cells. There were still 6 cases in whom a definite diagnosis could not be achieved after liver biopsy.

CONCLUSION: Autoimmune liver diseases are main causes of liver injury of unknown causes, followed by NAFLD. Liver parasite, genetic diseases and metabolic diseases are rare. Liver biopsy should be emphasized in patients with liver injury of unknown reasons.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Liver injury of unknown reasons; Diagnosis; Hepatic histopathology

Chen XP, Luo ZG, Cao LL, Yang S, Zhang LY, You

■同行评议者
王蒙, 副教授, 第二军医大学附属东方肝胆外科医院肝外综合治疗一科

LY, Yang JH, Tang YM. Diagnostic characteristics and hepatic histopathology in 115 patients with liver injury of unknown reasons. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(12): 1730-1733 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1730.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i12.1730

摘要

目的: 分析不明原因肝损害的诊断特点和病理特征, 指导此类疾病的诊断, 提高认识.

方法: 分析115例不明原因肝损害患者的血生化、免疫功能、自身抗体、病毒标志物、腹部影像学检查和肝活检检查, 总结临床和病理特征.

结果: 109例患者经肝穿活检明确诊断, 其中原发性胆汁性肝硬化38例, 病理主要改变为胆小管非化脓性炎症. 自身免疫性肝炎31例, 肝组织界面炎明显. 脂肪性肝病27例, 可见肝细胞脂肪变、气球样变. 隐匿性乙型肝炎4例, 主要见汇管区炎症, 淋巴细胞浸润, 免疫组织化学见HBcAg和/或HBsAg阳性. 肝淀粉样变2例, 病检示肝细胞与血窦见大量伊红淀粉样物沉积, 刚果红染色阳性. 血色病2例, 肝细胞内见明显铁色素沉积. 肝糖原累积症2例, 可见肝细胞广泛透明变性, Dpas(+). 血吸虫病1例, 镜下可见血吸虫虫卵. 弓形虫病1例, 电镜下可见弓形虫棒状体. Dubin-Johnson综合征1例, 肝细胞内有大量粗大的棕褐色色素颗粒. 6例经肝穿刺仍未明确病因.

结论: 不明原因肝损害患者中以自身免疫性肝病较为多见, 其次为脂肪性肝病, 而肝脏寄生虫感染, 遗传代谢性疾病相对少见. 临床工作中应重视肝组织病理检查的诊断价值.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 不明原因肝损害; 诊断; 肝组织病理检查

核心提示: 肝组织病理学检查不仅可以明确诊断, 同时可以了解肝损害的严重程度. 原发性胆汁性肝硬化病理主要改变为胆小管非化脓性炎症. 自身免疫性肝炎界面炎明显. 脂肪性肝病见肝细胞脂肪变、气球样变, 部分伴有小叶炎症.

陈学平, 罗志刚, 曹丽玲, 杨姝, 张琳英, 尤丽英, 杨晋辉, 唐映梅. 不明原因肝损害的诊断特点和肝组织病理特征115例. 世界华人消化杂志 2014; 22(12): 1730-1733 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1730.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i12.1730

0 引言

对出现肝功能异常但用常规方法不能明确病因的患者, 称为不明原因肝损害. 部分患者发展为肝硬化、肝功能失代偿期仍不能明确诊断, 延误了最佳治疗时机[1]. 由于我国的医疗资源分布不均, 各级医院医疗水平相差较大, 部分肝功能异常患者辗转于多家医院就医最后才明确诊断, 给患者造成了巨大的心理和经济压力. 而肝脏组织病理学检查是诊断不明原因肝损害的重要方法, 为此我们回顾性分析了115例不明原因肝损害患者的临床和病理特点, 希望对此类疾病的诊断和治疗给予启迪和借鉴.

1 材料和方法

1.1 材料 115例为2006-08/2013-10在我院和昆明医科大学第二附属医院肝胆胰内科住院, 行常规检查未能明确肝损害原因的患者. 其中男性36例, 女性79例, 年龄14-72岁, 平均年龄51.3岁±13.4岁, 病程6 mo-15年. 所有患者均否认有饮酒史, 长期服药史以及其他可能出现继发性肝脏损害疾病病史.

1.2 方法 分析患者的临床特征, 所有患者均完善血生化检查包括谷丙转氨酶、谷草转氨酶、白蛋白、球蛋白、谷氨酰转肽酶、碱性磷酸酶、胆碱酯酶、总胆红素、直接胆红素、总胆固醇、 甘油三酯、尿素氮、肌酐等, 均在自动生化分析仪完成. 免疫功能用免疫散射比浊法测定, 自身抗体用间接免疫荧光法测定, 自身免疫性肝病抗体以免疫印迹法测定, 病毒标志物用ELISA法测定. 腹部影像学检查包括腹部超声、CT、MRI. 未能明确诊断后在超声引导下行肝活检, 肝组织行HE染色、网状纤维染色、Masson三色染色, 必要时行特殊染色和电镜检查. 肝组织内乙型肝炎表面抗原(HBsAg)和乙型肝炎核心抗原(HBcAg)行免疫组织化学测定. 标本由昆明医科大学病理教研室资深专家阅片.

2 结果

2.1 临床表现 乏力56例、纳差45例, 肝区疼痛16例, 面色晦暗12例, 黄疸19例, 肝大14例, 脾大11例、腹胀15例, 腹水9例, 双下肢水肿12例.

2.2 实验室检查 患者肝功能异常有不同表现, 大多数患者有不同程度的谷丙转氨酶和谷草转氨酶升高, 部分患者碱性磷酸酶、谷氨酰转肽酶升高, 部分患者出现不同程度的血清总胆红素

■研发前沿
近年来我国病毒性肝炎特别是乙型肝炎的流行得到了有效的控制, 但非病毒因素如自身免疫因素, 脂肪肝等导致的肝脏疾病发病率却有上升趋势, 遗传代谢疾病发生的肝脏损害也时有发现.

■相关报道
国内范平等报道不明原因肝功能异常患者中自身免疫性肝病占多数, 尤其以自身免疫性肝炎多见.

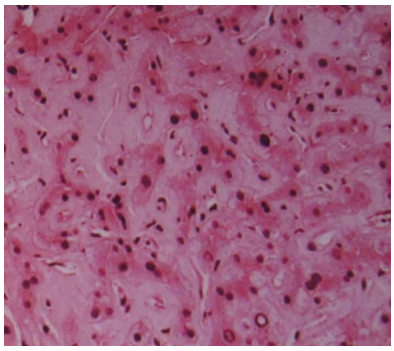


图 1 肝淀粉样变性病理切片(HE × 200). 肝细胞与血窦内大量伊红淀粉样物沉积.

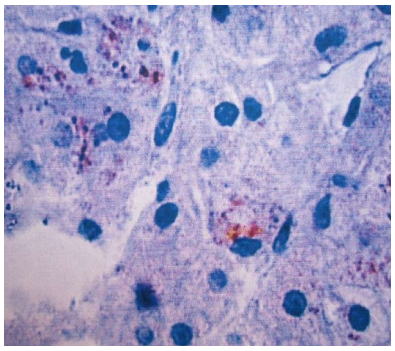


图 2 血色病病理切片(普鲁士兰染色 × 400). 肝细胞内铁色素沉积, 普鲁士兰染色阳性.

升高, 以直接胆红素升高为主. 甲、乙、丙、丁、戊型肝炎等病毒血清标志物均为阴性. 42例出现IgG升高, 18例出现IgM升高, 46例抗核抗体阳性, 4例抗GP210抗体阳性, 6例抗SP100抗体阳性.

2.3 肝组织病理检查 共109例患者经肝穿刺活检病理检查后明确诊断, 其中诊断原发性胆汁性肝硬化38例, 自身免疫性肝炎31例, 脂肪性肝病27例, 隐匿性乙型肝炎4例, 肝淀粉样变性2例, 血色病2例, 肝糖原累积症2例, 血吸虫病1例, Dubin-Johnson综合征1例, 1例弓形虫病经行电镜检查确诊, 6例经肝穿刺仍未明确病因. 原发性胆汁性肝硬化病理主要改变为胆小管非化脓性炎症, 病理分期为Ⅰ-Ⅳ期, 不同病理分期可见到胆小管增生、减少甚至消失. 自身免疫性肝炎界面明显, 小叶内炎症通常明显且弥漫, 表现为点、灶状坏死, 也可出现凋亡. 肝细胞水变性常见, 较重的病例可形成桥接坏死, 胆管破坏不明显, 汇管区及周围、桥接坏死区及小叶内有不同程度纤维化, 病理分级在G2S1-G4S4之间. 脂肪性肝病见肝细胞脂肪变、气球样变, 部分伴有小叶炎症, 纤维化分期S1-S3. 隐匿性乙型肝炎的病理变化主要见汇管区炎症, 淋巴细胞浸润, 可见碎屑坏死, 汇管区扩大, 汇管区及小叶内的纤维化, 可见不同程度小叶内肝细胞水变性, 点、灶状坏死甚至桥接坏死, 病理分级在G1S0-G3S3之间, 免疫组织化学HBcAg和/或的HBsAg阳性. 肝淀粉样变性病理检查示肝细胞与血窦内大量伊红淀粉样物沉积, 导致肝细胞索受压萎缩变窄, 小叶内及门管区炎症不明显, 刚果红染色阳性(图1). 血色病见肝细胞内明显铁色素沉积(图2). 肝糖原累积症可见肝细胞广泛透明变性, 胞浆空淡, 细胞轻度肿胀, 似植物细胞, 伴大泡性脂肪变性, Dpas(+), 部分细胞内充满红色Dpas阳性物质. 血吸虫病可见血吸虫虫卵. 电镜下见弓形虫棒状体是弓形虫病的特征性改变. Dubin-Johnson综合征肝组织肉眼观呈黑褐色, 镜下肝组织结构基本正常, 小叶中心部位肝细胞内有大量粗大的棕褐色色素颗粒. 6例未确诊患者表现为肝脏非特异性炎症, 病理分级为G1S0-G3S2.

3 讨论

临床上肝功能损害的原因众多, 包括感染、自身免疫、酒精、药物及毒物、遗传代谢疾病以及继发于其他疾病等[2]. 由于部分疾病尚缺乏特异诊断方法, 常规检查并不能发现病因, 绝大部分患者需进行肝穿刺活检行病理检查才能诊断. 而目前肝活检在市、县级医院开展并不普遍, 故不明原因的肝损害在我国非常常见. Czaja[3]报道大约有5.4%的肝病患者病因不清, 其中5%-30%的患者已经进展为肝硬化, 3%-14%的患者等待肝移植.

在本组病例中, 自身免疫性肝病占多数, 故临床上应提高对自身免疫性肝病的重视程度. 由于自身免疫性肝病起病隐匿, 临床表现无特异性, 部分自身免疫性肝病患者自身抗体检测均阴性, 需通过肝穿病理才能最终明确[4,5]. 对有谷氨酰转肽酶、碱性磷酸酶升高的患者, 如线粒体抗体M2亚型阴性, 需注意线粒体抗体阴性原发性胆汁性肝硬化可能, 对此类患者肝穿刺病理检查尤为重要[6,7]. 近年来, 随着人们生活水平的提高, 和生活方式的变化, 脂肪性肝病的发病率也明显上升, 脂肪性肝病已经成为不明原因肝损害中重要原因之一[8,9]. 隐匿性乙型肝炎占慢性乙型肝炎患者的10%-25%左右, 但因其临床症状不典型, 有时仅表现为肝功能异常而被临床医生忽略[10,11]. 导致隐匿性HBV感染的原

因主要是由于血清病毒含量低, 常规检测难以检出, 另外与基因变异、ELISA检测试剂及HBV DNA检测方法灵敏度不高等因素有关[12-14]. 临床医师在除外其他病毒性肝炎的同时, 应考虑到存在隐匿性HBV感染可能. 本组患者中有4例免疫组织化学HBcAg和/或的HBsAg阳性, 因此对乙型肝炎病毒标志物阴性但肝功能异常患者, 应进一步行肝组织病理学检查和免疫组织化学明确诊断. 肝脏的寄生虫感染比较少见, 本组病例中共发现1例弓形虫感染和1例血吸虫病. 对有牲畜家禽密切接触史和来自流行病疫区患者要注意仔细询问病史和分析, 针对性进行病理检查有助于确诊. 对伴随肝肿大的肝功能异常患者, 常规检查未能明确病因时要考虑到遗传代谢性疾病可能. 本组患者发现了肝淀粉样变性、血色病、肝糖原累积症等病例, 说明遗传代谢性疾病虽然少见, 但并不意味着没有, 对有可能性的病例在肝组织病理检查时做相应的特殊染色才能明确诊断[15-17]. 1例皮肤巩膜黄染15年患者, 多次查血清总胆红素轻度升高, 但转氨酶均正常, 辗转于多家医院未能确诊, 最后行肝穿活检诊断为Dubin-Johnson综合征[18]. 极少数病例行肝穿刺检查仍无法确诊, 病理检查为非特异性炎症, 提示还存在其他引起肝损害的未知因素, 有待于进一步研究.

总之, 详细了解病史非常重要, 这样有助于发现诊断线索. 而仔细查体, 对实验室检查结果进行详细分析则有助于明确诊断方向, 行肝穿刺活检时更有针对性, 必要时可行特殊染色. 在诊断不明原因肝损害之前, 首先要排除常见原因引起的肝损害, 并排外酒精、药物等因素, 还需排外肿瘤和其他基础疾病引起的继发性肝损害, 这样才能考虑少见的一些疾病和遗传代谢性疾病. 肝穿组织病理检查对不明原因肝损害的诊断和鉴别诊断有不可替代的价值, 同时可以了解肝损害的程度, 为判断预后和指导治疗提供了重要依据. 但由于该检查为有创检查, 有一定风险, 很多患者畏惧和排斥该检查, 从而延误病情. 目前肝脏穿刺多在超声引导下进行, 安全性较高且并发症较少, 所以应对适合肝穿刺病例给予一定的鼓励. 本组病例中绝大多数患者通过肝活检病理检查获得确诊, 而部分病例已经发现为肝纤维化和肝硬化, 所以对常规检查无法明确病因的肝损害患者, 如果无肝穿刺禁忌症, 应及早行肝组织活检, 争取早期诊断, 早期治疗.

■同行评价
该文章是平时临床中比较常见的问题. 对临床医师有参考价值, 希望能够更深一步地探讨.

4 参考文献

1 范平, 江军, 何维新, 陈仕祥和, 熊志远, 陈玺卿, 王德杨. 不明原因肝功能异常患者中自身免疫性肝病的临床分析. 胃肠病学 2010; 15: 544-545
2 王临旭, 白宪光. 不明原因肝病的病因研究现状. 中国医师杂志 2006; 8: 143-144
3 Czaja AJ. Cryptogenic chronic hepatitis and its changing guise in adults. *Dig Dis Sci* 2011; 56: 3421-3438 [PMID: 21647651 DOI: 10.1007/s10620-011-1769-9]
4 Invernizzi P. Geoepidemiology of autoimmune liver diseases. *J Autoimmun* 2010; 34: J300-J306 [PMID: 20036105 DOI: 10.1016/j.jaut.2009.12.002]
5 Gacad V, Waller K. Cryptogenic hepatitis: a case study in autoantibody negative autoimmune hepatitis. *Clin Lab Sci* 2011; 24: 196-201 [PMID: 22288215]
6 李祥金, 杨晋辉. 原发性胆汁性肝硬化AMA-M2阴性患者的临床及病理特点. 世界华人消化杂志 2009; 17: 1676-1679
7 王绮夏, 沈镭, 陈晓宇, 邱德凯, 马雄. 抗线粒体抗体阴性原发性胆汁性肝硬化患者的临床及病理学特点. 中华肝脏病杂志 2011; 19: 340-344
8 Ruhl CE, Everhart JE. Epidemiology of nonalcoholic fatty liver. *Clin Liver Dis* 2004; 8: 501-19, vii [PMID: 15331060]
9 范建高, 朱军, 李新建, 李锐, 戴菲, 宋晓敏, 陈兰, 李锋, 陈世耀. 上海市成人脂肪肝患病率及其危险因素流行病学调查. 中华肝脏病杂志 2005; 13: 83-88
10 Biroscak BJ, Fiore AE, Fasano N, Fineis P, Collins MP, Stoltman G. Impact of the thimerosal controversy on hepatitis B vaccine coverage of infants born to women of unknown hepatitis B surface antigen status in Michigan. *Pediatrics* 2003; 111: e645-e649 [PMID: 12777580]
11 王贵强, 斯崇文. 应重视对隐匿性乙型肝炎的诊断. 中华内科学杂志 2002; 41: 649-650
12 周小茜, 徐基成, 游国琼. 20例不明原因肝炎患者免疫组织化学结果分析. 中华肝脏病杂志 2007; 15: 711
13 Raimondo G, Pollicino T, Romanò L, Zanetti AR. A 2010 update on occult hepatitis B infection. *Pathol Biol* (Paris) 2010; 58: 254-257 [PMID: 20303674 DOI: 10.1016/j.patbio.2010.02.003]
14 刘伟, 赵伟, 罗禅. 不明原因持续肝功能异常患者肝组织和外周血单核细胞中乙型肝炎病毒DNA检测分析. 中华消化杂志 2004; 24: 630-631
15 左丽丽, 吴华美, 杨黎宏, 唐映梅, 杨晋辉. 肝糖原累积病1例. 世界华人消化杂志 2013; 21: 2623-2626
16 左丽丽, 胥莹, 杨婧, 吴华美, 杨晋辉. 肝血色病并肝癌1例. 世界华人消化杂志 2013; 21: 3179-3182
17 曹丽玲, 赵斌, 赖苇, 罗志刚, 陈学平. 系统性淀粉样变肝功能损害1例. 中华肝脏病杂志 2010; 18: 71
18 杨晋辉, 尧颖, 徐智媛, 唐映梅, 陈学平. Dubin-Johnson综合征一例. 肝脏 2008; 13: 124

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2014年4月28日; 22(12): 1734-1738
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

胆囊炎和胆系结石手术患者肝组织病理分析57例

祝 达, 马海林, 马志萍, 阿丽亚•热哈提, 希尔娜依•阿不都黑力力, 范晓棠, 何方平

■背景资料
因右上腹部不适, 诊断为慢性胆囊炎而行胆囊摘除手术的患者, 约40%手术后临床症状并未得到改善, 我们因此探讨胆系良性病变手术患者是否合并肝脏慢性疾患.

祝达, 马海林, 阿丽亚·热哈提, 希尔娜依·阿不都黑力力, 范晓棠, 何方平, 新疆医科大学第一附属医院肝病科 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830011
马志萍, 新疆医科大学第一附属医院病理科 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830011
祝达, 在读硕士, 主要从事各种肝脏疾病的临床研究.
新疆维吾尔自治区科技支撑基金资助项目, No. 201141137
国家自然科学基金地区面上基金资助项目, No. 81360138
作者贡献分布: 此课题由祝达与何方平设计; 研究过程由祝达、马海林、阿丽亚·热哈提、希尔娜依·阿不都黑力力及范晓棠操作完成; 病理分析由马志萍完成; 数据分析由祝达完成; 本论文写作由祝达完成.
通讯作者: 何方平, 教授, 主任医师, 博士生导师, 830011, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市鲤鱼山南路137号, 新疆医科大学第一附属医院肝病科. hefp@sina.com
电话: 0991-4366305
收稿日期: 2014-01-05 修回日期: 2014-01-26
接受日期: 2014-03-28 在线出版日期: 2014-04-28

Liver pathology in patients undergoing surgical treatment for biliary calculus or inflammation: Analysis of 57 cases

Da Zhu, Hai-Lin Ma, Zhi-Ping Ma, Aliya·Rehati, Xiernayi·Abuduhelili, Xiao-Tang Fan, Fang-Ping He

Da Zhu, Hai-Lin Ma, Aliya·Rehati, Xiernayi·Abuduhelili, Xiao-Tang Fan, Fang-Ping He, Department of Hepatology, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China
Zhi-Ping Ma, Department of Pathology, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China
Supported by: Science and Technology Supported Foundation of Xinjiang Uygur Autonomous Region, No. 201141137; Area General Program of National Natural Science Foundation of China, No. 81360138
Correspondence to: Fang-Ping He, Professor, Chief Physician, Department of Hepatology, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, 137 Liyushan South Road, Urumqi 830011, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. hefp@sina.com
Received: 2014-01-05 Revised: 2014-01-26
Accepted: 2014-03-28 Published online: 2014-04-28

Abstract

AIM: To discuss the cause and effect relationship between biliary calculus or inflammation and liver damage in the patients undergoing surgery for benign biliary system diseases.

METHODS: A total of 1479 patients underwent surgery for calculus of the bile duct, cholangitis, gallstones or cholecystitis from June 1, 2012 to May 31, 2013 at our hospital, of whom 120 underwent surgical liver pathology analysis, because their liver morphology was found to be abnormal by preoperative ultrasound, CT or MRI. There were 57 cases of liver injury for unknown reasons after excluding hepatitis B virus, hepatitis C virus, alcoholic liver disease, drug-induced liver disease, autoimmune liver disease, liver hydatid, hepatic cyst, hepatic hemangioma, hepatoma and biliary tract cancer. We analyzed and discussed the possible pathogenesis of these 57 cases.

RESULTS: Most of the patients undergoing biliary tract surgery had pathological liver injury (71.93%). Liver fibrosis was observed in 50.88% of cases. In comparison with calculus of the bile duct and cholangitis, gallstones and cholecystitis were more easily accompanied by steatosis (47.1% *vs* 17.5%, $P < 0.05$, RR = 2.689, 95%CI: 0.05-6.234; OR = 4.190, 95%CI: 1.196-14.683). Steatosis was more easily accompanied by inflammatory necrosis (26.7% *vs* 7.1%, $P < 0.05$, RR = 3.733, 95%CI: 0.05-14.780; OR = 4.727, 95%CI: 0.917-24.362). Diabetes was easily accompanied by inflammatory necrosis (42.9% *vs* 8.0%, $P < 0.05$, RR = 5.357, 95%CI: 0.05-19.094; OR = 8.625, 95%CI: 1.408-52.828).

CONCLUSION: In patients undergoing surgical resection for biliary tract diseases, quite a number of them have the clinical symptoms of non-alcoholic fatty liver disease. Therefore, it is necessary to strengthen the assessment of metabolic liver disease, especially non-alcoholic fatty liver disease, before deciding whether to manage biliary calculus or inflammation by surgical methods.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Liver; Pathology; Benign biliary disease; Non-alcoholic fatty liver disease

Zhu D, Ma HL, Ma ZP, Aliya·Rehati, Xiernayi·Abuduhelili, Fan XT, He FP. Liver pathology in patients undergoing surgical

■同行评议者
胡国信, 副教授, 主任医师, 南昌大学第一附属医院传染科

treatment for biliary calculus or inflammation: Analysis of 57 cases. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(12): 1734-1738 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1734.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i12.1734

摘要

目的: 从肝脏病理组织学角度, 探讨在因胆系良性病变手术的患者中, 胆囊炎或胆系结石与肝脏损害之间的联系.

方法: 回顾性分析2012-06-01/2013-05-31因胆囊炎或胆囊结石行胆囊切除术, 和因胆管结石行胆管切开取石手术切除的患者共1479例, 其中120例因术前临床资料(超声、CT、MRI)或术中发现肝脏形态异常而行肝组织学检查, 排除乙型病毒性肝炎、丙型病毒性肝炎、酒精性肝病、药物性肝病、自身免疫性肝病、肝包虫、肝囊肿、肝血管瘤、肝脏及胆道肿瘤, 有57例肝脏损伤原因不明. 我们对这57例进行了分析及探讨.

结果: (1)本研究的胆道手术患者中, 大部分病理学上存在肝脏损伤(71.93%) , 其中肝纤维化者占50.88%; (2)胆囊结石或炎症较胆管结石或炎症, 合并脂肪变的显著性增高(47.1% *vs* 17.5%, $P<0.05$, RR = 2.689, 95%CI: 1.160-6.234; OR = 4.190, 95%CI: 1.196-14.683); (3)脂肪变合并炎症坏死的显著性增高(26.7% *vs* 7.1%, $P<0.05$, RR = 3.733, 95%CI: 0.943-14.780; OR = 4.727, 95%CI: 0.917-24.362); (4)糖尿病合并炎症坏死的显著性增高(42.9% *vs* 8.0%, $P<0.05$, RR = 5.357, 95%CI: 1.503-19.094; OR = 8.625, 95%CI: 1.408-52.828).

结论: 本研究从肝组织病理学角度观察这些因胆道疾病行手术切除患者的肝脏损伤特征, 结合其临床症状符合非酒精性脂肪性肝病的特点.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 肝脏; 病理; 良性胆系疾病; 非酒精性脂肪性肝病

核心提示: 非酒精性脂肪性肝病的右上腹部不适有可能被患者和外科医师归类为慢性胆囊炎相关症状而行胆囊切除术, 术后症状未得到改善, 本文收集胆系手术中同时行肝组织学活检的患者, 发现非酒精性脂肪性肝病及2型糖尿病等合并症在慢性胆囊炎行胆囊摘除术者显著升高. 首次从肝脏病理学角度提示, 慢性胆囊炎手术切除适应症应该首先排出肝脏慢性炎症导致的胆囊炎性改变.

祝达, 马海林, 马志萍, 阿丽亚·热哈提, 希尔娜依·阿不都黑力力, 范晓棠, 何方平. 胆囊炎和胆系结石手术患者肝组织病理分析57例. 世界华人消化杂志 2014; 22(12): 1734-1738 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1734.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i12.1734

■研发前沿
非酒精性脂肪性肝病已经成为临床发病率最高的慢性肝脏疾病, 其临床表现的右上腹部不适有可能被患者和外科医师归类为慢性胆囊炎相关症状, 但该领域相关报道少见.

0 引言

临床上常可见胆道结石或炎症合并肝脏损伤[1]. 有文献报道是由于胆系疾病造成肝脏继发性损害, 并认为通过手术就可以解决[2,3]. 但临床上仍有手术后原有症状不缓解的现象, 且在胆道疾病与肝脏疾病的因果关系上尚无定论. 范建高等[4]的一份3175例的流行病学调查提示脂肪肝与胆石症的发病有关, 多数情况可能是脂肪肝发病先于胆石症, 并有报道结果与之类似[5], 但确定胆道疾病和肝脏损害的证据多为影像学或血清学研究证据, 而缺乏直接的组织学依据. 本文希望从肝脏病理组织学角度, 探讨在因胆系良性病变手术的患者中, 胆囊炎或胆系结石与肝脏损害之间的联系.

1 材料和方法

1.1 材料 选择2012-06-01/2013-05-31在新疆医科大学第一附属医院因胆囊炎或胆囊结石行胆囊切除术, 和因胆管结石行胆管切开取石手术切除的患者共1479例, 其中120例因术前临床资料或术中发现肝脏形态异常而行肝组织学检查, 排除乙型病毒性肝炎、丙型病毒性肝炎、酒精性肝病、药物性肝病、自身免疫性肝病、肝包虫、肝囊肿、肝血管瘤、肝脏及胆道肿瘤, 有57例肝脏损伤原因不明. 其中男性21例(36.8%), 女性36例(63.2%), 平均年龄59.33±14.58岁(14-83岁). 汉族26例(45.6%), 少数民族31例(54.4%), 其中维吾尔族17例(29.8%), 哈萨克族5例(8.8%), 回族9例(15.8%).

1.2 方法 入组患者均手术获取相关胆管及胆囊良性病变组织, 于肝右叶下缘距胆囊床处切取大小约1 cm×0.5 cm×0.5 cm的楔形肝组织, 行病理学检查. 所有标本均经过常规伊红-苏木精(HE)染色镜检及Masson染色, 并行免疫组织化学检查. 按相关标准或指南排除乙型病毒性肝炎、丙型病毒性肝炎、酒精性肝病、药物性肝病、自身免疫性肝病、肝包虫、肝囊肿、肝血管瘤、肝脏及胆道肿瘤[6-10]. 肝脏病理学诊断按中华医学会肝脏病学分会脂肪肝和酒精性肝病学组制定的标准[11]来进行, 脂肪变为F1-4级, 炎

■相关报道
范建高教授通过血清学生化指标分析认为可能胆囊手术中一部分患者临床不适为非酒精性肝病所致, 这意味着胆囊摘除手术适应症有必要改进. 但范教授并未提供组织学相关证据.

表 1 本组胆道手术患者肝脏病理损伤比率 *n*(%)

疾病分类	*n*	肝脏病理学改变	纤维化	炎症坏死	脂肪变
胆管疾病	40	29(50.88)	21(36.84)	5(8.77)	7(12.28)
胆囊疾病	17	12(21.05)	8(14.04)	2(3.51)	8(14.04)
合计	57	41(71.93)	29(50.88)	7(12.28)	15(26.32)

表 2 胆囊、胆管结石或炎症与肝脏损伤的关系 *n*(%)

疾病分类	脂肪变		炎症坏死		纤维化	
	有	无	有	无	有	无
胆管疾病	7(17.5)	33(82.5)	5(12.5)	35(87.5)	21(52.5)	19(47.5)
胆囊疾病	8(47.1)	9(52.9)	2(11.8)	15(88.2)	8(47.1)	9(52.9)

表 3 脂肪变与炎症坏死、纤维化的关系 *n*(%)

脂肪变	炎症坏死		纤维化	
	有	无	有	无
有	4(26.7)	11(73.3)	5(33.3)	10(66.7)
无	3(7.1)	39(92.9)	24(57.1)	18(42.9)

症坏死为G1-4级, 纤维化为S1-4级. 胆管及胆囊良性疾病诊断标准按中华医学会外科学分会胆道外科学组制定的标准[12,13]来进行, 将胆管结石或炎症(含合并胆囊结石或炎症者)与单纯胆囊结石或炎症分为两组. 按中华医学会糖尿病学分会制定的标准[14]将患有糖尿病与无糖尿病的患者分为两组.

统计学处理 所得数据经SPSS17.0统计软件分析. 计数资料用率表示, 采用四格表χ^2检验进行分析. 以双侧检验$P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 肝脏病理学损伤构成比 本组胆道手术患者中, 存在肝脏损伤者41例, 占总数的71.93%. 其中肝纤维化者29例(50.88%), 炎症坏死者7例(12.28%), 脂肪变者15例(26.32%)(表1). 具体构成比为: 单纯脂肪变7例(12.28%), 单纯炎症坏死2例(3.51%), 单纯纤维化23例(40.35%), 脂肪变合并炎症坏死3例(5.26%), 脂肪变合并纤维化4例(7.02%), 炎症坏死合并纤维化1例(1.75%), 脂肪变合并炎症坏死合并纤维化1例(1.75%).

2.2 胆囊、胆管结石或炎症与肝脏损伤的关系 本研究中胆囊结石或炎症较胆管结石或炎症, 合并脂肪变的显著性增高(47.1% *vs* 17.5%, $P<0.05$, RR = 2.689, 95%CI: 1.160-6.234; OR = 4.190, 95%CI: 1.196-14.683). 合并炎症坏死、纤维化的比例, 胆囊结石或炎症组略大于胆管结石或炎症组, 但无统计学意义($P>0.05$)(表2).

2.3 脂肪变与炎症坏死、纤维化的关系 本研究中, 脂肪变患者合并炎症坏死的显著性增高(26.7% *vs* 7.1%, $P<0.05$, RR = 3.733, 95%CI: 0.943-14.780; OR = 4.727, 95%CI: 0.917-24.362). 脂肪变合并纤维化的比例未高于非脂肪变组(33.3% *vs* 57%), 无统计学意义($P>0.05$)(表3).

2.4 糖尿病与脂肪变、炎症坏死、纤维化的关系 本研究中, 糖尿病合并炎症坏死的显著性增高(42.9% *vs* 8.0%, $P<0.05$, RR = 5.357, 95%CI: 1.503-19.094; OR = 8.625, 95%CI: 1.408-52.828). 糖尿病合并脂肪变和纤维化的比例高于非糖尿病组, 无统计学意义($P>0.05$)(表4).

3 讨论

胆管及胆囊结石或炎症为常见的胆系良性疾病, 目前指南认为其中胆道炎症90%-95%是由胆道结石引起[12], 患者多以消化不良、上腹疼痛、胆绞痛等症状就诊, 其解决手段主要是外科方式, 随着腹腔镜技术的广泛应用, 使手术适应症扩大化, 相对应的胆石症复发、胆囊切除术后综合征、胆管损伤等并发症也有所增多[13]. 但除胆绞痛外, 其他症状与结石似乎无必然联系[14,15], 2011版胆囊良性疾病治疗决策的专家共识中认为轻微或不典型症状可能源于其他上腹部脏器病变, 同时也建议这类患者不需行预防性手术[13]. 但到底是源于哪些上腹部病变, 非酒精性脂肪性肝病相关慢性炎症是否为其中一个病因, 目前报

表 4 糖尿病与肝脏损伤的关系 *n*(%)

糖尿病	脂肪变		炎症坏死		纤维化	
	有	无	有	无	有	无
有	3(42.9)	4(57.1)	3(42.9)	4(57.1)	4(57.1)	3(42.9)
无	12(24.0)	38(76.0)	4(8.0)	46(92.0)	25(50.0)	25(50.0)

道并不多见.

本次研究发现, 这57例胆道手术患者中, 胆囊疾病患者合并肝脏脂肪变的显著性升高(P<0.05), 提示非酒精性脂肪性肝病使患者更易合并胆囊疾病, 包括炎症和结石, 甚至一部分患者的胆囊炎症临床表现实际上是非酒精性脂肪性肝炎的临床表现. 这与范建高等的研究结论是一致的[4]. 其机制可能是因为在胆石形成的主要原因为胆汁酸代谢异常[16], 而胆汁酸代谢依赖于肝细胞、毛细胆管以及胆管内皮细胞表面转运蛋白的调节[17], 从而由脂肪肝造成了胆汁酸代谢异常[18], 也有报道认为是脂肪肝患者小肠细菌过生长[19], 导致结肠运动改变, 从而影响胆汁酸代谢. 也发现了伴有脂肪变及糖尿病的肝脏组织, 有更高的炎症坏死的倾向(P<0.05), 伴有糖尿病的肝脏组织, 似乎有更高的脂肪变及纤维化的倾向, 但无统计学意义(P>0.05). 而在相关报道中, 糖尿病对肝脏的病理损伤主要是核内糖原空洞、脂肪变性、间质纤维组织增生[20]. 这提示本组胆道手术患者可能主要为脂肪性肝病患者. 本研究中的患者大部分存在慢性肝损伤病理学改变, 包括纤维化(50.88%)和炎症坏死(12.28%), 提示这些因胆道症状性手术切除的患者, 相当一部分的临床症状可能是脂肪性肝病的表现.

脂肪性肝病与胆石症存在共同的危险因素, 如肥胖、胰岛素抵抗及糖尿病等, 两者常常并存[21-23]. 而脂肪肝也可见消化不良、上腹疼痛不适症状. 这提示可能是脂肪性肝病增加了胆囊结石的不适感, 增加了患者因胆囊结石就诊的频率, 甚至增加了患者选择手术摘除胆囊的倾向性.

本研究对新疆地区患者胆道良性疾病及其肝脏病理学改变进行了分析, 但本研究样本量较少(57例), 所得出的结果可能受抽样误差的影响, 进一步扩大样本量评估是必要的.

总之, 本研究从肝组织病理学角度观察这些因胆道疾病行手术切除患者的肝脏损伤特征, 结合其临床症状符合非酒精性脂肪性肝病的特点.

■创新盘点

本文从胆系良性病变手术后患者切入, 收集手术中同时行肝组织学活检的患者, 分析其合并肝脏慢性炎症患者的可能临床因素, 发现非酒精性脂肪性肝病及2型糖尿病等合并症在慢性胆囊炎行胆囊摘除术者显著升高.

4 参考文献

1 Buchner AM, Sonnenberg A. Factors influencing the prevalence of gallstones in liver disease: the beneficial and harmful influences of alcohol. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 905-909 [PMID: 12003426]
2 Volmer J. [Coincidence of liver cirrhosis and gallstones]. *Dtsch Z Verdau Stoffwechselkr* 1986; 46: 16-21 [PMID: 3720629]
3 叶明, 乐美兆, 宋小明, 张茂红, 李桂梅. 胆囊结石症肝细胞和胆管黏液上皮化生的超微结构. 临床与实验病理学杂志 2001; 7: 213-215
4 范建高, 陈兰, 朱军, 吴坚炯, 李新建, 李锐, 李峰. 脂肪肝与胆石症关系的流行病学调查. 胃肠病学 2005; 10: 110-112
5 刘瑛, 张弛, 王敏, 熊璞, 陈晶, 王霞, 李华珠, 杨晓春, 周桂莲. 非酒精性脂肪性肝病增加胆囊结石患病风险. 重庆医科大学学报 2011; 36: 1122-1124
6 中华医学会肝病学分会、感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南. 中华肝脏病杂志 2005; 13: 881-891
7 中华医学会肝病学分会、中华医学会传染病与寄生虫病学分会. 丙型肝炎防治指南. 中华肝脏病杂志 2004; 12: 194-198
8 中华医学会肝脏病学分会脂肪肝和酒精性肝病学组. 酒精性肝病诊疗指南. 中华肝脏病杂志 2006; 14: 194-198
9 中华医学会风湿病学分会. 自身免疫性肝病诊断和治疗指南. 中华风湿病学杂志 2011; 15: 556-558
10 中华人民共和国卫生部. 原发性肝癌诊疗规范(2011年版). 临床肿瘤学杂志 2011; 16: 929-946
11 中华医学会肝脏病学分会脂肪肝和酒精性肝病学组. 非酒精性脂肪性肝病诊疗指南. 中华肝脏病杂志 2006; 14: 161-163
12 中华医学会外科学分会胆道外科学组. 急性胆道系统感染的诊断和治疗指南(2011版). 中华消化外科杂志 2011; 10: 9-13
13 中华医学会外科学分会胆道外科学组. 胆囊良性疾病治疗决策的专家共识(2011版). 中华消化外科杂志 2011; 10: 14-19
14 中华医学会糖尿病学分会. 中国2型糖尿病防治指南(2010年版). 中国糖尿病杂志 2012; 20: 1-36
15 Berger MY, van der Velden JJ, Lijmer JG, de Kort H, Prins A, Bohnen AM. Abdominal symptoms: do they predict gallstones? A systematic review. *Scand J Gastroenterol* 2000; 35: 70-76 [PMID: 10672838]
16 张汝玲, 陆伦根. 胆道及胆道疾病的研究现状与展望. 临床肝胆病杂志 2012; 28: 481-483
17 Dawson PA, Lan T, Rao A. Bile acid transporters. *J Lipid Res* 2009; 50: 2340-2357 [PMID: 19498215]
18 宗春华, 徐雷鸣, 王秀玲. 脂肪肝和胆石病的血清胆汁酸分析. 中华消化杂志 1999; 19: 133-134
19 Veysey MJ, Thomas LA, Mallet AI, Jenkins PJ, Besser GM, Murphy GM, Dowling RH. Colonic transit influences deoxycholic acid kinetics. *Gastroenterology* 2001; 121: 812-822 [PMID: 11606495]

■同行评价
本文有一定的临床实际意义, 方法科学, 数据真实、可靠, 讨论分析恰当、客观.

20 韦敏怡, 冼苏, 冼苏, 秦映芬, 黄松. 糖尿病患者肝脏病变的病理研究. 中华糖尿病杂志 2005; 13: 454-455
21 Ramos-De la Medina A, Remes-Troche JM, Roesch-Dietlen FB, Pérez-Morales AG, Martinez S, Cid-Juarez S. Routine liver biopsy to screen for nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) during cholecystectomy for gallstone disease: is it justified? *J Gastrointest Surg* 2008; 12: 2097-2102; discussion 2102 [PMID: 18825466 DOI: 10.1007/s11605-008-0704-7]
22 Grundy SM. Metabolic complications of obesity. *Endocrine* 2000; 13: 155-165 [PMID: 11186217]
23 Bargiggia S, Maconi G, Elli M, Molteni P, Ardizzone S, Parente F, Todaro I, Greco S, Manzionna G, Bianchi Porro G. Sonographic prevalence of liver steatosis and biliary tract stones in patients with inflammatory bowel disease: study of 511 subjects at a single center. *J Clin Gastroenterol* 2003; 36: 417-420 [PMID: 12702985]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

• 消息 •

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

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

世界华人消化杂志 2014年4月28日; 22(12): 1739-1742
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

血清降钙素原预测胆道梗阻患者的胆道感染

段 键, 李智涛, 曾 仲, 邹文香, 黄 智, 彭沙沙

段键, 李智涛, 曾仲, 邹文香, 黄智, 彭沙沙, 昆明医科大学第一附属医院器官移植中心 云南省昆明市 650032
段键, 医学硕士, 主治医师, 主要从事肝胆外科疾病及肝移植的临床研究.
云南省教育厅科学研究基金资助项目, No. 2013C245
作者贡献分布: 本研究由段键与曾仲设计; 邹文香与黄智收集并整理数据; 彭沙沙与李智涛统计分析数据; 本论文写作由段键与彭沙沙完成.
通讯作者: 彭沙沙, 650032, 云南省昆明市西昌路295号, 昆明医科大学第一附属医院器官移植中心. psj86@vip.qq.com
电话: 0871-65324888-2436
收稿日期: 2014-03-08 修回日期: 2014-03-20
接受日期: 2014-03-28 在线出版日期: 2014-04-28

Serum procalcitonin measurement for detection of biliary infection in patients with biliary tract obstruction

Jian Duan, Zhi-Tao Li, Zhong Zeng, Wen-Xiang Zou, Zhi Huang, Sha-Sha Peng

Jian Duan, Zhi-Tao Li, Zhong Zeng, Wen-Xiang Zou, Zhi Huang, Sha-Sha Peng, Organ Transplantation Center, the First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650032, Yunnan Province, China
Supported by: the Scientific Research Foundation of Yunnan Provincial Education Department, No. 2013C245
Correspondence to: Sha-Sha Peng, Master of Medicine, Organ Transplantation Center, the First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, 295 Xichang Road, Kunming 650032, Yunnan Province, China. psj86@vip.qq.com
Received: 2014-03-08 Revised: 2014-03-20
Accepted: 2014-03-28 Published online: 2014-04-28

Abstract

AIM: To prospectively evaluate procalcitonin (PCT) as a marker for the detection of biliary tract infection in patients with biliary tract obstruction.

METHODS: Forty-five patients were divided into two groups based on results of bile cultivation. Blood samples were collected for measuring PCT, CRP, and WBC when patients were admitted.

RESULTS: Of the 45 patients, 14 had biliary tract infection and 31 did not have. PCT level was significantly higher in the culture positive group (7.15 ng/L ± 10.06 ng/L) as compared to the culture negative group (0.29 ng/L ± 0.38 ng/L) (P < 0.05), while there were no statistical significances in CRP and WBC between the two groups.

CONCLUSION: This study showed that PCT could be used as a marker to detect biliary tract infection promptly.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Procalcitonin; Biliary tract obstruction; Infection

Duan J, Li ZT, Zeng Z, Zou WX, Huang Z, Peng SS. Serum procalcitonin measurement for detection of biliary infection in patients with biliary tract obstruction. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(12): 1739-1742 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1739.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i12.1739

摘要

目的: 探讨通过检测血清降钙素原(procalcitonin, PCT)评估胆道梗阻患者是否存在隐匿性胆道感染的价值.

方法: 胆道梗阻而无胆管炎临床发作的45例患者患者术前抽取血清检测降钙素原、C反应蛋白(C-reactive protein, CRP)、白细胞(white blood cell, WBC)计数, 术中留取胆汁培养; 按照胆汁培养结果分为胆道感染组和非感染组, 两组间统计分析降钙素原有无差异.

结果: 本研究45例患者, 其中感染组(14例), 对照组(31例), 在感染组PCT检测值为7.15 ng/L±10.06 ng/L, 较对照组(0.29 ng/L±0.38 ng/L)明显升高, 两组均值差异有统计学意义(P<0.05).

结论: 降钙素原可作为胆道隐性感染的敏感、准确、及时预测指标.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 降钙素原; 胆道疾病; 感染

核心提示: 胆道感染并发急性化脓性胆管炎是造

■背景资料
胆道感染是胆系结石、胆管肿瘤及其他胆管疾病最常见的并发症, 急性化脓性胆管炎是造成全身炎性反应综合征、脓毒症、多脏器功能不全和患者死亡的重要原因之一. 大量研究表明血清降钙素原(procalcitonin, PCT)在细菌所致的败血症、肺部感染、尿路感染、骨科感染、儿科细菌性脑膜炎等系统感染中均能特异性升高, 通过PCT早期预测和诊断胆道感染和早期抗感染治疗具有重要临床意义.

■同行评议者
秦建民, 主任医师, 上海中医药大学附属普陀医院普外科

■相关报道
Brunkhorst等研究发现降钙素原对于早期识别胆源性胰腺炎具有重要意义，有利于早期抗感染治疗，从而避免了急性梗阻性化脓性胆管炎的发生而引起的全身炎性反应综合征和多脏器功能不全.

成全身炎性反应综合征、脓毒症、多脏器功能不全和患者死亡的重要原因，本文通过对比研究血清降钙素原(procalcitonin, PCT)、C反应蛋白(C-reactive protein)、白细胞(white blood cell)在早期诊断胆道隐匿性感染之间的差异，讨论PTC早期诊断胆道感染的优点，通过PCT早期预测和诊断胆道感染和早期抗感染治疗，可有效防止严重并发症的发生，明显缩短住院时间及降低治疗费用.

段键，李智涛，曾仲，邹文香，黄智，彭沙沙. 血清降钙素原预测胆道梗阻患者的胆道感染. 世界华人消化杂志 2014; 22(12): 1739-1742 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1739.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i12.1739

0 引言

胆道感染(biliary tract infection, BTI)是胆系结石、胆管肿瘤及其他胆管疾病最常见的并发症，也是造成全身炎性反应综合征(systemic inflammatory response syndrome, SIRS)、脓毒症(sepsis)、多脏器功能不全(multiple organ dysfunction syndrome, MODS)和死亡的重要原因之一. 因此，胆道感染的早期诊断和有效的预治措施具有重要的临床意义. 有临床胆管炎发作的胆道感染较易诊断，但此时多已并发多系统感染，故在胆管炎尚未发作时能够及时诊断并抗感染治疗，将缩短抗感染疗程、减轻病情. 然而在无胆管炎临床表现的胆道梗阻患者，很难通过体格检查、血常规、影像学等常规检查判定其是否有胆道感染. 而术中抽取胆汁进行培养，取得结果至少需要24-48 h. 如果医生在这期间预防性应用抗生素，将增加无感染患者的医疗费用，并增加耐药菌株的产生. 而如果未及时使用抗生素也将导致感染患者病程迁延甚至病情的进一步发展. 如果能通过敏感检测手段早期发现胆道感染，既能缩小抗生素适用范围，又能更早地针对性抗感染治疗. 血清降钙素原(procalcitonin, PCT)已被证实可作为细菌感染的蛋白标志物[1]. PCT在机体受到刺激后2-6 h即开始增加，而且其在3 h即能完成检测，远远短于培养所需要的时间[2].

本研究的目的在于评估以PCT水平鉴别因胆道梗阻入院而无临床胆管炎发作的患者有无隐匿性胆道感染. 评价PCT能否作为判断胆道梗阻患者有无隐匿性胆道感染的准确指标.

1 材料和方法

1.1 材料 选择2011-07/2013-07因胆道梗阻收入我院器官移植科，并进行手术治疗(包括开放手术和介入手术)的成年患者纳入研究范围. 胆道梗阻定义为影像学资料证实的各种原因所致的胆道扩张，伴或不伴胆红素升高. 胆道感染定义为胆汁培养阳性.排除标准包括：年龄<18岁、入院时发热(体温>38 ℃)、入院时血培养阳性、合并肝硬化、入院时急性右上腹痛、查体有腹膜炎表现、入院前近期(2 wk内)使用抗生素者以及入院后至抽取胆汁前因胆管炎发作而使用抗生素者. 入院后立即抽取血样检验PCT、C反应蛋白(C-reactive protein, CRP)、白细胞(white blood cell, WBC)计数、血培养(需氧、厌氧). 术中抽取胆汁进行需氧和厌氧培养. PCT行免疫发光定量检测，PCT检测均在我院检验科完成. 培养、CRP检测、WBC计数均按常规方法进行.

每位入选患者均记录年龄、性别、病史及前期抗感染史. 实验室资料收集包括PCT、CRP、WBC计数. 血液微生物培养、胆汁微生物培养.

所入院患者共45例，女性14例，男性31例. 其中恶性肿瘤所致梗阻21例，包括胆管癌8例，胆囊癌2例，胰头癌2例，其他部位肿瘤转移所致胆道梗阻9例；良性疾病所致梗阻24例，包括胆道结石21例，胆道狭窄1例，先天性胆管囊性扩张症2例. 年龄27-82岁，平均54.7岁.

1.2 方法 患者按照胆汁培养结果分为2组，胆汁培养阳性为感染组，胆汁培养阴性为非感染组(对照组). 组间进行年龄、总胆红素水平、PCT均值、CRP均值、WBC均值及性别比分析.

统计学处理 采用SPSS17.0统计软件包进行统计学分析. 正态计量资料用mean±SD表示，分别采用两独立样本t检验和两独立样本4格表卡方检验. P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

45例成年患者均为单次入选，男性31例，女性14例，性别比例无统计学意义(P>0.05). 年龄范围为18-82岁，感染组年龄53.93岁±6.20岁，对照组组平均年龄54.19岁±2.64岁，两组比较差异无统计学意义(P>0.05). 感染组总胆红素水平为102.8 mmol/L±39.80 mmol/L，对照组胆红素均值为120.39 mmol/L±28.26 mmol/L，差异亦无统计学意义(P>0.05)(表1).

感染组CRP 43.85 mg/L±38.25 mg/L，对照组(22.11 mg/L±32.73 mg/L)；感染组WBC(7.23×10^9/L±2.74×10^9/L)，对照组WBC(7.11×10^9/L

■创新盘点
胆道感染所带来的严重并发症越来越受关注，血清降钙素原一直是研究热点，本文通过对比了PTC、WBC、CRP早期诊断胆道隐匿性感染之间的差别及特点，讨论了PTC早期诊断胆道感染的优点，有助于早期控制感染，防止严重并发症的发生，同时明显缩短住院时间及降低治疗费用.

表 1 两组患者一般情况比较 (mean ± SD)

资料项目	对照组	感染组	*P*值
性别			
男	18	12	
女	13	2	>0.05
年龄(岁)	54.19 ± 2.64	53.93 ± 6.20	>0.05
总胆红素(mmol/L)	120.39 ± 28.2	102.8 ± 39.80	0.024

表 2 两组检验指标比较 (mean ± SD)

资料项目	对照组	感染组	*P*值
CRP(mg/L)	22.11 ± 32.73	43.85 ± 38.25	<0.05
WBC($\times 10^9$/L)	7.11 ± 2.53	7.23 ± 2.74	>0.05
PCT (ng/L)	0.29 ± 0.38	7.15 ± 10.06	<0.05

CRP: C反应蛋白; WBC: 白细胞; PCT: 血清降钙素原.

±2.53×10^9/L), 两组间CRP比较差异有统计学意义(*P*<0.05)、WBC计数比较差异无统计学意义(*P*>0.05). PCT在感染组(7.15 ng/L±10.06 ng/L), 较对照组(0.29 ng/L±0.38 ng/L)明显升高, 两组均值差异具有统计学意义(*P*<0.05)(表2).

3 讨论

PCT由116个氨基酸所组成, 是由甲状腺C细胞或肺、消化系神经内分泌细胞所分泌的降钙素前体激素原, 在1993首次被提出可作为感染标志物[1,2]. 目前已被证实PCT在细菌所致的败血症、肺部感染、尿路感染、骨科感染、儿科细菌性脑膜炎等系统感染中均能特异性升高[3-6]. PCT在受到刺激后反应迅速, 2-6 h即开始急剧增加, 并在6-24 h内维持高水平[2]. 故相对于血培养, PCT能够快速、动态地反映感染的程度及抗感染效价. 与细胞因子、CRP及WBC等其他炎性标志物不同, PCT血浆浓度术后一般不上升或轻度上升[7], 故其在外科患者的感染评价中具有重要意义.

胆道感染是胆系结石、胆管肿瘤及其他胆管疾病最常见的并发症, 也是造成SIRS、脓毒症、MODS和患者死亡的重要原因之一, 如病情进展为重症胆管炎,则患者死亡率高达11%-27%[8]. 因此, 胆道感染的早期诊断和早期抗感染治疗具有重要临床意义, 有临床症状的胆道感染较易诊断, 但此时多已并发多系统感染.故在尚未发作胆管炎时及时诊断、及时抗感染治疗, 将缩短抗感染疗程、减轻疾病严重程度. 然而在无胆管炎发作的胆道梗阻患者, 很难通过体格检查、血常规、影像学检查判定其是否有胆道感染. 而术中抽取胆汁培养获得结果至少要24-48 h, 在这期间如果医生延长使用抗生素时间, 可导致无感染患者医疗费用的增加及耐药菌株的增多. 而如果未及时使用抗生素则导致感染患者病程迁延甚至病情的恶化. 如果能通过早期检测发现胆道感染, 既能规范抗生素使用, 又能更早地进行针对性抗感染治疗.

早期胆道细菌感染的诊断包括临床检查和CRP、WBC计数、血沉(erythrocyte sedimentation rate, ESR)等实验室指标的综合判断, 但这些指标对于早期诊断缺乏特异性[9]. 本研究预期以降钙素原作为早期诊断胆道感染的指标. 本研究证实: 在胆汁培养阳性组与阴性组患者间CRP比较差异有统计学意义(*P*<0.05)、WBC计数比较差异无统计学意义(*P*>0.05), 故WBC计数无助于胆道感染而无胆管炎临床发作的患者的早期诊断. 而胆汁培养阳性组PCT明显高于阴性组(*P*<0.05), 故可以认为PCT对于早期诊断胆道梗阻性患者胆道感染具有实际意义. 目前PCT对细菌感染鉴别研究主要集中于血液系统、呼吸道、泌尿道等, 在消化系统只有少量文献报道, 而且主要集中于急性阑尾炎、急性胰腺炎、肠梗阻的研究[10-17]. 在临床急性胆管炎症状发作的患者, 其胆汁内的细菌或细菌毒素已经入血, 引起的全身性刺激, 导致PCT会明显升高. CRP作为一个较为敏感的炎症反应指标, 在本研究中感染组(43.85 mg/L±38.25 mg/L)较对照组(22.11 mg/L±32.73 mg/L)明显升高, 差异有统计学意义(*P*<0.05). 目前国内外尚无研究报告证实胆红素水平可对降钙素原水平造成影响. 本研究入选患者均无肝硬化, 我们推测, 在胆道感染尚未发生临床胆管炎症状时, PCT之所以会升高, 是由于肝脏是PCT产生的重要来源之一[18], 胆道细菌或细菌毒素尚未侵入血液, 但能够刺激肝脏产生PCT, 进而引起PCT升高.

总之, 血清降钙素原可作为胆道梗阻患者的一项常规检测, 其可在获得胆汁培养前提早得到胆道感染的证据, 对胆道感染患者的抗感染治疗提供有效指导的指导作用.

■应用要点

本研究对比PTC、WBC、CRP早期诊断胆道隐匿性感染之间的差别, 讨论了PTC早期诊断胆道感染的优点, 有助于早期控制感染, 防止严重并发症的发生.引导读者了解该领域的动态, 为指导临床提供相关的依据.

4 参考文献

1 Assicot M, Gendrel D, Carsin H, Raymond J, Guilbaud J, Bohuon C. High serum procalcitonin concentrations in patients with sepsis and infection. *Lancet* 1993; 341: 515-518 [PMID: 8094770]
2 Dandona P, Nix D, Wilson MF, Aljada A, Love J,

■同行评价
本文立题新意, 科学性较好, 研究严谨, 结果有一定的价值, 对临床工作有实际指导意义.

Assicot M, Bohuon C. Procalcitonin increase after endotoxin injection in normal subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 1994; 79: 1605-1608 [PMID: 7989463]

3 Christ-Crain M, Jaccard-Stolz D, Bingisser R, Gencay MM, Huber PR, Tamm M, Müller B. Effect of procalcitonin-guided treatment on antibiotic use and outcome in lower respiratory tract infections: cluster-randomised, single-blinded intervention trial. *Lancet* 2004; 363: 600-607 [PMID: 14987884]

4 Meynaar IA, Droog W, Batstra M, Vreede R, Herbrink P. In Critically Ill Patients, Serum Procalcitonin Is More Useful in Differentiating between Sepsis and SIRS than CRP, Il-6, or LBP. *Crit Care Res Pract* 2011; 2011: 594645 [PMID: 21687569 DOI: 10.1155/2011/594645.Epub]

5 van Nieuwkoop C, Bonten TN, van't Wout JW, Kuijper EJ, Groeneveld GH, Becker MJ, Koster T, Wattel-Louis GH, Delfos NM, Ablij HC, Leyten EM, van Dissel JT. Procalcitonin reflects bacteremia and bacterial load in urosepsis syndrome: a prospective observational study. *Crit Care* 2010; 14: R206 [PMID: 21083886 DOI: 10.1186/cc9328.Epub]

6 Gendrel D, Raymond J, Assicot M, Moulin F, Iniguez JL, Lebon P, Bohuon C. Measurement of procalcitonin levels in children with bacterial or viral meningitis. *Clin Infect Dis* 1997; 24: 1240-1242 [PMID: 9195090]

7 Bitkover CY, Hansson LO, Valen G, Vaage J. Effects of cardiac surgery on some clinically used inflammation markers and procalcitonin. *Scand Cardiovasc J* 2000; 34: 307-314 [PMID: 10935779]

8 Wada K, Takada T, Kawarada Y, Nimura Y, Miura F, Yoshida M, Mayumi T, Strasberg S, Pitt HA, Gadacz TR, Büchler MW, Belghiti J, de Santibanes E, Gouma DJ, Neuhaus H, Dervenis C, Fan ST, Chen MF, Ker CG, Bornman PC, Hilvano SC, Kim SW, Liau KH, Kim MH. Diagnostic criteria and severity assessment of acute cholangitis: Tokyo Guidelines. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2007; 14: 52-58 [PMID: 17252297]

9 Bates DW, Sands K, Miller E, Lanken PN, Hibberd PL, Graman PS, Schwartz JS, Kahn K, Snydman DR, Parsonnet J, Moore R, Black E, Johnson BL, Jha A, Platt R. Predicting bacteremia in patients with sepsis syndrome. Academic Medical Center Consortium Sepsis Project Working Group. *J Infect Dis* 1997; 176: 1538-1551 [PMID: 9395366]

10 Kafetzis DA, Velissariou IM, Nikolaides P, Sklavos M, Maktabi M, Spyridis G, Kafetzis DD, Androulakakis E. Procalcitonin as a predictor of severe appendicitis in children. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2005; 24: 484-487 [PMID: 15995845]

11 Sand M, Trullen XV, Bechara FG, Pala XF, Sand D, Landgrafe G, Mann B. A prospective bicenter study investigating the diagnostic value of procalcitonin in patients with acute appendicitis. *Eur Surg Res* 2009; 43: 291-297 [PMID: 19672084]

12 Anielski R, Kuśnierz-Cabala B, Szafraniec K. An evaluation of the utility of additional tests in the preoperative diagnostics of acute appendicitis. *Langenbecks Arch Surg* 2010; 395: 1061-1068 [PMID: 19924436 DOI: 10.1007/s00423-009-0565-x.Epub]

13 Markogiannakis H, Memos N, Messaris E, Dardamanis D, Larentzakis A, Papanikolaou D, Zografos GC, Manouras A. Predictive value of procalcitonin for bowel ischemia and necrosis in bowel obstruction. *Surgery* 2011; 149: 394-403 [PMID: 20869092 DOI: 10.1016/j.surg.2010.08.007]

14 Gurda-Duda A, Kuśnierz-Cabala B, Nowak W, Naskalski JW, Kulig J. Assessment of the prognostic value of certain acute-phase proteins and procalcitonin in the prognosis of acute pancreatitis. *Pancreas* 2008; 37: 449-453 [PMID: 18953261 DOI: 10.1097/MPA.0b013e3181706d67]

15 Brunkhorst FM, Eberhard OK, Brunkhorst R. Early identification of biliary pancreatitis with procalcitonin. *Am J Gastroenterol* 1998; 93: 1191-1192 [PMID: 9672373]

16 Bihari D. Monitoring procalcitonin is of value in acute pancreatitis. *BMJ* 2004; 329: 232 [PMID: 15271845]

17 Mofidi R, Suttie SA, Patil PV, Ogston S, Parks RW. The value of procalcitonin at predicting the severity of acute pancreatitis and development of infected pancreatic necrosis: systematic review. *Surgery* 2009; 146: 72-81 [PMID: 19541012 DOI: 10.1016/j.surg.2009.02.013.Epub]

18 Oruc N, Ozutemiz O, Yuce G, Akarca US, Ersoz G, Gunsar F, Batur Y. Serum procalcitonin and CRP levels in non-alcoholic fatty liver disease: a case control study. *BMC Gastroenterol* 2009; 9: 16 [PMID: 19222849 DOI: 10.1186/1471-230X-9-16]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年4月28日; 22(12): 1743-1746
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

预防性胰管支架置入治疗内镜后胰腺炎临床分析280例

钱 东, 郝 芳, 秦鸣放

钱东, 郝芳, 秦鸣放, 天津市南开医院 天津市 300100
作者贡献分布: 钱东负责治疗的实施和论文额撰写; 郝芳负责数据收集; 秦鸣放进行课题指导.
通讯作者: 钱东, 主治医师, 300100, 天津市南开区二纬路122号, 天津市南开医院. nkyywc@126.com
收稿日期: 2013-12-25 修回日期: 2014-03-17
接受日期: 2014-03-19 在线出版日期: 2014-04-28

Prophylactic pancreatic duct stenting for post-ERCP pancreatitis

Dong Qian, Fang Hao, Ming-Fang Qin

Dong Qian, Fang Hao, Ming-Fang Qin, Nankai Hospital of Tianjin, Tianjin 300100, China
Correspondence to: Dong Qian, Attending Physician, Nankai Hospital of Tianjin, 122 Erwei Road, Nankai District, Tianjin 300100, China. nkyywc@126.com
Received: 2013-12-25 Revised: 2014-03-17
Accepted: 2014-03-19 Published online: 2014-04-28

Abstract

AIM: To evaluate the clinical application of pancreatic duct stents in the prevention of post-endoscopic retrograde cholangiopancreatography (ERCP) pancreatitis.

METHODS: From January 2012 to December 2012, we performed pancreatic duct stenting in 141 patients to prevent the occurrence of post-ERCP pancreatitis, and 139 patients who did not undergo pancreatic duct stenting in the same period were used as controls. The same medications were given after ERCP in the two groups. The pancreatic duct stents were removed at the end or 24, 48, 72, 96 h after ERCP when the patient's condition was stable. The incidence of post-ERCP pancreatitis was compared between the two groups.

RESULTS: The incidence of PEP in the pancreatic duct stenting group was significantly lower than that in the control group (2.1% *vs* 10.8%, $P < 0.05$).

CONCLUSION: Pancreatic duct stenting may, to a certain extent, decrease the incidence of post-ERCP pancreatitis and reduce its severity.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Prophylactic pancreatic duct stenting; Endoscopic retrograde cholangiopancreatography; Post-ERCP pancreatitis

Qian D, Hao F, Qin MF. Prophylactic pancreatic duct stenting for post-ERCP pancreatitis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(12): 1743-1746 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1743.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i12.1743

摘要

目的: 研究胰管支架置入在预防内镜后胰腺炎发生中的临床价值.

方法: 选择2009-12/2012-12于我中心行内镜下逆行胰胆管造影术(endoscopic retrograde cholangio pancreatography, ERCP)术后可能出现胰腺炎而行胰管支架植入术的患者141例(支架组)作为研究对象, 与同期未放置胰管支架的139例患者(对照组)进行比较, 支架组分别在手术结束时、术后24、48、72、96 h病情平稳后取出胰管支架, 术后两组使用相同药物治疗, 比较两组术后胰腺炎发生率.

结果: 支架组ERCP术后胰腺炎(post-ERCP pancreatitis, PEP)发生率2.1%(3/141)低于对照组的10.8%(15/139), 支架组无重型胰腺炎发生.

结论: 预防性胰管支架能降低ERCP患者PEP的发生率, 并能减轻PEP的严重程度.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 预防性胰管支架; 内镜下逆行胰胆管造影术; 内镜后胰腺炎

核心提示: 预防性胰管支架置入术是目前预防内镜后胰腺炎发生的一种微创治疗技术, 能有效地降低内镜下逆行胰胆管造影(endoscopic retrograde cholangio pancreatography, ERCP)术后高淀粉酶血症及胰腺炎的发生率, 减轻术后胰腺炎(post-ERCP pancreatitis)的严重程度, 阻断其加重趋势, 临床有很好的预防效果.

钱东, 郝芳, 秦鸣放. 预防性胰管支架置入治疗内镜后胰腺炎临床分析280例. 世界华人消化杂志 2014; 22(12): 1743-1746 URL:

■背景资料
逆行胰胆管造影术(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)是目前广泛应用于肝胆胰外科疾病的重要诊疗技术, 临床操作存在一些并发症, 术后胰腺炎是ERCP术后最常见和最严重的并发症之一, 少数可引起死亡.

■同行评议者
周翔宇, 副主任医师, 泸州医学院附属医院血管甲状腺外科

■研发前沿
内镜术后胰腺炎是ERCP较为常见的并发症，严重者可引起死亡，如何减少ERCP后胰腺炎的发生率是临床医师较为关注的问题和研究方向.

http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1743.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i12.1743

0 引言

内镜下逆行胰胆管造影(endoscopic retrograde cholangio-pancreatography, ERCP)是目前广泛应用于肝胆胰外科疾病的重要诊疗技术, 术后胰腺炎(post-ERCP pancreatitis, PEP)是ERCP术后最常见和最严重的并发症之一, 少数可引起死亡. 本文主要研究2009-12/2012-12于我院行ERCP诊疗时280例可能出现内镜后胰腺炎患者放置胰管支架与否临床情况, 总结分析如下.

1 材料和方法

1.1 材料 选择2009-12/2012-12于天津市南开医院微创外科行ERCP诊疗并属于高危PEP患者280例, 经B超、CT、MRCP证实有内镜指征, 术前血清淀粉酶正常, 排除胆道肿瘤、急慢性胰腺炎、糖尿病及心肺、肝肾功能、凝血机制不全患者. 随机分为对照组与支架组. 两组患者性别及年龄的差异无统计学意义(P>0.05). 具体临床资料如表1: 高危PEP入选标准: (1)患者本身因素如可疑奥狄氏括约肌功能障碍(sphincter oddi disfunction, SOD)、女性、年龄50岁以下、反复发作胰腺炎、肝内外胆管无明显扩张、胆红素正常、壶腹周围憩室和免疫抑制等; (2)操作相关因素如乳头括约肌预切开、胰管内造影剂充盈、ERCP术中插入胰管次数>3次, 胰管括约肌切开、取石失败等. 采用日本FUJINON公司的ED-250电子十二肠镜、标准ERCP造影导管、美国COOK公司标准乳头切开刀、针状切开刀、德国ERBE-ICC80高频电刀、美国BOSTON公司标准及超滑亲水导丝和造影管、机械碎石网篮, 普通取石网篮、取石气囊及美国COOK9-12Fr 1.7 m鼻胆管、3-5Fr胰管支架等.

1.2 方法

1.2.1 操作: 常规内镜准备, 术前空腹8-12 h, 术前30 min肌肉注射山莨菪碱10 mg, 地西泮10 mg, 哌替啶50 mg, 首先进行诊断性ERCP, 了解胆管解剖结构, 在X线以明确胆管情况, 然后将括约肌切开刀深插入胆总管, 行内镜下括约肌切开术(endoscopic sphincterotomy, EST). 胆管结石患者插入网篮于胆管内, 并抖动网篮使结石进入网内, 在网篮完全张开的情形下拉出胆管, 对于泥沙样结石可应用气囊取石, 将气囊置于结石上方, 充气后边下拉边适当注入造影剂, 将结石带出乳头外, 气囊造影有无残余结石, 可行多次取石, 胆管内结石较大, 直径>1.0 cm, 临床评估难以用普通取石网篮及气囊取石时用机械碎石器碎石治疗, 最后插入气囊对胆道结石彻底清理, 并确认结石已取净. 根据临床情况鼻胆管引流. 支架组预防性地置入胰管支架, 放置导丝及支撑管, 沿支撑管用支架推进器将胰管支架缓慢推入至乳头, 出乳头后使用推送器调整镜身、抬举器及大小旋钮, 将胰管支架缓慢沿导丝送到指定位置, 然后退出支撑管及导丝, 退出推进器, 在镜下观察胰液外溢情况, 拍摄X线片. 操作者均为相对固定、有一定经验的医生和护士.

1.2.2 术后处理: 术后24 h禁食水, 监测淀粉酶及生命体征变化, 观察有无腹胀、腹痛、恶心、呕吐等症状及腹部体征. 予抑酸抑酶类药物输液治疗.

1.2.3 PEP诊断标准: 按照1991年Cotton[1]诊断标准: ERCP术后出现持续性的胰腺炎相关性疼痛, 并持续至术后24 h以上, 且血清淀粉酶超过正常上限的3倍. 其中轻度胰腺炎: 需要住院治疗或延长住院时间2、3 d, CT显示正常胰腺形态; 中度胰腺炎: 需要住院治疗或延长住院时间4-10 d, CT显示胰腺肿大或胰周脂肪炎症; 重度胰腺炎, 住院超过10 d, 胰腺坏死或出现蜂窝织炎, 有局部或全身并发症, 需穿刺或外科手术治疗.

统计学处理 采用SPSS13.0软件进行统计分析. 两组术后胰腺炎的发生率均采用百分率表示, 率的显著性差异采用χ^2或Fisher的精确检验; 以α = 0.05为检验水准. P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

分别监测支架组与对照组24 h血尿淀粉酶况, 支架组PEP发生率为2.1%(3/141), 1例中度胰腺炎腺炎, 2例轻度胰腺炎. 对照组PEP发生率为10.8%(15/139), 8例轻度胰腺炎, 5例中度胰腺炎, 2例中度胰腺炎(表2).

7例PEP患者均予中西医结合联合治疗(清胰汤联合生长抑素等抑酶类药物), 术后血尿淀粉酶逐渐恢复正常, 临床症状改善. 对照组中1例重度胰腺炎复查CT发现胰周积液, 行穿刺治疗后逐渐好转. 无死亡病例报道.

根据内镜操作时胰管支架内胰液引流通畅情况, 支架组141例患者中67例内镜操作结束时即拔出胰管支架, 25例术后24 h取出, 19例术后

表 1 临床资料

	对照组	支架组
n	139	141
年龄(平均年龄, 岁)	19–86(56)	20–83(53)
男性/女性	68/71	63/78
胆总管结石	102	111
急性胆管炎	57	52
梗阻性黄疸	45	59
奥狄氏括约肌狭窄	37	30

48 h取出, 18例术后72 h取出, 12例于术后96 h取出支架.

3 讨论

ERCP是目前治疗急性胆管炎、胆总管结石、胆源性胰腺炎等肝胆胰疾病最重要的一项诊疗技术, 仍属于有创治疗, 术中及术后可能潜在出血、穿孔、胰腺炎等相关并发症[2], 其中内镜后胰腺炎是目前临床较常见的术后并发症, 欧洲胃肠内镜医师协会(European Society of Gastrointestinal Endoscopy, ESGE)研究表明PEP的发生率约为3%, 其中90%为轻中度胰腺炎[3]. 本文主要回顾性分析我院行ERCP诊疗的280例高危PEP临床病例, 比较分析预防性胰管支架(prophylactic pancreatic duct stent, PPS)置入在控制PEP方面潜在的优势.

引发PEP的原因主要包括: 胰管显影, 反复胆管插管困难, 行乳头预切开术、胆总管无明显扩张、无明显黄疸、既往胰腺炎病史等. 研究发现胰管显影是最危险的诱因之一, 可能与造影剂注入胰管时, 流体静压升高, 胰液反流至胰腺实质, 胰酶被激活, 破坏胰腺组织有关, 而胰管体部显影比胰头显影更易诱发胰腺炎[4]. 文献表明胰管支架更多的在美国和加拿大等国家应用, 在一些国家仍未普及[5]. 未能普及的原因可能是医师对胰管支架认识不足, 未能意识到偶然胰管插管是引发PEP的一个重要原因, 并且认为放置胰管支架移位后可能更易诱发PEP[6]及引起相关并发症, 如胰管损伤、支架移位等[7-9].

我中心支架组研究的41例预防性胰管支架置入患者均考虑存在潜在高危因素[10], 其中最主要的因素为胰管显影或胰管插管. 在行内镜治疗过程中, 一旦高危因素出现, 随即放置胰管支架, 然后再进行碎石取石等相关其他操作. 部分文献报道预防性高危患者胰管支架置入易诱发中型胰腺炎, 且支架置入失败率约5%-10%, 失败后更易诱发胰腺炎[11], 遂我中心决定胰管支架放置时间应由临床症状改善状况和术中高危因素发生情况决定, 分别在手术结束时及术后24、48、72、96 h将支架取出, 减少支架诱发胰腺炎情况的发生. 根据术中胰管情况, 主要采用3-5 Fr胰管支架, 支架长度约3-5 cm, 能缓解胰管高压, 减少胰酶自身消化, 并且不容易发生支架移位现象. 在支架使用直径上, 目前仍存在争议, 考虑到支架过长不容易置入, 有文献报道采用3 cm长度5 Fr支架效果更好[12]. Freeman等[6]报道了一种改良的支架置入技术, 以解决由于胰管解剖原因造成的支架置入的技术困难, 这种改良技术采用短小支架(2-3 cm, 3-5 Fr), 以 0.018英寸镍钛合金尖端的导丝引导, 支架远端越过胰管括约肌1-2 cm, 可明显提高困难的胰管支架置入成功率, 从而避免了因支架置入失败造成的风险. Rashdan等[13]认为 3、4 Fr胰管支架与传统使用的 5、6 Fr的胰管支架相比, 对于预防ERCP术后胰腺炎更为有效.

表 2 对照组与支架组PEP发生情况%(*n*)

分组	*n*	轻度PEP	中度PEP	重度PEP	合计
对照组	139	8	5	2	15
支架组	141	2	1	0	6

对比术后PEP发生情况, 支架组明显少于对照组, 具有统计学意义. 在胰管支架置入过程中, 无胰管损伤病例报道. 41例患者在术后96 h内全部将胰管支架拔出, 无支架移位、滑脱情况出现, 无死亡病例报道.

预防性胰管支架置入术是目前预防内镜后胰腺炎发生的一种微创治疗技术, 能有效地降低ERCP术后高淀粉酶血症及胰腺炎的发生率, 减轻PEP的严重程度, 阻断其加重趋势, 临床有很好的预防效果. 但目前仍无法评估支架置入失败对可能出现内镜后胰腺炎患者病情的影响, 在胰管支架置入时间的问题上也无定论, 本文坚持尽早拔出的原则, 96 h内将支架全部移除, 但病例相对较少, 还需做进一步多中心、大样本研究.

■创新盘点
通过较大宗病例对比研究证实胰管支架对术后胰腺炎(post-ERCP pancreatitis, PEP)的发生有明显降低和减轻的作用.

4 参考文献

1 Cotton PB, Lehman G, Vennes J, Geenen JE, Russell RC, Meyers WC, Liguory C, Nickl N. Endoscopic sphincterotomy complications and their management: an attempt at consensus. *Gastrointest Endosc* 1991; 37: 383-393 [PMID: 2070995]
2 Nebel OT, Silvis SE, Rogers G, Sugawa C, Mandel-

■同行评价
预防性胰管支架置入术是目前预防内镜后胰腺炎发生的一种微创治疗技术, 临床有很好的预防PEP的效果.

stam P. Complications associated with endoscopic retrograde cholangiopancreatography. Results of the 1974 A/S/G/E survey. *Gastrointest Endosc* 1975; 22: 34-36 [PMID: 1205101]
3 Rey JF, Beilenhoff U, Neumann CS, Dumonceau JM. European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE) guideline: the use of electrosurgical units. *Endoscopy* 2010; 42: 764-772 [PMID: 20635311 DOI: 10.1055/s-0030-1255594]
4 Cheon YK, Cho KB, Watkins JL, McHenry L, Fogel EL, Sherman S, Lehman GA. Frequency and severity of post-ERCP pancreatitis correlated with extent of pancreatic ductal opacification. *Gastrointest Endosc* 2007; 65: 385-393 [PMID: 17321236]
5 Freeman ML. Pancreatic stents for prevention of post-ERCP pancreatitis: for everyday practice or for experts only? *Gastrointest Endosc* 2010; 71: 940-944 [PMID: 20438883 DOI: 10.1016/j.gie.2009.12.043]
6 Freeman ML, Overby C, Qi D. Pancreatic stent insertion: consequences of failure and results of a modified technique to maximize success. *Gastrointest Endosc* 2004; 59: 8-14 [PMID: 14722540]
7 Price LH, Brandabur JJ, Kozarek RA, Gluck M, Traverso WL, Irani S. Good stents gone bad: endoscopic treatment of proximally migrated pancreatic duct stents. *Gastrointest Endosc* 2009; 70: 174-179 [PMID: 19559842 DOI: 10.1016/j.gie.2008.12.051]
8 Badalov N, Tenner S, Baillie J. The Prevention, recognition and treatment of post-ERCP pancreatitis. *JOP* 2009; 10: 88-97 [PMID: 19287099]
9 陈圣开, 王济明, 郑明友. ERCP后胰腺炎危险因素分析与预防. 内分泌外科杂志 2008; 2: 312-315
10 Vandervoort J, Soetikno RM, Tham TC, Wong RC, Ferrari AP, Montes H, Roston AD, Slivka A, Lichtenstein DR, Ruymann FW, Van Dam J, Hughes M, Carr-Locke DL. Risk factors for complications after performance of ERCP. *Gastrointest Endosc* 2002; 56: 652-656 [PMID: 12397271]
11 Tammaro S, Caruso R, Pallone F, Monteleone G. Post-endoscopic retrograde cholangio-pancreatography pancreatitis: is time for a new preventive approach? *World J Gastroenterol* 2012; 18: 4635-4638 [PMID: 23002332]
12 Singh P, Das A, Isenberg G, Wong RC, Sivak MV, Agrawal D, Chak A. Does prophylactic pancreatic stent placement reduce the risk of post-ERCP acute pancreatitis? A meta-analysis of controlled trials. *Gastrointest Endosc* 2004; 60: 544-550 [PMID: 15472676]
13 Rashdan A, Fogel EL, McHenry L, Sherman S, Temkit M, Lehman GA. Improved stent characteristics for prophylaxis of post-ERCP pancreatitis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2004; 2: 322-329 [PMID: 15067627]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊

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

世界华人消化杂志 2014年4月28日; 22(12): 1747-1755
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

中医药治疗肠易激综合征的系统评价/Meta分析的再评价

张 伟, 孙建华, 裴丽霞, 吴晓亮, 周俊灵, 陈 璐

张伟, 南京中医药大学第二临床医学院 江苏省南京市 210023
孙建华, 裴丽霞, 吴晓亮, 周俊灵, 陈璐, 江苏省中医院 江苏省南京市 210029
张伟, 主要从事针灸治疗功能性胃肠疾病效应机制研究.
国家自然科学基金资助项目, No. 81273839
江苏省中医药领军人才基金资助项目, No. LJ200905
作者贡献分布: 本文课题设计由张伟与孙建华完成; 文献检索由裴丽霞与吴晓亮完成; 资料提取由周俊灵与陈璐负责; 资料整理和文献写作由张伟完成; 孙建华审校.
通讯作者: 孙建华, 教授, 主任医师, 博士生导师, 210029, 江苏省南京市汉中路155号, 江苏省中医院. drjhsun@sina.com
电话: 025-86617141
收稿日期: 2014-02-19 修回日期: 2014-03-13
接受日期: 2014-03-18 在线出版日期: 2014-04-28

Traditional Chinese medicine for treatment of irritable bowel syndrome: An overview of systematic reviews and Meta-analyses

Wei Zhang, Jian-Hua Sun, Li-Xia Pei, Xiao-Liang Wu, Jun-Ling Zhou, Lu Chen

Wei Zhang, Second Clinical Medical College, Nanjing University of Chinese University, Nanjing 210023, Jiangsu Province, China
Jian-Hua Sun, Li-Xia Pei, Xiao-Liang Wu, Jun-Ling Zhou, Lu Chen, Jiangsu Province Hospital of TCM, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81273839; Foundation of Chinese Medicine Leading Talents in Jiangsu Province, No. LJ200905
Correspondence to: Jian-Hua Sun, Professor, Chief Physician, Jiangsu Province Hospital of Traditional Chinese Medicine, 155 Hanzhong Road, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China. drjhsun@sina.com
Received: 2014-02-19 Revised: 2014-03-13
Accepted: 2014-03-18 Published online: 2014-04-28

Abstract

AIM: To evaluate the relevant systematic reviews/meta-analyses that focused on the traditional Chinese medicine (TCM) for treatment of irritable bowel syndrome (IBS).

METHODS: Databases including Cochrane Library, PubMed, AMED, EMbase, CBM, CNKI, VIP and WanFang Data were searched from inception to November 2013 to collect the systematic reviews/meta-analyses that focused on the TCM for IBS. Two reviewers screened the literature according to the inclusion criteria and extracted the data. The AMSTAR was used to evaluate the quality of the included studies, and the GRADE system was used to evaluate the quality of evidence.

RESULTS: A total of 14 relevant systematic reviews/meta-analyses were included, of which 10 evaluated the efficacy of Chinese herbal medicine and 4 evaluated acupuncture and Moxibustion. AMSTAR scores were between 2 and 10 points. The results showed that TCM has advantage over conventional medicine in the treatment of IBS; however, the evidence quality is low.

CONCLUSION: This research can provide some references for TCM treatment of IBS. Based on the quality level of GRADE evidence, the evidence user should make an evidence-based decision according to the real condition. TCM clinical research should, based on its own characteristics, select the appropriate research design methods, further develop high-quality clinical studies for the evaluation of Chinese medicine treatment of IBS and provide the high-quality evidence.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Traditional Chinese Medicine; Irritable bowel syndrome; Systematic Review; Meta-analysis; GRADE; Overview

Zhang W, Sun JH, Pei LX, Wu XL, Zhou JL, Chen L. Traditional Chinese medicine for treatment of irritable bowel syndrome: An overview of systematic reviews and Meta-analyses. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(12): 1747-1755 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1747.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i12.1747

摘要

目的: 对中医药治疗肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)的系统评价/Meta分析进行再评价研究.

方法: 计算机检索Cochrane Library、PubMed、

■背景资料
随着社会发展、生活节奏的加快和膳食结构的改变等, 肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)的发病率逐渐升高, 由于其发病机制仍不明确, 现代医学尚无有效的治疗方法, 而中医临床研究和系统评价表明中医药治疗IBS的特色和优势, 其疗效和作用机制受到了国内外专家学者肯定.

■同行评议者
袁建业, 副研究员, 上海中医药大学附属龙华医院/脾胃病研究所

■研发前沿
系统评价再评价是一种新兴的综合研究方法，其核心是针对当前多个相关系统评价证据进行综合研究，为证据使用者提供更为集中的高质量证据. 国内外已公开发表多篇关于中医药治疗IBS的系统评价/Meta分析文章，由于单个研究的方法学质量和局限性，尚缺乏再评价研究.

AMED、EMbase、CBM、CNKI、VIP和WanFang Data, 收集中医药治疗IBS的系统评价/Meta分析文章, 检索时限均从建库至2013-11. 由2位研究者按照纳入标准独立筛选文献、提取资料后, 采用AMSTAR评价纳入研究质量, 同时采用GRADE系统对主要研究结果进行证据质量分级.

结果: 共纳入14个相关系统评价/Meta分析, 10篇研究评价了中草药疗效, 4篇研究评价了针灸疗法, AMSTAR评分在2-10分之间, 再评价主要结果显示, 中医药治疗IBS较常规西药具有一定优势, 但证据质量等级普遍较低.

结论: 本研究为中医药临床治疗IBS提供一定参考, 但基于GRADE证据质量等级, 建议证据使用者根据临床实践的具体情况进行循证决策. 此外, 中医药临床研究需根据自身特点, 选择合适的研究设计方法, 进一步开展高质量的临床研究, 为评价中医药治疗IBS的临床疗效提供高质量的证据.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 中医药; 肠易激综合征; 系统评价/Meta分析; GRADE; 系统评价再评价

核心提示: 中医药临床研究需根据自身特点, 选择合适的研究设计方法, 进一步开展高质量的临床研究, 为评价中医药治疗IBS的临床疗效提供高质量的证据.

张伟, 孙建华, 裴丽霞, 吴晓亮, 周俊灵, 陈璐. 中医药治疗肠易激综合征的系统评价/Meta分析的再评价. 世界华人消化杂志 2014; 22(12): 1747-1755 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1747.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i12.1747

0 引言

肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)是一种常见的功能性肠病, 主要以腹痛或腹部不适伴排便习惯改变和/或大便性状异常为主, 缺乏可解释症状的形态学改变和生化异常, 在中国, IBS的发病率为4%-9%[1-3], 而在欧美国家则高达10%-20%[4,5], 随着社会节奏及生活方式的改变, IBS的发病逐渐上升. 在消化疾病门诊, IBS患者占1/3以上, 该病症可影响全世界所有人种, 严重影响了患者学习、生活和工作, 对生活质量产生了不同程度的影响. 随着时间的推移, IBS的症状可时隐时现, 导致了较多患者经常服药, 花费较高的门诊和住院费用及诊断检查的费用, 同时也因症状反复发作而旷工、旷课造成间接的经济损失. 目前, 关于IBS的病因及发病机制尚不明确, 可能涉及胃肠动力障碍、内脏高敏感性、炎症免疫功能失调、脑-肠轴功能异常等[6]. 现代医学对于IBS的治疗主要针对临床症状选择相应的药物, 但由于发病机制复杂并且药物存在不良反应和安慰剂效应[7-9], 西方国家超过50%的患者寻求西药治疗后症状改善并不明显, 以至于补充和替代疗法越来越受到患者和临床医师的关注, 其中就包括中草药和针灸等传统中医药疗法[10,11].

系统评价再评价(overviews of reviews)是全面收集同一疾病或同一健康问题治疗和诊断等方面的相关系统评价进行再评价的一种综合研究方法, 其可为证据使用者提供更为集中的高质量证据[12]. 截至目前, 国内外已公开发表多篇关于中医药治疗IBS的系统评价/Meta分析文章, 由于单个研究的方法学质量和局限性, 尚缺乏再评价研究. 因此, 本研究的目的在于收集此类系统评价/Meta分析文献进行再评价研究, 并运用GRADE系统对主要研究结果进行证据质量分级, 为证据使用者提供参考.

1 材料和方法

1.1 材料 计算机检索Cochrane Library、PubMed、EMabse、AMED、中国生物医学文献数据库(Chinese Biomedical Literature Database, CBM)、中国知网(China National Knowledge Infrastructure, CNKI)、维普(VIP Database)和万方医药期刊数据库(Wan-fang database), 文献检索时限均为建库至2013-11. 根据不同的数据库, 采取主题词和自由词检索相结合的方式[Cochrane Library(MeSH), Pubmed(MeSH), EMbase(EMTREE), CBM(主题词)], 并根据数据库调整, 此外追索已纳入文献和相关综述的参考文献. 检索策略中不制定干预措施的检索, 中文检索词包括: 肠易激综合征、肠应激、系统评价、Meta分析、荟萃分析、循证分析; 英文检索词包括: Irritable bowel syndrome、Irritable colon、Systematic reviews、Meta analysis. 以CBM和Cochrane Library为例检索策略如表1.

1.2 方法

1.2.1 纳入标准: (1)中医药疗法作为主要干预措施治疗IBS的系统评价或Meta分析, 且系统评价中至少纳入1项随机对照试验(randomized controlled trial, RCT), 文种限中/英文; (2)原始研究对象为IBS患者或者根据国内外相关诊断标准, 只

表 1 文献检索策略

CBM检索策略	Cochrane Library检索策略
#1: 缺省[智能]: 肠易激综合征	#1: Irritable bowel syndrome
#2: 主题词: 肠易激综合征/全部树/全部副主题词	#2: Irritable bowel syndrome[MeSH Terms]
#3: 缺省[智能]: 肠应激	#3: Irritable colon
#4: 缺省[智能]: Meta分析	#4: Meta analysis
#5: 主题词: Meta分析/全部树/全部副主题词	#5: Meta–Analysis[MeSH Terms]
#6: 缺省[智能]: 系统评价	#6: Meta–Analysis[Publication Type]
#7: 缺省[智能]: 荟萃分析	#7: Systematic review
#8: 缺省[智能]: 循证评价	#8: #1 OR #2 OR #3
#9: #1 OR #2 OR #3 OR #4	#9: #4 OR #5 OR #6 OR #7
#10: #4 OR #5 OR #6 OR #7 OR #8 OR #9	#10: #8 AND #9
#11: #9 AND #10	

■相关报道
临床试验研究属于原始研究, 当针对同一临床问题的多个临床试验出现时, 系统评价/Meta分析综合了多个高质量临床研究结果, 可信度更高, 而系统评价再评价则从更高层面对系统评价/Meta分析证据进行综合, 证据更加凝练, 临床实用性更强. 杨克虎教授发表的多篇文章, 详实地介绍了系统评价再评价发展和制作方法.

研究腹泻型、便秘型或混合型等4型中任何1型的IBS, 性别及种族不限; (3)干预措施主要以中医药疗法为主, 包括中草药(中药复方、单味中药、中成药或中药提取物等)、针灸(针刺、艾灸、穴位贴敷或耳针等)和推拿等; (4)重复发表的文献选择资料详细或最新出版的1篇; (5)会议论文等灰色文献符合上述标准均可纳入分析.

1.2.2 排除标准: (1)不同中医药疗法干预措施种类之间的比较研究(例如: 中草药与针灸、中药复方与中成药等); (2)系统评价的质量评价或方法学研究; (3)会议摘要和评论.

1.2.3 文献筛选与资料提取: 2位研究者独立阅读文题和摘要, 在排除明显不符合纳入标准的研究后, 对可能符合纳入标准的文献阅读全文, 如有争议则通过讨论解决或由第3位研究者裁决. 资料提取的项目主要有以下内容: 篇名、作者、出处、研究对象、纳入标准、排除标准、治疗组干预措施、对照组干预措施、疗程、文献质量评价方法、疗效指标、不良事件等. 按照资料提取表格提取完成后, 2名研究者进行交叉核对.

1.2.4 文献质量和证据质量评价: 采用AMSTAR(A Measurement Tool to Assess Systematic Reviews)对符合纳入标准的系统评价/Meta分析进行方法学质量评价. AMSTAR量表共11项评价条目, 每个评价条目的评语选项有“是”、“否”、“不清楚”、“未采用”, 对于每一条目, 回答为“是”者记为1分, 其余评价结果记为0分, 共11分[13]. AMSTAR量表得分0-4分者被认为是低质量, 5-8分者被认为是中等质量, 9-11分者被认为是高质量. 应用GRADE(Grade of Recommendation, Assessment, Development, and Evaluation)方法对系统评价纳入研究的主要结局指标的证据质量等级. 证据质量分级如下: (1)高质量(我们非常确信真实疗效接近估计疗效); (2)中等质量(对估计疗效信心一般: 真实疗效有可能接近估计疗效, 但也有可能差别很大); (3)低质量(我们对疗效估计的信心有限: 真实疗效可能与估计疗效有很大差别); (4)极低质量(我们对疗效的估计几乎没有信心: 真实疗效与估计疗效可能有很大差别).

2 结果

2.1 文献检索 初检出文献977篇, 通过文献管理软件(EndNote X6)剔除重复文献552篇, 阅读文题及摘要排除综述、非系统评价文献等不符合纳入标准的文献368篇, 初步纳入57篇文献, 进一步查阅全文, 排除系统综述13篇, 会议论文与期刊论文重复文献4篇, 文献质量评价文章8篇, 干预措施不符合标准的系统评价/Meta分析文章17篇, 研究评论1篇, 最终纳入文献14篇[14-27]. 14篇文献中, 英文文献7篇[14-20], 包括Cochrane系统评价2篇[14,19], 中文文献7篇[21-27], 文章的发表年代在2006-2013年之间. 文献筛选流程如图1.

2.2 纳入文献基本特征和质量评价 纳入的14篇文献中, 共有10篇系统评价/Meta分析[14-18,23-27]评价了中草药治疗IBS的有效性和安全性, 纳入分析的中草药包括: (1)中药复方, 其中评价较多的为痛泻药方; (2)中药提取物, 姜黄素、延胡索属、薄荷油等; (3)草药复方制剂(STW5、STW5-Ⅱ), 藏药复方制剂(Padma Lax). 4篇文章[19-22]对针灸疗法治疗IBS的有效性和安全性做了评价, 其中1篇文章[20]主要评价了艾灸的疗效. 采用AMSTAR对14篇文献进行方法学质量评价,

■创新盘点

近几年国内外公开发表的多篇关于中医药治疗IBS的系统评价/Meta分析文章, 虽然相比西药或其他疗法, 具有疗效优势, 但多数研究并未对研究结果进行证据评价. 本次研究的目的除了收集此类系统评价/Meta分析文献进行再评价研究, 同时运用GRADE系统对主要研究结果进行证据质量分级, 为证据使用者提供参考.

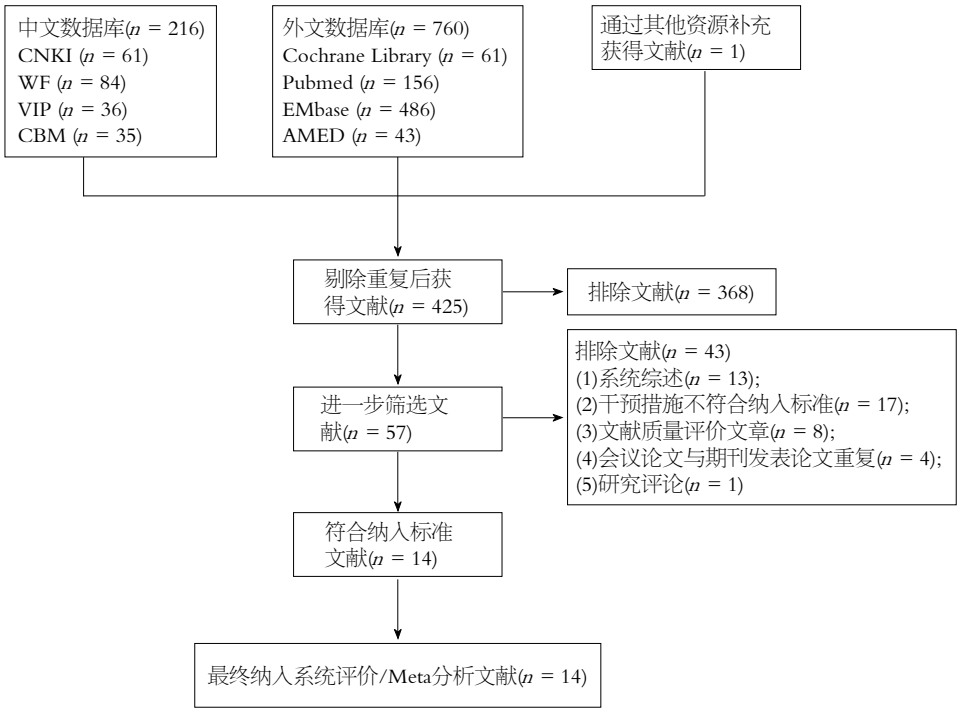


图 1 文献筛选流程图.

总分在2-10分之间, 高质量文献6篇, 中等质量文献3篇. 纳入文献具体信息如表2.

2.3 再评价结果

2.3.1 中药复方: 9篇研究评价了中药复方治疗IBS的有效性和安全性, 其中Cochrane系统评价1篇, 各研究结果结果均提示中药复方相比常规西药或安慰剂, 治疗IBS具有一定临床疗效, 但由于各系统评价/Meta分析纳入的研究质量较低, GRADE证据等级评价为“低质量”或“极低质量”. 在中药复方的研究中, 评价较多的为痛泻药方, 该方出自《景岳全书》引刘草窗方, 由白术、芍药、陈皮、防风组成, 中医理论认为IBS的病机主要是肝郁脾虚所致的腹痛泄泻, 而痛泻药方的诸药合用能起到补中寓疏、泻肝补脾, 调和气机, 则痛泻可止的作用, 该方治疗IBS的机制研究已经发现其具有调节结肠肠嗜铬细胞(enterochromaffin cell, EC)和5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)的含量, 减弱脊髓背角神经元兴奋性, 从而提高内脏痛阈, 减轻肠道过敏[28,29]. 2篇研究主要评价了痛泻药方与常规西药相比治疗IBS的有效性, AMSAR评分为7分和9分, Meta分析结果显示痛泻药方相比西药, 治疗IBS具有一定优势, 但鉴于纳入原始研究的局限性等降级因素, GRADE证据评定为“低质量”.

2.3.2 中药提取物: 共有2篇研究分别评价了中草药提取物(姜黄素、延胡索属和薄荷油)与安慰剂相比治疗IBS的临床疗效, 其中评价姜黄素及延胡索属与安慰剂相比治疗IBS的临床疗效研究均来自同一临床试验, 该项研究采取随机、双盲、安慰剂对照的临床研究方法, 方法学质量较高, 但结果发现与安慰剂相比, 2种中草药提取物未显示治疗作用. 虽然该临床试验方法学质量较高, 但存在不精确性(样本量小)和存在发表性偏倚等降级因素, GRADE证据质量等级为“低质量”. 1篇系统评价纳入了9项关于薄荷油治疗IBS的临床研究, 该9项研究的研究的地点均在国外, 对其中5项研究进行Meta分析后, 结果发现相比于安慰剂, 薄荷油对于IBS患者总的临床疗效和腹部疼痛改善具有一定效果, 相关药理实验已表明其作用类似于二氢吡啶类钙离子拮抗剂, 通过干扰钙离子通道松弛平滑肌, 改善胃肠道功能[30]. 在安全性评价方面, 薄荷油组IBS患者不良事件发生率为22%, 安慰剂组为13%, 两组差异具有统计学意义(RR = 1.73, 95%CI: 1.27-2.36), 不良事件主要有胃灼热、口干、嗳气、头痛等, 但这种不良反应短暂出现, 不影响患者继续接受治疗.

2.3.3 草药复方制剂: 1篇Cochrane系统评价分析了草药制剂STW5/STW5-Ⅱ和Padma Lax与安慰剂相比分别治疗D-IBS和C-IBS的有效性和安全性. STW5是一种由9种草药成分组成的复方制剂, 主要包括: 苦屈花、当归根、甘草根、甘菊

表 2 纳入研究基本特征,方法学和证据质量等级评价

纳入研究	n	治疗组干预措施	对照组干预措施	纳入研究质量	结局指标	系统评价/Meta分析主要结果	AMSTAR评分	GRADE分级
Shi[15], 2008	22	中药(中药复方、单味药、中成药或中药提取物)	西药(柳氮磺吡啶、阿米替林、多潘立酮、得舒特、马来酸曲美布汀片、洛哌丁胺等)和安慰剂	4个RCT属于高质量, 其余研究质量较低	临床疗效; 不良反应	1 传统中药治疗IBS具有一定优势 2 中草药提取物姜黄素、延胡索属与安慰剂相比, 临床疗效差异无统计学意义(姜黄素: RR = 0.97, 95%CI: 0.60-1.55; 延胡索属: RR = 1.13, 95%CI: 0.74-1.72)	9	[1]极低质量[1,5] [2]低质量[4,5]
Bian[17], 2006	12	痛泻药方	西药(匹维溴铵、西沙比利、盐酸洛哌丁胺、地芬诺酯等)	低质量	临床疗效	与常规西药相比, 痛泻药方能显著提高治疗IBS的总有效率(RR = 1.35, 95%CI: 1.21-1.50)	8	低质量[1,2,4]
石[25], 2007	32	痛泻药方	西药(苯巳哌定、硝苯地平、阿米替林、洛哌丁胺、谷维素、曲美布汀等)	低质量, Jadad评分0-2分之间	临床疗效、腹泻型IBS临床症状、不良反应	相比常规药物治疗, 痛泻药方具有显著临床疗效(RR = 1.30, 95%CI: 1.22-1.38), 且能改善腹泻型IBS相关症状(RR = 1.33, 95%CI: 1.21-1.45), Meta分析结果存在发表性偏倚.	7	低质量[1,2,4]
苏[27], 2009	163	中草药(文中未具体说明具体方剂)	西药、安慰剂	未评价研究质量	痊愈率、有效率、复发率,腹痛、腹泻、腹胀症状及不良反应	采用定性分析, 中草药质量腹泻型肠易激综合征有明显疗效, 且未发现严重不良反应.	3	无法判断
裴[21], 2012	11	针灸	西药(马来酸曲美布汀、洛哌丁胺、思密达、得舒特等)	低质量	总有效率、症状改善、经济学指标、不良反应	针灸治疗肠易激综合征疗效优于常规西药(RR = 1.27, 95%CI: 1.09-1.49), 其余指标采用定性分析	7	极低质量[1,2,4]
赵[22], 2010	10	针灸	西药	低质量,Jadad评分1-2分之间	临床疗效	针灸组疗效优于西药组(RR = 1.28, 95%CI: 1.20-1.38).	4	极低质量[1,2,4,5]
陈[26], 2008	28	中药(中药复方、单味药、中成药或中药提取物)或联合西药	单纯西药、安慰剂或不予任何干预	低质量	临床疗效	中药(或联合西药)干预的痊愈率、总有效率及复发率均显著优于单纯西药干预; 但对腹痛、腹胀、便秘三大主要症状未见明显优势, 未发现严重不良反应.	2	无法判断
Khanna[18], 2013	9	薄荷油	安慰剂	5篇研究质量较高, 其余研究质量较低	缓解临床症状或腹痛人数, 不良反应	1 薄荷油在缓解IBS临床症状/腹痛方面优于安慰剂(RR = 2.23, 95%CI: 1.78-2.81/RR = 2.14, 95%CI: 1.64-2.79) 2 薄荷油组不良事件发生率为22%, 安慰剂组为13%	9	[1]中等质量[4] [2]中等质量[4]

■应用要点 中医药临床治疗IBS具有一定优势, 但基于GRADE证据质量等级, 建议证据使用者根据临床实践的具体情况进行循证决策.

Park[20], 2013	20	艾灸	常规西药(莫沙必利、洛哌丁胺、匹维溴铵等)	低质量	临床疗效; 不良事件	相比常规药物治疗, 艾灸疗法具有显著临床疗效(RR = 1.33, 95%CI: 1.15–1.55); 不良事件发生数较低.	9	低质量[1,5]
Liu[14], 2006	75	常规中药、草药复方制剂(STW5、STW5-II)、藏药复方制剂(Padma Lax)等	安慰剂、西药(西沙比利、氨磺吡啶)、空白对照	3个研究质量较高, 其余研究质量较低	生活质量、临床症状积分、临床疗效、经济学分析、不良事件	1 常规中药与安慰剂相比, 能够提高临床疗效(RR = 2.15, 95%CI: 1.07–4.32)但在BSS评分方面,无显著差异(WMD = –46.8, 95%CI: –98.55–4.55) 2 STW5/STW5- II 临床疗效及BSS评分改善方面优于安慰剂: (RR = 1.68, 95%CI: 1.00–2.84/RR = 1.90, 95%CI: 1.15–3.14; WMD = –17.90, 95%CI: –28.56––7.24/ WMD = –19.10, 99%CI: –29.35––8.85) 3 Padma Lax与安慰剂相比, 能够提高C-IBS患者临床疗效(RR = 6.35, 95%CI: 1.67–26.57); 增加排便次数(RR = 1.75, 95%CI: 1.02–3.02), 腹痛程度(RR = 2.94, 95%CI: 1.24–7.00).	10	[1]低质量[1,4,5] [2]低质量[1,4,5] [3]极低质[1,2,4,5]
黄[23], 2011	5	疏肝健脾类方剂(痛泻药方加减、疏肝健脾化湿方等)	西药(得舒特、曲美布汀、硝本地平、洛哌丁胺、谷维素等)	低质量, Jadad评分2–3分	临床疗效	疏肝健脾类方剂治疗腹泻型肠易激综合征的疗效优于西药(OR = 6.95, 95%CI: 4.09–11.79), Meta分析结果存在发表性偏倚.	4	极低质量[1,3,4,5]
苏[24], 2009	46	中药复方	空白对照、西药等	采用自制质量评价表评价, 纳入研究质量较低	临床疗效, 安全性评价	以痛泻药方为基本方治疗IBS的疗效优于西药或安慰剂(OR = 5.61, 95%CI: 4.33–7.25), 未见明显不良事件, Meta分析结果存在发表性偏倚.	4	极低质量[1,2,3,4]
Manheime[19], 2012	17	针刺	假针刺、空白对照、西药(双歧杆菌、得舒特等)、心理疗法等	5篇研究质量较高, 其余研究质量较低	IBS量表(IBS-SSS、IBS-AR), 生活质量, 临床疗效,不良事件	1 生活质量改善方面,针刺与假针刺相比无统计学意义(SMD = –0.11, 95%CI: –0.35–0.13; SMD = –0.0 3, 95%CI: –0.27–0.22) 2 针刺临床疗效优于常规西药(RR = 1.28, 95%CI: 1.12–1.45)及空白对照(RR = 2.11, 95%CI: 1.18–3.79) 3 针刺与心理疗法相比, 临床疗效比较无统计学差异(RR = 1.05, 95%CI: 0.87–1.26)	10	[1]中等质量[4] [2]低质量[1,4] [3]极低质量[1,2,4]

■同行评价

本文对已发表的中医药治疗IBS的系统评价/Meta分析进行了再评价研究, 分析细致, 研究方法可靠, 并且对目前国内发表中医药类系统评价的方法学质量和中医药临床研究设计做了探讨, 文章的科学性、创新性和可读性较好, 对指导临床及科研具有一定参考价值.

Li[16], 2013	19	中药复方(疏肝类方剂)	常规西药(替加色罗、莫沙必利、聚乙烯二醇等)	低质量	痊愈率、有效率、复发率、不良事件	1 在痊愈率评价方面,疏肝类中药复方优于常规西药(OR = 2.61, 95%CI: 1.93-3.52) 2 疏肝类中药复方治疗C-IBS, 症状复发率较低(OR = 0.19, 95%CI: 0.12-0.29), 漏斗图发现存在发表性偏倚 3 中药复方不良事件发生率较常规西药低(OR = 0.24, 95%CI: 0.09-0.65)	9	[1]低质量[1,4] [2]极低质量[1,4,5] [3]低质量[1,5]

GRADE降级因素: [1]研究局限性; [2]不一致性; [3]间接性; [4]不精确性; [5]发表偏倚.

花及薄荷叶等[31], 而STW5-Ⅱ是对STW5改进后只含5种草药成分, 动物实验已经发现STW5具有降低肠传入神经的敏感性, 对5-HT诱导的小肠传入神经电活动的增加具有降低趋势[32]. 纳入研究的Meta分析结果显示, 与安慰剂相比, STW5/STW5-Ⅱ对于IBS患者临床疗效和BSS量表评分的改善方面具有一定疗效, 在不良事件发生方面, 在STW5/STW5-Ⅱ组中, 有5例患者出现便秘情况, 但这种不良事件只是短暂发生, 不影响继续治疗, 由于该篇系统评价中只纳入1项关于STW5/STW5-Ⅱ治疗IBS的临床研究, 受研究不精确性和可能存在发表性偏倚的影响, GRADE证据等级为“低质量”. Padma Lax是由15种草药和矿物质组成的复发胶囊剂, 包括芦荟提取物、防己根、诃子果、荜拔、马钱种子等, Liu等[14]发表的Cochrane系统评价中, 纳入了1篇关于Padma Lax治疗C-IBS的临床研究, Meta分析结果发现, Padma Lax在临床疗效(RR = 7. 24, 95%CI: 1.67-31.42)、自主排便次数(RR = 1. 75, 95%CI: 1.02-3.02)及腹痛程度(RR = 2.94, 95%CI: 1.24-7.00)改善方面优于安慰剂. 在不良事件方面, 10例出现头痛、恶心和腹泻等不良反应, 1例出现眩晕、呼吸急促和胸痛等反应, 但在24 h内缓解. 在GRADE证据分级方面, 由于该篇研究受不一致性(可信区间较宽)、不精确性(样本量小)和存在发表性偏倚等降级因素, 证据等级为“极低质量”.

2.3.4 针灸: Manheime等发表的1篇针刺治疗IBS的Cochrane系统评价中, 分别进行了针刺与假针刺, 或针刺与常规西药等干预措施的疗效比较和安全性评价研究, 从其的研究结果来看, 针刺疗法对于IBS患者的临床症状评分和生活质量改善方面与假针刺相比无统计学差异, 虽然纳入的研究在研究设计或实施上存在较小偏倚, 但由于纳入Meta分析的样本量较小(<400例), 不符合最优样本量(optimal information size, OIS)标准, 存在不精确性, 所以GRADE证据等级为“中等质量”; 针刺与常规西药的Meta分析结果与国内2篇研究的结果一致, 均提示针刺在改善IBS临床疗效方面由于常规西药, 但由于纳入的原始研究存在偏倚风险, GRADE证据质量分级为“低质量”. Park等[20]纳入了7项关于艾灸与西药相比治疗IBS的临床研究, Meta分析结果显示艾灸疗法在临床有效率方面优于常规西药(RR = 1.33, 95%CI: 1.15-1.55), 但由于纳入研究方法学方面的局限性, GRADE证据质量分级为“低质量”. 在不良事件方面, 4篇系统评价纳入的原始研究相关报道较少, 仅1项研究[33]在治疗过程中, 受试者出现晕针现象.

3 讨论

IBS属于现代医学的病名, 根据其临床症状表现在中医学中可归属于“泄泻”、“腹痛”、“郁症”等范畴, 《医方考》指出: “泻责之脾, 痛责之肝, 肝责之实, 脾

责之虚, 脾虚肝实故令痛泻”. 从本研究的结果来看, 相比目前临床常用的阳性药物, 传统中医药治疗IBS具有一定优势, 但基于原始研究方法学方面的局限性, 使得结果证据质量等级较低, 疗效的评估结果可信度较低, 而相关中药提取物或草药复方制剂, 由于剂型和制备工艺的改变, 临床研究中能较好的控制偏倚, 在理想条件下更容易得到一种“净效应”, 从而受到国外研究者的推崇. 在纳入分析的诸多中药提取物或草药制剂中, 结合系统评价/Meta分析结果及GRADE证据质量等级评定, 薄荷油是目前证据质量较高的一种治疗IBS的中药提取药物, 有学者也提出这种中药西用的研究模式可能也是未来中医药发展的趋势之一[34], 但如何处理好辨证论治和中药现代研究的主次关系值得进一步探讨.

本次研究纳入的14篇系统评价/Meta分析文章, 中文期刊公开发表7篇, AMSTAR总体评分4.42分±1.90分, 英文期刊公开发表7篇, 总体评分9.14分±0.69分, 两者之间差异有统计学意义(MD = -4.72, 95%CI: -6.22--3.22), 相比英文期刊发表的系统评价/Meta分析文章, 国内中文期刊发表此类文章方法学质量较低. 之前, 国内多位学者曾对国内期刊公开发表的中医药干预类系统评价/Meta分析的方法学做了评价研究[35-37], 研究结果均发现国内发表的相关文章存在文献检索不全、选择性偏倚控制不佳、数据合并方法准确性不高等问题, 严重影响了最后结果的可信性. 高质量的系统评价/Meta分析是循证医学获取最佳证据的重要来源之一, 也是中医药临床决策最佳依据之一, 为此有待提高国内发表中医药类系统评价的方法学质量. 同时中医药的临床治疗是一个复杂的干预过程, 是一种综合多样性的治疗体系, 西医经典的解释性随机对照试验(explanatory randomized controlled trials, ERCT)的设计模式很难满足中医药临床辨证论治和个体化诊疗模式等临床研究需要. 国内中医界的临床方法学家提倡在中医的临床研究中, 先进行临床治疗方案与治疗方案间的比较, 在确定了中医治疗效果后, 再逐步深化研究干预方法的净效应[38], 并且根据研究目的尝试多种临床研究设计方案, 包括队列研究等观察性研究方法[39], 从而更为客观的评价中医药疗法的防治效果. 近几年, 随着医学研究从群体治疗向个体治疗的发展以及临床科研设计方法学研究的深入, 效果比较研究(comparative effectiveness research, CER)越来越受到医学研究者的关注, CER考虑了不同患者的个体情况和复杂干预方案, 符合真实世界的中医药临床科研, 将其设计融入到中医的临床研究设计中, 适合中医药辨证论治和个体化诊疗的特点, 彰显了中医药的特色和优势, 也必将为中医药治疗IBS提供更高质量的证据[40].

总之, 本研究为中医药临床治疗IBS提供一定参考, 但基于GRADE证据质量等级, 建议临床医师根据临床实践的实际情况进行循证决策. 此外, 建议在今后对该疾病的临床研究中, 研究者可根据干预措施的特点和研究目的, 选择合适的研究设计方法, 进一步开展高质量的临床研究, 以期为评价中医药治疗IBS的临床疗效提供可靠的结论.

4 参考文献

1 Zhao Y, Zou D, Wang R, Ma X, Yan X, Man X, Gao L, Fang J, Yan H, Kang X, Yin P, Hao Y, Li Q, Dent J, Sung J, Halling K, Wernersson B, Johansson S, He J. Dyspepsia and irritable bowel syndrome in China: a population-based endoscopy study of prevalence and impact. *Aliment Pharmacol Ther* 2010; 32: 562-572 [PMID: 20497141 DOI: 10.1111/j.1365-2036]

2 Dong YY, Zuo XL, Li CQ, Yu YB, Zhao QJ, Li YQ. Prevalence of irritable bowel syndrome in Chinese college and university students assessed using Rome III criteria. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 4221-4226 [PMID: 20806442 DOI: 10.3748/wjg.v16.i33.4221]

3 Lau EM, Chan FK, Ziea ET, Chan CS, Wu JC, Sung JJ. Epidemiology of irritable bowel syndrome in Chinese. *Dig Dis Sci* 2002; 47: 2621-2624 [PMID: 12452405 DOI: 10.1023/A: 1020549118299]

4 Krogsgaard LR, Engsbro AL, Bytzer P. The epidemiology of irritable bowel syndrome in Denmark. A population-based survey in adults ≤50 years of age. *Scand J Gastroenterol* 2013; 48: 523-529 [PMID: 23506174 DOI: 10.3109/00365521.2013.775328]

5 Saito YA, Schoenfeld P, Locke GR. The epidemiology of irritable bowel syndrome in North America: a systematic review. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 1910-1915 [PMID: 12190153 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2002.05913.x]

6 Karantanos T, Markoutsaki T, Gazouli M, Anagnou NP, Karamanolis DG. Current insights in to the pathophysiology of Irritable Bowel Syndrome. *Gut Pathog* 2010; 2: 3 [PMID: 20465787 DOI: 10.1186/1757-4749-2-3]

7 Duracinsky M, Chassany O. [How can an effective drug to treat irritable bowel syndrome be successfully developed?]. *Gastroenterol Clin Biol* 2009; 33 Suppl 1: S26-S34 [PMID: 19303535 DOI: 1016/S0399-8320(09)71522-2]

8 Lucak S. Irritable bowel syndrome and ischemic colitis: evidence supporting the increased use of alosetron. *Therap Adv Gastroenterol* 2012; 5: 215-218 [PMID: 22778787 DOI: 10.1177/1756283X12450934]

9 Lewis JH. The risk of ischaemic colitis in irritable bowel syndrome patients treated with serotonergic therapies. *Drug Saf* 2011; 34: 545-565 [PMID: 21663331 DOI: 10.2165/11590690-000000000-00000]
10 Grundmann O, Yoon SL. Complementary and alternative medicines in irritable bowel syndrome: An integrative view. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 346-362 [PMID: 24574705 DOI: 10.3748/wjg.v20.i2.346]
11 Shen YH, Nahas R. Complementary and alternative medicine for treatment of irritable bowel syndrome. *Can Fam Physician* 2009; 55: 143-148 [PMID: 19221071]
12 杨克虎, 刘雅莉, 袁金秋, 蒋怀礼. 发展和完善中的系统评价再评价. 中国循证儿科杂志 2011; 6: 54-57
13 Seo HJ, Kim KU. Quality assessment of systematic reviews or meta-analyses of nursing interventions conducted by Korean reviewers. *BMC Med Res Methodol* 2012; 12: 129 [PMID: 22928687 DOI: 10.1186/1471-2288-12-129]
14 Liu JP, Yang M, Liu YX, Wei M, Grimsgaard S. Herbal medicines for treatment of irritable bowel syndrome. *Cochrane Database Syst Rev* 2006; (1): CD004116 [PMID: 16437473 DOI: 10.1002/14651858.CD004116.pub2]
15 Shi J, Tong Y, Shen JG, Li HX. Effectiveness and safety of herbal medicines in the treatment of irritable bowel syndrome: A systematic review. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 454-462 [PMID: 182000670 DOI: 10.3748/wjg.14.454]
16 Li QW, Liu FB, Hou ZK, Luo D. Treatment of constipation-predominant irritable bowel syndrome by focusing on the liver in terms of Traditional Chinese Medicine: a meta-analysis. *J Tradit Chin Med* 2013; 33: 562-571
17 Bian Z, Wu T, Liu L, Miao J, Wong H, Song L, Sung JJ. Effectiveness of the Chinese herbal formula TongXieYaoFang for irritable bowel syndrome: a systematic review. *J Altern Complement Med* 2006; 12: 401-407 [PMID: 16722791 DOI: 10.1089/acm.2006.12.401]
18 Khanna R, Macdonald JK, Levesque BG. Peppermint Oil for the Treatment of Irritable Bowel Syndrome: A Systematic Review and Meta-analysis. *J Clin Gastroenterol* 2013 Oct 4. *[Epub ahead of print]* [PMID: 24100754 DOI: 10.1097/MCG.0b013e3182a88357]
19 Manheimer E, Cheng K, Wieland LS, Min LS, Shen X, Berman BM, Lao L. Acupuncture for treatment of irritable bowel syndrome. *Cochrane Database Syst Rev* 2012; 5: CD005111 [PMID: 22592702 DOI: 10.10002/14651858.CD005111.pub3]
20 Park JW, Lee BH, Lee H. Moxibustion in the management of irritable bowel syndrome: systematic review and meta-analysis. *BMC Complement Altern Med* 2013; 13: 247 [PMID: 24088418]
21 裴丽霞, 张新昌, 孙建华, 耿昊, 吴晓亮. 针灸治疗肠易激综合征Meta分析. 中国针灸 2012; 32: 957-960
22 赵琛, 穆敬平, 崔云华, 杨玲, 马晓芃, 戚莉. 针灸治疗肠易激综合征的Meta分析. 中华中医药学刊 2010; 28: 961-963
23 黄绍刚, 张海燕. 疏肝健脾法治疗腹泻型肠易激综合征(IBS-D)随机对照试验的Meta分析. 中国中医基础医学杂志 2011; 17: 80-81
24 苏国彬, 刘文华, 陈海滨, 郭新峰. 以痛泻药方为基本方治疗肠易激综合征随机对照试验的系统评价. 广州中医药大学学报 2009; 26: 113-117
25 石珺, 汪崇文, 范可. 中药痛泻药方治疗肠易激综合征疗效的荟萃分析. 世界华人消化杂志 2007; 15: 1934-1939
26 陈諠, 张声生, 苏冬梅, 刘建平. 中医药治疗便秘型肠易激综合征疗效的系统评价. 中国中西医结合消化杂志 2008; 16: 322-324
27 苏冬梅, 张声生, 刘建平, 汪红兵. 中医药治疗腹泻型肠易激综合征的系统评价研究. 中华中医药杂志 2009; 24: 532-535
28 Qin HY, Xiao HT, Leung FP, Yang ZJ, Wu JC, Sung JJ, Xu HX, Tong XD, Bian ZX. JCM-16021, a Chinese herbal formula, attenuated visceral hyperalgesia in TNBS-induced postinflammatory irritable bowel syndrome through reducing colonic EC cell hyperplasia and serotonin availability in rats. *Evid Based Complement Alternat Med* 2012; 2012: 239638 [PMID: 22719782 DOI: 10.1155/2012/239638]
29 李佃贵, 赵玉斌. 痛泻药方对肠易激综合征作用机制的实验研究. 中草药 2006; 37: 1681-1685
30 Hills JM, Aaronson PI. The mechanism of action of peppermint oil on gastrointestinal smooth muscle. An analysis using patch clamp electrophysiology and isolated tissue pharmacology in rabbit and guinea pig. *Gastroenterology* 1991; 101: 55-65 [PMID: 1646142]
31 Ottillinger B, Storr M, Malfertheiner P, Allescher HD. STW 5 (Iberogast®)--a safe and effective standard in the treatment of functional gastrointestinal disorders. *Wien Med Wochenschr* 2013; 163: 65-72 [PMID: 23263639 DOI: 10.1007/s10354-012-0169-x]
32 巩倩, 李永渝. 草药制剂STW-5-N Ⅱ对大鼠小肠传入神经电活动的影响. 同济大学学报(医学版) 2007; 28: 28-33
33 石学慧, 罗杰坤, 谭涛. 电针治疗腹泻型肠易激综合征的临床观察. 新中医 2010; 42: 72-74
34 闫秀峰, 倪青, 王利芬, 刘保延. 中药西用和中西药合用的现状和趋势. 中医杂志 2012; 53: 1870-1872
35 李青, 夏芸, 牟钰洁, 王禹毅, 刘建平. 国内中文期刊发表的中医药系统综述和Meta分析文献质量再评价. 北京中医药大学学报(中医临床版) 2012; 19: 28-33
36 胡丹, 康德英, 吴宇侠, 王家良. 国内发表的中药相关系统评价的方法学质量评价. 中国中西医结合杂志 2011; 31: 402-404
37 熊俊, 杜元灏, 黎波, 石磊, 徐媛媛, 刘倩, 田涛涛, 刘继红, 付勇. 国内针灸系统评价/Meta分析的方法学和发表质量评价. 中国针灸 2009; 29: 763-768
38 青雪梅, 刘保延, 王永炎. 临床疗效评价中效力与效果区别的思考. 中国中西医结合杂志 2010; 30: 80-83
39 胡曼, 赵晓峰, 李军, 王舒. 队列研究在中医药研究中的应用和发展. 中国针灸 2009; 29: 844-846
40 谢琪, 江丽杰, 刘保延, 史华新. 开展真实世界中医药效果比较研究的关键问题及对策. 世界中医药 2014; 1: 28-31

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年4月28日; 22(12): 1756-1759
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

sTREM–1和CD64指数测定在诊断新生儿腹泻中的临床意义

杨 芳, 涂芳芳, 项文娜, 曾绮丹

■背景资料
腹泻病是一组临床常见病, 多发病其主要临床表现是大便次数多以及性状的改变. 腹泻病由多病原引起, 严重时可出现脱水以及电解质的紊乱, 小儿腹泻病的发病率高, 危害极性大, 可以造成小儿营养不良和生长发育障碍, 严重时甚至出现死亡, 小儿腹泻病的严重性足以引起医务工作人员的重视. 本研究通过对外周血中血清可溶性髓系细胞触发受体-1(soluble triggering receptor expressed on myeloid cell 1, sTREM-1)及中性粒细胞表面分子CD64的检测分析, 探讨上述两种指标用来鉴别小儿腹泻类型和疗效判断的价值.

杨芳, 涂芳芳, 项文娜, 曾绮丹, 温州医科大学附属第三医院新生儿科 浙江省瑞安市 325200
杨芳, 主治医师, 主要从事新生儿及儿童内分泌方面的研究.
温州市科技计划基金资助项目, No. Y20130262
作者贡献分布: 此课题由杨芳与涂芳芳设计; 研究过程由杨芳、涂芳芳、项文娜及曾绮丹操作完成; 研究所用试剂及分析工具由涂芳芳联系提供; 数据分析由杨芳、项文娜及曾绮丹完成; 本论文写作由杨芳、涂芳芳、项文娜及曾绮丹完成.
通讯作者: 杨芳, 主治医师, 325200, 浙江省瑞安市万松路, 温州医科大学附属第三医院新生儿科. jointlyj@126.com
收稿日期: 2014–03–03 修回日期: 2014–03–27
接受日期: 2014–03–28 在线出版日期: 2014–04–28

Clinical significance of serum soluble triggering receptor expressed on myeloid cell-1 and neutrophil CD64 in neonatal diarrhea

Fang Yang, Fang-Fang Tu, Wen-Na Xiang, Qi-Dan Zeng

Fang Yang, Fang-Fang Tu, Wen-Na Xiang, Qi-Dan Zeng, Department of Neonatology, the Third Affiliated Hospital of Wenzhou Medical University, Ruian 325200, Zhejiang Province, China
Supported by: the Science Foundation of Sci-Tech Committee of Wenzhou City, No. Y20130262
Correspondence to: Fang Yang, Attending Physician, Department of Neonatology, the Third Affiliated Hospital of Wenzhou Medical University, Wansong Road, Ruian 325200, Zhejiang Province, China. jointlyj@126.com
Received: 2014-03-03 Revised: 2014-03-27
Accepted: 2014-03-28 Published online: 2014-04-28

Abstract

AIM: To assess the significance of serum soluble triggering receptor expressed on myeloid cell-1 (sTREM-1) and neutrophil CD64 in the differential diagnosis and therapeutic evaluation of neonatal diarrhea.

METHODS: This was a prospective observational study. Ninety patients were divided into a bacterial diarrhea group (n = 32), a viral diarrhea group (n = 32), and a non-infection diarrhea group (n = 32). Serum sTREM-1 was measured by double-antibody sandwich enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). CD64 was measured by automatic flow cytometry. Serum sTREM-1 and CD64 were detected in each child before and after treatment. The diagnostic value of sTREM-1 and CD64 was assessed by receiver operating characteristic (ROC) curve analysis.

RESULTS: Median concentrations of serum sTREM-1 and CD64 in the bacterial, viral infection and non-infection groups were 75.25, 23.25 and 15.25 pg/mL, and 69.36, 25.50 and 21.37 MFI, respectively. After treatment, the level of sTREM-1 in the bacterial diarrhea group was significantly higher than those in the viral diarrhea and non-infection groups ($P < 0.05$), although there was no statistical difference between the viral diarrhea group and non-infectious diarrhea group ($P > 0.05$). The sensitivity and specificity of serum sTREM-1 for diagnosis of neonatal diarrhea were 90% and 82%, respectively, while those of serum CD64 were 88% and 93%.

CONCLUSION: Serum sTREM-1 and CD64 detection can be used for early diagnosis and differential diagnosis of bacterial diarrhea and for observation of anti-infection effects.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Diarrhea; Soluble triggering receptor expressed on myeloid cell-1; CD64; Neonatal

Yang F, Tu FF, Xiang WN, Zeng QD. Clinical significance of serum soluble triggering receptor expressed on myeloid cell-1 and neutrophil CD64 in neonatal diarrhea. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(12): 1756-1759 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1756.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i12.1756

摘要

目的: 探讨检测血清可溶性髓样细胞触发受体-1(soluble triggering receptor expressed on myeloid cell 1, sTREM-1)和CD64表达水平在新生儿腹泻早期诊断和疗效判断中的价值.

方法: 将69例患儿按腹泻的类型分为细菌性腹泻组、病毒性腹泻组和非感染性腹泻组, 采用双抗体夹心酶联免疫吸附法(ELISA)测定血清sTREM-1浓度, 采用流式细胞技术测定中性粒细胞表面分子CD64的表达, 应用受试工作

■同行评议者
陈志辉, 副主任医师, 中国人民解放军第二军医大学附属长海医院感染科

特征曲线(receiver operator characteristic curve, ROC)研究sTREM-1、CD64的诊断效能, 并比较每位患儿治疗前后的两指标变化情况.

结果: 细菌性腹泻组、病毒性腹泻组与非感染腹泻组血清sTREM-1中位数水平分别为75.25、23.25和15.25 pg/mL, 三组间比较差异有统计学意义(P<0.05); 细菌性腹泻组CD64阳性百分率中位数为69.36 MFI, 高于病毒性腹泻组和非感染腹泻组(分别为25.50、21.37 MFI), 三组间比较差异有统计学意义(P<0.05). 治疗后sTREM-1和CRP明显较治疗前下降(P<0.05), 病毒性腹泻组与非感染性腹泻组的sTREM-1和CD64比较差异无统计学意义(P>0.05). sTREM-1诊断细菌性腹泻的敏感性90%, 特异度82%. CD64诊断细菌性腹泻的敏感度为88%, 特异度为93%.

结论: sTREM-1、CD64测定有助于细菌性腹泻的早期诊断、鉴别诊断和对抗菌药物疗效的判断.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 腹泻; 可溶性髓样细胞触发受体-1; CD64; 新生儿

核心提示: 本研究数据ROC曲线显示, CD64的特异性优于血清可溶性髓系细胞触发受体-1(soluble triggering receptor expressed on myeloid cell 1, sTREM-1), 而sTREM-1敏感性则比CD64强, 因此联合检测CD64和sTREM-1更能为鉴别腹泻的类型提供可靠的依据. 相对而言, CD64具有更好的预测值, 其诊断小儿腹泻的结果较sTREM-1更为可靠.

杨芳, 涂芳芳, 项文娜, 曾绮丹. sTREM-1和CD64指数测定在诊断新生儿腹泻中的临床意义. 世界华人消化杂志 2014; 22(12): 1756-1759 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1756.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i12.1756

0 引言

感染性腹泻又称肠炎, 对新生儿健康危害甚大, 由于新生儿免疫系统发育不完善, 并且由胎儿的无菌环境到出生后立即暴露在各种细菌存在的环境中, 使新生儿易患感染性腹泻, 目前对早期诊断新生儿细菌性感染的生物学指标仍存有争议[1]. 我们通过对外周血中血清可溶性髓系细胞触发受体-1(soluble triggering receptor expressed on myeloid cell 1, sTREM-1)及中性粒细胞表面分子CD64的检测分析, 探讨上述两种指标用来鉴别小儿腹泻类型和疗效判断的价值.

1 材料和方法

1.1 材料 选择2011-08/2012-06温州医科大学附属第三医院儿童医院住院新生儿69例, 男37例, 女32例; 早产儿18例, 足月儿51例. 将患儿按相关疾病诊断标准分为三组: 细菌性腹泻组、病毒性腹泻组和非感染性腹泻组, 每组23例. 三组患儿胎龄、体质量、入院日龄等比较差异均无统计学意义(P>0.05)(表1).

1.2 方法

1.2.1 血清sTREM-1测定: 取3 mL置于促凝集生化管, 离心后取血清保存于-20 ℃, 用于血清sTREM-1水平测定. 血清sTREM-1测定采用双抗体夹心酶联免疫吸附法, 操作严格按照sTREM-1检测试剂盒(上海沪峰生物科技有限公司)中使用说明进行.

1.2.2 CD64检测: 50 μL全血加CD64-FITC抗体20 μL(美国BD公司产品)混匀, 以IgGI-FITC为同型对照. 暗处放置30 min后加流式细胞分析(FACS)溶血剂2 mL, 暗处放置15 min后用流式细胞仪(美国BD公司FACS Calibur)检测, 根据FSC/SSC点图显示的形态学特征选定中性粒细胞群, 每个样本计数1万个细胞, 测定CD64的平均荧光强度(MFI).

统计学处理 应用SPSS18.0统计软件包进行统计学处理, 对于满足正态分布的计量资料用mean±SD表示, 采用方差分析方法, 对于不满足正态分布的计量资料以中位数表示并采用非参数检验. 绘制受试者工作特征曲线(receiver operator characteristic curve, ROC)比较sTREM-1与CD64的AUC面积, AUC面积比较采用Z检验. P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 血清sTREM-1、中性粒细胞表面CD64水平的变化 此2项指标在细菌性腹泻组中表达高于病毒性腹泻组和非感染腹泻组, 三组间差异有统计学意义. 三组sTREM-1中位数分别为75.25、23.25、15.25 pg/mL; 中性粒细胞表面CD64分别为69.36、25.50、21.37 MFI(表2, 3).

2.2 血清sTREM-1、CD64指数的敏感度和特异度 以本组资料通过SPSS18.0软件绘制ROC曲线, 计算得出阳性标准为sTREM-1>24.45 pg/mL, 其敏感性为90%, 特异性为82%; CD64>35 MFI, 其敏感性为88%, 特异性为93%.

■研发前沿
中性粒细胞CD64在一部分自身免疫性疾病中呈高表达, 对于单独测定外周血中性粒细胞CD64鉴别细菌感染和自身免疫性疾病存在争议.

■相关报道
Richeldi等研究表明, 单核细胞TREM-1的激活参与了微生物攻击、宿主防御的早期诱导和适应性免疫反应.

■创新盘点
由于本实验纳入患者样本量偏小，对于sTREM-1和CD64在不同程度感染的小腹泻患者中表达差异，有待大样本、多中心研究进一步证实. 此外，上述生物学指标必须与临床紧密联系，在临床表现的基础上发挥其辅助诊断价值，才能提高对感染性疾病的早期诊断和鉴别诊断.

表 1 不同程度感染患儿胎龄、体质量、入院日龄比较 (mean ± SD, n = 23)

	细菌组	病毒组	非感染组	F值	P值
胎龄(wk)	39.2 ± 1.6	39.3 ± 1.5	38.4 ± 2.3	0.45	>0.05
体质量(g)	3215.6 ± 586.2	3191.6 ± 593.7	3392.9 ± 626.3	0.53	>0.05
入院日龄(d)	18.2 ± 6.7	17.4 ± 5.8	16.6 ± 6.1	0.29	>0.05

表 2 各组治疗前后血清sTREM-1比较 (mean ± SD, n = 23, pg/mL)

分组	治疗前	治疗后
细菌性腹泻组	75.25 ± 26.31	35.29 ± 9.65[c]
病毒性腹泻组	23.25 ± 4.42[a]	19.53 ± 3.26
非感染腹泻组	15.25 ± 2.16[a]	11.22 ± 1.81

[a]P<0.05 *vs* 细菌性腹泻组治疗前; [c]P<0.05 *vs* 细菌性腹泻组治疗前.

表 3 各组治疗前后中性粒细胞表面CD64比较(mean ± SD, n = 23, MFI)

分组	治疗前	治疗后
细菌性腹泻组	69.36 ± 23.30	34.53 ± 8.31[c]
病毒性腹泻组	25.50 ± 4.83[a]	23.53 ± 4.31
非感染腹泻组	21.37 ± 3.59[a]	20.53 ± 3.31

[a]P<0.05 *vs* 细菌性腹泻组治疗前; [c]P<0.05 *vs* 细菌性腹泻组治疗前.

3 讨论

腹泻病是一组临床常见病，多发病. 其主要临床表现是大便次数多以及性状的改变. 腹泻病由多病原引起，严重时可出现脱水以及电解质的紊乱，小儿腹泻病的发病率高，危害极性大，可以造成小儿营养不良和生长发育障碍，严重时甚至出现死亡[2]，小儿腹泻病的严重性足以引起医务工作人员的重视.

TREM又称髓样细胞触发受体，是一种表达于髓样细胞的免疫球蛋白超家族，其中成员TREM-1在炎性反应的发生发展中起重要作用[3]. 伴随TREM-1在炎性反应中表达增高，可溶形式的TREM-1(sTREM-1)也随之增多，后者可能是由于蛋白水解作用从膜上脱落的、缺乏跨膜域及胞内域的一种形式. 虽然有关sTREM-1的确切来源尚未证实，但在感染早期sTREM-1即可释放入体液且表达上调[4]. 中性粒细胞和单核细胞可受TREM-1诱导分泌肿瘤坏死因子-α、白介素-1B、干扰素-γ等促炎细胞因子，中性粒细胞还可释放髓过氧化酶. Trem-1在细胞内部可诱发钙离子转移,使细胞表面信号相关激酶和磷脂酶C络氨酸磷酸化，增强或放大炎性反应，使其发生过度炎性反应[5]. 在脓毒症诊断研究中，sTREM-1相对于C反应蛋白和前降钙素更具有敏感性和特异性[6]. 在另一项研究中表明[7]，sTREM-1在全身炎症反应综合征与感染的鉴别中同样有高的敏感性和特异性，当临界值选取230 pg/mL时sTREM-1的敏感性达96%，特异性达91%. 在本实验中，细菌性腹泻组较病毒性腹泻组及非感染腹泻组间血浆sTREM-1水平显著升高. 同时，在选取临界值为24.45 pg/mL时，其敏感性和特异性分别为90%和82%. 虽然该结果低于上述文献报道，这可能与实验方法及截断值取值不同有关，但却印证了细菌性腹泻时sTREM-1水平是显著升高的，并与病毒性腹泻组及非感染组相比差异有统计学意义.

CD64在外周血中主要分布于单核细胞、巨噬细胞及树突细胞表面，而在中性粒细胞表面低水平表达，当受到细菌脂多糖和粒细胞集落刺激因子、干扰素-1等因子刺激时，可使CD64在中性粒细胞表面大量表达[8]，是中性粒细胞产生吞噬的早期信号. 中性粒细胞活化时表达CD64，已被作为区分感染和诊断败血症的有效指标. Zeitoun等[9]研究表明，CD64在诊断新生儿脓毒症时，敏感性达92%，一项Meta分析表明[10]，在细菌感染时CD64诊断敏感性、特异性、阳性似然比、阴性似然比和ROC曲线下面积分别为76%、85%、6.67%、0.24%、0.92%. Pauksens等[11]认为细菌性感染者外周血中性粒细胞CD64的表带增加，在细菌性感染中具有较高的特异性，有助于早期诊断细菌感染和判断感染的程度. Allen等[12]认为非细菌感染CD64没有高表达. 国内报道CD64表达在革兰阳性菌和阴性菌间无差异，且表达时间相对较早(4-6 h即出现)，是中性粒细胞产生吞噬和杀菌的早期信号[13]，在细菌性感染中具有很高的特异性，有助于早期诊断细菌感染和判断感染的程度[14]. 本研究结果表明细菌性腹泻组CD64的表带量明显高于病毒性腹泻组和非感染腹泻组(P<0.05). 而病毒性腹泻组和非感染腹泻组的CD64表达量差异无统计学

■应用要点
中性粒细胞CD64和可溶形式的TREM-1在早期诊断小儿腹泻有很高的临床价值，两者联合检测更具意义.

意义, 表明CD64是一种敏感的细菌感染标志物, 在细菌感染的早期CD64水平即可升高, 特别是全身性重症细菌感染时升高尤为明显, 因而中性粒细胞CD64的表达量可作为鉴别细菌性腹泻与非细菌性腹泻的重要依据之一, 作为新生儿细菌感染的早期检测指标, 决定是否使用抗生素. Richeldi等[15]研究表明, 单核细胞TREM-1的激活参与了反应微生物攻击、宿主防御的早期诱导和适应性免疫反应. TREM-1的表达无法加强其自身免疫性疾病, 但可以对炎性因子的合成过程进行激发. 在炎症发生发展的过程中, 促炎细胞因子和抗炎细胞因子之间发生相互作用, 对感染转归的结果形成影响[16]. 细菌性腹泻经抗菌药物治疗后CD64和sTREM-1的表达量明显下降, 与治疗前相比较差异有统计学意义(P<0.05), 可作为疗效判断的指标之一.

本研究数据ROC曲线显示, CD64的特异性优于sTREM-1, 而sTREM-1敏感性则比CD64强, 因此联合检测CD64和sTREM-1更能为鉴别腹泻的类型提供可靠的依据. 相对而言, CD64具有更好的预测值, 其诊断小儿腹泻的结果较sTREM-1更为可靠. 但是中性粒细胞CD64在一部分自身免疫性疾病中呈高表达, 对于单独测定外周血中性粒细胞CD64鉴别细菌感染和自身免疫性疾病存在争议. 联合sTREM-1测定在一定程度上减少中性粒细胞CD64诊断感染作用的局限性, 联合检测能互为补充, 提高感染性疾病的检出率, 提高诊断效率, 降低漏诊率.

总之, 中性粒细胞CD64和可溶形式的TREM-1在早期诊断小儿腹泻有很高的临床价值, 两者联合检测更具意义. 但是, 由于本实验纳入患者样本量偏小, 对于sTREM-1和CD64在不同程度感染的小腹泻患者中表达差异, 有待大样本、多中心研究进一步证实. 此外, 上述生物学指标必须与临床紧密联系, 在临床表现的基础上发挥其辅助诊断价值, 才能提高对感染性疾病的早期诊断和鉴别诊断.

4 参考文献

1 李尧, 沈策. 中性粒细胞CD64与细菌感染的研究进展. 医学研究杂志 2011; 28: 1162-1165
2 方鹤松. 小儿腹泻病的诊断和治疗. 实用儿科临床杂志 2011; 26: 1537-1540
3 Cohen J. TREM-1 in sepsis. *Lancet* 2001; 358: 776-778 [PMID: 11564478]
4 van Bremen T, Drömann D, Luitjens K, Dodt C, Dalhoff K, Goldmann T, Schaaf B. Triggering receptor expressed on myeloid cells-1 (Trem-1) on blood neutrophils is associated with cytokine inducibility in human E. coli sepsis. *Diagn Pathol* 2013; 8: 24 [PMID: 23414215 DOI: 10.1186/1746-1596-8-24]
5 周丹. Trem-1在炎症反应中的作用机理研究. 河北医学 2011; 17: 802-803
6 Zhang J, She D, Feng D, Jia Y, Xie L. Dynamic changes of serum soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1 (sTREM-1) reflect sepsis severity and can predict prognosis: a prospective study. *BMC Infect Dis* 2011; 11: 53 [PMID: 21356122 DOI: 10.1186/1471-2334-11-53]
7 Rivera-Chavez FA, Minei JP. Soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1 is an early marker of infection in the surgical intensive care unit. *Surg Infect* (Larchmt) 2009; 10: 435-439 [PMID: 19792836 DOI: 10.1089/sur.2009.030]
8 Danikas DD, Karakantza M, Theodorou GL, Sakellaropoulos GC, Gogos CA. Prognostic value of phagocytic activity of neutrophils and monocytes in sepsis. Correlation to CD64 and CD14 antigen expression. *Clin Exp Immunol* 2008; 154: 87-97 [PMID: 18727624 DOI: 10.1111/j.1365-2249.2008.03737.x]
9 Zeitoun AA, Gad SS, Attia FM, Abu Maziad AS, Bell EF. Evaluation of neutrophilic CD64, interleukin 10 and procalcitonin as diagnostic markers of early- and late-onset neonatal sepsis. *Scand J Infect Dis* 2010; 42: 299-305 [PMID: 20085423 DOI: 10.3109/00365540903449832]
10 Li S, Huang X, Chen Z, Zhong H, Peng Q, Deng Y, Qin X, Zhao J. Neutrophil CD64 expression as a biomarker in the early diagnosis of bacterial infection: a meta-analysis. *Int J Infect Dis* 2013; 17: e12-e23 [PMID: 22940278 DOI: 10.1016/j.ijid.2012.07.017]
11 Pauksens K, Fjaertoft G, Douhan-Håkansson L, Venge P. Neutrophil and monocyte receptor expression in uncomplicated and complicated influenza A infection with pneumonia. *Scand J Infect Dis* 2008; 40: 326-337 [PMID: 17918019]
12 Allen E, Bakke AC, Purtzer MZ, Deodhar A. Neutrophil CD64 expression: distinguishing acute inflammatory autoimmune disease from systemic infections. *Ann Rheum Dis* 2002; 61: 522-525 [PMID: 12006325]
13 尤海燕, 焦志军, 朱海涛. 新生儿败血症中性粒细胞表面CD64表达及临床意义. 山东医药 2008; 48: 84-85
14 邵洁, 黄新文, 孙眉月, 杜立中, 汤永民, 乐园罗. 新生儿败血症外周血中性粒细胞CD64的表达及其意义. 中华儿科杂志 2005; 43: 510-513
15 Richeldi L, Mariani M, Losi M, Maselli F, Corbetta L, Buonsanti C, Colonna M, Sinigaglia F, Panina-Bordignon P, Fabbri LM. Triggering receptor expressed on myeloid cells: role in the diagnosis of lung infections. *Eur Respir J* 2004; 24: 247-250 [PMID: 15332392]
16 梁志海, 唐国都. 髓样细胞触发受体1在炎性反应中的作用. 医学综述 2009; 15: 2747-2748

编辑 田滢 电编 鲁亚静

■同行评议
本文设计合理, 结果可靠, 对临床有一定参考价值.

世界华人消化杂志 2014年4月28日; 22(12): 1760-1763
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

结肠腺癌中Tiam1、C-met和VEGF-D表达的关系

马慧利, 李明林, 李长生, 张敬伟, 任中海

■背景资料
结肠腺癌是临床常见的肿瘤, 肿瘤周边淋巴管生成较多, 近年也有研究显示肿瘤中也可以有少量淋巴管生成, 而血管内皮细胞生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)-D是重要的淋巴管生成因子, 其高表达可以引起淋巴管新生, 但是促进淋巴管生成的因素目前研究较少. 有研究认为T淋巴瘤侵袭转移诱导基因1(T-lymphom invasion and metastasis gene, Tiam1)、C-met对血管生成起一定促进作用, 笔者在研究过程中, 也发现二者可能对淋巴管生成因子VEGF-D起促进作用, 因此本研究重点关注Tiam1、C-met促淋巴生成因子的作用.

马慧利, 李明林, 李长生, 张敬伟, 任中海, 河南省南阳市中心医院肿瘤内科 河南省南阳市 473000
马慧利, 主治医师, 主要从事肿瘤内科的临床研究.
作者贡献分布: 马慧利、李明林及李长生负责设计与实验; 李明林、李长生、张敬伟及任中海负责具体实施.
通讯作者: 马慧利, 主治医师, 473000, 河南省南阳市市宛城区工农路312号, 中心医院肿瘤内科. xielihuaerton@126.com
收稿日期: 2013-11-13 修回日期: 2013-12-16
接受日期: 2014-02-19 在线出版日期: 2014-04-28

Expression of Tiam1, C-met and VEGF-D in colorectal carcinoma

Hui-Li Ma, Ming-Lin Li, Chang-Sheng Li, Jing-Wei Zhang, Zhong-Hai Ren

Hui-Li Ma, Ming-Lin Li, Chang-Sheng Li, Jing-Wei Zhang, Zhong-Hai Ren, Oncology Department, Central Hospital of Nanyang City, Nanyang 473000, He'nan Province, China
Correspondence to: Hui-Li Ma, Attending Physician, Oncology Department, Central Hospital of Nanyang City, 312 Gongnong Road, Wancheng District, Nanyang 473000, He'nan Province, China. xielihuaerton@126.com
Received: 2013-11-13 Revised: 2013-12-16
Accepted: 2014-02-19 Published online: 2014-04-28

Abstract

AIM: To detect the expression of Tiam1, C-met and vascular endothelial growth factor (VEGF)-D in colorectal carcinoma and to assess their clinical significance.

METHODS: One hundred and two colorectal carcinoma specimens, 80 intraepithelial neoplasia specimens, and 80 normal colorectal tissues were included in this study. The expression of Tiam1, C-met and VEGF-D in the above specimens was detected by immunohistochemistry.

RESULTS: The expressions of Tiam1, C-met and VEGF-D differed significantly among colorectal carcinoma, intraepithelial neoplasia and normal colorectal tissues. The expression of Tiam1, C-met and VEGF-D was associated with tumor invasion, differentiation, vascular invasion and Dukes stage. There were positive correlations between Tiam1, C-met and VEGF-D expression in primary tumors.

CONCLUSION: Overexpression of Tiam1, C-met and VEGF-D might be related to the development of colorectal carcinoma. Tiam1 and C-met can promote the expression of VEGF-D, which can in turn induce lymphangiogenesis in colorectal carcinoma.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Colorectal carcinoma; Tiam1; C-met; VEGF-D; Immunohistochemistry

Ma HL, Li ML, Li CS, Zhang JW, Ren ZH. Expression of Tiam1, C-met and VEGF-D in colorectal carcinoma. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(12): 1760-1763 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1760.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i12.1760

摘要

目的: 检测结肠腺癌中T淋巴瘤侵袭转移诱导基因1(T-lymphom invasion and metastasis gene 1, Tiam1)、肝细胞生长因子受体C-met和血管内皮细胞生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)-D的表达, 探讨其关系及临床意义.

方法: 选择102例结肠腺癌术后留取的蜡块及患者的临床资料作为观察组, 选择80例经病理学证实为结肠上皮内瘤变的病例作为对照组, 选择80例经病理学证实为正常结肠黏膜的组织作为正常对照组, 应用免疫组织化学方法检测3组中Tiam1、C-met和VEGF-D的表达.

结果: 正常对照组、对照组和观察组中Tiam1(15.00%、0.00% *vs* 78.43%)、C-met(8.64%、25.00% *vs* 74.51%)和VEGF-D(5.00%、25.00% *vs* 66.67%)表达的阳性率依次增高, 观察组中Tiam1、C-met和VEGF-D的表达均与肿瘤的浸润深度、分化程度、脉管浸润和Dukes分期密切相关($P<0.05$). 相关分析显示观察组中Tiam1和VEGF-D($r = 0.49$, $P = 0.0309$)、C-met和VEGF-D($r = 0.48$, $P = 0.0142$)的表达呈正相关性.

结论: 结肠腺癌中Tiam1、C-met和VEGF-D高

■同行评议者
刘宝林, 教授, 中国医科大学附属盛京医院

表达, 对病变发展具有重要促进作用. Tiam1和C-met可以上调VEGF-D的表达, 进而可能诱导肿瘤的淋巴管生成.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 结肠腺癌; Tiam1; C-met; VEGF-D; 免疫组织化学

核心提示: 结肠腺癌中T淋巴瘤侵袭转移诱导基因1(T-lymphom invasion and metastasis gene 1, Tiam1)、肝细胞生长因子受体C-met和血管内皮细胞生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)-D高表达, 对病变发展具有重要促进作用. Tiam1和C-met可以上调VEGF-D的表达, 进而可能诱导肿瘤的淋巴管生成. 此机制可以为后续的研究提供帮助, 也可以为进行针对淋巴管生成的靶向治疗提供依据.

马慧利, 李明林, 李长生, 张敬伟, 任中海. 结肠腺癌中Tiam1、C-met和VEGF-D表达的关系. 世界华人消化杂志 2014; 22(12): 1760-1763 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1760.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i12.1760

0 引言

结肠腺癌临床常见, 进展较快, 淋巴管生成及淋巴结转移是肿瘤进展的重要因素. T淋巴瘤侵袭转移诱导基因1(T-lymphom invasion and metastasis gene 1, Tiam1)作为一种鸟苷酸转换因子, 可以激活机体的多种途径, 调节Rac信号通路, 促进肿瘤的生长和转移. 近年相关研究认为Tiam1可以促进肿瘤淋巴管内皮细胞的生成, 对肿瘤淋巴管生成和淋巴结转移有一定促进作用[1]. 肝细胞生长因子受体C-met可以介导肿瘤细胞的增殖和运动, 调节肿瘤侵袭和进展过程[2]. 血管内皮细胞生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)-D是新发现的淋巴管生成因子, 其高表达时可以引起肿瘤间质淋巴管的生成, 为肿瘤转移提供最便捷的通路[3]. 本文关注结肠腺癌中Tiam1、C-met和VEGF-D蛋白的表达, 探讨其临床意义及相关性.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2012-01/2013-08在我院行手术根治的结肠腺癌患者作为观察组, 纳入均符合WHO中关于结肠腺癌的诊断标准, 同时再次经病理医师阅片复诊. 共选择102例, 其中男性60例, 女性42例, 年龄51-79岁, 平均66.8岁±7.7岁, 其中高分化55例, 中分化27例, 低分化20例. 有淋巴结转移42例, 无淋巴结转移60例. 选择80例经病理医师证实为结肠上皮内瘤变的患者作为对照组, 其中男性40例, 女性40例, 年龄53-75岁, 平均66.6岁±7.8岁. 选择80例经病理医师证实为正常结肠黏膜的组织作为正常对照组, 其中男性40例, 女性40例, 年龄50-73岁, 平均66.1岁±7.4岁. 3组在一般临床资料的比较中无明显差别.

1.2 方法

1.2.1 Tiam1、C-met和VEGF-D蛋白的检测: Tiam1、C-met和VEGF-D蛋白的试剂盒均购自武汉博士德生物工程公司, 依不同比例进行稀释后进行预实验, 选择最理想的配比浓度进行正式实验. 蛋白的检测应用二步法, 操作均由同一病理主管技师完成, 严格按说明书操作, 严格质量控制, 减少人为误差.

1.2.2 结果判定标准: Tiam1、C-met和VEGF-D蛋白表达的阳性部位为细胞浆, 以细胞浆中出现棕黄色颗粒为阳性细胞, 选择肿瘤细胞集中区域的高倍视野共5个(400倍), 计数阳性细胞的百分率, 以阳性细胞≥25%为阳性, 以<25%为阴性.

统计学处理 采用SAS6.12进行分析, 数据应用卡方检验或相关分析, $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 Tiam1、C-met和VEGF-D在3组中表达阳性率的比较 Tiam1、C-met和VEGF-D在正常对照组、对照组和观察组中表达的阳性率差别有统计学意义(表1).

2.2 观察组中Tiam1、C-met和VEGF-D的表达在不同临床病理特征中的关系 观察组中Tiam1、C-met和VEGF-D的表达均与肿瘤的浸润深度、分化程度、脉管浸润和Dukes分期密切相关(表2).

2.3 观察组中Tiam1、C-met和VEGF-D表达的相关性分析 对观察组中Tiam1、C-met和VEGF-D的表达进行线性相关分析, 结果显示Tiam1和VEGF-D($r = 0.49$, $P = 0.0309$)、C-met和VEGF-D($r = 0.48$, $P = 0.0142$)的表达具有正相关性.

3 讨论

大肠癌临床常见, 尤其是在中老年人. 病变进展时多种基因和蛋白异常表达, 且对病变发生和进展有明显的作用. 淋巴道转移是结肠癌发展过程

■研发前沿
本文的重点内容是讨论Tiam1、C-met对VEGF-D的促进作用, 同时分析三者与临床病理特征的关系. 而文献中关于三者的关系研究较少, 因此也为本研究重点关注的内容.

■创新盘点
以往文章多关注淋巴管生成因子VEGF-C、VEGF-D的淋巴管促进作用, 而很少关注其他因子对二者的影响. 同时以往研究重点关注Tiam1、C-met对血管生成的影响. 本研究重点将Tiam1、C-met和淋巴管生成因子联系起来一起阐述, 具有新颖性.

■应用要点

本文重点关注VEGF-D的影响因素，由于VEGF-D是促淋巴生成的因子，因此Tiam1、C-met促进其表达或分泌的作用可能为后续的淋巴生成的研究依据，也可以为针对淋巴管的治疗提供靶点.

表 1 Tiam1、C-met和VEGF-D在3组中表达阳性率的比较 *n*(%)

分组	*n*	Tiam1		χ^2	*P*值	C-met		χ^2	*P*值	VEGF-D		χ^2	*P*值
		+	−			+	−			+	−		
观察组	102	80 (78.43)	22 (21.57)	82.6286	<0.0001	76 (74.51)	26 (25.49)	91.8923	<0.0001	68 (66.67)	34 (33.33)	72.0410	<0.0001
对照组	80	24 (30.00)	56 (70.00)			20 (25.00)	60 (75.00)			20 (25.00)	60 (75.00)		
正常对照组	80	12 (15.00)	68 (85.00)			7 (8.64)	74 (91.36)			4 (5.00)	76 (95.00)		

Tiam1: T淋巴瘤侵袭转移诱导基因1; VEGF-D: 血管内皮细胞生长因子-D.

表 2 观察组中Tiam1、C-met和VEGF-D的表达在不同临床病理特征中的关系 *n*(%)

临床病理特征	*n*	Tiam1		χ^2	*P*值	C-met		χ^2	*P*值	VEGF-D		χ^2	*P*值
		+	−			+	−			+	−		
浸润深度				5.308	0.021			6.818	0.009			7.846	0.005
未及浆膜	52	36 (69.23)	16 (30.77)			33 (63.46)	19 (36.54)			28 (53.85)	24 (46.15)		
浆膜及以外	50	44 (88.00)	6 (12.00)			43 (86.00)	7 (14.00)			40 (80.00)	10 (20.00)		
脉管浸润				5.206	0.023			8.314	0.004			5.265	0.022
无	62	44 (70.97)	18 (29.03)			40 (64.52)	22 (35.48)			36 (58.06)	26 (41.94)		
有	40	36 (90.00)	4 (10.00)			36 (90.00)	4 (10.00)			32 (80.00)	8 (20.00)		
分化程度				11.728	0.001			13.972	0.000			28.589	<0.0001
高	46	29 (63.04)	17 (36.96)			25 (53.19)	21 (46.81)			18 (39.13)	28 (60.97)		
中+低	56	51 (91.07)	5 (8.93)			51 (90.00)	5 (10.00)			50 (89.29)	6 (10.71)		
Dukes分期				7.653	0.006			8.766	0.003			6.442	0.011
A+B	57	39 (68.42)	18 (31.58)			36 (63.16)	21 (36.84)			32 (56.14)	25 (43.86)		
C+D	45	41 (91.11)	4 (8.89)			40 (88.89)	5 (11.11)			36 (80.00)	9 (20.00)		

Tiam1: T淋巴瘤侵袭转移诱导基因1; VEGF-D: 血管内皮细胞生长因子-D.

中最重要的生物学行为，研究显示肿瘤细胞进入淋巴管与肿瘤自身的淋巴管内皮细胞的增殖和淋巴管生成有关[4-6]. 因此促进肿瘤淋巴管生成的基因和蛋白对转移有明显促进作用，可以为肿瘤淋巴道转移提供便捷的通路. VEGF-D是新发现的淋巴管生成因子，不仅可以促进肿瘤淋巴管的生成，还可以促进肿瘤细胞进入淋巴管，引起细胞的迁移，促进转移的发生[7-9]. *C-met*是从NIH3T3细胞中克隆出来的一种原癌基因，属于酪氨酸激酶家族的成员，目前研究显示C-met是HGF的重要受体，当二者结合后，引起磷酸化，并促进肿瘤的发生和发展，同时该研究认为C-met可以引起肿瘤的失控性增生和分化障碍，并加速肿瘤脉管的生成[10-12]. Tiam1作为Rho蛋白家族的成员，可以引起底物分子中GDP/GTP的转换，加速GDP的释放后，激活Rac1，引起细胞骨架结构的重组，减少肿瘤细胞在迁移过程中的障碍. 也有研究认为肿瘤中Tiam1高表达能使细胞间的黏附作用减弱，使细胞较易离开原发灶，加速肿瘤细胞运动，引起远隔器官播散[13,14].

本研究应用免疫组织化学技术检测结肠腺癌中Tiam1、C-met和VEGF-D的表达特点，结果显示观察组中Tiam1、C-met和VEGF-D表达的阳性率明显高于对照组，提示3种蛋白可以加速

肿瘤细胞的恶变, 其作用类似癌基因的特征. 结果显示观察组中Tiam1、C-met和VEGF-D的表达均与肿瘤的浸润深度有关, 提示3种蛋白均参与肿瘤的浸润过程, 加速肿瘤似蟹足样生长而侵犯周围组织. Tiam1、C-met和VEGF-D与肿瘤的分化程度有关, 提示3种蛋白参与肿瘤的分化, 由于分化过程是细胞由幼稚到成熟演进过程中的重要因素. 因此, Tiam1、C-met和VEGF-D是肿瘤演进和分化中的重要蛋白. 结果显示Tiam1、C-met和VEGF-D的表达与脉管浸润和Dukes分期密切相关, 提示3种蛋白参与肿瘤的进展过程, 由于脉管浸润和分期直接与肿瘤的预后相关, 因此3种蛋白高表达提示预后不良, 也间接提示检测结肠癌中Tiam1、C-met和VEGF-D蛋白高表达时, 提示肿瘤呈进展状态. 实验结果显示Tiam1和VEGF-D、C-met和VEGF-D的表达具有正相关性, 提示Tiam1或C-met与VEGF-D均具有协同正向作用, 由于VEGF-D可以高效的促进肿瘤淋巴管生成. 因此, Tiam1、C-met在促进VEGF-D高表达的过程中, 也间接地促进了肿瘤淋巴管的新生, 为肿瘤淋巴道转移提供最重要的、最便捷的通路. 此时结肠癌间质中新生的淋巴管增多, 肿瘤迁移的途径增多, 肿瘤细胞活动范围增大, 转移的速度增快[8].

总之, 结肠腺癌中Tiam1、C-met和VEGF-D高表达, 对病变发展具有重要促进作用. Tiam1和C-met可以上调VEGF-D的表达, 进而可能诱导肿瘤的淋巴管生成.

4 参考文献

1 崔巍, 张勇. Tiam1、Rac1在评估大肠癌远隔脏器转移中的意义. 世界华人消化杂志 2012; 20: 346-350
2 刘文静, 马杰, 李克, 刘莺, 侯新芳, 王居峰. 大肠癌组织c-Met和VEGF表达及其与微血管密度关系的初步研究. 中华肿瘤防治杂志 2012; 19: 1159-1161
3 常超, 王平, 李琳, 杨慧, 张利斌. 非小细胞肺癌VEGF-C、VEGF-D、VEGFR-3表达与淋巴管生成和淋巴转移关系的研究. 南京医科大学学报(自然科学版) 2009; 29: 1077-1080
4 刘爱东, 王献华, 庞久玲. 大肠癌血管内皮生长因子-C及酪氨酸激酶受体-4的表达与淋巴管生成及其转移的关系. 华北煤炭医学院学报 2006; 8: 592-594
5 孙希忠. 喉鳞癌中组织蛋白酶D与血管内皮生长因子D对淋巴管生成和转移关系的研究. 中国医学工程 2011; 19: 40-41
6 张雪玉, 张咏梅, 杨彩虹, 刘莉莉, 吴蔚. HGF、c-Met和VEGF-C在宫颈癌中的表达. 肿瘤防治研究 2011; 38: 411-415
7 范跃祖, 李光明, 黄国平, 李新平. 血管内皮生长因子-C、-D及其受体3在大肠癌淋巴转移和预后中的价值. 中华消化杂志 2006; 26: 739-743
8 何杨, 彭玉珍, 郭祖峰, 吉兆宁. KISS-1、Cath-D及VEGF在乳腺癌组织中的表达及相关性. 皖南医学院学报 2009; 28: 402-404
9 孙本路, 詹晓东, 蒋成义. 淋巴管形成及组织蛋白酶-D的表达与喉癌转移的关系. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志 2012; 26: 558-560
10 苏会玲, 刘凤玲. HGF/c-MET通路在癌症中的研究进展. 实用癌症杂志 2013; 28: 98-100
11 王婧男, 张楠, 赵建强, 高爱琴, 林文俐, 孙玉萍. 乳腺癌中HGF及其受体C-met的表达与淋巴管生成及淋巴道转移的关系. 山东大学学报(医学版) 2010; 48: 90-93
12 杨小敏, 徐晓武, 冯国飞, 张品南. 乳腺癌组织中Plexin-B1和c-met的表达与淋巴结转移的关系. 现代实用医学 2012; 24: 889-890, 962
13 韦荣干, 黄振录, 周祥祯, 丁志敏, 莫祥兰. Kai-1、Flt-4和Tiam-1在预测甲状腺乳头状癌颈部淋巴结转移中的价值. 实用医学杂志 2010; 26: 1741-1743
14 钟大平, 彭秋平, 边志衡, 周进明, 周琪, 梁后杰. 结肠癌组织中Tiam1的表达与淋巴管生成之间的关系. 中华肿瘤防治杂志 2007; 14: 604-606

编辑 田滢 电编 都珍珍

■同行评价

本文选题科学合理, 联系临床实际, 研究方法科学, 数据分析得当, 客观, 结论可信. 具有一定指导意义.

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2014年4月28日; 22(12): 1764-1767
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

结直肠癌肝转移腹腔镜切除术21例

陈进宏, 闵志均, 蒿汉坤, 向 阳, 徐 明, 庄 彪

■背景资料
60%的结直肠癌患者在病程中会出现肝转移, 手术是可切除结直肠癌肝转移惟一有可能治愈的手段. 腹腔镜肝切除术已逐渐开展, 而结直肠癌肝转移的腹腔镜切除术的研究尚未深入.

陈进宏, 蒿汉坤, 向阳, 复旦大学附属华山医院外科 上海市 200040
陈进宏, 闵志均, 徐明, 庄彪, 上海市浦东医院外科 上海市 200120
陈进宏, 教授, 主任医师, 肝胆外科基础及临床研究.
作者贡献分布: 此研究由陈进宏与闵志均设计; 研究过程由陈进宏、蒿汉坤、向阳、徐明及庄彪操作完成; 数据分析由陈进宏与向阳完成; 本论文写作由陈进宏完成.
通讯作者: 陈进宏, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 200040, 上海市乌鲁木齐中路12号, 复旦大学附属华山医院外科.
jinhongch@hotmail.com
电话: 021-52887173
收稿日期: 2014-01-26 修回日期: 2014-03-25
接受日期: 2014-03-28 在线出版日期: 2014-04-28

■同行评议者
许剑民, 教授, 上海市复旦大学附属中山医院普外科

Laparoscopic resection of colorectal cancer liver metastases

Jin-Hong Chen, Zhi-Jun Min, Han-Kun Hao, Yang Xiang, Ming Xu, Biao Zhuang

Jin-Hong Chen, Han-Kun Hao, Yang Xiang, Department of General Surgery, Huashan Hospital, Fudan University, Shanghai 200040, China
Zhi-Jun Min, Zhi-Jun Min, Ming Xu, Biao Zhuang, Department of General Surgery, Pudong Hospital, Shanghai 200120, China
Correspondence to: Jin-Hong Chen, Professor, Chief Physician, Department of General Surgery, Huashan Hospital, Fudan University, 12 Urumqi Middle Road, Shanghai 200040, China. Jinhongch@hotmail.com
Received: 2014-01-26 Revised: 2014-03-25
Accepted: 2014-03-28 Published online: 2014-04-28

Abstract

AIM: To investigate the application of laparoscopic resection in the management of colorectal cancer liver metastases.

METHODS: Between March 2008 and September 2013, 21 patients underwent laparoscopic resection of colorectal cancer liver metastases at Huashan hospital and Pudong Hospital. Their clinical data were retrospectively analyzed.

RESULTS: All laparoscopic resections for colorectal cancer liver metastases were successful with no conversion. There were no severe postoperative complications except one case of bile leakage. The median surgical margin was 12 mm. The overall 1-, 2- and 3-year survival rates were 86%, 67% and 57%, respectively, while the 1-, 2- and 3-year disease-free survival rates were 81%, 62% and 47%, respectively.

CONCLUSION: Laparoscopic resection of colorectal cancer liver metastases is safe and effective.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Laparoscopy; Liver resection; Colorectal cancer; Liver metastasis

Chen JH, Min ZJ, Hao HK, Xiang Y, Xu M, Zhuang B. Laparoscopic resection of colorectal cancer liver metastases. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(12): 1764-1767
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1764.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i12.1764

摘要

目的: 探讨腹腔镜肝切除术在结直肠癌肝转移治疗中的应用.

方法: 回顾性分析2008-03/2013-09因结直肠癌肝转移于复旦大学附属华山医院或上海市浦东医院外科住院行腹腔镜肝转移灶切除术患者的临床资料.

结果: 21例腹腔镜结直肠癌肝转移切除术均顺利进行, 无中转开腹. 除1例胆漏外, 无严重术后并发症. 中位肝切缘距离为12 mm. 1年、2年和3年生存率分别为86%、67%和57%, 1年、2年和3年无瘤生存率分别为81%、62%和47%.

结论: 对于特定患者, 腹腔镜肝切除术治疗结直肠癌肝转移是安全有效的.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 腹腔镜; 肝切除; 结直肠癌; 肝转移

核心提示: 对于特定患者, 腹腔镜肝切除术治疗结直肠癌肝转移是安全有效的.

镜切除术21例. 世界华人消化杂志 2014; 22(12): 1764-1767
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1764.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i12.1764

0 引言

结直肠癌是最常见的恶性肿瘤之一, 60%的患者在病程中会出现肝转移, 而不能手术切除或未经手术切除的结直肠癌肝转移患者中位生存期仅为6.9 mo[1]. 腹腔镜肝切除术已逐渐开展[2,3], 而结直肠癌肝转移的腹腔镜切除术的研究尚未深入. 本文回顾性分析21例结直肠癌肝转移的腹腔镜切除术情况, 初步探讨腹腔镜肝切除术在结直肠癌肝转移治疗中的应用.

1 材料与方法

1.1 材料 本组患者21例, 均为2008-03/2013-09因结直肠癌肝转移于复旦大学附属华山医院或上海市浦东医院外科住院行腹腔镜肝转移灶切除术患者. 其中男12例, 女9例; 年龄为49-76岁, 中位年龄为65岁; 同时性肝转移2例, 异时性肝转移19例; 单发性转移16例, 多发性转移5例(其中4例为2个病灶, 1例为3个病灶); 病灶共计27个, 其中左肝20个, 右肝7个; 19例异时性肝转移患者中16例首次手术方式为腹腔镜结直肠癌根治术, 3例为开腹手术.

1.2 方法

1.2.1 手术指征: 结合文献[4,5], 本组患者手术指征为: (1)同时性肝转移: 原发肿瘤及肝转移均能R0切除, 全身状况能耐受同时手术, 无肝外转移灶; (2)异时性肝转移: 肿瘤数>4个、肿瘤>5 cm、转移时间<12 mo或CEA升高时, 先行新辅助治疗3次, 如病情无进展, 肝转移灶能R0切除, 行腹腔镜肝转移灶切除术; 如无上述高危因素, 直接行腹腔镜肝转移灶切除术.

1.2.2 手术方式: 手术以R0切除的不规则切除为主, 视残肝大小及肿瘤位置采取规则性肝段/叶切除. 全麻, 脐孔处采用Hasson手法置入10 cm trocar, 建立气腹, 压力维持12 mmHg, 置300腹腔镜, 根据肝脏转移灶位置和腹腔内黏连情况再置入3-5个trocar, 置入位置可参考文献[6]. 采用超声刀断离肝脏, 管道用Hemolock或直线切割器夹闭, 查无活跃出血或胆漏, 局部放置止血材料, 断面旁置腹腔引流管1-2根, 标本装入标本袋, 中上腹5 cm正中切口或直接扩大脐孔切口取出.

1.2.3 术后处理及随访: 术后予以奥沙利铂+希罗达化疗8个周期, 如原先用过奥沙利铂, 则改用CPT-11, 视情况给予贝伐单抗等靶向治疗. 采用Kaplan-Meier方法统计总生存率和无瘤生存率.

2 结果

2.1 手术情况 所有21例患者均成功进行腹腔镜下肝转移灶切除术,术中先游离肝脏, 距病灶边缘1-2 cm用电凝钩标出肝切除线(图1A), 超声刀由浅入深断离肝实质, 遇直径>3 mm管状组织, Hemolock夹闭后离断(图1B), 如遇管道主干, 可用直线切割器白钉(echelon, ethicon或endoGIA, covidien)切断(图1C), 直至完整切除病灶. 肝断面用氩气刀彻底止血(图1D). 本组患者无中转开腹, 其中不规则肝段切除16例, 规则肝段/叶切除5例; 手术时间为50-280 min, 中位时间为140 min; 估计手术失血量为60-900 mL, 中位失血量为300 mL; 术后住院天数为4-9 d, 中位住院天数为6 d; 1例患者术后出现胆漏, 经引流后治愈, 未再次手术, 余患者无重大并发症; 病理切缘为5-22 mm, 中位距离为12 mm.

2.2 随访 所有患者获得随访, 随访时间为3-42 mo, 中位随访时间为22 mo. 随访中共有5例死亡(24%), 1、2和3年生存率分别为86%、67%和57%, 1、2和3年无瘤生存率分别为81%、62%和47%; 随访中未见trocar戳孔处转移.

3 讨论

结直肠癌肝转移的治疗是提高结直肠癌预后的关键和热点, 尽管治疗方法有多种, 包括手术切除、局部毁损治疗、化疗和靶向治疗等, 但手术是可切除结直肠癌肝转移惟一有可能治愈的手段[7,8]. 随着腹腔镜技术的发展, 腹腔镜肝切除逐渐增多. Cherqui[9]曾认为, 需要做肝切除的患者中有12%适合做腹腔镜肝切除. 而最近有报告, 腹腔镜肝切除已占结直肠癌肝转移切除术的35%[2]. 结直肠癌肝转移分同时性和异时性. 传统观点认为, 同时性肝转移患者同期手术死亡率和围手术期并发症发生率较高[10], 同期手术也大多局限于右半结肠及小范围肝切除. 现在大多认为, 患者无明显禁忌状况下, 同时行结直肠癌原发病灶和肝转移灶切除是安全有效的[11]. 而腹腔镜手术应用于同时行结直肠癌原发病灶和肝转移灶切除, 可具有住院时间短, 可避免二次手术, 能减轻患者心理压力以及降低围手术期死亡率等优势[12]. 本组2例患者, 同时行腹腔镜下结直肠癌原发病灶和肝转移灶切除术, 手术顺利, 无并发症. 异时性肝转移的手术时机存有争论. 对于

■研发前沿
腹腔镜肝切除治疗结直肠癌肝转移切除术的时机和适应症尚无定论. 现在大多认为, 患者无明显禁忌状况下, 同时行结直肠癌原发病灶和肝转移灶切除是安全有效的. 异时性肝转移的手术时机存有争论. 对于不可切除的病灶, 新辅助化疗可使原无法切除的病灶变为可切除. 而对初始评估为可切除者, 是否术前要进行新辅助化疗, 仍亟待研究.

■相关报道
腹腔镜手术应用于同时行结直肠癌原发病灶和肝转移灶切除, 可具有住院时间短, 可避免二次手术, 能减轻患者心理压力以及降低围手术期死亡率等优势. 不可切除的异时性肝转移病灶, 新辅助化疗可使原无法切除的病灶变为可切除. 而对初始评估为可切除者, 有研究认为新辅助化疗可能导致肝转移灶丧失最佳手术时机, 无法切除; 也有研究认为FOLFOX4化疗可明显提高结直肠癌肝转移患者无进展生存期.

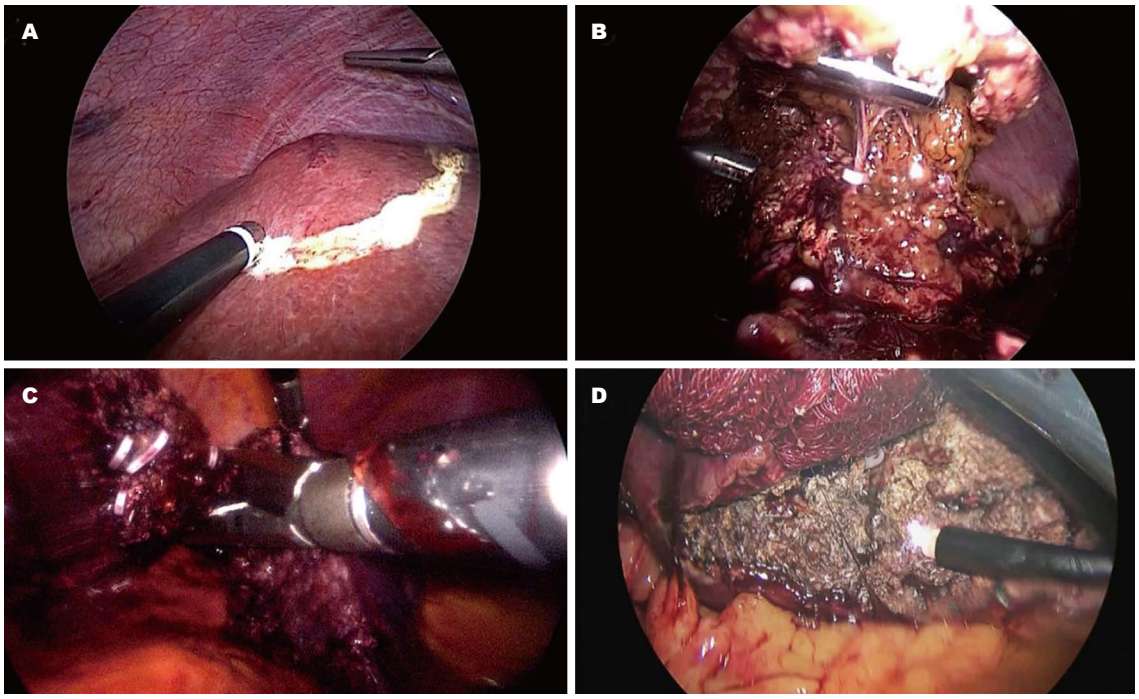


图 1 腹腔镜肝转移灶切除术. A: 标出肝切除线; B: Hemolock夹闭管道; C: 直线切割器白钉切断管道主干; D: 肝断面用氩气刀彻底止血.

不可切除的病灶, 新辅助化疗可使原无法切除的病灶变为可切除. 而对初始评估为可切除者, 是否术前要进行新辅助化疗, 目前尚无定论. 有研究认为非新辅助化疗组在总生存期和无进展生存期均优于新辅助化疗组, 新辅助化疗可能导致肝转移灶丧失最佳手术时机, 无法切除[4]; 也有研究认为FOLFOX4化疗可明显提高结直肠癌肝转移患者无进展生存期[5]. 本组异时性转移患者遵循的手术指征为: 肿瘤数>4个、肿瘤>5 cm、转移时间<12 mo或CEA升高时, 先行新辅助治疗3次, 如病情无进展, 肝转移灶能R0切除, 行腹腔镜肝转移灶切除术; 如无上述高危因素, 直接行腹腔镜肝转移灶切除术. 初步结果显示1年、2年和3年生存率分别为86%、67%和57%, 与文献报道相当[13], 提示该指征具有一定应用价值, 值得扩大样本量以及多中心前瞻性进一步研究.

结直肠癌肝转移肝切除的最适切缘距离一直是争论热点, 而腹腔镜肝切除更被认为无法保证有效切缘距离. 现在更多认为影响预后的决定因素并不是切缘距离的大小, 而是切缘的状态, 即阴性切缘的距离大小并不影响预后, R0切除是结直肠癌肝转移肝切除的目标[14]. 一组557例结直肠癌肝转移的研究显示, 肝切缘1-4、5-9和≥10 mm各组间的术后5年生存率和复发率均无差异[15]. 现在腹腔镜结直肠癌根治术已得到推广应用, 腹腔内黏连情况相较于开腹手术大为改善, 为异时性肝转移的腹腔镜切除术降低难度; 而术中B超的应用, 更有利于保证阴性切缘. 本组19例异时性肝转移患者中16例首次手术方式为腹腔镜结直肠癌根治术, 手术均顺利. 病理切缘为5-22 mm, 中位距离为12 mm. 术后1年、2年和3年无瘤生存率分别为81%、62%和47%, 未见trocar戳孔处转移, 与文献报道也相当[13].

因此, 符合一定适应症的结直肠癌肝转移患者, 接受腹腔镜肝转移切除术是安全有效的. 手术者需要同时具有丰富开腹肝切除术经验和腹腔镜操作技能. 结直肠癌肝转移的腹腔镜切除术在结直肠癌肝转移治疗中的确切应用, 值得进一步研究验证.

4 参考文献

1 Yoo PS, Lopez-Soler RI, Longo WE, Cha CH. Liver resection for metastatic colorectal cancer in the age of neoadjuvant chemotherapy and bevacizumab. *Clin Colorectal Cancer* 2006; 6: 202-207 [PMID: 17026789 DOI: 10.3816/CCC.2006.n.036]
2 Nguyen KT, Geller DA. Laparoscopic liver resection--current update. *Surg Clin North Am* 2010; 90: 749-760 [PMID: 20637945 DOI: 10.1016/j.suc.2010.04.008]
3 杨春明. 腹腔镜肝切除术的进展. 中华肝胆外科杂志 2011; 17: 610-613
4 Scartozzi M, Siquini W, Galizia E, Stortoni P, Mar-

morale C, Berardi R, Fianchini A, Cascinu S. The timing of surgery for resectable metachronous liver metastases from colorectal cancer: Better sooner than later? A retrospective analysis. *Dig Liver Dis* 2011; 43: 194-198 [PMID: 20728416 DOI: 10.1016/j.dld.2010.07.003.]

5 Petrelli NJ. Perioperative or adjuvant therapy for resectable colorectal hepatic metastases. *J Clin Oncol* 2008; 26: 4862-4863 [PMID: 18794535 DOI: 10.1200/JCO.2008.18.5868.]

6 中华医学会外科学分会肝脏外科学组. 腹腔镜肝切除术专家共识和手术操作指南(2013版). 中华外科杂志 2013; 51: 289-292

7 Poston GJ. Surgical strategies for colorectal liver metastases. *Surg Oncol* 2004; 13: 125-136 [PMID: 15572095 DOI: 10.1016/j.suronc.2004.08.001]

8 王凤山, 刘永锋. 转移性肝癌的治疗. 世界华人消化杂志 2008; 16: 115-119

9 Cherqui D. Laparoscopic liver resection. *Br J Surg* 2003; 90: 644-646 [PMID: 12808610]

10 Kooby DA, Stockman J, Ben-Porat L, Gonen M, Jarnagin WR, Dematteo RP, Tuorto S, Wuest D, Blumgart LH, Fong Y. Influence of transfusions on perioperative and long-term outcome in patients following hepatic resection for colorectal metastases. *Ann Surg* 2003; 237: 860-869; discussion 860-869 [PMID: 12796583 DOI: 10.1097/01.SLA.0000072371.95588.DA]

11 Moug SJ, Smith D, Leen E, Roxburgh C, Horgan PG. Evidence for a synchronous operative approach in the treatment of colorectal cancer with hepatic metastases: a case matched study. *Eur J Surg Oncol* 2010; 36: 365-370 [PMID: 20034757 DOI: 10.1016/j.ejso.2009.11.007]

12 Geiger TM, Tebb ZD, Sato E, Miedema BW, Awad ZT. Laparoscopic resection of colon cancer and synchronous liver metastasis. *J Laparoendosc Adv Surg Tech A* 2006; 16: 51-53 [PMID: 16494549]

13 Abu Hilal M, Di Fabio F, Abu Salameh M, Pearce NW. Oncological efficiency analysis of laparoscopic liver resection for primary and metastatic cancer: a single-center UK experience. *Arch Surg* 2012; 147: 42-48 [PMID: 22250111 DOI: 10.1001/archsurg.2011.856]

14 王平, 耿小平. 结直肠癌肝转移的治疗策略. 肝胆外科杂志 2001; 19: 473-476

15 Pawlik TM, Scoggins CR, Zorzi D, Abdalla EK, Andres A, Eng C, Curley SA, Loyer EM, Muratore A, Mentha G, Capussotti L, Vauthey JN. Effect of surgical margin status on survival and site of recurrence after hepatic resection for colorectal metastases. *Ann Surg* 2005; 241: 715-722, discussion 722-724 [PMID: 15849507 DOI: 10.1097/01.sla.0000160703.75808.7d]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

■同行评价

本文回顾性分析21例行腹腔镜肝转移灶切除术患者的临床资料、术后并发症和长期生存. 有一定的临床意义.

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com
世界华人消化杂志 2014年4月28日; 22(12): 1768-1772
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

联合热疗提高复发直肠癌患者免疫功能和放疗疗效

吕晓涓, 卢 驰, 应环珍, 董 震

■背景资料
直肠癌是常见恶性肿瘤之一, 在我国发病率有逐年上升趋势. 直肠癌的三维适形放射治疗目前已成为热点. 局部热疗在膀胱癌, 恶性腹腔积液中应用较多, 而复发直肠癌的研究, 国内外文献报道尚少, 把两者联合治疗直肠癌的报道更少.

吕晓涓, 卢驰, 应环珍, 武汉市中心医院肿瘤科 湖北省武汉市 430024
董震, 华中科技大学同济医学院附属同济医院神经外科 湖北省武汉市 430030
吕晓涓, 主治医师, 主要从事消化系肿瘤的放化疗及热疗.
作者贡献分布: 此课题由吕晓涓、卢驰、应环珍及董震设计; 研究过程由吕晓涓、卢驰、应环珍及董震操作完成; 数据分析由吕晓涓与董震完成; 本论文写作由吕晓涓与董震完成.
通讯作者: 董震, 主治医师, 430030, 湖北省武汉市解放大道1095号, 华中科技大学同济医学院附属同济医院神经外科.
dongz@tjh.tjmu.edu.cn
电话: 027-83665282
收稿日期: 2014-01-09 修回日期: 2014-03-19
接受日期: 2014-04-03 在线出版日期: 2014-04-28

Hyperthermia improves immune function and radiotherapy efficacy in patients with recurrent colorectal cancer

Xiao-Juan Lv, Chi Lu, Huan-Zhen Ying, Zhen Dong

Xiao-Juan Lv, Chi Lu, Huan-Zhen Ying, Department of Oncology, Wuhan Central Hospital, Wuhan 430024, Hubei Province, China
Zhen Dong, Department of Neurosurgery, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China
Correspondence to: Zhen Dong, Attending Physician, Department of Neurosurgery, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, 1095 Jiefang Avenue, Wuhan 430030, Hubei Province, China. dongz@tjh.tjmu.edu.cn
Received: 2014-01-09 Revised: 2014-03-19
Accepted: 2014-04-03 Published online: 2014-04-28

Abstract

AIM: To investigate the efficacy and safety of three-dimensional conformal radiotherapy combined with pelvic hyperthermia and their impact on the immune function in patients with recurrent colorectal cancer.

METHODS: Forty-six patients with recurrent colorectal cancer were divided into two groups in a chronological order. Patients in group A received three-dimensional conformal radiotherapy combined with pelvic hyperthermia, while patients in group B received three-dimensional conformal radiation therapy only. The efficacy, adverse reactions and the immune function were compared between the two groups.

RESULTS: The median local progression-free survival in group A was significantly longer than that in group B (16.3 mo *vs* 14.1 mo, $P < 0.05$). Compared with pre-treatment values, the percentages of $CD3^+$ and $CD4^+$ lymphocytes and $CD4^+/CD8^+$ ratio in group A increased significantly ($CD3^+$: 65.40% ± 6.18% *vs* 56.90% ± 6.16%; $CD4^+$: 32.70% ± 6.37% *vs* 28.30% ± 6.33%; $CD4^+/CD8^+$ ratio: 1.24 ± 0.23 *vs* 0.96 ± 0.28, $P < 0.05$ for all), while there were no significant changes in these indicators in group B. In both groups, adverse reactions, mainly acute rectal radiation reactions, could be tolerated. There were no significant differences in partial remission rate, one- and two-year survival rates between the two groups.

CONCLUSION: Compared with three-dimensional conformal radiotherapy alone, three-dimensional conformal radiotherapy combined with pelvic hyperthermia can prolong median local progression-free survival and improve immune function in patients with recurrent colorectal cancer, and is well tolerated.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Recurrent colorectal cancer; Three-dimensional conformal radiotherapy; Pelvic hyperthermia; Efficacy; Immune function

Lv XJ, Lu C, Ying HZ, Dong Z. Hyperthermia improves immune function and radiotherapy efficacy in patients with recurrent colorectal cancer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(12): 1768-1772 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1768.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i12.1768

摘要

目的: 探讨三维适形放疗联合盆腔热疗的疗效, 安全性, 以及对患者免疫功能的影响.

方法: 46例复发直肠癌患者按收治的时间顺序交替分为两组. A组三维适形放疗联合盆腔热疗组, B组为单纯三维适形放射治疗组, 比

■同行评议者
李革, 副教授, 延边大学附属医院

较两组的疗效、不良反应和免疫功能.

结果: A组中位局部无进展生存期较B组显著延长(16.3 mo *vs* 14.1 mo, $P<0.05$); 对患者外周血T淋巴细胞亚群分析表明: A组治疗后$CD3^+$、$CD4^+$水平以及$CD4^+/CD8^+$比值较治疗前显著增加($CD3^+$: 65.40%±6.18% *vs* 56.90%±6.16%; $CD4^+$: 32.70%±6.37% *vs* 28.30%±6.33%; $CD4^+/CD8^+$比值: 1.24±0.23 *vs* 0.96±0.28, 均$P<0.05$). B组上述指标变化无统计学差异; 不良反应主要为直肠急性放射性反应, 均可耐受; 两组患者局部症状缓解率、1年生存率、2年生存率比较无显著差异.

结论: 三维适形放疗联合盆腔热疗与单纯三维适形放射治疗相比可延长患者中位局部无进展生存期, 耐受性好, 可明显提高患者免疫功能.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 复发直肠癌; 三维适形放疗; 盆腔热疗; 疗效分析; 免疫功能

核心提示: 三维适形放疗联合盆腔热疗, 耐受性好, 可明显提高复发直肠癌患者的免疫功能, 延长中位局部无进展生存期.

吕晓涓, 卢驰, 应环珍, 董震. 联合热疗提高复发直肠癌患者免疫功能和放疗疗效. 世界华人消化杂志 2014; 22(12): 1768-1772
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1768.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i12.1768

0 引言

直肠癌是常见恶性肿瘤, 在欧美国家直肠癌的发病率很高, 为恶性肿瘤死亡率的第3位, 在我国的发病率有上升趋势. 直肠癌的治疗主要根据临床分期的多学科综合治疗, 治疗失败原因主要是局部未控或复发, 对于复发直肠癌的再治疗成为临床治疗的难点和挑战. 许多临床研究表明放疗和热疗联合在食道癌、肝癌、肺癌、鼻咽癌等的抗癌治疗中有协同作用[1,2]. 周华娟[3]也对调强放疗联合热疗治疗食管癌进行研究, 结果显示与单纯调强放疗相比, 有效率分别为89.2%和67.8%. Franckena等[4]报道放疗和热疗联合治疗宫颈癌取得77%的完全缓解率. 但局部热疗在复发直肠癌的研究, 国内外文献报道尚少, 把放热疗联合治疗直肠癌的报道更少. 本课题收集了2009-2012年间本院接收的直肠癌术后复发病例, 比较三维适形放疗联合盆腔热疗与单纯三维适形放射治疗的疗效、安全性以及对患者免疫功能的影响.

1 材料和方法

1.1 材料 2009-01/2012-01本院收治的46例经病理组织学确诊, 术后盆腔复发的直肠癌患者, 其中男28例, 女18例, 年龄30-74岁, 中位年龄52岁. 既往均未行化放疗. 有可测量病灶, PS评分0-1分, 预期生存期超过3 mo, 血液学检查及心电图结果基本正常. 按照知情同意原则患者按收治的时间顺序交替分为三维适形放疗联合盆腔热疗组(A组)和单纯三维适形放射治疗组(B组). 两组患者年龄, 性别, 病理类型, 一般状况均具有可比性(表1). 肿瘤射频热疗机, 深圳先科医疗设备有限公司生产, 型号: SR1000. 流式细胞仪, Becton Dickinson公司, 型号: FACScan. 三标荧光抗体$CD4^+$ FITC/$CD8^+$ R-PE/$CD3^+$ Cy-Q购自IQ Products公司.

1.2 方法

1.2.1 治疗: 三维适形放疗联合盆腔热疗组放射治疗采用直线加速器6MV-X线, 通过CT 0.5 cm薄层扫描, 根据ICRU62定义来勾画靶区, 包括复发病灶及肿大淋巴结, 盆腔放疗剂量50 Gy, 2 Gy/次, 25次; 肿瘤区剂量至66-70 Gy, 2 Gy/次, 共33-35次. 盆腔热疗频率40.68 MHz, 极板直径15、20、25 cm, 根据病灶部位、大小及深度采用不同极板治疗, 极板和皮肤之间置特制水袋耦合降温. 将测温探头分别置于直肠和阴道内, 根据患者一般状况调节功率, 使肿瘤达到所需温度(41 ℃-43 ℃), 每次热疗持续时间60 min, 每次均于盆腔热疗20 min后, 再实施放射治疗, 频次为2次/wk, 总计12次. 单纯放射治疗组盆腔放疗剂量50 Gy, 2 Gy/次, 25次; 肿瘤区剂量至66-70 Gy, 2 Gy/次, 共33-35次.

1.2.2 外周血T淋巴细胞亚群检测: 所有患者分别于治疗前1 d及疗程最后1 d抽取清晨空腹外周静脉血2 mL EDTA抗凝. 采用直接免疫荧光法, 加入$CD4^+/CD8^+/CD3^+$三标荧光抗体25 μL, 流式细胞术检测并用Ce11quest软件进行分析, 获得T淋巴细胞亚群的百分数.

1.2.3 复查和随访: 治疗结束后前3 mo每月复查1次, 之后每3 mo复查1次, 随访至2013-07.

统计学处理 使用SPSS13.0统计软件, 生存率分析采用方法Log-rank检验组间差异. $P<0.05$为差异统计学意义.

2 结果

2.1 疗效 三维适形放疗联合盆腔热疗组治疗后

■研发前沿
直肠癌的治疗失败原因主要是局部未控或复发, 对于复发直肠癌的再治疗成为临床治疗的难点和挑战. 本课题主要是研究三维适形放疗与盆腔热疗联合起来治疗复发直肠癌的疗效, 安全性, 以及对患者免疫功能的影响.

■相关报道
目前已有研究证实局部放热疗后$CD3^+$、$CD4^+$、$CD4^+/CD8^+$较放热疗前明显升高，主要集中于乳腺癌、胃癌、宫颈癌等，而对于其在复发直肠癌的研究尚少.

表 1 46例盆腔复发直肠癌患者一般临床资料 (n = 23, n)

	单纯三维适形放射治疗组	三维适形放疗联合盆腔热疗组
中位年龄(岁)	50	54
性别(男/女)	15/8	13/10
PS		
0分	10	9
1分	13	14
腺癌(不包括黏液腺癌)	16	15
黏液腺癌	6	8
非腺癌	1	0

PS: 肿瘤患者一般状况评分.

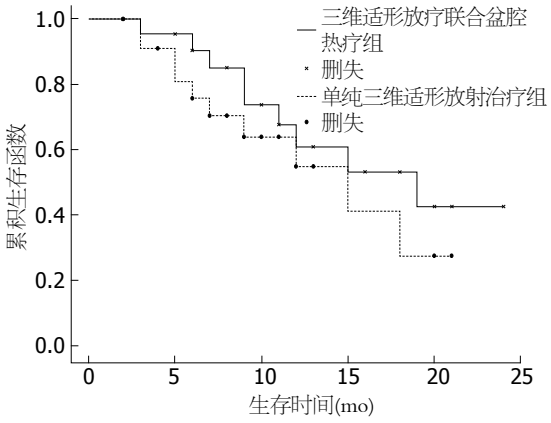


图 1 两治疗组的生存曲线图.

局部症状缓解率为91.3%，单纯放射治疗组局部症状缓解率为82.6%；1年生存率三维适形放疗联合盆腔热疗组和单纯放射治疗组分别为73.9%和65.2%；2年生存率三维适形放疗联合盆腔热疗组和单纯放射治疗组分别为60.9%和56.5%；两组比较差异均无统计学意义(P>0.05). 中位局部无进展生存期(local progression-free survival, LPFS)三维适形放疗联合盆腔热疗组为16.3 mo，单纯放射治疗组为14.1 mo，两组比较差异有显著统计学意义(P<0.05)(表2).

2.2 不良反应 不良反应主要为直肠急性放射性反应，表现为排便次数增多或排便习惯改变，腹泻、腹痛、黏液便、脓血便等情况. 三维适形放疗联合盆腔热疗组和单纯放射治疗组中43例患者出现直肠急性放射反应，其中Ⅰ级26例，Ⅱ级14例，Ⅲ级3例，予以对症支持治疗后均缓解. 三维适形放疗联合盆腔热疗组和单纯放射治疗组比较，不良反应差异无统计学意义(P>0.05)(表3).

2.3 免疫功能 两治疗组T淋巴细胞亚群指标($CD3^+$、$CD4^+$、$CD8^+$及$CD4^+/CD8^+$比值)治疗前的同质性t检验均显示两组的差异无统计学意义(P>0.05). 三维适形放疗联合盆腔热疗组治疗后与治疗前比较$CD3^+$、$CD4^+$水平以及$CD4^+/CD8^+$均增加，差异均有显著统计学意义(P<0.05). 而单纯三维适形放射治疗组治疗后与治疗前比较$CD3^+$、$CD4^+$水平以及$CD4^+/CD8^+$差异无统计学意义(P>0.05)(表4).

3 讨论

热疗(hyperthermia)是通过加热使肿瘤组织的温度达到40 ℃-44 ℃，引起肿瘤细胞生长受阻与死亡的一种治疗方式. 实验研究表明：热疗可直接杀伤肿瘤细胞和诱导细胞凋亡，更重要的是，热疗抑制放射诱导的DNA损伤的修复，抑制肿瘤血管生成，降低乏氧细胞的比例，使多数细胞停滞在S期和G_2期，提高细胞的放射敏感性[5]. Zolzer等[6]研究发现，热疗联合放疗会延长人黑色素瘤细胞G_2期的时间，导致更多的人黑色素瘤细胞凋亡. 热疗对肿瘤的杀伤主要为肿瘤中央的细胞，放射治疗对肿瘤的杀伤主要为肿瘤周边的细胞. 放疗可减少肿瘤细胞的热耐受性，提高热疗效果. 合理的应用热疗和放射治疗，可以克服放疗，热疗之间的缺陷，起到优势互补、协同增敏的作用. 明显增加常规治疗手段对肿瘤的局部控制率，改善远期生存率，具有其他治疗手段不可比拟的作用[7,8].

Juffermans等[9]回顾性研究显示热疗联合再次放射治疗不能切除或复发的直肠癌获得满意疗效. 87%患者能完成治疗计划，不良反应最大2级. 72%患者获得理想的联合治疗效果，中位无进展期为6 mo. 本研究应用三维适形放疗联合盆腔热疗与单纯放射治疗复发的直肠癌进行对比，分析结果表明，热疗在不增加放疗不良反应的基础上可有效地提高症状缓解率，但两组比较差异无统计学意义；热疗和放疗联合可增加中位LPFS两组比较差异有显著统计学意义(P<0.05). 这与Schildkopf[10]的研究是一致的.

热疗有助于解除恶性肿瘤患者的免疫抑制，增强机体抗肿瘤免疫，防止和抑制肿瘤的转移和复发[11,12]. 肿瘤患者自身存在免疫功能低下，手术和常规化疗、放疗均不能纠正恶性肿瘤患者的免疫水平低下的状态，加上恶性肿瘤对宿主免疫抑制，从而使肿瘤逃避了机体的免疫监视，促进了肿瘤的生长[13]，这也是临床上常规治疗后复发的原因之一. 热疗可改变肿瘤

■创新盘点
把三维适形放疗与盆腔热疗联合起来治疗复发直肠癌患者, 取得很好的疗效, 改善了患者免疫功能, 耐受性好.

表 2 两组患者的症状缓解率, 中位LPFS及1, 2年生存率

分组	症状缓解率[n(%)]	中位LPFS(mo)	1年生存率[n(%)]	2年生存率[n(%)]
三维适形放疗联合盆腔热疗组	21(91.3)	16.3[a]	17(73.9)	14(60.9)
单纯三维适形放射治疗组	19(82.6)	14.1	15(65.2)	13(56.5)

[a]*P*<0.05 *vs* 单纯三维适形放射治疗组. LPFS: 局部无进展生存期.

表 3 两组病例不良反应比较 [%(n/23)]

不良反应	三维适形放疗联合盆腔热疗组	单纯三维适形放射治疗组
排便次数增多(无需用药)	60.9(14/23)	52.2(12/23)
腹泻、腹痛(需药物)	26.1(6/23)	34.8(8/23)
腹泻、需肠胃外营养; 重度黏液便、脓血便, 需卫生垫	4.3(1/23)	8.7(2/23)

表 4 两组患者放疗前后T细胞亚群比 (mean ± SD)

T淋巴细胞亚群	三维适形放疗联合盆腔热疗组		单纯三维适形放射治疗组	
	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
$CD3^+$(%)	56.90 ± 6.16	65.40 ± 6.18[a]	57.90 ± 6.19	57.10 ± 6.11
$CD4^+$(%)	28.30 ± 6.33	32.70 ± 6.37[a]	28.80 ± 6.41	28.60 ± 6.35
$CD8^+$(%)	29.60 ± 6.18	26.30 ± 6.26	29.10 ± 6.28	29.80 ± 6.23
$CD4^+/CD8^+$	0.96 ± 0.28	1.24 ± 0.23[a]	0.99 ± 0.22	0.96 ± 0.24

[a]*P*<0.05 *vs* 治疗前.

细胞膜脂质双分子层的流动性[14], 激活抗肿瘤的细胞免疫反应; 此外, 热疗可破坏、解除肿瘤细胞分泌的封闭因子, 巨噬细胞移动抑制因子等对免疫系统的抑制, 使机体恢复对肿瘤的免疫应答反应[15]; 且热疗可以促进肿瘤组织合成热休克蛋白, 刺激机体免疫系统, 增强抗肿瘤免疫功能, 以及引起非特异性炎症诱发免疫反应[16]. 本资料的研究结果表明, 放射治疗后$CD3^+$、$CD8^+$、$CD4^+$、$CD4^+/CD8^+$与放疗前变化不明显(*P*>0.05), 这与李云峰等[17]研究一致; 而热放疗后$CD3^+$、$CD4^+$、$CD4^+/CD8^+$比值较治疗前明显升高(*P*<0.05). 我们的观察发现, 热放疗患者的细胞免疫得到改善, 在一定程度上逆转了患者免疫水平低下的状态, 进而延长患者的LPFS.

总之, 本研究认为, 三维适形放疗联合盆腔热疗与单纯三维适形放射治疗相比可延长患者中位局部无进展生存期, 耐受性好, 可明显提高患者免疫功能. 由于本研究病例数有限, 有待开展大规模的随机对照研究以进一步证实.

4 参考文献

1 Shi JF, Canfell K, Lew JB, Qiao YL. The burden of cervical cancer in China: synthesis of the evidence. *Int J Cancer* 2012; 130: 641-652 [PMID: 21387308 DOI: 10.1002/ijc.26042]
2 Franckena M, van der Zee J. Use of combined radiation and hyperthermia for gynecological cancer. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2010; 22: 9-14 [PMID: 20019611 DOI: 10.1097/GCO.0b013e328333d1e2]
3 周华娟. IMRT联合热疗治疗食管癌的疗效分析. 中国医学物理学杂志 2011; 28: 2816-2817
4 Franckena M, Lutgens LC, Koper PC, Kleynen CE, van der Steen-Banasik EM, Jobsen JJ, Leer JW, Creutzberg CL, Dielwart MF, van Norden Y, Canters RA, van Rhoon GC, van der Zee J. Radiotherapy and hyperthermia for treatment of primary locally advanced cervix cancer: results in 378 patients. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2009; 73: 242-250 [PMID: 18990505 DOI:10.1016/j.ijrobp.2008.03.072]
5 Wust P, Hildebrandt B, Sreenivasa G, Rau B, Gellermann J, Riess H, Felix R, Schlag PM. Hyperthermia in combined treatment of cancer. *Lancet Oncol* 2002; 3: 487-497 [PMID: 12147435 DOI: 10.1016/S1470-2045(02)00818-5]
6 Zölzer F, Streffer C. G2-phase delays after irradiation and/or heat treatment as assessed by two-parameter flow cytometry. *Radiat Res* 2001; 155: 50-56 [PMID: 11121215 DOI: 10.1667/0033-7587(2001)155]
7 van der Zee J. Heating the patient: a promising

■同行评价
本文对复发的直肠癌应用放疗联合热疗治疗, 取得很好的疗效, 有一定的科学性和先进性, 结果对临床有意义, 特别是能提高患者的免疫力. 有一定的科学性和先进性, 有学术价值.

approach? *Ann Oncol* 2002; 13: 1173-1184 [PMID: 12181239 DOI: 10.1093/annonc/mdf280]
8 Vermaas M, Nuyttens JJ, Ferenschild FT, Verhoef C, Eggermont AM, de Wilt JH. Reirradiation, surgery and IORT for recurrent rectal cancer in previously irradiated patients. *Radiother Oncol* 2008; 87: 357-360 [PMID: 18353474 DOI: 10.1016/j.radonc.2008.02.021]
9 Juffermans JH, Hanssens PE, van Putten WL, van Rhoon GC, van Der Zee J. Reirradiation and hyperthermia in rectal carcinoma: a retrospective study on palliative effect. *Cancer* 2003; 98: 1759-1766 [PMID: 14534894 DOI: 10.1002/cncr.11719]
10 Schildkopf P, Frey B, Mantel F, Ott OJ, Weiss EM, Sieber R, Janko C, Sauer R, Fietkau R, Gaipl US. Application of hyperthermia in addition to ionizing irradiation fosters necrotic cell death and HMGB1 release of colorectal tumor cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2010; 391: 1014-1020 [PMID: 19968962 DOI: 10.1016/j.bbrc.2009.12.008]
11 Mace TA, Zhong L, Kokolus KM, Repasky EA. Effector CD8+ T cell IFN-γ production and cytotoxicity are enhanced by mild hyperthermia. *Int J Hyperthermia* 2012; 28: 9-18 [PMID: 22235780 DOI: 10.3109/02656736.2011.616182]
12 Frey B, Weiss EM, Rubner Y, Wunderlich R, Ott OJ, Sauer R, Fietkau R, Gaipl US. Old and new facts about hyperthermia-induced modulations of the immune system. *Int J Hyperthermia* 2012; 28: 528-542 [PMID: 22690925 DOI: 10.3109/02656736.2012.677933]
13 王旭霞, 张盈华, 郝晓柯, 殷缨, 陶秦渝. 胃癌患者红细胞免疫功能及T淋巴细胞亚群的变化. 肿瘤防治杂志 2003; 5: 493-495
14 Hildebrandt B, Wust P, Ahlers O, Dieing A, Sreenivasa G, Kerner T, Felix R, Riess H. The cellular and molecular basis of hyperthermia. *Crit Rev Oncol Hematol* 2002; 43: 33-56 [PMID: 12098606 DOI: 10.1016/S1040-8428(01)00179-2]
15 彭楠, 赵彼得. 临床肿瘤热疗学. 北京: 人民军医出版社, 2002: 92-95
16 Ito A, Shinkai M, Honda H, Yoshikawa K, Saga S, Wakabayashi T, Yoshida J, Kobayashi T. Heat shock protein 70 expression induces antitumor immunity during intracellular hyperthermia using magnetite nanoparticles. *Cancer Immunol Immunother* 2003; 52: 80-88 [PMID: 12594571]
17 李云峰, 杨之斌, 高屹, 夏翠峰. 术前放化疗对老年直肠癌患者免疫功能的影响. 昆明医学院学报 2009; 10: 65-68

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费

本刊讯 为了方便作者来稿, 保证稿件尽快公平、公正的处理, 《世界华人消化杂志》编辑部研究决定, 从2011年开始对所有来稿不再收取审稿费. 审稿周期及发表周期不变. (《世界华人消化杂志》编辑部)

世界华人消化杂志 2014年4月28日; 22(12): Ⅰ-Ⅴ
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

《世界华人消化杂志》投稿须知

《世界华人消化杂志》为保证期刊的学术质量, 对所有来稿均进行同行评议, 是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》收录的学术期刊.

1 投稿总则

1.1 性质 《世界华人消化杂志(*World Chinese Journal of Digestology*, *WCJD*, ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569)》是一份同行评议和开放获取期刊(Open Access Journal, OAJ), 创始于1993-01-15, 旬刊, 每月8、18和28号出版. 《世界华人消化杂志》编辑委员会成员, 由483位专家组成, 分布在30个省市、自治区和特别行政区.

《世界华人消化杂志》的首要任务是出版胃肠病学, 肝病学, 消化系内镜学, 消化系外科学, 消化系肿瘤学, 消化系影像学, 消化系介入治疗, 消化系病理学, 消化系感染学, 消化系药理学, 消化系病理生理学, 消化系病理学, 消化系循证医学, 消化系管理学, 胰腺病学, 消化系检验医学, 消化系分子生物学, 消化系免疫学, 消化系微生物学, 消化系遗传学, 消化系转化医学, 消化系诊断学, 消化系治疗学和糖尿病等领域的原始创新性文章, 综述文章和评论性的文章. 最终目的是出版高质量的文章, 提高期刊的学术质量, 使之成为指导本领域胃肠病学和肝病学实践的重要学术性期刊, 提高消化系疾病的诊断和治疗水平.

《世界华人消化杂志》由百世登出版集团有限公司(Baishideng Publishing Group, BPG)主办和出版的一份印刷版, 电子版和网络版三种版本的学术类核心期刊, 由北京百世登生物医学科技有限公司生产制作, 所刊载的全部文章存储在《世界华人消化杂志》网站上. OAJ最大的优点是出版快捷, 一次性缴纳出版费, 不受版面和彩色图片限制, 作者文章在更大的空间内得到传播, 全球读者免费获取全文PDF版本, 网络版本和电子期刊. 论文出版后, 作者可获得高质量PDF, 包括封面、编委会成员名单、目次、正文和封底, 作为稿酬, 样刊两本. BPG拥有专业的编辑团队, 涵盖科学编辑、语言编辑和电子编辑.目前编辑和出版42种临床医学OAJ期刊, 其中英文版41种, 具备国际一流的编辑与出版水平.

《世界华人消化杂志》被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》, 《Chemical Abstracts》, 《EMBASE/Excerpta Medica》, 《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录. 《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号. 《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学研究领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊.

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

2 撰稿要求

2.1 总体标准 文稿撰写应遵照国家标准GB7713科学技术报告、学位论文和学术论文的编写格式, GB6447文摘编写规则, GB7714文后参考文献著录规则, GB/T 3179科学技术期刊编排格式等要求; 同时遵照国际医学期刊编辑委员会(International Committee of Medical Journal Editors)制定的《生物医学期刊投稿的统一要求(第5版)》(Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals). 见: *Ann Intern Med* 1997; 126: 36-47.

2.2 名词术语 应标准化, 前后统一, 如原词过长且多次出现者, 可于首次出现时写出全称加括号内注简称, 以后直接用简称. 医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准, 药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准, 国家食品药品监督管理局批准的新药, 采用批准的药名; 创新性新药, 请参照我国药典委员会的“命名原则”, 新译名词应附外文. 公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称), 如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD50, HBsAg, HCV

《世界华人消化杂志》英文摘要被《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录.

RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等. 为减少排印错误, 外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上. 中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者, 直接采用原有英语词, 如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词, 如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者, 宜用汉语拼音, 如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤). 通常应小写.

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

2.4 计量单位 采用国际单位制并遵照有关国家标准, GB3100-3102-93量和单位. 原来的“分子量”应改为物质的相对分子质量. 如 30 kD改为M_r 30 000或30 kDa(M大写斜体, r小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即A_r(A大写斜体, r小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u(小写正体). 计量单位在+、－及-后列出. 在±前后均要列出, 如37.6 ℃±1.2 ℃, 45.6岁±24岁, 56.4 d±0.5 d. 3.56±0.27 pg/ml应为3.56 ng/L±0.27 ng/L. BP用kPa(mmHg), RBC数用1×10^{12}/L, WBC数用1×10^{9}/L, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L. M_r明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示. 1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸. 长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm×6 cm×4 cm. 生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO_2结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L. 年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁. 例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把1×10^{-3} g与5×10^{-7} g之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm. 国际代号不用于无数字的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d. 在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg•d), 且在整篇文章内应统一. 单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs. 半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L乙醇; 5% CO_2, 50 mL/L CO_2; 1∶1 000肾上腺素, 1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg, 改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm = 45×10^{-6}; 离心的旋转频率(原称转速)用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示.

2.5 统计学符号 (1)*t*检验用小写*t*; (2)*F*检验用英文大写*F*; (3)卡方检验用希文小写χ^2; (4)样本的

相关系数用英文小写r; (5)自由度用希文小写υ; (6)样本数用英文小写n; (7)概率用英文斜体大写P. 在统计学处理中在文字叙述时平均数±标准差表示为mean±SD, 平均数±标准误为mean±SE. 统计学显著性用$^{a}P<0.05$, $^{b}P<0.01$($P>0.05$不注). 如同一表中另有一套P值, 则$^{c}P<0.05$, $^{d}P<0.01$; 第三套为$^{e}P<0.05$, $^{f}P<0.01$等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字, 如1 000-1 500 kg, 3.5 mmol/L±0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6 347意指6 000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的mean±SD应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3 614.5 g±420.8 g, SD的1/3达一百多g, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6 kg±0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm±0.27 cm, 其SD/3 = 0.09 cm, 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位. 有效位数以后的数字是无效的, 应该舍. 末尾数字, 小于5则舍, 大于5则进, 如恰等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 末尾时只可1次完成, 不得多次完成. 例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该23.48→23.5→24. 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写. 如1985年4月12日, 可写作1985-04-12; 1985年4月, 写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止, 写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止, 写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30. 百分数的有效位数根据分母来定: 分母≤100, 百分数到个位; 101≤分母≤1 000, 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1 486 800.475 65. 完整的阿拉伯数字不移行!

2.7 标点符号 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律用逗号分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末. 标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU. 外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体.

3 稿件格式

3.1 题名 简明确切地反映论文的特定内容, 鲜明而有特色, 阿拉伯数字不宜开头, 不用副题名, 一般20个字. 避免用“的研究”或“的观察”等非特定词.

3.2 作者 论文作者的署名，按照国际医学杂志编辑委员会(ICMJE, International Committee of Medical Journal Editors)作者资格标准执行. 作者标准为: (1)对研究的理念和设计、数据的获得、分析和解读做出重大贡献; (2)起草文章, 并对文章的重要的知识内容进行批评性修改; (3)接受对准备发表文章的最后一稿. 作者应符合条件1, 2, 3, 对研究工作有贡献的其他人可放入志谢中. 作者署名的次序按贡献大小排列, 多作者时姓名间用逗号, 如是单名, 则在姓与名之间空1格(正文和参考文献中不空格). 《世界华人消化杂志》要求所有署名人写清楚自己对文章的贡献. 世界华人消化杂志不设置共同第一作者和共同通信作者.

3.3 单位 作者后写单位的全称空1格后再写省市及邮政编码. 格式如: 张旭晨, 梅立新, 承德医学院病理教研室 河北省承德市 067000

3.4 第一作者简介 格式如: 张旭晨, 1994年北京中医药大学硕士, 讲师. 主要从事消化系统疾病的病理研究.

3.5 作者贡献分布 格式如: 陈湘川与庞丽娟对此文所作贡献两均等; 此课题由陈湘川、庞丽娟、陈玲、杨兰、张金芳、齐妍及李洪安设计; 研究过程由陈玲、杨兰、张金芳、蒋金芳、杨磊、李锋及曹秀峰操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由曹秀峰提供; 数据分析由陈湘川、杨兰及庞丽娟完成; 本论文写作由陈湘川、庞丽娟及李洪安完成.

3.6 同行评议者 为了确保刊出文章的质量, 本刊即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名, 职称, 机构的名称与文章一同在脚注出版. 格式如: 房静远, 教授, 上海交通大学医学院附属医院仁济医院, 上海市消化疾病研究所.

《世界华人消化杂志》编辑部, 100025, 北京市朝阳区, 东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893, Email: wcjd@wjgnet.com; http://www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》自2006-01-01起改为旬刊发行, 每月8、18、28日出版.

3.7 基金资助项目 格式如: 国家自然科学基金资助项目, No. 30224801

3.8 通讯作者 格式如: 通讯作者: 黄缘, 教授, 330006, 江西省南昌市民德路1号, 南昌大学第二附属医院消化内科, 江西省分子医学重点实验室. huang9815@yahoo.com

电话: 0351-4078656 传真: 0351-4086337

收稿日期: 修回日期:

3.9 英文摘要

题名 文章的题名应言简意赅, 方便检索, 英文题名以不超过10个实词为宜, 应与中文题名一致.

作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名, 后姓; 首字母大写, 双名之间用半字线“-”分开, 多作者时姓名间加逗号. 格式如: “潘伯荣”的汉语拼写法为“Bo-Rong Pan”.

单位 先写作者, 后写单位的全称及省市邮政编码. 例如: Xu-Chen Zhang, Li-Xin Mei, Department of Pathology, Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China

基金资助项目 格式如: Supported by National Natural Science Foundation of China, No.30224801

通讯作者 格式如: Correspondence to: Dr. Lian-Sheng Ma, Taiyuan Research and Treatment Center for Digestive Diseases, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China. wcjd@wjgnet.com

收稿及修回日期 格式如: Received: Revised:

摘要 包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致.

3.10 中文摘要 必须在300字左右, 内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的), 方法(必须包括材料或对象. 应描述课题的基本设计, 双盲、单盲还是开放性, 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度. 研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征. 如研究对象是患者, 应阐明其临床表现, 诊断标准. 如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不良反应而中途停止研究), 结果(应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确、具体, 所列数据经用何种统计学方法处理; 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值; 概率写*P*, 后应写出相应显著性检验值), 结论(全文总结, 准确无误的观点及价值).

3.11 正文标题层次 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献. 序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文. 正文内序号连排用(1), (2), (3). 以下逐条陈述.

0 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系.

1 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验. 对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可.

2 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论.

3 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾.

图表的数量要精选. 表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容. 表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出. 图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出. 同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述. 如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化. A: …; B: …; C: …; D: …; E: …; F: …; G: …. 曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号. 统计学显著性用: $^{a}P<0.05$, $^{b}P<0.01$($P>0.05$不注). 如同一表中另有一套*P*值, 则$^{c}P<0.05$, $^{d}P<0.01$; 第3套为$^{e}P<0.05$, $^{f}P<0.01$. *P*值后注明何种检验及其具体数字, 如$P<0.01$, $t = 4.56$ *vs* 对照组等, 注在表的左下方. 表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐. “空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等. 表图勿与正文内容重复. 表图的标目尽量用*t*/min, *c*/(mol/L), *p*/kPa, *V*/mL, *t*/℃表达.

志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐.

4 参考文献 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序. 提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码. 文中如列作者姓名, 则需在“Pang等”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在该论述的句末右上

角注码号. 如马连生[1]报告……, 潘伯荣等[2-5]认为……; PCR方法敏感性高[6-7]. 文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]. 所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed,《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献. 期刊: 序号, 作者(列出全体作者). 文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID和DOI编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部),书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页.

5 网络版的发表前链接 本刊即将开始实行网络版的每篇文章上都有该文发表前纪录的链接, 包括首次提交的稿件, 同行评议人报告, 作者给审稿人回信和作者修回稿, 以PDF格式上传. 读者可以针对论文、审稿意见和作者的修改情况发表意见, 指出问题与不足; 作者也可以随时修改完善自己发表的论文, 使文章的发表成为一个编者、同行评议者、读者、作者互动的动态过程.

4 写作格式实例

4.1 述评写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/sp.asp

4.2 研究原著写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjyz.asp

4.3 焦点论坛写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/jdlt.asp

4.4 文献综述写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/wxzs.asp

4.5 研究快报写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjkb.asp

4.6 临床经验写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/lcjy.asp

4.7 病例报告写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/blbg.asp

5 投稿方式

接受在线投稿, 不接受其他方式的投稿, 如E-mail、打印稿. 在线投稿网址: http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx. 无法在线提交的通过submission@wjgnet.com, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893寻求帮助. 投稿须知下载网址http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.pdf. 审稿过程平均时间需要14-28天. 所有的来稿均经2-3位同行专家严格评审, 2位或以上通过为录用, 否则将退稿或修改后再审.

6 修回稿须知

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

6.2 稿件修改 来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删节时, 本刊编辑部将把退修稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改, 而作者必须于15天内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期寄回, 所造成的问题由作者承担责任.

6.3 版权 本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负. 作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期): 起止页码. 如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有.

《世界华人消化杂志》编辑部

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号

远洋国际中心D座903室

电话: 010-5908-0035

传真: 010-8538-1893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

http: //www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》坚持开放获取(open access, OA)的出版模式, 编辑出版高质量文章, 努力实现编委、作者和读者利益的最大化, 努力推进本学科的繁荣和发展, 向专业化、特色化和品牌化方向迈进.

世界华人消化杂志 2014年4月28日; 22(12): I
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

2014年国内国际会议预告

2014-03-12/15
2014年亚太肝病研究协会肝病周(APASL)
会议地点: 澳大利亚
联系方式: http://apasl2014.com/

2014-04-05/09
2014年美国癌症研究协会大会(AACR)
会议地点: 美国
联系方式: http://www.aacr.org/home/scientists/meetings--workshops/meetings--workshops-calendar.aspx

2014-04-09/13
2014年第49届欧洲肝病研究协年会(EASL)
会议地点: 英国
联系方式: http://www.easl.eu/_the-international-liver-congress/general-information

2014-04-18/05-20
2014中国超声医学学术大会
会议地点: 北京市
联系方式: http://www.cuda.org.cn/new/meeting

2014-04-26/27
中华医学会临床药学分会2014年全国学术会议
会议地点: 成都市
联系方式: http://www.cncscp.org/

2014-05-04/06
2014年美国消化疾病周(DDW)
会议地点: 美国
联系方式: http://www.ddw.org/attendees/faqs

2014-05-16/18
2014第七届世界癌症大会
会议地点: 南京市
联系方式: http://www.bitlifesciences.com/cancer2014/cn/meeting.asp

2014-05-23/24
第六届药源性疾病与安全用药中国论坛-消化系统与肝病药物专题研讨会
会议地点: 北京市
联系方式: adrhuiyi@126.com

2014-05-30/06-03
2014年美国临床肿瘤协会年会(ASCO)
会议地点: 美国
联系方式: http://www.asco.org/meetings/calendar-events

2014-06-04/07
2014年第20届国际肝移植协会年会(ILTS)
会议地点: 英国
联系方式: http://www.ilts.org/meetings/

2014-06-09/12
2014年第47届欧洲儿科胃肠病, 肝病和营养学协会大会(ESPGHAN)
会议地点: 以色列
联系方式: http://www.espghan2014.org/

2014-06-18/21
2014年欧洲胃肠与腹部放射学协会肝部成像研讨会(ESGAR)
会议地点: 奥地利
联系方式: http://www.esgar.org/files/File/ESGAR14

2014-06-25/28
2014年世界胃肠癌大会(WGIC)
会议地点: 西班牙
联系方式: http://worldgicancer.com/WCGI

2014-06-25/28
2014年第14届欧洲内窥镜手术协会国际大会(EAES)
会议地点: 法国
联系方式: hdimcs@163.com

2014-06-27/28
2014中华医学会肝病与代谢学术研讨会
会议地点: 上海市
联系方式: lilyjia@163.com

2014-07-26/31
2014年世界移植大会
会议地点: 美国
联系方式: http://www.wtc2014.org/

2014-07-28/30
第3届国际肠胃病学与泌尿学大会
会议地点: 美国
联系方式: http://www.omicsgroup.com/gastroenterology-urology-conference-2014/registration.php

2014-09-05/07
2014年第8届国际肝癌协会大会(ILCA)
会议地点: 日本
联系方式: http://www.ilca2014.org/

2014-09-26/30
2014年欧洲临床肿瘤协会年会(ESMO)
会议地点: 西班牙
联系方式: http://www.esmo.org/

2014-10-18/22
2014年第22届欧洲联合胃肠病学周(UEG)
会议地点: 奥地利
联系方式: http://www.ueg.eu/week/past-future/future-ueg-week/

世界华人消化杂志 2014年4月28日; 22(12): I
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

志谢世界华人消化杂志编委

本期文章审稿中(包括退稿), 我刊编委付出了宝贵的时间和大量的精力, 提高了《世界华人消化杂志》的学术质量, 在此表示衷心感谢!

陈国忠 主任医师
广西中医学院第一附属医院消化内科

陈卫昌 教授
苏州大学附属第一医院消化内科

戴朝六 教授
中国医科大学第二临床学院(盛京医院)肝胆外科

杜奕奇 副教授
中国人民解放军第二军医大学长海医院

樊晓明 教授
复旦大学附属金山医院消化科

傅华群 教授
南昌大学第二附属医院

何敏 教授
广西医科大学医学科学实验中心

黄文林 教授
中山大学附属肿瘤医院

黄颖秋 教授
本溪钢铁(集团)总医院消化内科

李刚 教授
北京大学医学部生物化学与分子生物学系

李康 教授
广东药学院药科学院药物分析教研室

李瑜元 教授
广州市第一人民医院内科

李正荣 副教授
南昌大学附属第一医院胃肠外科(普六病区)

李宗芳 教授
西安交通大学医学院第二附属医院

刘宝瑞 教授
南京大学医学院附属鼓楼医院肿瘤中心

刘正稳 教授
西安交通大学医学院第一附属医院

龙学颖 副主任医师
中南大学湘雅医院

禄韶英 副教授
西安交通大学医学院第一附属医院普外科

吕凌 副教授
江苏省人民医院肝脏外科

潘秀珍 教授
福建省立医院消化科

任粉玉 教授
延边大学附属医院消化内科

宋振顺 教授
西京医院肝胆外科

汪思应 教授
安徽医科大学

王道荣 主任医师
江苏省苏北人民医院胃肠外科

王阁 教授
中国人民解放军第三军医大学第三附属医院

魏睦新 教授
江苏省南京市, 南京医科大学第一附属医院

许剑民 教授
上海市复旦大学附属中山医院普外科

杨江华 副教授
皖南医学院弋矶山医院感染科

殷正丰 教授
中国人民解放军第二军医大学东方肝胆外科医院

于珮 主任医师
天津医科大学代谢病医院

张明辉 副主任医师
河北医科大学第一医院

张占卿 主任医师
上海市复旦大学公共卫生中心肝脏病学、传染病学

世界华人消化杂志
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

《中文核心期刊要目总览》收录证书

《中文核心期刊要目总览》入编通知

尊敬的主编先生/女士：

我们谨此郑重通知：依据文献计量学的原理和方法，经研究人员对相关文献的检索、统计和分析，以及学科专家评审，贵刊《**世界华人消化杂志**》入编《中文核心期刊要目总览》2011 年版（即第六版）之 **临床医学/特种医学类** 的核心期刊。该书由北京大学出版社出版。书中按《中国图书馆分类法》的学科体系，列出了 73 个学科的核心期刊表，并逐一对核心期刊进行了著录。著录项目包括：题名、并列题名、主办单位、创刊时间、出版周期、学科分类号、ISSN 号、CN 号、邮发代号、编辑部地址、邮政编码、电话、网址、电子邮箱、内容简介等。

评选核心期刊的工作，是运用科学方法对各种刊物在一定时期内所刊载论文的学术水平和学术影响力进行综合评价的一种科研活动，研究工作量浩大。北京地区十几所高校图书馆、中国科学院国家科学图书馆、中国社会科学院文献信息中心、中国人民大学书报资料中心、中国学术期刊（光盘版）电子杂志社、中国科学技术信息研究所、北京万方数据股份有限公司、国家图书馆等相关单位的百余名专家和期刊工作者参加了研究。

课题组对核心期刊的评价理论、评价方法等问题进行了深入研究，进一步改进了核心期刊评价方法，使之更趋科学合理，力求使评价结果符合客观实际。对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被索量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web 下载量等 9 个评价指标，选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到 60 余种，统计到的文献数量共计 221177 余万篇次，涉及期刊 14400 余种。参加核心期刊评审的学科专家达 8200 多位。经过定量筛选和专家定性评审，从我国正在出版的中文期刊中评选出 1982 种核心期刊。

需要特别指出的是，该研究成果只是一种参考工具书，主要是为图书情报界、出版界等需要对期刊进行评价的用户提供参考，例如为各图书情报部门的中文期刊采购和读者导读服务提供参考帮助等，不应作为评价标准。谨此说明。

顺颂

撰安

《中文核心期刊要目总览》2011 年版编委会

代章：

2012 年 1 月





百世登

Baishideng®

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



ISSN 1009-3079



9 771009 307056

百世登出版集团有限公司

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

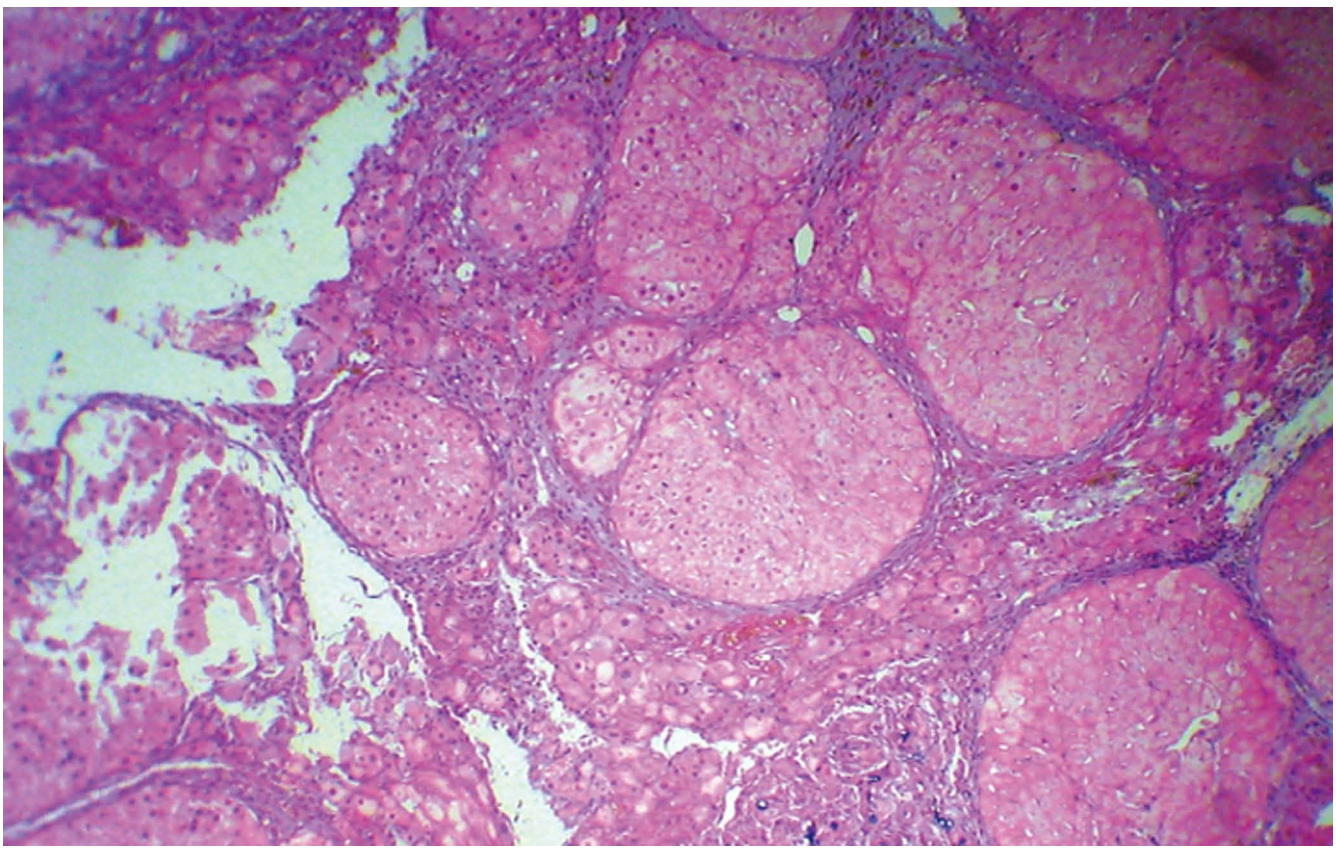
ISSN 1009-3079 (print)
ISSN 2219-2859 (online)

世界华人消化杂志®

WORLD CHINESE JOURNAL OF DIGESTOLOGY

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2014 年 5 月 8 日　　第 22 卷　　第 13 期　(Volume 22 Number 13)



13/2014

《世界华人消化杂志》是一份同行评议性的旬刊，是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊 2012年版)》和《中文核心期刊要目总览(2011年版)》收录的学术类期刊.《世界华人消化杂志》的英文摘要被《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录.

ISSN 1009-3079
9 771009 307056 13>

世界华人消化杂志
www.wjgnet.com
二零一四年五月八日
第二十二卷
第十三期

世界华人消化杂志®

编辑委员会

2012-01-01/2014-12-31

wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

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

总顾问

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

名誉主编

潘伯荣教授

主编

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

编委

消化内科学

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

消化外科学

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

世界华人消化杂志®

编辑委员会

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

消化感染病学

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

消化中医药学

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

消化肿瘤学

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

消化影像学

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

消化内镜及介入治疗学

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

消化中西医结合学

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

消化基础研究

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

消化病理学

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

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目　次 ●　2014 年 5月 8 日　第 22 卷　第 13 期　(总第453期)

述　评

1773 七味白术散调节肠道微生态的物质基础
王欢, 曾奥, 曹蓉, 郭照辉, 贺又舜, 谭周进

基础研究

1778 胶原酶II对肝硬化大鼠的治疗作用
郭争荣, 孙殿兴, 李兵顺, 刘金霞, 李东, 王君平, 常丽丽, 周晓娜, 李敏然

1785 超早期肠内营养对重度急性胰腺炎大鼠肠黏膜屏障功能的影响
林浩, 陈杰, 刘立玺, 胡兆鹏, 朱方擎, 李兴, 龚敏, 文萍, 文剑波

临床研究

1793 PKCα-Annexin A2-S100A10在胃癌组织中的表达及意义
赵强, 张志伟, 刘重元, 肖娟, 李增波, 伍石华, 吴勇军, 杨代水, 权里平, 雷明生

文献综述

1801 VEGF -634G/C基因多态性与疾病相关性的研究进展
柏立婧, 杨宝山

1806 MicroRNA143与消化系肿瘤的研究进展
陈小林, 周贤

1812 Th22细胞在炎症免疫性疾病及肿瘤中的研究进展
黄小丽, 郭晓云, 姜海行

研究快报

1820 解毒化瘀健脾方及拆方对胃黏膜异型增生大鼠多基因去甲基化诱导表达的比较
李志钢, 张伟, 邱作成, 纪勇, 李玲, 夏宽宏

1826 Th17及Th1细胞在四氯化碳致肝纤维化小鼠模型中的表达及关系
黄小丽, 郭晓云, 姜海行, 覃山羽, 罗薇, 马诗家, 卢东红, 陈梅, 王家旭, 杨显文

1834 二十二碳六烯酸对人肝癌细胞HepG2的作用与调控β-catenin及C-myc表达的关系
李衍彦, 范友杰, 邹浩, 姜海涛, 李洁旭, 孙良金, 曹景玉

1841 直接肾素抑制剂对大鼠急性胰腺炎的保护作用及机制
黄元龙, 尹青, 颜琼, 邓明明

1848 益气养阴化瘀通络中药对糖尿病胃轻瘫大鼠平滑肌细胞凋亡的影响
王飞, 郭沛然, 韩菲, 孙玉凤, 何莉莉, 朱雅娜

临床经验

1854 哈萨克族食管癌与ABO血型的相关性
张皓, 封婷, 唐婧, 齐海

1858 经皮经肝穿刺肝内门体分流术联合胃冠状静脉栓塞治疗食管胃底静脉曲张
邓小军, 张宏文, 彭秀达, 孙鑫国, 段诗姣, 谢卫华, 刘琼

1863 降钙素原在胃癌根治术患者术后院内细菌感染中的早期诊断价值
陆辉志, 徐亮

1867 幽门螺杆菌感染与胃癌化疗疗效的关系
王建旭, 张福林

1871 血清前白蛋白结合Child-Pugh分级及MELD评分对肝硬化肝脏功能的评价
韦丽娅, 翟永贞, 冯国和

1876 外周血血浆中甲胎蛋白、丙酮酸激酶M2和白蛋白mRNA检测在乙型肝炎肝硬化患者早期诊断中的价值
夏晓寒, 黄丁

1881 饱和盐水浮聚法诊断钩虫病在不明原因消化系出血中的价值
郝卫刚, 王轶佳, 易文全, 高元平

1885 粪便乳铁蛋白在大肠癌筛查诊断中的临床意义
李刚, 杨丽莉, 李虎

1890 不同中医治则对结直肠癌术后复发转移的影响
侯风刚, 石齐, 王伟炳, 陈旻, 余青青, 任建琳, 李文, 殷佩浩, 李琦, 花宝金

1897 幽门螺杆菌与功能性消化不良的相关性
刘红丹, 仝甲钊, 曲波, 金世柱, 王蓓蓓, 祝芳, 连丽莹, 白冰

1902 糖尿病患者合并非糖尿病肾损害的临床病理分析及评价
刘剑, 景照峰, 胡蓉, 晏家华, 罗敏

1907 脂联素及受体变化在妊娠期糖尿病发病中的意义和相关因素
张美贞, 叶泉忠

病例报告	1911 十二指肠球部溃疡浸润致假性动脉瘤破裂引发致命性上消化道大出血1例 肖源, 杨杰, 李亭颖, 陈治, 杨麒臻
附　　录	I－V 《世界华人消化杂志》投稿须知 I 2014年国内国际会议预告
志　　谢	I 志谢世界华人消化杂志编委
消　　息	1792 中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》影响因子0.873 1811《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版) 1862《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号 1884《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊 1906《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费
封面故事	郭争荣, 孙殿兴, 李兵顺, 刘金霞, 李东, 王君平, 常丽丽, 周晓娜, 李敏然. 胶原酶II对肝硬化大鼠的治疗作用. 世界华人消化杂志 2014; 22(13): 1778-1784 http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1778.asp http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1778
本期责任人	编务 李香; 送审编辑 鲁亚静, 郭鹏; 组版编辑 鲁亚静; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 郭鹏; 形式规范审核编辑部主任 田滢; 最终清样审核总编 马连生

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平　题写封面刊名
陈可冀　题写版权刊名
(旬刊)

创　刊 1993-01-15
改　刊 1998-01-25
出　版 2014-05-08
原刊名 新消化病学杂志

期刊名称
世界华人消化杂志

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

主编
程英升, 教授, 200233, 上海市, 上海交通大学附属第六人民医院放射科
党双锁, 教授, 710004, 陕西省西安市, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科
江学良, 教授, 250031, 山东省济南市, 中国人民解放军济南军区总医院消化科
刘连新, 教授, 150001, 黑龙江省哈尔滨市, 哈尔滨医科大学第一临床医学院普外科
刘占举, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院消化内科
吕宾, 教授, 310006, 浙江省杭州市, 浙江中医药大学附属医院(浙江省中医院)消化科
马大烈, 教授, 200433, 上海市, 中国人民解放军第二军医大学附属长海医院病理科
王俊平, 教授, 030001, 山西省太原市, 山西省人民医院消化科
王小众, 教授, 350001, 福建省福州市, 福建医科大学附属协和医院消化内科
姚登福, 教授, 226001, 江苏省南通市, 南通大学附属医院临床医学研究中心
张宗明, 教授, 100016, 北京市, 清华大学第一附属医院消化医学中心

编辑部
田滢, 主任
《世界华人消化杂志》编辑部
100025, 北京市朝阳区东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室
电话: 010-59080035　手机: 13901166126
传真: 010-85381893
E-mail: wcjd@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com

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

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

《世界华人消化杂志》被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊 2012年版)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》, 《Chemical Abstracts》, 《EMBASE/Excerpta Medica》, 《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录.

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

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

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

定价
每期90.67元 全年36期3264.00元

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

World Chinese Journal of Digestology

May 2014 Contents in Brief Volume 22 Number 13

EDITORIAL

1773 Mechanisms underlying regulatory effects of Qiweibaizhusan on intestinal microecology
Wang H, Zeng A, Cao R, Guo ZH, He YS, Tan ZJ

BASIC RESEARCH

1778 Therapeutic effect of collagenase Ⅱ against rat liver cirrhosis
Guo ZR, Sun DX, Li BS, Liu JX, Li D, Wang JP, Chang LL, Zhou XN, Li MR

1785 Early enteral nutrition improves intestinal barrier function in rats with severe acute pancreatitis
Lin H, Chen J, Lin LX, Hu ZP, Zhu FQ, Li X, Gong M, Wen P, Wen JB

CLINICAL RESEARCH

1793 Significance of expression of PKCα, Annexin A2 and S100A10 proteins in gastric cancer
Zhao Q, Zhang ZW, Liu CY, Xiao J, Li ZB, Wu SH, Wu YJ, Yang DS, Quan LP, Lei MS

REVIEW

1801 Association between VEGF -634G/C polymorphism and diseases
Bai LJ, Yang BS

1806 MicroRNA143 and tumors of the digestive system
Chen XL, Zhou X

1812 Role of Th22 cells in inflammatory, autoimmune diseases and tumors
Huang XL, Guo XY, Jiang HX

RAPID COMMUNICATION

1820 Comparative analysis of each prescription of Jiedu Huayu Jianpi Fang for multiple gene demethylation and expression in mucosal dysplasia in rats
Li ZG, Zhang W, Qiu ZC, Ji Y, Li L, Xia KH

1826 Expression of Th17 and Th1 cells in a murine model of carbon tetrachloride-induced liver fibrosis
Huang XL, Guo XY, Jiang HX, Qin SY, Lou W, Ma SJ, Lu DH, Chen M, Wang JX, Yang XW

1834 Docosahexaenoic acid promotes apoptosis and inhibits proliferation of HepG2 cells by altering β-catenin and C-myc expression
Li YY, Fan YJ, Zou H, Jiang HT, Li JX, Sun LJ, Cao JY

1841 Protective effects of aliskiren, a direct renin inhibitor, in rats with acute pancreatitis
Huang YL, Yin Q, Yan Q, Deng MM

1848 Effect of Yiqi Yangyin Huayu Tongluo Recipe on apoptosis of gastric smooth muscle cells in rats with diabetic gastroparesis
Wang F, Guo PR, Han F, Sun YF, He LL, Zhu YN

CLINICAL PRACTICE

1854 Correlation between esophageal cancer and ABO blood groups in the Kazakh population
Zhang H, Feng T, Tang J, Qi H

1858 Percutaneous transhepatic intrahepatic portosystemic shunt plus embolotherapy for treatment of gastroesophageal varices
Deng XJ, Zhang HW, Peng XD, Sun XG, Duan SJ, Xie WH, Liu Q

1863 Value of procalcitonin in early diagnosis of bacterial infection in patients after radical resection for gastric cancer
Lu HZ, Xu L

1867 *Helicobacter pylori* infection and chemotherapy sensitivity in gastric cancer
Wang JK, Zhang FL

1871 Serum prealbumin combined with Child-Pugh classification and MELD score for evaluation of liver function in patients with liver cirrhosis
Wei LY, Zhai YZ, Feng GH

1876 Diagnostic value of alpha-fetoprotein, pyruvate kinase M2 and albumin mRNA expression in peripheral blood in hepatitis B virus-related cirrhosis
Xia XH, Huang D

1881 Saturated saline flotation method for diagnosis of hookworm disease: Implications for diagnosis of obscure gastrointestinal bleeding
Hao WG, Wang YJ, Yi WQ, Gao YP

1885 Clinical significance of fecal lactoferrin in screening of colorectal carcinoma
Li G, Yang LL, Li H

1890 Effects of different Chinese medicine treatments on postoperative relapse and metastasis of colorectal cancer: A non-interventional clinical study
Hou FG, Shi Q, Wang WB, Chen M, Yu QQ, Ren JL, Li W, Yin PH, Li Q, Hua BJ

1897 Relationship between functional dyspepsia and *Helicobacter pylori* infection
Liu HD, Tong JZ, Qu B, Jin SZ, Wang BB, Zhu F, Lian LY, Bai B

1902 Clinicopathological features of diabetes mellitus patients complicated with non-diabetic renal diseases
Liu J, Jing ZF, Hu R, Yan JH, Luo M

1907 Significance of adiponectin and its receptors in pathogenesis of gestational diabetes mellitus
Zhang MZ, Ye QZ

CASE REPORT	1911 One case of upper gastrointestinal tract hemorrhage due to rupture of pseudoaneurysm caused by duodenal bulb ulcer *Xiao Y, Yang J, Li TY, Chen Z, Yang QZ*
APPENDIX	I – V Instructions to authors of *World Chinese Journal of Digestology* I Meeting events calendar in 2014
ACKNOWLEDGMENT	I Acknowledgments to reviewers of *World Chinese Journal of Digestology*
COVER	*Guo ZR, Sun DX, Li BS, Liu JX, Li D, Wang JP, Chang LL, Zhou XN, Li MR*. Therapeutic effect of collagenase Ⅱ against rat liver cirrhosis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(13): 1778-1784 http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1778.asp http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1778
RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE	Assistant Editor: *Xiang Li* Review Editor: *Ya-Jing Lu, Peng Guo* Electronic Page Editor: *Ya-Jing Lu* English Language Editor: *Tian-Qi Wang* Editor-in-Charge: *Peng Guo* Proof Editor: *Ying Tian* Layout Editor: *Lian-Sheng Ma*

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

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993
Renamed on January 25, 1998
Publication date May 8, 2014

NAME OF JOURNAL
World Chinese Journal of Digestology

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

EDITOR-IN-CHIEF
Ying-Sheng Cheng, Professor, Department of Radiology, Sixth People's Hospital of Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200233, China
Shuang-Suo Dang, Professor, Department of Infectious Diseases, the Second Affiliated Hospital of Medical School of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, Shaanxi Province, China
Xue-Liang Jiang, Professor, Department of Gastroenterology, General Hospital of Jinan Military Command of Chinese PLA, Jinan 250031, Shandong Province, China
Lian-Xin Liu, Professor, Department of General Surgery, the First Clinical Medical College of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China
Zhan-Ju Liu, Professor, Department of Gastroenterology, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China
Bin Lv, Professor, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hang-zhou 310006, Zhejiang Province, China
Da-Lie Ma, Professor, Department of Pathology, Changhai Hospital, the Second Military Medical University of Chinese PLA, Shanghai 200433, China
Jun-Ping Wang, Professor, Department of Gastroenterology, People's Hospital of Shanxi, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China
Xiao-Zhong Wang, Professor, Department of Gastroenterology, Union Hospital, Fujian Medical University, Fuzhou 350001, Fujian Province, China
Deng-Fu Yao, Professor, Clinical Research Center, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China
Zong-Ming Zhang, Professor, Department of General Surgery, Digestive Medical Center, the First Affiliated Hospital, School of Medicine, Tsinghua University, Beijing 100016, China

EDITORIAL OFFICE
Ying Tian, Director
World Chinese Journal of Digestology
Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China
Telephone: +86-10-59080035 13901166126
Fax: +86-10-85381893
E-mail: wcjd@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com

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

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

PRINT SUBSCRIPTION
RMB 90.67 Yuan for each issue
RMB 3264 Yuan for one year

COPYRIGHT
© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved. Articles published by this Open Access journal are distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-commercial License, which permits use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited, the use is non commercial and is otherwise in compliance with the license.

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

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

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2014年5月8日; 22(13): 1773-1777
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

述评 EDITORIAL

七味白术散调节肠道微生态的物质基础

王 欢, 曾 奥, 曹 蓉, 郭照辉, 贺又舜, 谭周进

王欢, 曹蓉, 贺又舜, 谭周进, 湖南中医药大学 湖南省长沙市 410208
曾奥, 郭照辉, 湖南省微生物研究院 湖南省长沙市 410009
谭周进, 教授, 博士生导师, 主要从事中医药微生态学的研究.
国家自然科学基金资助项目, No. 81173214
作者贡献分布: 本文述评由王欢、曾奥及曹蓉完成; 郭照辉、贺又舜及谭周进审校.
通讯作者: 谭周进, 教授, 410208, 湖南省长沙市含浦科教园区象嘴路, 湖南中医药大学. tanzhjin@sohu.com
电话: 0731-85381154
收稿日期: 2014-01-08 修回日期: 2014-03-24
接受日期: 2014-04-03 在线出版日期: 2014-05-08

Mechanisms underlying regulatory effects of Qiweibaizhusan on intestinal microecology

Huan Wang, Ao Zeng, Rong Cao, Zhao-Hui Guo, You-Shun He, Zhou-Jin Tan

Huan Wang, Rong Cao, You-Shun He, Zhou-Jin Tan, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, Hu'nan Province, China
Ao Zeng, Zhao-Hui Guo, Hunan Institute of Microbiology, Changsha 410009, Hu'nan Province, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81173214
Correspondence to: Zhou-Jin Tan, Professor, Hu'nan University of Chinese Medicine, Xiangzui Road, Hanpu Kejiao Zone, Changsha 410208, Hu'nan Province, China. tanzhjin@sohu.com
Received: 2014-01-08 Revised: 2014-03-24
Accepted: 2014-04-03 Published online: 2014-05-08

Abstract

Qiweibaizhusan is composed of Sijunzitang, Radix Aucklandiae, Agastache rugosus and Radix Puerariae, with the function of regulating intestinal microecology. Now, the mechanisms of action of its Chinese medicine ingredients are still obscure. In this article, we review the progress in research of each chemical ingredient in Qiweibaizhusan and possible chemical ingredients influencing the intestinal microbes. We also discuss the possible mechanisms of regulatory effects of Qiweibaizhusan on intestinal microecology, with an aim to provide a theoretical basis for studying the interaction between intestinal flora and medicine.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Qiweibaizhusan; Intestinal microorganisms; Mechanism; Chinese medicine microecology

Wang H, Zeng A, Cao R, Guo ZH, He YS, Tan ZJ. Mechanisms underlying regulatory effects of Qiweibaizhusan on intestinal microecology. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(13): 1773-1777 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1773.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1773

摘要

七味白术散是治疗小儿腹泻的经典名方, 是在补气首方四君子汤的基础上加木香、藿香及葛根组成, 具有促进肠道有益菌的增长, 调整肠道微生态的作用. 目前单味中药有效物质基础研究仍比较滞后, 中药有效成分影响肠道微生物的机制仍比较模糊. 本文总结了近年来七味白术散调整肠道微生态的主要研究成果, 对七味白术散的主要化学组分、可能影响肠道微生物的化学组分进行了综述, 分析了七味白术散影响肠道微生态的可能机制, 以期为中药与肠道菌群相互作用研究提供理论依据.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 七味白术散; 肠道微生物; 物质基础; 中医药微生态

核心提示: 七味白术散中人参皂苷, 白术多糖(atractylodes macrocephalaon polysaccharide)和茯苓多糖能提升免疫力, 对益生菌的促进效果优于肠道致病菌或条件致病菌; 而甘草酸, 藿香挥发油和木香提取物等对肠道常见致病菌的生长具有直接的抑制作用. 方中对肠道微生物具有促进作用的多为补益类中药, 具有抑制作用的多为清热类中药.

王欢, 曾奥, 曹蓉, 郭照辉, 贺又舜, 谭周进. 七味白术散调节肠道微生态的物质基础. 世界华人消化杂志 2014; 22(13): 1773-1777
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1773.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1773

0 引言

肠道微生物已成为生命科学中系统生物学的一

■背景资料
微生态学已运用于现代中药的研究, 尽管起步不久, 但其涉及中医学诸多方面, 有望通过微生态学方面来开启中医药的神秘大门, 促进中医药的现代化、标准化和国际化的进程.

■同行评议者
沈克平, 主任医师, 上海中医药大学附属龙华医院

■研发前沿
现在研究已证实, 七味白术散能够调整肠道微生态来治疗肠道腹泻. 目前据文献报道, 能够影响肠道微生物的活性成分研究非常少, 且大多为预测性的报道. 今后应多从微观方面研究其影响肠道微生物的物质基础.

个热门研究领域, 人们已开始把肠道微生态系统看成人体内部的第9大系统[1]. 人体肠道微生物的基因总量至少是人体的100倍[2], 肠道微生物能够编码多种人体自身不能合成的蛋白质, 且大多数仍没被勘探, 被认为是人体基因组和人体肠道基因组共同调控人体的新陈代谢和大部分多基因疾病的病理生理[3]. 除此之外, 肠道微生物能够分泌大量的药物代谢酶(如水解、还原酶类等)[4], 这些酶不仅能够将中药的细胞壁破裂, 使有效成分得以溶出, 提高中药的利用率, 还能够通过“生物活化”使无活性的物质转变为有活性的药理成分, 同时可使有毒的物质无毒化. 反之, 某些活性成分能够作用于肠道微生物, 起到调整肠道微生态的作用. 中药和肠道菌群的相互作用对研究中药药效的发挥以及胃肠道消化系统疾病的治疗具有重要的意义.

七味白术散由四君子汤加木香、藿香和葛根组成, 四君子汤为补气首方, 木香、藿香芳香和胃, 葛根生津止渴止泻. 部分研究已证实, 补益类中药能够促进有益微生物的生长, 调整肠道微生态[5-8]; 许多清热类中药(如木香、藿香等)对细菌、真菌、螺旋体、病毒等多类微生物有不同程度的抑制作用[9-11]; 中药配伍或组成复方后的促菌和抗菌作用范围可以互补、扩大乃至协同增效. Li等[12]和Jia等[13]报道, 补益类中药中的多糖、皂苷和黄酮等一些几乎不能被吸收的物质通过与肠道菌群多靶点、多途径的作用, 从而调整肠道菌群构成及肠道黏膜结构以达到平衡肠道微生态的目的, 故关注多糖、皂苷内物质能够成为寻找补益类中药中影响肠道微生物物质基础的突破口. 中医用药之精华在于复方, 精华之处也带有“神秘”之处的色彩, 目前现代研究中仍比较少见七味白术散单味中药和单体活性成分对肠道微生物影响的报道, 难以确定其影响肠道微生物的关键活性成分, 本文综述七味白术散中七味药的化学组分以及可能影响肠道微生物的化学组分的研究进展, 为今后进一步研究七味白术散影响肠道微生物的物质基础提供相关理论依据.

■相关报道
肠道微生物能够分泌大量的药物代谢酶(水解、还原酶类等), 这些酶不仅能经破壁使有效成分溶出, 还能通过“生物活化”使无活性的物质转变为有活性的药理成分, 同时可使有毒的物质无毒化.

1 七味白术散对肠道微生态的调节作用

七味白术散是对多种胃肠道疾病具有很好疗效的经典方, 为了探讨其疗效机制, 采用微生态学方法对七味白术散治疗肠道菌群失调腹泻的效果与机制进行了大量研究. 通过抗生素联用造模、传统和超微中药治疗、传统微生物计数和肠道酶活性分析, 明确了七味白术散能够促进双歧杆菌、乳酸菌、酵母菌等有益菌的生长, 并提高肠道酶活性, 改善肠道微生态[14-18]. 从肠道内分离鉴定了两株与七味白术散疗效相关的酵母菌, 证明七味白术散对这些酵母菌的生长具有明显的促进作用[19], 对阐明七味白术散调整肠道微生态的机制及新药开发提供了有力的证据. 在体内疗效基础上, 还进一步在体外探讨了七味白术散及其单味药对常见肠道(条件)致病菌的抑制作用和对酵母菌生长的影响, 证实七味白术散对金黄色葡萄球菌、产气杆菌和沙门氏菌具有明显的抑菌作用, 其中主要的抑菌药物为人参和甘草; 茯苓、白术、葛根及七味白术散复方对肠道酵母菌有促进作用[20,21], 这些研究结果为七味白术散调节肠道菌群提供了体外的试验支持. 近来, 以核酸序列分析为基础的宏基因组学的兴起, 为微生态的发展带来了更大的突破[22], 通过建立一种基于PCR分析分子多样性的小鼠肠道菌群宏基因组提取方法[23], 采用扩增核糖体限制性酶切片断分析(amplified ribosomal DNA restriction analysis, ARDRA)技术分析了七味白术散对菌群失调小鼠肠道细菌和肠道乳杆菌分子多样性的影响, 证实七味白术散能够调节小鼠肠道微生物, 恢复肠道细菌和乳杆菌多样性[24]. 进一步采用基于16S rRNA的末端限制性片段长度多样性(terminal restriction fragment length polymorphism, T-RFLP)分析技术等分子生物学技术来深入进行相关内容研究, 有望为深入揭示七味白术散调节肠道微生态提供更详实地实验依据.

2 四君子汤调节肠道微生态的物质基础

四君子汤为治疗脾虚型腹泻的名方, 菌群失调型腹泻也可视为脾虚型腹泻. 很多研究证实, 四君子汤复方能够促进肠黏膜损伤修复及正常菌群的增长, 是一种理想的微生态调节剂[25,26], 由人参、白术、茯苓和甘草组成.

人参的主要有效成分为人参皂苷和人参多糖, 还包括一些挥发性成分, 有机酸以及其酯, 酶类, 蛋白质、多肽类、木质素、甾醇及其苷, 含氮化合物以及维生素类等[27,28]. 目前仍未见到有关于人参活性成分与肠道有益菌相互作用的报道. 也有报道显示, 含量较少的水溶性蛋白和人参炔醇对绿脓杆菌、金黄色葡萄球菌、沙门氏菌和红色毛癣菌等一些肠道菌具有直接的抑制作用[28,29], 皂苷类可通过提高胃肠道免疫力来

间接增强抗细菌和病毒的能力[30].

白术的化学成分为挥发油(主要为苍术醇和苍术酮)和多糖、氨基酸、维生素A和白术内酯等[31]. 对白术活性成分的研究主要集中在苍术醇和白术内酯, 而对多糖和氨基酸的研究相对较少. 白术内酯的药理作用研究主要集中在提高免疫力和抗肿瘤方面, 而对微生物影响的研究未见报道[32]. 田碧文等[33]报道中药白术对双歧杆菌有明显的促生作用; 刘丽莎等[34]从白术、陈皮、灵芝、枸杞、太子参、五味子、党参、地黄的体外筛选结果表明, 白术浸提液对双歧杆菌的增殖最为明显; 提取了白术多糖(atractylodes macrocephalaon polysaccharide, AMP), 而AMP对益生菌的促生结果表明: AMP对多种双歧杆菌的生长具有良好的促进作用. 白术粗多糖对樱桃谷鸭肠道微生物影响的体内实验[35]也表明: 日粮中添加白术多糖能够明显促进双歧杆菌和乳杆菌的生长并抑制有害微生物的繁殖, 达到改善鸭肠道微生物区系环境的目的.

茯苓为多孔科卧孔菌属真菌茯苓的干燥菌核, 是常用中药. 茯苓应用广泛, 其主要成分为茯苓三萜和多糖类化合物, 并且不断有新的化合物从茯苓中得到分离与鉴定[36,37], 还包括少量蛋白质和一些含量极微的化合物[38]. 曹俊敏等[39]通过观察茯苓、白术及当归等中药对肠道正常菌群的影响, 发现茯苓、白术均对肠道正常菌群的生长有促进作用, 尤以白术为佳. 钟熊等[40]对白术、茯苓多糖的体外胃肠道代谢研究发现, 肠道菌群对白术、茯苓多糖的代谢强于人工胃液与肠液的代谢作用, 且肠道菌群对白术的代谢略强于茯苓. 总之, 茯苓多糖也能促进肠道有益菌的增殖. 另有研究表明, 茯苓的100%煎剂对金黄色葡萄球菌、绿脓杆菌及大肠杆菌均有抑制作用, 但抑制作用不强[41].

甘草为极其常用的一味补益中药, 一般在中药复方中用量较少, 起调和诸药的作用. 其主要化学成分为: 三萜皂苷类、多糖类、香豆素类、生物碱类、黄酮类和氨基酸等[42]. 董永军等[43]在鸡饲料中添加甘草多糖, 并与添加抗生素对照研究添加物对鸡肠道微生物的调控, 结果表明甘草多糖能够促进肠道优势菌群的生长, 而抗生素则抑制了肠道有害菌及优势菌群. 另据报道, 甘草提取液及甘草酸对金黄色葡萄球菌、大肠埃希氏菌、福氏志贺氏菌、乙型副伤寒沙门氏菌等细菌均表现出不同程度的抑菌作用[44,45].

3 木香、藿香和葛根调节肠道微生态的物质基础

藿香, 辛温而芳香化湿, 和胃止呕, 可调和中焦枢机, 协调气机升降, 增强去湿之效. 挥发油成分是藿香的主要成分之一, 油中主成分为广藿香醇(patchouli alcohol), 另有α-、β-和γ-广藿香萜烯(α-, β-, γ-pat-choulene)、广藿香萜醇(patchoulenol)、广藿香酮(pogostone)、丁香烯等[46]; 藿香非挥发油成分(即水溶性成分)不断有新的活性物质被发现, 包括黄酮类和糖苷类等一些物质[47,48]. 藿香提取物具有良好的抗细菌和真菌能力, 如大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、志贺氏菌等一些常见的肠道菌群[49,50]. 刘晓蓉等[51]通过比较藿香的乙醚、乙醇和水提取物的抑菌活性可知, 乙醚乙醇提取物的抑菌效果均强于水提物, 水提物加热至100 ℃后甚至丧失抑菌活性, 说明藿香抑菌活性主要在于挥发油成分.

木香具有行气止痛、温中和胃之功效, 其有效成分主要为萜类(种类繁多, 如半萜内酯和三萜类), 还有生物碱、蒽醌、黄酮等其他类. 木香提取物也能够表现出一定的抑菌作用, 其挥发油成分[52], 三氯甲烷提取物[53], 醇提取均对链球菌、金黄色葡萄球菌和霉菌表现出抑菌效果, 对大肠杆菌没有效果, 总生物碱无抗菌作用, 其水提取对细菌也无效. 由此可知, 木香的抗菌成分很可能为萜类物质.

葛根本是解表药, 其味甘辛, 性平, 入脾胃二经. 但葛根还有另外一种功能, 即升发阳气, 生津止渴. 葛根中含有丰富的氨基酸和矿物质[54], 特别是一些人体不能合成的氨基酸, 其他化学物质还包括葛根苷、皂角苷、三萜类化合物、生物碱以及近年来极其备受关注的异黄酮类(葛根素、大豆苷元和大豆苷)物质[55]. 虽葛根含有皂苷和多糖类物质, 但目前仍未看到葛根促菌的报道. 相关研究表明, 葛根粗多糖[56]和葛根素[57]对大肠杆菌、枯草芽孢杆菌和金黄色葡萄球菌均表现出一定的抑制作用.

4 结论

综合近年来国内外关于中医药对肠道微生物影响的研究, 以及上述七味白术散物质基础研究和药理药效研究的进展, 七味白术散影响肠道微生物的可能机制如下: (1)补益类中药中的皂苷和多糖[28,34,35,39,40,43]类物质对肠道微生物的生物的生长均有促进作用, 但对益生菌的促进效果优于肠道致病菌或条件致病菌[58], 如人参皂

■创新盘点

本文按照总-分-总的顺序, 先在说明七味白术散能够调节肠道微生态的基础上, 继而分别分析各单味药能够影响肠道微生物的物质基础, 最后总结归纳七味白术散影响肠道微生物的可能机制. 该类评述某个中药复方影响肠道微生态物质基础的文章在国内尚属首例.

■应用要点
七味白术散对于菌群失调型腹泻, 通过高者(肠道内异常增长的机会菌)抑之, 下者(受抗生素或其他因素影响而下降的有益菌)举之的方式调整肠道微生态, 从而达到治疗胃肠道疾病的功效, 是一种良好的微生态制剂.

苷, AMP和茯苓多糖等. 因此体内长势良好的益生菌竞争性的抑制了其他微生物的生长. 值得一提的是, 目前认为中药皂苷大多数是螺甾烷及其生源相似的甾族化合物的低聚糖苷、三萜类化合物的低聚糖苷[59], 而低聚糖则已是运用非常广泛的益生元, 这就为中药皂苷能够促进益生菌的增长提供了理论依据; (2)中药中的某些成分对肠道微生物的生长具有直接的抑制作用, 如甘草酸[45], 藿香挥发油[51]和木香提取物在体外具有直接的抑菌和杀菌作用; (3)某些中药既能促进有益菌的增长, 又能抑制肠道致病菌的生长. 如人参皂苷可能是促进肠道益生菌的物质基础, 而人参中含量较少的水溶性蛋白具有直接抑制条件致病菌生长的能力[28,29]; 甘草多糖能够促进肠道优势菌群的生长, 甘草酸则对胃肠道常见条件致病菌表现出不同程度的抑制作用[44,45]; (4)补益类中药能够提升机体免疫力, 增强腹腔巨噬细胞的活性. 如茯苓多糖、白术多糖[60]等均具有增强机体免疫功能的能力, 从而间接调整肠道微生态. 由此可知, 七味白术散影响肠道微生物的作用是多靶点、多途径的, 其影响肠道微生物的物质基础是一个系统性工程, 在各种有效成分功能的基础上还有各成分之间的协同增效, 此项工作仍需大量的基础性研究.

传统中药与肠道菌群的相互作用已经成为中医药微生态这一热门领域中药研究内容, 但目前单味中药有效物质基础研究仍比较滞后, 中药有效成分影响肠道微生物的机制仍比较模糊, 且研究方法比较单一, 多用微生物直接培养法, 而从分子层面探讨中药与肠道微生物相互作用的相关研究还刚起步. 今后的中医药微生态学研究应多从微观方面把握.

5 参考文献

1 Nicholson JK, Holmes E, Lindon JC, Wilson ID. The challenges of modeling mammalian biocomplexity. *Nat Biotechnol* 2004; 22: 1268-1274 [PMID: 15470467 DOI: 10.1038/nbt1015]
2 Gill SR, Pop M, Deboy RT, Eckburg PB, Turnbaugh PJ, Samuel BS, Gordon JI, Relman DA, Fraser-Liggett CM, Nelson KE. Metagenomic analysis of the human distal gut microbiome. *Science* 2006; 312: 1355-1359 [PMID: 16741115 DOI: 10.1126/science.1124234]
3 Jia W, Li H, Zhao L, Nicholson JK. Gut microbiota: a potential new territory for drug targeting. *Nat Rev Drug Discov* 2008; 7: 123-129 [PMID: 18239669 DOI: 10.1038/nrd2505]
4 韩国柱. 药物在肠道的代谢及其对药物作用的影响. 药学通报 1985; 2: 294-295
5 鞠宝玲, 宋宝辉, 唐小云, 毛丽珍, 海艳杰. 四君子汤对肠道菌群失调小鼠的调整作用及机制研究. 牡丹江医学院学报 2007; 5: 20-23
6 彭颖, 金晶, 杨静玉, 吴春福, 李晓波. 3种健脾补气方药对脾气虚证大鼠肠道菌群的影响. 中国中药杂志 2008; 21: 2530-2534
7 李玉英, 王玺坤. 补肺健脾颗粒对脾虚小鼠肠道菌群变化影响的研究. 中医药学刊 2001; 4: 377-377
8 丁维俊, 周邦靖, 瞿慕东, 白华. 参苓白术散对小鼠脾虚模型肠道菌群的影响. 北京中医药大学学报 2006; 8: 530-533
9 符纯美, 郭晓华, 王伯平, 朱玉泉. 传统中药的抗病原微生物作用研究. 中草药 2012; 5: 1-2
10 刘华钢, 申庆荣, 刘丽敏. 中药抗菌研究进展. 时珍国医国药 2010; 2: 211-213
11 宫毓静, 安汝国, 虞慧, 王理达, 郑俊华, 果德安. 164种中药乙醇提取物抗真菌作用研究. 中草药 2002; 1: 42-47
12 Li H, Zhou M, Zhao A, Jia W. Traditional Chinese medicine: balancing the gut ecosystem. *Phytother Res* 2009; 23: 1332-1335 [PMID: 19253310 DOI: 10.1002/ptr.2590]
13 Jia W, Gao WY, Yan YQ, Wang J, Xu ZH, Zheng WJ, Xiao PG. The rediscovery of ancient Chinese herbal formulas. *Phytother Res* 2004; 18: 681-686 [PMID: 15476313 DOI: org/10.1002/ptr.1506]
14 Cai GX, Zeng A, Xiao NQ, Tan ZJ, Guo KX. Effects of jianwei qiweibaizhusan on the intestinal microorganisms and enzyme activities. *J Pharm Tech & Drug Res* 2013 [DOI: 10.7243/2050-120X-2-6]
15 谭周进, 吴海, 刘富林, 蔡莹, 蔡光先, 张华玲, 曾奥. 超微七味白术散对肠道微生物及酶活性的影响. 生态学报 2012; 21: 6856-6863
16 曾奥, 张华玲, 谭周进, 蔡莹, 蔡光先, 周赛男. 小鼠菌群失调腹泻模型的建立及超微七味白术散的疗效. 微生物学通报 2012; 9: 1341-1348
17 谭周进, 张华玲, 周赛男, 余望贻, 曾奥, 蔡莹. 菌群失调小鼠腹泻造模及超微中药干预过程中肠道微生物的变化. 应用与环境生物学报 2013; 3: 449-453
18 蒋婕, 郭抗萧, 周赛男. 一种提取小鼠肠道中活体微生物的方法. 中国微生态学杂志 2013; 5: 512-516
19 Guo KX, Li WG, Peng ZF, Shu XH, Xiao NQ, Li DD, Dai LY, Tan ZJ. Intestinal endomycopsis burtonii associated with Qiweibaizhusan. *International Journal of Pharmaceutical Science Invention* 2013; 9: 26-33
20 郭抗萧, 周赛男, 谭周进, 蔡莹, 余颜, 蔡光先. 七味白术散对肠道酵母菌的抑促作用研究. 现代生物医学进展 2013; 27: 5259-5263
21 蒋婕, 郭抗萧, 龙玲, 李丹丹, 谭周进, 袁振仪. 超微七味白术散体外抑菌作用研究. 中国中医药信息杂志 2013; 11: 28-30
22 Nelson KE, Weinstock GM, Highlander SK, Worley KC, Creasy HH, Wortman JR, Rusch DB, Mitreva M, Sodergren E, Chinwalla AT, Feldgarden M, Gevers D, Haas BJ, Madupu R, Ward DV, Birren BW, Gibbs RA, Methe B, Petrosino JF, Strausberg RL, Sutton GG, White OR, Wilson RK, Durkin S, Giglio MG, Gujja S, Howarth C, Kodira CD, Kyrpides N, Mehta T, Muzny DM, Pearson M, Pepin K, Pati A, Qin X, Yandava C, Zeng Q, Zhang L, Berlin AM, Chen L, Hepburn TA, Johnson J, McCorrison J, Miller J, Minx P, Nusbaum C, Russ C, Sykes SM, Tomlinson CM, Young S, Warren WC, Badger J, Crabtree J, Markowitz VM, Orvis J, Cree A, Ferriera S, Fulton LL, Fulton RS, Gillis M, Hemphill LD, Joshi V, Kovar C, Torralba M, Wetterstrand KA, Abouellleil A, Wollam AM, Buhay CJ, Ding Y, Dugan S, FitzGerald MG, Holder M, Hostetler J, Clifton SW,

Allen-Vercoe E, Earl AM, Farmer CN, Liolios K, Surette MG, Xu Q, Pohl C, Wilczek-Boney K, Zhu D. A catalog of reference genomes from the human microbiome. *Science* 2010; 328: 994-999 [PMID: 20489017 DOI: 10.1126/science.1183605]
23 吴海, 周赛男, 郭纯, 谭周进, 蔡光先, 曾奥. 一种基于PCR分析多样性的小鼠肠道微生物宏基因组提取方法. 中国微生态学杂志 2012; 7: 648-651
24 吴海. 超微七味白术散对肠道微生物分子多样性的影响. 湖南中医药大学, 2012
25 鞠宝玲, 毕蕾, 杨景云. 四君子汤改善抗生素脱污染小鼠肠道菌群失调的研究. 牡丹江医学院学报 2003; 1: 4-6
26 任光友, 张贵林, 卢素琳. 四君子汤对动物肠菌失调及正常胃肠功能的药理研究. 中成药 2000; 7: 504-506
27 郭秀丽, 高淑莲. 人参化学成分和药理研究进展. 中医临床杂志 2012; 4: 26-27
28 张翼轸, 张文驹, 穆青. 人参化学成分的药理活性及其含量积累的研究进展. 安徽农业科学 2011; 20: 12158-12160
29 李霞, 孙立伟, 申野. 人参水溶性蛋白活性研究进展. 中国实用医药 2010; 27: 243-245
30 黄海英. 人参皂苷Rg1药理作用研究进展. 实用中医药杂志 2012; 7: 608-610
31 阳柳平. 研究白术的化学成分及药理作用概况. 中国医药指南 2012; 21: 607-608
32 陈晓萍, 张长林. 白术不同化学成分的药理作用研究概述. 中医药信息 2011; 2: 124-126
33 田碧文, 庞雪云, 孙蕾. 中药复方制剂对肠道正常菌群体外生长的影响. 中医药导报 2005; 9: 60-61
34 刘丽莎, 王锐, 旭日花. 白术多糖对益生菌的促生作用及结构分析. 食品科学 2010; 19: 124-128
35 文贵辉, 李丽立, 张彬, 刘振湘. 白术粗多糖对樱桃谷鸭肠道微生物的影响. 饲料研究 2010; 7: 55-58
36 Park WH, Joo ST, Park KK, Chang YC, Kim CH. Effects of the Geiji-Bokryung-Hwan on carrageenan-induced inflammation in mice and cyclooxygenase-2 in hepatoma cells of HepG2 and Hep3B. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 2004; 26: 103-112 [PMID: 15106735]
37 杨树东, 包海鹰. 茯苓中三萜类和多糖类成分的研究进展. 菌物研究 2005; 3: 55-61
38 沈玉萍, 李军, 贾晓斌. 中药茯苓化学成分研究进展. 南京中医药大学学报 2012; 3: 297-300
39 曹俊敏, 杨雪静, 张伟真. 茯苓等4种中药扶植实验小鼠肠道正常菌群生长及其机理的初步研究. 中华中医药学刊 2012; 2: 393-395
40 钟熊, 王梦月, 彭颖, 李晓波. 白术、茯苓多糖的体外胃肠道代谢研究. 中国实验方剂学杂志 2012; 12: 132-134
41 孙博光, 邱世翠, 李波清, 张群, 杨新. 茯苓的体外抑菌作用研究. 时珍国医国药 2003; 7: 394
42 田武生. 甘草的化学成分和临床研究概述. 中医临床研究 2012; 16: 31-32
43 董永军, 王丽荣, 齐永华. 甘草多糖对肉仔鸡肠道微生物调控的研究. 粮食与饲料工业 2012; 4: 47-49
44 王春华, 周铁忠, 张正莹, 王宏军. 甘草、黄连等5味中药对体外抗菌作用的研究. 中国农学通报 2012; 17: 63-67
45 邓淑华, 王晓斌, 王鸿梅, 刘艳华. 甘草酸盐抗菌作用的实验研究. 承德医学院学报 2011; 3: 326-326
46 Rouach H, Fataccioli V, Gentil M, French SW, Morimoto M, Nordmann R. Effect of chronic ethanol feeding on lipid peroxidation and protein oxidation in relation to liver pathology. *Hepatology* 1997; 25: 351-355 [PMID: 9021946 DOI: 10.1002/hep.510250216]
47 王大海, 殷志琦, 张庆文, 叶文才, 张晓琦, 张健. 广藿香非挥发性化学成分的研究. 中国中药杂志 2010; 20: 2704-2707
48 黄烈军, 穆淑珍, 张建新, 邓彬, 宋智琴, 郝小江. 中药广藿香非挥发性化学成分的研究. 中国中药杂志 2009; 4: 410-413
49 刘红淼, 李艳玲, 杨继章. 广藿香油的药理作用研究进展. 中国药房 2012; 47: 4506-4507
50 Pattnaik S, Subramanyam VR, Kole C. Antibacterial and antifungal activity of ten essential oils in vitro. *Microbios* 1996; 86: 237-246 [PMID: 8893526]
51 刘晓蓉, 范瑞, 张媛媛. 广藿香提取物的抑菌活性研究. 食品科技 2009; 5: 220-222
52 张建春, 蔡雅明, 周德斌. 木香的研究进展. 甘肃科技 2010; 20: 170-172
53 李浩华, 章卫民, 高晓霞. 白木香果皮提取物的抗菌活性. 中国实验方剂学杂志 2011; 7: 100-102
54 郑皓. 葛根的研究与开发现状. 氨基酸和生物资源 2006; 2: 21-22
55 张淑萍. 葛属植物中黄酮化合物药理作用研究进展. 长治医学院学报 2006; 1: 79-80
56 杨长友. 葛根多糖抑菌活性的测定. 宁德师专学报 2011; 2: 130-132
57 张继红, 罗泽宇, 陶能国. 葛根素的提取及其抑菌实验研究. 激光生物学报 2010; 4: 507-509
58 徐永杰, 张波, 张神腾. 牛蒡多糖的提取对小鼠肠道菌群的调节. 食品科学 2009; 23: 428-431
59 肖崇厚. 中药化学. 上海: 上海科学出版社, 2001: 379-406
60 Zeković DB, Kwiatkowski S, Vrvić MM, Jakovljević D, Moran CA. Natural and modified (1>3)-beta-D-glucans in health promotion and disease alleviation. *Crit Rev Biotechnol* 2005; 25: 205-230 [PMID: 16419618 DOI: 10.1080/07388550500376166]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

■同行评价

七味白术散是肠道疾病采用方剂, 稿件综述了七味白术散、方中各药对调节肠道微生态的调节作用, 以及七味白术散中药的主要活性成分以及概况, 内容较全面.

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com
世界华人消化杂志 2014年5月8日; 22(13): 1778-1784
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

基础研究 BASIC RESEARCH

胶原酶Ⅱ对肝硬化大鼠的治疗作用

郭争荣, 孙殿兴, 李兵顺, 刘金霞, 李 东, 王君平, 常丽丽, 周晓娜, 李敏然

■背景资料
我国是一个乙型肝炎大国, 肝硬化发生率很高. 但缺乏临床适用的有效的软化肝脏的药物, 目前一般认为肝硬化是不可逆的, 临床医生几乎不敢想象硬化的肝脏尚能变的松软. 胶原酶Ⅱ是中性粒细胞分泌的一种胶原酶, 能够特异的降解Ⅰ型胶原, 将外原基因胶原酶Ⅱ通过载体导入肝细胞是抗肝硬化治疗的关键.

郭争荣, 孙殿兴, 刘金霞, 李东, 王君平, 白求恩国际和平医院全军肝病中心 河北省石家庄市 050082
郭争荣, 常丽丽, 周晓娜, 石家庄市第一医院消化内科 河北省石家庄市 050082
李兵顺, 李敏然, 石家庄市第五医院传染科 河北省石家庄市 050082
郭争荣, 主治医师, 主要从事消化系统疾病的研究.
国家自然科学基金资助项目, No. 30872255
王宝恩肝纤维化基金资助项目, No. 2007001
作者贡献分布: 此课题由孙殿兴、李兵顺及郭争荣设计; 研究过程由孙殿兴、郭争荣及刘金霞操作完成; 数据分析由孙殿兴、郭争荣、李东、王君平、常丽丽、周晓娜及李敏然完成; 本论文写作由孙殿兴与郭争荣完成.
通讯作者: 孙殿兴, 主任医师, 050082, 河北省石家庄市桥西区中山西路398号, 石家庄白求恩国际和平医院全军肝病中心.
sundianxing@hotmail.com
电话: 0311-87978439
收稿日期: 2014-01-08 修回日期: 2014-03-18
接受日期: 2014-03-31 在线出版日期: 2014-05-08

Therapeutic effect of collagenase Ⅱ against rat liver cirrhosis

Zheng-Rong Guo, Dian-Xing Sun, Bing-Shun Li, Jin-Xia Liu, Dong Li, Jun-Ping Wang, Li-Li Chang, Xiao-Na Zhou, Min-Ran Li

Zheng-Rong Guo, Dian-Xing Sun, Jin-Xia Liu, Dong Li, Jun-Ping Wang, the Liver Disease Diagnosis and Treatment Center of PLA, Bethune International Peace Hospital, Shijiazhuang 050082, Hebei Province, China
Zheng-Rong Guo, Li-Li Chang, Xiao-Na Zhou, Department of Gastroenterology, the First Hospital of Shijiazhuang City, Shijiazhuang 050082, Hebei Province, China
Bing-Shun Li, Min-Ran Li, Department of Infectious Diseases, the Fifth Hospital of Shijiazhuang City, Shijiazhuang 050082, Hebei Province, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 30872255; Wang Baoen Liver Fibrosis Foundation, No. 20070001
Correspondence to: Dian-Xing Sun, Chief Physician, Bethune International Peace Hospital, 398 Zhongshan West Road, Shijiazhuang 050082, Hebei Province, China. sundianxing@hotmail.com
Received: 2014-01-08 Revised: 2014-03-18
Accepted: 2014-03-31 Published online: 2014-05-08

Abstract

AIM: To explore the therapeutic effect of an adenovirus-HBV chimeric vector expressing collagenase Ⅱ against cirrhosis in a rat model.

METHODS: Rat liver cirrhosis was induced with 0.03% thioacetamide in drinking water for 16 wk. Ad-CH-tMMP8 and Ad-C-MMP8 were constructed using an adenovirus shuttle plasmid and a HBV chimeric vector expressing truncated and full-length collagenase Ⅱ gene. Ad-CH-RFP2 expressing red fluorescent protein was used as a negative control. Liver cirrhosis rats were injected with the three plasmids through the tail vein.

RESULTS: Compared with the model group and negative control group, fibrosis was dramatically attenuated four weeks after the infection. HE staining and picric acid-Sirius red staining showed that hepatocyte steatosis, necrosis and inflammation were significantly milder in the treatment group, along with hepatocyte proliferation, recovery of hepatic lobule structure, and diminished content of HYP (28.97 μg/g ± 2.36 μg/g *vs* 17.04 μg/g ± 0.61 μg/g, 17.62 μg/g ± 1.30 μg/g, $P < 0.05$), whereas the fibrosis in Ad-CH-RFP2-treated rats persisted.

CONCLUSION: Adenovirus-HBV chimeric vector expressing collagenase Ⅱ effectively reduces the degree of liver fibrosis in rats.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Collagenase Ⅱ; Liver cirrhosis; HBV vector; Adenoviral vector

Guo ZR, Sun DX, Li BS, Liu JX, Li D, Wang JP, Chang LL, Zhou XN, Li MR. Therapeutic effect of collagenase Ⅱ against rat liver cirrhosis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(13): 1778-1784 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1778.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1778

摘要

目的: 探讨应用腺病毒与乙型肝炎病毒嵌合载体表达胶原酶Ⅱ对肝硬化大鼠模型的治疗作用.

方法: 以硫代乙酰胺口服法16 wk诱导大鼠形成肝硬化模型, 用腺病毒穿梭质粒与乙型肝

■同行评议者
高润平, 教授, 吉林大学第一医院肝胆胰内科

炎病毒嵌合载体表达截断的胶原酶Ⅱ基因tMMP-8片断或全长*MMP-8*基因, 分别构建了腺病毒Ad-CH-tMMP8、Ad-C-MMP8, 并以表达红色荧光蛋白(red fluorescent protein, RFP2)的Ad-CH-RFP2作为对照, 经尾静脉注射治疗已形成肝硬化模型的大鼠.

结果: 在Ad-CH-tMMP8、Ad-C-MMP8尾静脉注射肝硬化大鼠的体内转染研究中, 转染4 wk, 相比于模型组, 肝纤维化程度显著的减轻, 肝细胞再生明显, 同时伴有肝组织羟脯氨酸含量的下降(28.97 μg/g±2.36 μg/g *vs* 17.04 μg/g±0.61 μg/g, 17.62 μg/g±1.30 μg/g, $P<0.05$), Ad-CH-RFP2对照组, 纤维化程度同模型组类似.

结论: 用腺病毒与乙型肝炎病毒嵌合载体表达胶原酶Ⅱ能够有效地减轻大鼠肝纤维化程度.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 胶原酶Ⅱ; 肝硬化; 乙型肝炎病毒载体; 腺病毒载体

核心提示: 用腺病毒载体转导乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)载体表达胶原酶Ⅱ用于抗肝硬化的基因治疗, 充分利用了腺病毒方便制备、感染效率高的优点, 也利用了HBV载体用于慢性HBV感染者时具有嗜肝导向性、放大效应、无细胞毒性及免疫源性的优点, 将外原基因胶原酶Ⅱ导入硬化的肝脏, 开辟肝硬化软肝治疗新途径.

郭争荣, 孙殿兴, 李兵顺, 刘金霞, 李东, 王君平, 常丽丽, 周晓娜, 李敏然. 胶原酶Ⅱ对肝硬化大鼠的治疗作用. 世界华人消化杂志 2014; 22(13): 1778-1784 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1778.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1778

0 引言

肝硬化是一种慢性, 进展性疾病, 其特征是肝脏再生结节和假小叶结构的形成, 进一步发展可导致肝细胞癌. 肝硬化病因是多种多样的, 在全球30%, 中国高达66%的肝硬化是由乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染引起. 肝纤维化组织的形成是胶原纤维在肝脏过度沉积, 而Ⅰ型胶原可占硬化肝脏胶原总量的60%-70%[1-3], 因此, 减少Ⅰ型胶原含量将能够大大减轻肝纤维化程度. 胶原酶Ⅱ是中性粒细胞分泌的一种胶原酶, 能够特异的降解Ⅰ型胶原[4-6], 如何将外原基因胶原酶Ⅱ通过载体导入肝细胞是抗肝硬化治疗的关键. 我国肝硬化患者多数伴有HBV感染, 理论上利用HBV载体可以在乙型肝炎患者体内被野生型HBV提供的结构蛋白所包装, 从而实现放大效应, 但目前缺乏HBV感染易感的小动物, 且HBV载体难以大量制备; 重组腺病毒制备方便, 但具有免疫原性, 重复应用因中和抗体产生而失去疗效, 而且大剂量应用时有细胞毒性. 本研究意旨应用腺病毒-HBV嵌合载体携带胶原酶Ⅱ治疗肝硬化大鼠模型, 为HBV相关的肝硬化患者探索一个软化肝脏新方法, 为将来进一步临床应用奠定了基础.

1 材料和方法

1.1 材料 表达胶原酶Ⅱ的质粒pGW1GH-MMP8(Genbank登记号: NP_002415.1)由加拿大Christopher M教授赠予; E1区和E3区双缺失的复制缺陷型腺病毒骨架质粒pBHGLox△E1, 3Cre由Microbix Biosystems公司提供. 野生型HBV表达载体pCH-9/3091(Genbank登记号: V01460)、HepG2细胞, *E. coli*TOP10菌株为本实验室保存; 腺病毒载体的质粒pDC312(AdMax系统, 加拿大Microbix公司); 人胚肾细胞系293细胞(HEK293)由中国人民解放军军事医学研究院提供. VigoFect转染试剂[威格拉斯生物技术(北京)有限公司]; TRIzol、cDNA合成第一条链试剂盒、MMLV、DNTP、DNApolymerase、RNase、DEPC等RT-PCR各种试剂(天根生物试剂公司). 荧光显微镜(LEICA公司德国); 5%CO_2培养箱(HF161上海力申科学仪器有限公司); 荧光定量PCR仪(上海宏石医疗科技有限公司, 国产); 核酸蛋白分析仪(Biophotometer德国)等.

1.2 方法

1.2.1 pDC-CH-tMMP8, pDC-C-MMP8腺病毒-HBV载体质粒的构建: 野生型HBV表达载体pCH-9/3091删除*S*基因, 插入绿色荧光蛋白基因(green fluorescent protein, GFP), 构建质粒PCH-S-GFP[7], 为了去除内源性HBV蛋白的表达, pCH-S-GFP经过以下突变, G28T(GGA to TGA, 编码从核心蛋白ATG起始), T444A(TTG to TAG), C2677T(CAA to TAA)分别使核心蛋白、P蛋白和X蛋白产生终止密码, 前S1和S2起始密码ATG突变为ACG, 得到质粒pCH-M5-GFP. 质粒pCH-M5-RFP2是利用RFP2替换pCH-M5-GFP质粒中的GFP, pCH-M5-tMMP8是利用PCR方法扩增截短型tMMP8片段, 上游引物: 5'-GGC-GCCATGGTAACCCCAGGAAACC-3'; 下游引

■研发前沿

化学药物(如秋水仙碱)毒性很大, 难以临床应用, 众多的中成药只有很微弱的抗肝纤维化作用, 临床疗效很不满意. 因此, 广大学者已经把治疗肝纤维化的目光转移到基因治疗方面, 目前常用的方法是通过缺陷病毒(如腺病毒)转入特定的细胞因子和酶(如肝细胞生长因子、转化生长因子β1受体、γ干扰素、白介素10、金属蛋白酶)的基因, 通过靶细胞表达这些因子作用于受损的肝脏, 抑制或阻断肝纤维化过程中的某个环节, 从而达到治疗或治愈肝纤维化的目的.

■相关报道
Siller-Lopez等应用经过基因修饰MMP-8转染了HepG2, 发现细胞培育上清液具有降解I型胶原的作用, 并且这种作用能够被EDTA, 1,10-邻二氮杂菲及TIMP-1等抑制, 说明其能够分泌到细胞外发挥酶催化反应. 随后应用腺病毒表达MMP-8一次性感染肝硬化大鼠, 发现其使肝纤维化减少45%, 并使MMP-2, MMP-3, MMP-9及肝细胞生长因子的表达上调, 星型细胞激活剂TGF-β的表达下调, 对腹水、肝功能、及曲张的胃静脉均有明显的改善作用.

物: 5'-GCCGACTAGTCATCCATAGATGGCCTGAATG-3', 所得到的tMMP8片段插入到PCH-M5-GFP, 构建了质粒pCH-M5-tMMP8, 腺病毒穿梭质粒pDC312插入一个人源化GFP(hrGFP)表达盒以构建pDC312-hrGFP, pCH-M5-tMMP8和PCH-M5-RFP2质粒中包括*CMV*启动子和完整的HBV载体的NheⅠ片段插入到pDC312-hrGFP质粒, 构建了腺病毒-HBV载体穿梭质粒pDC-CH-tMMP8和pDC-CH-RFP2. 利用同样的方法, 把包括*CMV*启动子和全长*MMP8*基因的pGW1GH-MMP8的SpeⅠ至BamHⅠ片段插入到pDC312-hrGFP, 构建了质粒pDC-C-MMP8.

1.2.2 表达MMP8的重组腺病毒质粒的包装与扩增: HEK293细胞接种于6孔板, 加入10%FCS的DMEM培养基, 置37 ℃, 5%CO_2培养箱中培养24 h, pBHGLox△E1, 3Cre分别和重组质粒pDC-CH-tMMP8、pDC-CH-RFP2、pDC-C-MMP8以5∶1的比例共转染HEK293细胞, 转染15-20 d后有较明显的病毒蚀斑形成. 将HEK293细胞自培养皿内刮下, 收集培养物于50 mL离心管中, 于-70 ℃/37 ℃水浴中反复冻融3次裂解, 经扩大培养后, 用氯化铯梯度离心法进行腺病毒纯化, 测定A_{260}, 根据公式病毒颗粒数 = A_{260}×稀释倍数×1.1×10^{12}算出腺病毒的滴度, 保存于-70 ℃进行体内外研究.

1.2.3 肝硬化动物模型的制备: 清洁级、♂Wistar大鼠40只, 体质量200 g±20 g, 硫代乙酰胺(thioacetamide, TAA)用精确度为1/10000的电子天平称取并用饮用水稀释, 8只为正常组, 用饮用水喂养, 其余均用0.03%TAA诱导饲喂5 wk, 然后0.04%的TAA诱导喂饲5 wk, 大约16 wk后制成稳定的肝硬化模型[8], 每1-2 d更换1次诱导用饮用水, 以保证水的新鲜和药物浓度的稳定, 在诱导期间随即处死实验动物, 经病理证实为肝硬化, 大约10 wk后制成稳定的肝硬化模型.

1.2.4 重组腺病毒感染肝硬化大鼠及组织取样: 造模成功后将肝硬化大鼠随机分为4组, 即治疗组A, 用腺病毒Ad-CH-tMMP8治疗; 治疗组B, 用腺病毒Ad-C-MMP8治疗; 阴性对照组, 用腺病毒Ad-CH-RFP2治疗; 模型对照组, 未做任何治疗, 每组8只. 停药1 wk, 治疗组A、B, 阴性对照组分别尾静脉注射1.5×10^{11}病毒/kg体质量. 治疗2 wk, 4 wk后分两批处死动物. 0.3%戊巴比妥(40 mg/kg)腹腔注射麻醉, 腹主动脉取血, 分离血清做肝功能、肝纤4项等检查, 分离肝组织部分40 g/L的甲醛固定, 进行组织学检查, 其余-80 ℃保存, 供羟脯氨酸(hydroxyproline, Hyp)检查备用[9].

1.2.5 大鼠肝功能: 由我院检验科全自动生化分析仪检测, 透明质酸(hyaluronic acid, HA)和层黏连蛋白(laminin, LN)由我院核医学科放射免疫学检测.

统计学处理 使用SPSS19.0统计软件处理实验数据, 有关资料的指标采用mean±SD表示, 两样本均数的比较采用*t*检验, P<0.05为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 动物模型的建立 0.03%TAA诱导饲喂5 wk, 然后0.04%的TAA诱导喂饲5 wk, 大约16 wk后制成稳定的肝硬化模型. 造模期间, 正常大鼠毛发光泽, 活动正常, 而进行造模的大鼠则普遍出现皮毛蓬乱无光泽, 精神萎靡, 活动减少, 进食量和体质量均低于正常组, 并出现死亡现象. 此方法建立的肝硬化模型持续时间长, 在停药2 mo后肝硬化程度几乎没有减轻, 我们的实验中模型组一共有8只动物, 每只动物都得到的相同的结果, 与Lukivskaya等[10]、Gu等[11]报道一致, 以上研究结果显示TAA诱导的肝硬化模型比较稳定、持久, 可作为一种与临床患者肝硬化相似的模型进行治疗、研究.

2.2 腺病毒感染后的肝组织学变化 大体观察: 正常肝脏颜色鲜红, 有光泽, 质软, 边缘锐; 模型组肝组织颜色灰暗, 无光泽, 表面粗糙, 可见大片状的岛屿状结节形成, 质地硬, 边缘钝, 其中一半以上(6/8)的大鼠伴有腹水形成; 阴性对照组注射Ad-CH-RFP2腺病毒治疗后大鼠肝脏颜色深红色, 无光泽, 大片状的岛屿状结节, 质地硬, 边缘钝, 其中4只大鼠伴有腹水(4/8); Ad-CH-tMMP8和Ad-C-MMP8治疗2 wk后肝脏颜色暗红, 同样可见片状岛屿状结节, 但较模型组和阴性对照组明显减少, 质地变软, 边缘钝, 其中一只大鼠(Ad-CH-tMMP8组1/8)有少量腹水形成.

HE染色: 正常组肝脏肝小叶结构完整, 肝板以中央静脉为中心, 呈条索状向四周放射样排列, 无肝细胞萎缩、变性、坏死、炎症细胞浸润及纤维组织增生; 模型组肝小叶结构破坏, 可见广泛肝细胞变性、坏死、伴有较多的炎症细胞浸润及纤维结蒂组织增生, 中央静脉塌陷或扭曲变形, 可见粗大的胶原纤维条索分割肝小叶形成假小叶; 阴性对照Ad-CH-RFP2组与模型组相比无明显变化, 肝纤维化程度未见减轻; Ad-CH-tMMP8和Ad-C-MMP8治疗组与模型组、阴

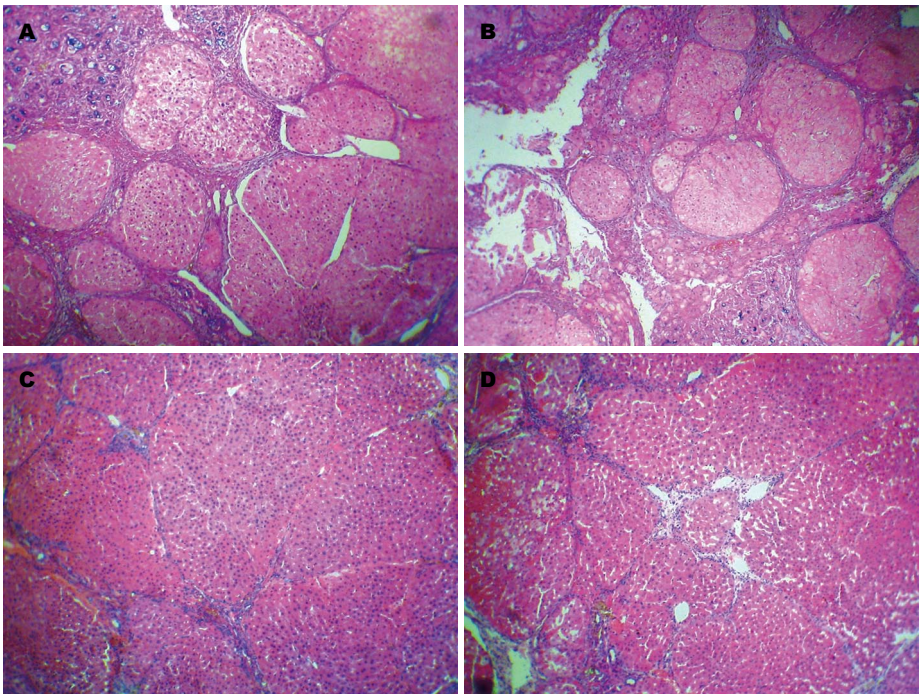


图 1 肝组织HE染色结果(×10). A: 模型组; B: 阴性对照组; C: Ad-CH-tMMP8治疗组; D: Ad-C-MMP8治疗组.

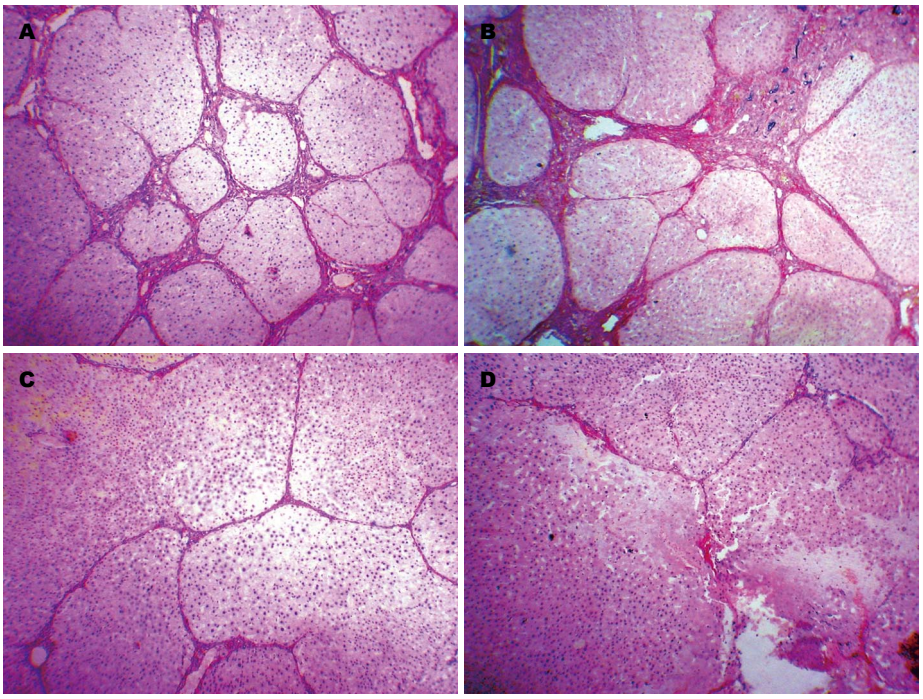


图 2 肝组织天狼猩红染色结果(×10). A: 模型组; B: 阴性对照组; C: Ad-CH-tMMP8治疗组; D: Ad-C-MMP8治疗组.

性对照组相比, 肝小叶结构破坏明显减轻, 胶原纤维条索较细, 肝细胞水肿好转、变形情况明显改善, 炎症细胞浸润减少, 汇管区结缔组织增生好转, 肝纤维化程度明显减轻($P<0.05$), 但两治疗组之间比较无统计学意义($P>0.05$)(图1).

2.3 腺病毒感染后肝纤维化的定量分析 肝纤维化的半定量通过天狼猩红染色分析: 胶原纤维染成红, 红色区域的面积代表着肝脏内胶原的沉积, Ad-CH-tMMP8和Ad-C-MMP8治疗组与模型组、阴性对照组相比, 肝小叶结构破坏减轻, 肝脏胶原纤维增生亦明显减轻, 纤维条索变细变窄, 肝小叶结构恢复, 汇管区和中央静脉周围胶原显著减少($P<0.05$), 但两治疗组之间比较无统计学意义($P>0.05$)(图2).

■创新盘点

本研究将HBV改造成载体用于HBV相关的肝病基因治疗, 与其他病毒载体相比, 具有明显的优势, 他可利用乙型肝炎患者这个天然廉价的包装细胞, 携带的目的基因在体内将有嗜肝导向性及放大效应, 有可能从根本上克服其他病毒载体的缺陷. 利用腺病毒载体转导HBV载体, 把二者结合到一起, 克服了各自的缺点, 实现制备方便、具有靶向性、放大效应、低细胞毒性、无免疫源性等. 这一方法学的创新也将对本领域的研究产生一定的影响, 或许有助于突破“重组HBV难以大量制备”这一HBV载体研究的瓶颈.

■应用要点

应用重组腺病毒携带HBV载体表达胶原酶Ⅱ, 克服HBV载体制备困难及感染效率低的缺陷, 发挥HBV载体的优势, 以野生型HBV提供包装, 形成重组HBV颗粒, 将具有放大效应, 一次性小剂量注射重组腺病毒有望实现一次性注射维持持久疗效, 在体内形成的重组HBV具有嗜肝导向性, 无细胞毒性、无免疫源性等, 这一创新, 有可能把胶原酶Ⅱ基因治疗带入临床应用.

表 1 血清谷丙转氨酶测定 (n = 8, U/L)

分组	2 wk	4 wk
正常组	74.75 ± 6.70	64.75 ± 12.23
模型组	112.50 ± 11.21	108.42 ± 8.23
治疗组A	184.50 ± 10.34[a]	114.52 ± 10.02
治疗组B	182.25 ± 13.59[a]	109.68 ± 9.97
阴性对照组	191.09 ± 14.76[a]	106.36 ± 8.93

[a]P<0.05 *vs* 模型组.

表 2 血清HA、LN测定 (n = 8)

分组	HA(ng/mL)	LN(ng/mL)
正常组	111.32 ± 19.14	103.07 ± 17.61
模型组	1115.62 ± 163.28	475.65 ± 90.67
治疗组A	646.83 ± 59.25[ac]	293.22 ± 64.61[ac]
治疗组B	790.34 ± 33.79[ac]	250.61 ± 57.25[ac]
阴性对照组	1097.33 ± 151.62	508.24 ± 94.73

[a]P<0.05 *vs* 模型组; [c]P<0.05 *vs* 阴性对照组. HA: 透明质酸; LN: 层黏连蛋白.

肝脏内羟脯氨酸含量的定量分析: 模型组肝组织Hyp含量较正常组升高, 达正常值得约9倍; Ad-CH-tMMP8和Ad-C-MMP8治疗组Hyp含量与模型组相比有所下降(17.04 μg/g±0.60 μg/g、17.62 μg/g±1.31 μg/g *vs* 28.97 μg/g±2.36 μg/g, P<0.05), 而Ad-CH-RFP2组较模型组又有所升高(30.89 μg/g±3.67 μg/g)(图3). Hyp含量测定在判断肝纤维化程度方面没有HE染色、天狼猩红染色明显, 究其原因可能是肝脏内降解和没有降解的胶原都可被分解成为Hyp而被测出, 此结果与Iimuro等[12]、Siller-López等[6]报道一致.

2.4 腺病毒感染后对大鼠肝功能及HA、LN的影响 对大鼠血清中肝脏功能特异性的酶谷丙转氨酶(alanine transaminase, ALT)的测定结果显示: 与模型组相比, 治疗组和阴性对照组大鼠血清ALT显著的升高(P<0.05), 感染4 wk后血清ALT接近正常(表1). 以上数据表明腺病毒在肝脏内短暂大量的表达也可促使轻度的肝细胞破坏. 对大鼠HA、LN的影响结果如表2.

3 讨论

肝纤维化是各种慢性肝病的共同病理基础, 是肝硬化的必经阶段, 其实质是细胞外基质(extracellular matrix ECM)成份的改变和过度沉积[13]. 肝纤维化是一个慢性、渐进性的过程, 持续发展可导致肝小叶结构改建, 假小叶形成, 导致肝硬化发生. 肝硬化被认为是一种不可逆转的肝脏疾病, 唯一有效的治疗措施是肝移植, 但因费用昂贵、捐赠器官数量有限等限制其广泛应用. 有文献报道[14-20]几种途径已经成功预防、阻止动物模型肝纤维化的进展, 然而, 在未发展至肝硬化之前, 肝纤维化临床症状不典型, 往往被忽视. 因此, 如何逆转肝硬化已经成为一个关键性问题.

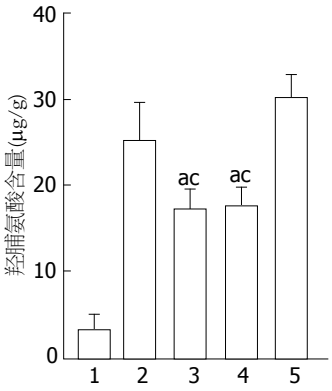


图 3 肝组织羟脯氨酸含量的测定. 1: 正常组; 2: 模型组; 3: 治疗组A; 4: 治疗组B; 5: 阴性对照组. [a]P<0.05 *vs* 模型组; [c]P<0.05 *vs* 阴性对照组.

肝纤维化时, ECM的质和量均发生显著变化, 以胶原为主的ECM成份可较正常肝增加3-8倍, ECM的各型胶原之间、糖蛋白之间及蛋白聚糖之间的比值异常, 就胶原而言, Ⅲ型胶原在纤维化早期即明显增多, 但随纤维化进展, 可渐被Ⅰ型胶原替代, 至肝硬化时Ⅰ型胶原可占胶原量的60%-70%(正常肝两者各占40%-45%)[21]. 几种机制调控着ECM的合成与降解, 然而, 基质金属蛋白酶家族在ECM的降解过程中起主要作用, 目前的研究表明, ECM在降解开始起主要作用的为基质金属蛋白酶家族中的间质胶原酶类. Iredale[5]发表的一篇评论性文章“划时代的进展? MMP-8与肝纤维化基因治疗”中, 对MMP-8治疗肝硬化给与了极高的评价, 认为这项研究将很快从实验室走进临床!

在肝硬化动物模型的制作过程中, 0.03%TAA诱导饲喂5 wk, 然后0.04%的TAA诱导喂饲5 wk, 大约16 wk后制成稳定的肝硬化模型. TAA诱导慢性肝损伤的机制是影响蛋白合成及肝细胞中酶的代谢. 在造模结束2 mo后, 病理结果显示模型组大鼠肝脏假小叶仍明显, 较2 mo前无明显减轻(图3), 可见此方法诱导的肝硬化模型在停药2 mo后几乎没有自发性逆转, 持

续时间长, 其诱导肝硬化的机制与人类肝硬化形成的机制类似, 可作为一种与临床患者肝硬化相似的模型进行治疗、研究.

用腺病毒作为载体治疗肝硬化的大鼠, 其毒性大小成为我们考虑的问题[22], 包括对机体产生的免疫反应, 肝硬化大鼠能耐受多大剂量腺病毒的毒性? 最近的资料报道[23-26], 在使用腺病毒载体作为基因治疗的实验中, 病毒剂量达到10^{12}病毒颗粒/公斤大鼠体质量(VP/kg)对肝硬化大鼠毒性较高, 而肝硬化大鼠能够耐受1011 VP/kg的剂量, 我们在实验中选择了单一剂量(3×10^{11} VP/kg)进行了大鼠肝硬化的治疗, 在治疗1 mo期间内未发现由腺病毒导致的大鼠死亡, 因此, 腺病毒载体作为基因载体运用于大鼠基因治疗将有可能是有效和安全的. 动物实验结果显示Ad-C-MMP8和Ad-CH-tMMP8两治疗组在体内都能够有效的降解胶原, 表现为肝细胞变形、水肿好转, 胶原纤维条索较细, 肝纤维化程度明显减轻, 同时伴有肝脏羟脯氨酸含量的下降和肝细胞再生.

腺病毒载体是继逆转录病毒载体后发展起来且发展较快的又一病毒载体. 其主要特点是易通过基因操作缺失关键的调节元件, 可携带外源基因的量大(约7.5 kb)、不整合进入宿主DNA(无遗传毒性)、可感染处于任何增值周期的细胞、宿主细胞范围广泛, 感染效率高. 而且他容易制取、纯化、浓缩获得高滴度病毒液, 但大剂量应用时有细胞毒性, 也具有免疫原性, 重复应用因中和抗体产生而失去疗效, 再加上肝硬化患者大多具有肝功能异常, 如果再大剂量应用具有细胞毒性的腺病毒, 则可能加重肝功能损伤, 有可能向重症肝炎发展, 重复应用时疗效减低, 但肝损伤加重. 因此, 大剂量重组腺病毒治疗肝硬化具有一定的危险性. 基于以上腺病毒的缺点, 我们在腺病毒载体的基础上导入了HBV载体[27,28], HBV载体是将HBV进行了改造, 即删除了所有HBV蛋白的表达, 强化了表达外源基因的启动子, 能够表达外源基因. 由于HBV载体不再表达任何结构蛋白, 根据目前对HBV致病机制的认识, 除非所表达的目的基因具有毒性, 否则他将不具有致病性. 把HBV改造成载体用于HBV相关的肝病基因治疗, 与其他病毒载体相比, 具有明显的优势, 他可利用乙型肝炎患者这个天然廉价的包装细胞, 携带的目的基因在体内将有嗜肝导向性及放大效应, 有可能从根本上克服上述病毒载体的缺陷.

我们实验中发现胶原酶II在减轻肝纤维化的同时没有出现明显的炎症反应, 表明胶原酶II体内的大量表达不会促使严重的肝脏损害. 在评价肝纤维化程度减轻的指标中, 羟脯氨酸的测定结果在反应肝纤维化减轻的程度没有病理学观察到的那样显著, 人们先前研究中同样报道形态测定分析和定量羟脯氨酸含量分析之间存在着差异[29-31], 一个可能的原因是由于实验时间比较短, 一些降解的胶原片段沉积在肝脏内没有被吸收, 其仍然能够被作为羟脯氨酸测出.

另外, 我们同时检测到治疗组血清ALT短暂的升高, 血清ALT的升高在2 wk时比较明显, 到治疗4 wk结束时血清ALT水平恢复正常. 因此, 腺病毒的过度表达也导致了肝细胞轻度的破坏, 表现为血清ALT水平短暂的升高, 其具体机制尚未探讨.

同行评价

本研究应用能够表达胶原酶II的腺病毒-乙型肝炎病毒嵌合载体对硫代乙酰胺诱导大鼠肝硬化模型进行了治疗研究. 课题新颖, 设计合理, 值得进一步研究和探索.

4 参考文献

1 Ellis EL, Mann DA. Clinical evidence for the regression of liver fibrosis. *J Hepatol* 2012; 56: 1171-1180 [PMID: 22245903 DOI: 10.1016/j.jhep.2011.09.024]

2 Forner A, Llovet JM, Bruix J. Hepatocellular carcinoma. *Lancet* 2012; 379: 1245-1255 [PMID: 22353262 DOI: 10.1016/S0140-6736(11)61347-0]

3 Eng FJ, Friedman SL. Fibrogenesis I. New insights into hepatic stellate cell activation: the simple becomes complex. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2000; 279: G7-G11 [PMID: 10898741]

4 Page-McCaw A, Ewald AJ, Werb Z. Matrix metalloproteinases and the regulation of tissue remodelling. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2007; 8: 221-233 [PMID: 17318226 DOI: 10.1038/nrm2125]

5 Iredale JP. A cut above the rest? MMP-8 and liver fibrosis gene therapy. *Gastroenterology* 2004; 126: 1199-1201 [PMID: 15057760 DOI: 10.1053/j.gastro.2004.01.060]

6 Siller-López F, Sandoval A, Salgado S, Salazar A, Bueno M, Garcia J, Vera J, Gálvez J, Hernández I, Ramos M, Aguilar-Cordova E, Armendariz-Borunda J. Treatment with human metalloproteinase-8 gene delivery ameliorates experimental rat liver cirrhosis. *Gastroenterology* 2004; 126: 1122-1133; discussion 949 [PMID: 15057751 DOI: 10.1053/j.gastro.2003.12.045]

7 Protzer U, Nassal M, Chiang PW, Kirschfink M, Schaller H. Interferon gene transfer by a hepatitis B virus vector efficiently suppresses wild-type virus infection. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96: 10818-10823 [PMID: 10485909 DOI: 10.1073/pnas.96.19.10818]

8 刘金霞, 孙殿兴, 曹治宸. HGF/c-Met系统在大鼠肝纤维化转归中作用及其机制. 中国老年学杂志 2009; 29: 656-659

9 Rojkind M, González E. An improved method for determining specific radioactivities of proline-14C and hydroxyproline-14C in collagen and in noncol-

lagenous proteins. *Anal Biochem* 1974; 57: 1-7 [PMID: 4817495 DOI: 10.1016/0003-2697(74)90043-8]
10 Lukivskaya O, Patsenker E, Lis R, Buko VU. Inhibition of inducible nitric oxide synthase activity prevents liver recovery in rat thioacetamide-induced fibrosis reversal. *Eur J Clin Invest* 2008; 38: 317-325 [PMID: 18380797 DOI: 10.1111/j.1365-2362.2008.01941.x]
11 Gu K, Zhao JD, Ren ZG, Ma NY, Lai ST, Wang J, Liu J, Jiang GL. A natural process of cirrhosis resolution and deceleration of liver regeneration after thioacetamide withdrawal in a rat model. *Mol Biol Rep* 2011; 38: 1687-1696 [PMID: 20931291 DOI: 10.1007/s11033-010-0281-1]
12 Iimuro Y, Nishio T, Morimoto T, Nitta T, Stefanovic B, Choi SK, Brenner DA, Yamaoka Y. Delivery of matrix metalloproteinase-1 attenuates established liver fibrosis in the rat. *Gastroenterology* 2003; 124: 445-458 [PMID: 12557150 DOI: 10.1053/gast.2003.50063]
13 Moore CS, Crocker SJ. An alternate perspective on the roles of TIMPs and MMPs in pathology. *Am J Pathol* 2012; 180: 12-16 [PMID: 22033229 DOI: 10.1016/j.ajpath.2011.09.008]
14 Ueno H, Sakamoto T, Nakamura T, Qi Z, Astuchi N, Takeshita A, Shimizu K, Ohashi H. A soluble transforming growth factor beta receptor expressed in muscle prevents liver fibrogenesis and dysfunction in rats. *Hum Gene Ther* 2000; 11: 33-42 [PMID: 10646637]
15 Zhu J, Wu J, Frizell E, Liu SL, Bashey R, Rubin R, Norton P, Zern MA. Rapamycin inhibits hepatic stellate cell proliferation in vitro and limits fibrogenesis in an in vivo model of liver fibrosis. *Gastroenterology* 1999; 117: 1198-1204 [PMID: 10535884]
16 Qi Z, Atsuchi N, Ooshima A, Takeshita A, Ueno H. Blockade of type beta transforming growth factor signaling prevents liver fibrosis and dysfunction in the rat. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96: 2345-2349 [PMID: 10051644 DOI: 10.1016/S0016-5085(99)70406-3]
17 Masunaga H, Fujise N, Shiota A, Ogawa H, Sato Y, Imai E, Yasuda H, Higashio K. Preventive effects of the deleted form of hepatocyte growth factor against various liver injuries. *Eur J Pharmacol* 1998; 342: 267-279 [PMID: 9548396 DOI: 10.1016/S0014-2999(97)01485-4]
18 Murata T, Arii S, Nakamura T, Mori A, Kaido T, Furuyama H, Furumoto K, Nakao T, Isobe N, Imamura M. Inhibitory effect of Y-27632, a ROCK inhibitor, on progression of rat liver fibrosis in association with inactivation of hepatic stellate cells. *J Hepatol* 2001; 35: 474-481 [PMID: 11682031 DOI: 10.1016/S0168-8278(01)00169-6]
19 Tada S, Iwamoto H, Nakamuta M, Sugimoto R, Enjoji M, Nakashima Y, Nawata H. A selective ROCK inhibitor, Y27632, prevents dimethylnitrosamine-induced hepatic fibrosis in rats. *J Hepatol* 2001; 34: 529-536 [PMID: 11394652 DOI: 10.1016/S0168-8278(00)00059-3]
20 Yasuda M, Shimizu I, Shiba M, Ito S. Suppressive effects of estradiol on dimethylnitrosamine-induced fibrosis of the liver in rats. *Hepatology* 1999; 29: 719-727 [PMID: 10051473 DOI: 10.1002/hep.510290307]
21 Neubauer K, Saile B, Ramadori G. Liver fibrosis and altered matrix synthesis. *Can J Gastroenterol* 2001; 15: 187-193 [PMID: 11264572]
22 Descamps D, Benihoud K. Two key challenges for effective adenovirus-mediated liver gene therapy: innate immune responses and hepatocyte-specific transduction. *Curr Gene Ther* 2009; 9: 115-127 [PMID: 19355869 DOI: 10.2174/156652309787909544]
23 Salgado S, Garcia J, Vera J, Siller F, Bueno M, Miranda A, Segura A, Grijalva G, Segura J, Orozco H, Hernandez-Pando R, Fafutis M, Aguilar LK, Aguilar-Cordova E, Armendariz-Borunda J. Liver cirrhosis is reverted by urokinase-type plasminogen activator gene therapy. *Mol Ther* 2000; 2: 545-551 [PMID: 11124055 DOI: 10.1006/mthe.2000.0210]
24 Hecht N, Pappo O, Shouval D, Rose-John S, Galun E, Axelrod JH. Hyper-IL-6 gene therapy reverses fulminant hepatic failure. *Mol Ther* 2001; 3: 683-687 [PMID: 11356073 DOI: 10.1006/mthe.2001.0313]
25 Nakatani T, Kuriyama S, Tominaga K, Tsujimoto T, Mitoro A, Yamazaki M, Tsujinoue H, Yoshiji H, Nagao S, Fukui H. Assessment of efficiency and safety of adenovirus mediated gene transfer into normal and damaged murine livers. *Gut* 2000; 47: 563-570 [PMID: 10986218 DOI: 10.1136/gut.47.4.563]
26 Garcia-Bañuelos J, Siller-Lopez F, Miranda A, Aguilar LK, Aguilar-Cordova E, Armendariz-Borunda J. Cirrhotic rat livers with extensive fibrosis can be safely transduced with clinical-grade adenoviral vectors. Evidence of cirrhosis reversion. *Gene Ther* 2002; 9: 127-134 [PMID: 11857071 DOI: 10.1038/sj.gt.3301647]
27 Untergasser A, Protzer U. Hepatitis B virus-based vectors allow the elimination of viral gene expression and the insertion of foreign promoters. *Hum Gene Ther* 2004; 15: 203-210 [PMID: 14975192 DOI: 10.1089/104303404772680001]
28 Ueki T, Kaneda Y, Tsutsui H, Nakanishi K, Sawa Y, Morishita R, Matsumoto K, Nakamura T, Takahashi H, Okamoto E, Fujimoto J. Hepatocyte growth factor gene therapy of liver cirrhosis in rats. *Nat Med* 1999; 5: 226-230 [PMID: 9930873]
29 孙殿兴, 胡大荣, 邬光惠, 胡学玲, 李娟, 范公忍. 重组逆转录病毒载体携带乙型肝炎病毒载体的构建与表达. 中华实验与临床病毒学杂志 2002; 12: 162-165
30 Bickel M, Baringhaus KH, Gerl M, Günzler V, Kanta J, Schmidts L, Stapf M, Tschank G, Weidmann K, Werner U. Selective inhibition of hepatic collagen accumulation in experimental liver fibrosis in rats by a new prolyl 4-hydroxylase inhibitor. *Hepatology* 1998; 28: 404-411 [PMID: 9696004 DOI: 10.1002/hep.510280217]
31 Sakaida I, Hironaka K, Uchida K, Suzuki C, Kayano K, Okita K. Fibrosis accelerates the development of enzyme-altered lesions in the rat liver. *Hepatology* 1998; 28: 1247-1252 [PMID: 9794908 DOI: 10.1002/hep.510280512]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年5月8日; 22(13): 1785-1792
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

基础研究 BASIC RESEARCH

超早期肠内营养对重度急性胰腺炎大鼠肠黏膜屏障功能的影响

林 浩, 陈 杰, 刘立玺, 胡兆鹏, 朱方擎, 李 兴, 龚 敏, 文 萍, 文剑波

林浩, 刘立玺, 朱方擎, 李兴, 龚敏, 文萍, 文剑波, 南方医科大学附属萍乡医院消化内科 江西省萍乡市 337000
陈杰, 南方医科大学附属萍乡医院药剂科 江西省萍乡市 337000
胡兆鹏, 南方医科大学附属萍乡医院病理科 江西省萍乡市 337000
林浩, 在读硕士, 主要从事急性胰腺炎营养支持方面的研究.
江西省科技支撑计划基金资助项目, No. 2009BSB08000
作者贡献分布: 此课题设计由文剑波与林浩设计; 研究过程由林浩、陈杰、胡兆鹏、李兴、龚敏及文萍完成; 数据分析由林浩、陈杰及朱方擎完成; 论文撰写由林浩完成; 文章修改和审阅由文剑波、陈杰及刘立玺完成.
通讯作者: 文剑波, 教授, 337000, 江西省萍乡市安源区广场路128号, 南方医科大学附属萍乡医院. wenjbpx@126.com
收稿日期: 2014-01-13 修回日期: 2014-03-20
接受日期: 2014-03-28 在线出版日期: 2014-05-08

Early enteral nutrition improves intestinal barrier function in rats with severe acute pancreatitis

Hao Lin, Jie Chen, Li-Xi Liu, Zhao-Peng Hu, Fang-Qing Zhu, Xing Li, Min Gong, Ping Wen, Jian-Bo Wen

Hao Lin, Li-Xi Liu, Fang-Qing Zhu, Xing Li, Min Gong, Ping Wen, Jian-Bo Wen, Department of Gastroenterology, the Affiliated Pingxiang Hospital of Southern Medical University, Pingxiang 337000, Jiangxi Province, China
Jie Chen, Department of Pharmacology, the Affiliated Pingxiang Hospital of Southern Medical University, Pingxiang 337000, Jiangxi Province, China
Zhao-Peng Hu, Department of Pathology, the Affiliated Pingxiang Hospital of Southern Medical University, Pingxiang 337000, Jiangxi Province, China
Supported by: Projects of Jiangxi Science and Technology Support Plan, No. 2009BSB08000
Correspondence to: Jian-Bo Wen, Professor, Department of Gastroenterology, the Affiliated Pingxiang Hospital of Southern Medical University, 128 Guangchang Road, Anyuan District, Pingxiang 337000, Jiangxi Province, China. wenjbpx@126.com
Received: 2014-01-13 Revised: 2014-03-20
Accepted: 2014-03-28 Published online: 2014-05-08

Abstract

AIM: To investigate the effect of early enteral nutrition on the intestinal barrier function in rats with severe acute pancreatitis (SAP).

METHODS: Sixty male Sprague-Dawley rats were randomly allocated into 4 groups: a sham-operation group (n = 15), an SAP group (control group, n =15), a parenteral nutrition group (PN group, n = 15) and an enteral nutrition group (EN group, n = 15). SAP was induced by retrograde injection of 5% sodium taurocholate into the biliopancreatic duct. Rats in the sham-operation group only underwent laparotomy without induction of SAP. Six hours after surgery, rats in the former two groups were given normal saline, while those in the latter two groups were administrated with EN and PN, respectively. All rats were sacrificed 48 h after operation. Serum levels of amylase (AMS), endotoxin and diamine oxidase (DAO) were detected. Pathological changes of the pancreas were observed by light microscopy. The incidence of pancreatic abscess was calculated. The sections of terminal ileum were obtained to measure the height of villi and the thickness of the mucosa.

RESULTS: Plasma levels of endotoxin and DAO were significantly lower in the EN group than in the SAP group and PN group (endotoxin: 0.247 EU/mL ± 0.069 EU/mL *vs* 0.545 EU/mL ± 0.095 EU/mL, 0.333 EU/mL ± 0.046 EU/mL; P < 0.05 for the PN group, P < 0.01 for the SAP group; DAO: 0.91 EU/mL ± 0.13 EU/mL *vs* 1.52 U/mL ± 0.09 U/mL, 1.17 U/mL ± 0.10 U/mL; P < 0.01 for both). There were no significant differences in plasma amylase (AMS) between the SAP group, EN group and PN group (10171 U/L ± 665.77 U/L *vs* 9428.2 U/L ± 1076.61 U/L *vs* 10533 U/L ± 1669.13 U/L). The histological score of the injured pancreas in the EN group was markedly decreased in comparison with those in the SAP group and PN group (8.08 ± 1.24 *vs* 14.50 ± 1.05, 10.44 ± 1.01; P < 0.01 for both). The rate of pancreatic abscess in the three groups was not statistically different (SAP group: 9/15, EN group: 2/15, PN group: 6/15). Compared with the SAP group, the thickness of the mucosa and height of villi were improved obviously in both the EN group and PN group (thickness of mucosa: 226.67 μm ± 20.84 μm *vs* 294.79 μm ± 20.49 μm, 306.11 μm ± 24.34 μm; P < 0.01

■背景资料
重度急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)是临床上常见的急危重症, 死亡率高达36%-50%. 该病发病机制复杂, 其中肠黏膜屏障功能损伤后可出现肠道细菌和内毒素移位, 引发机体感染, 形成“二次打击”, 从而加重全身炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome)和多器官功能障碍综合征(multiple organ dysfunction syndrome)的发生发展, 这是导致SAP患者死亡的主要原因之一.

■同行评议者
谭学瑞, 教授, 汕头大学医学院第一附属医院内科

■研发前沿
众多研究表明早期肠内营养可有效保护肠黏膜屏障，减少肠源性细菌和内毒素移位，从而改善SAP患者预后，但是实施早期肠内营养的具体时机，目前国内外学界尚无定论.

for both; height of villi: 137.33 μm ± 9.38 μm *vs* 194.54 μm ± 11.96 μm, 201.72 μm ± 10.60 μm; P < 0.01 for both), although there was no significant difference between the EN group and PN group.

CONCLUSION: Early enteral nutrition can significantly improve the gut barrier function and ameliorate intestinal endotoxemia in rats with SAP.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Severe acute pancreatitis; Early enteral nutrition; Intestinal barrier dysfunction; Endotoxin translocation

Lin H, Chen J, Lin LX, Hu ZP, Zhu FQ, Li X, Gong M, Wen P, Wen JB. Early enteral nutrition improves intestinal barrier function in rats with severe acute pancreatitis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(13): 1785-1792 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1785.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1785

摘要

目的: 探讨超早期肠内营养(enteral nutrition, EN)对重度急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)大鼠肠黏膜屏障功能的影响.

方法: 将60只♂SD大鼠分为假手术组(Sham组15只)、SAP空白对照组(SAP组15只)、肠内营养组(EN组15只)、肠外营养组(parenteral nutrition, PN组15只). SAP大鼠模型制作采用逆行胆胰管注射5%牛磺胆酸钠法, 假手术组以生理盐水代替. 假手术组与SAP空白对照组在术后6 h给予生理盐水, 其他2组在术后6 h分别给予肠内、肠外营养液支持治疗. 所有组均在造模后第48小时处死大鼠. 处死前抽取外周血检测血浆淀粉酶、内毒素、二胺氧化酶的含量. 各组取胰腺组织分别计算胰腺病理评分和胰腺脓肿发生率; 各组取末端回肠组织常规光镜观察回肠末端黏膜形态学变化, 测量黏膜厚度和绒毛高度.

结果: SAP空白对照组大鼠血浆内毒素和二胺氧化酶水平分别为0.545 EU/mL±0.095 EU/mL、1.52 U/mL±0.09 U/mL, PN组大鼠二者血浆水平分别下降为0.333 EU/mL±0.046 EU/mL、1.17 U/mL±0.10 U/mL, EN组大鼠则继续下降至0.247 EU/mL±0.069 EU/mL、0.91 EU/mL±0.13 EU/mL, 与SAP空白对照组比较, EN组内毒素水平(P<0.01), 与PN组比较, EN组内毒素水平(P<0.05); 与前两组比较, EN组二胺氧化酶水平(P<0.01). SAP空白对照组、EN组、PN组血浆淀粉酶水平分别为10171 U/L±665.77 U/L、9428.2 U/L±1076.61 U/L、10533 U/L±1669.13 U/L, 三组间比较无显著差异. 胰腺病理评分: SAP空白对照组14.50±1.05、PN组10.44±1.01, EN组8.08±1.24, 与前两组比较, EN组有显著差异(P<0.01); 胰腺脓肿发生率: SAP空白对照组9/15、PN组6/15、EN组2/15, 三组比较无显著差异. 末端回肠黏膜病理分析显示: SAP空白对照组大鼠末端回肠黏膜厚度和绒毛高度分别为226.67 μm±20.84 μm、137.33 μm±9.38 μm, EN组大鼠294.79 μm±20.49 μm、194.54 μm±11.96 μm, PN组大鼠306.11 μm±24.34 μm、201.72 μm±10.60 μm, 与SAP空白对照组相比, EN组和PN组大鼠回肠黏膜厚度及绒毛高度明显改善(P<0.01), 但EN组和PN组比较未见显著差异.

结论: 超早期肠内营养能改善SAP大鼠肠道屏障功能, 减轻肠源性内毒素血症.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 重度急性胰腺炎; 早期肠内营养; 肠道屏障损害; 内毒素移位

核心提示: 本研究利用重度急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)动物模型, 选择超早期(发病后6 h)给予肠内营养(enteral nutrition, EN), 发现超早期EN能改善SAP大鼠肠道屏障功能, 减轻肠源性内毒素血症, 为早期EN在SAP中的临床应用提供理论基础和实验依据.

林浩, 陈杰, 刘立玺, 胡兆鹏, 朱方擎, 李兴, 龚敏, 文萍, 文剑波. 超早期肠内营养对重度急性胰腺炎大鼠肠黏膜屏障功能的影响. 世界华人消化杂志 2014; 22(13): 1785-1792 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1785.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1785

0 引言

重度急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)是临床常见的危重急症, 病死率约36%-50%, 如后期合并感染则病死率极高[1]. SAP发病机制复杂, 其中肠黏膜屏障功能受损时, 可出现肠道细菌和内毒素移位, 发生肠源性内毒素血症, 导致胰腺组织及其他远处器官继发感染, 这促进了全身炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome, SIRS)及多器官功能障碍综合征(multiple organ dysfunction syndrome, MODS)的发生, 而SIRS和MODS的发展又加重了肠黏

膜屏障功能的破坏, 形成恶性循环, 因此肠道是控制SAP发生发展的“中心器官”之一[2-4]. 一系列的研究表明: SAP发病后数小时即出现肠道屏障功能损害的迹象, 比如肠上皮细胞的凋亡、肠道通透性增加等[5-7]. 而近年来国内外研究显示早期肠内营养(enteral nutrition, EN)能改善SAP的肠道屏障功能, 从而提高预后水平[8-17]. 但其给予的具体时机目前尚无定论. 因此, 本研究选择SAP超早期(发病后6 h)给予EN, 探讨其对SAP大鼠肠道屏障功能的影响, 为早期EN在SAP中的临床应用提供理论基础和实验依据.

1 材料和方法

1.1 材料 ♂SD大鼠(上海斯莱克实验动物有限公司); 百普素(荷兰纽迪希亚公司); 8.5%乐凡命、20%脂肪乳注射液、安达美、水乐维他、维他利匹特(华瑞制药有限公司); 50%葡萄糖注射液(北京双鹤药业有限公司); 戊巴比妥钠(南方医科大学试剂中心); 内毒素检测鲎试剂盒(厦门市鲎试剂实验厂有限公司); 牛磺胆酸钠、二胺氧化酶标准品、戊二胺、辣根过氧化物酶、邻联二茴香胺(美国Sigma公司); 结合式阻血夹(新华手术器械有限公司); 输液用连通管(德清县新德意医疗器械有限公司); 儿童头皮针(浙江康德莱医疗器械股份有限公司); 微量注射泵(浙江史密斯医学仪器有限公司); AU2700全自动生化分析仪(日本奥林巴斯公司); 台式高速低温离心机(Beckman公司); UV754分光光度计(上海分析仪器厂); 光学显微镜和测微尺(日本NIKON公司); 自制大鼠固定器.

1.2 方法

1.2.1 动物分组: ♂SD大鼠60只, 体质量250-300 g, 分为4组: 假手术组(Sham组15只)、SAP空白对照组(SAP组15只)、肠外营养组(parenteral nutrition, PN组15只)、肠内营养组(EN组15只). SD大鼠适应性喂养1 wk后进行实验.

1.2.2 SAP模型的制备: 大鼠术前禁食12 h, 但不禁水, 以2%戊巴比妥钠(每100 g体质量0.35 mL)腹腔注射麻醉后, 无菌条件下剖腹, 提起十二指肠, 以结合式阻血夹夹住肝门部胆胰管, 在近十二指肠胆胰管处用1 mL注射器穿刺, 逆行注射5%牛磺胆酸钠(每100 g体质量0.1 mL), 注射后拔除穿刺针, 以结合式阻血夹夹住近十二指肠处胆胰管, 见胰腺组织充血、水肿, 被膜下有散在出血点, 标志造模成功. 假手术组以同体积生理盐水代替牛磺胆酸钠逆行注射. 术后各组大鼠给予背部皮下注射生理盐水(每100 g体质量2 mL), 并自由饮水. 假手术组与SAP空白对照组于造模后6 h给予生理盐水, EN组与PN组于造模后6 h分别给予EN、PN. 各组大鼠于造模后48 h处死.

1.2.3 喂养途径的建立: (1)EN途径建立: 经胃幽门区, 置入已用生理盐水充盈的输液用连通管, 远端位于空肠屈氏韧带以下5 cm左右, 在胃部荷包缝合固定, 经皮下隧道将硅胶管自左侧腹部引出, 固定于左侧腹部皮肤, 连接于微量输液泵, 并将大鼠放入自制固定器内生活. 假手术组与SAP空白对照组亦采用此方法, 但以生理盐水代替EN制剂; (2)肠外营养途径建立: PN组大鼠在胃幽门区和左侧腹壁制作与EN组相同的创面, 但不置管. 术后放入自制固定器后用75%乙醇擦拭暴露尾静脉, 用已连接于输液用连通管的5.5号儿童头皮针行尾静脉穿刺, 见回血后轻推入少许生理盐水, 并连接于微量输液泵, 穿刺处用医用胶布固定.

1.2.4 营养液配置及给予: (1)肠内营养液(EN)配置: 将125 g百普素用温开水溶解成500 mL的溶液; (2)肠外营养液(TPN)配置: 每100 mL营养液用8.5%乐凡命50 mL, 20%脂肪乳注射液18.8 mL, 50%葡萄糖溶液30 mL及安达美、水乐维他、维他利匹特各0.4 mL配置. 两种营养液每100 mL所含非蛋白热卡及含氮量基本一致; (3)营养液给予: EN组在造模成功后4 h给予2 mL生理盐水冲洗肠管, 后用微量输液泵肠内间歇推注营养液(每次推注5 mL, 速度30 mL/h, 1 d推注7次, 总热卡为35 kcal, 两次推注的时间间隔为2 h). 肠外营养组给予微量输液泵均匀推注营养液(每次推注12 mL, 速度4 mL/h, 1 d推注3次, 总热卡约36 kcal, 两次推注的时间间隔为6 h, 含推注时间3 h). 各组的总液体入量及总热卡量大致相等. 假手术组和SAP空白对照组以生理盐水代替EN制剂, 其给液速度、剂量、频率与EN组相同.

1.2.5 检测指标和检测: (1)血浆指标的检测: 各组大鼠均在造模后48 h心脏穿刺采血后处死. 使用内毒素检测鲎试剂盒, 采用动态浊度法, 对血浆样品进行内毒素检测; 采用黎君友等[18]改良的分光光度法检测血浆中二胺氧化酶(DAO)活性; 使用AU2700全自动生化分析仪(日本奥林巴斯公司)测量血清淀粉酶浓度; (2)病理指标的检测: 各组大鼠切取胰腺及末端回肠, 用生理盐水冲洗后, 经固定、包埋、切片、染色等处理. 胰腺病理学评分按照国际改良的Schmidt标准法联合

■相关报道

近年来研究发现SAP发病后数小时即可出现肠道黏膜屏障功能的损害引起肠源性细菌和内毒素的移位.

■创新盘点
目前尚无SAP起病后6 h即给予肠内营养并观察其对肠道黏膜屏障功能影响的研究.

表 1 胰腺病理评分标准表

组织病变	评分项目和积分				
	0	1	2	3	4
水肿	无	区域性小叶间隔增宽	弥漫性小叶间隔增宽	2+腺泡间隔增宽	3+细胞间隔增宽
坏死	无	腺管周围实质破坏	小叶缺失<20%	小叶缺失20%-50%	小叶缺失>50%
出血	无	胰腺实质出血<20%	实质出血20%-50%	实质出血50%-75%	实质出血>75%
炎细胞浸润	无	白细胞2-10个 /HP	11-20个/HP	21-30个/HP	>30个/HP或出现微脓肿

表 2 各组大鼠血清淀粉酶、内毒素、二胺氧化酶水平 (mean ± SD)

分组	淀粉酶(U/L)	内毒素(EU/mL)	二胺氧化酶(U/mL)
假手术组	2193.33 ± 202.96[d]	0.108 ± 0.025[d]	0.45 ± 0.09[d]
肠内营养组	9428.2 ± 1076.61[b]	0.247 ± 0.069[b]	0.91 ± 0.13[b]
肠外营养组	10533 ± 1669.13[b]	0.333 ± 0.046[bc]	1.17 ± 0.10[bd]
SAP空白对照组	10171 ± 665.77[b]	0.545 ± 0.095[bd]	1.52 ± 0.09[bd]

[b]P<0.01 *vs* 假手术组; [c]P<0.05, [d]P<0.01 *vs* 肠内营养组.

Rongione法[19,20], 制定以下评分标准(表1). 光镜下取3张非连续切片各5个随机视野, 每个视野病理总分为各单项分之和, 每张切片的病理评分为5视野分值的平均数, 三张切片的平均分为该大鼠的最终胰腺病理得分, 同时肉眼观察胰腺脓肿的发生率; 在常规光镜下, 观察末端回肠组织的形态学变化, 并采用目镜测微尺分别测定3张非连续切片各5个随机视野的黏膜厚度及绒毛高度, 3张切片的平均值为该大鼠的最终分值.

统计学处理 采用SPSS16.0统计软件包处理数据. 计量数据采用mean±SD表示, 多样本均数比较采用单因素方差分析, 均数间两两比较, 根据方差齐性分别采用LSD法、Bonferroni法或DunnettT3法、DunnettC法, P<0.05为差异有统计学意义. 多个样本率的两两比较采用卡方检验, P<0.007为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 各组大鼠术后一般情况 建模后, SAP空白对照组、EN组和PN组大鼠均出现精神倦怠、少动、竖毛、泪腺分泌物增多等症状. 假手术组大鼠术后同样出现类似症状, 但程度较轻, 术后6-8 h大鼠活动开始活跃.

2.2 各组大鼠血浆内毒素水平检测值 与假手术组相比, SAP空白对照组、EN组、PN组血浆内毒素水平均明显升高(P<0.01), 与SAP空白对照组相比, 经过营养支持治疗后的PN组与EN组大鼠血浆内毒素水平下降, 差异有统计学意义(P<0.01), 其中EN组内毒素水平下降幅度高于PN组(P<0.05)(表2).

2.3 各组大鼠血浆二胺氧化酶检测值 与假手术组相比, 其余各组血浆二胺氧化酶水平均明显上升(P<0.01). 与SAP空白对照组和PN组比较, EN组大鼠血浆二胺氧化酶水平表达降低(P<0.01)(表2).

2.4 各组大鼠血清淀粉酶检测值 假手术组大鼠血清淀粉酶水平在各组中最低(P<0.01). 经过牛磺胆酸钠造模后, SAP空白对照组、EN组、PN组大鼠血清淀粉酶水平显著高于假手术组(P<0.01), 但SAP空白对照组、EN组、PN组组间未见明显差异(表2).

2.5 各组大鼠胰腺病理学分析 假手术组大鼠胰腺病理切片偶可见局限性小叶间隔增宽, 无坏死、出血及血管周围或小叶内白细胞浸润; 其他各组胰腺病理切片均可见不同程度的上述表现, 并且严重程度在不同组内可有部分交叉. (1) 胰腺病理评分: 与假手术组相比, SAP空白对照组、EN组和PN组的病理评分明显升高, 差异具有统计学意义(P<0.01); 相比于SAP空白对照组, EN和PN组评分均明显降低(P<0.01), 同时EN组评分低于PN组, 差异有统计学意义(P<0.01); (2) 大鼠胰腺脓肿发生率: 假手术组(0/15)、SAP空白对照组(9/15)、EN组(2/15)、PN组(6/15); 与假手术组相比, SAP空白对照组大鼠胰腺脓肿发生率明显上升(P<0.00313), 但SAP空白对照组、EN组及PN组组间比较, 未见明显统计学差异(表

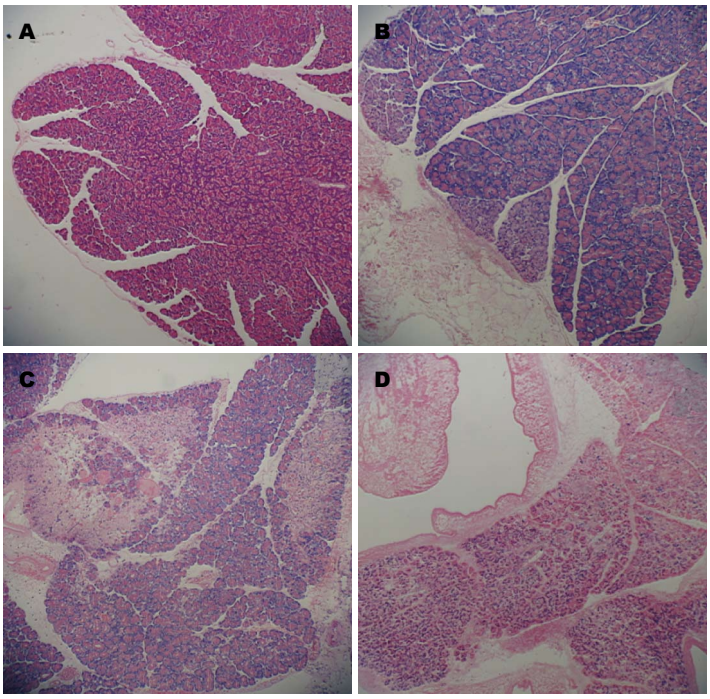


图 1 各组大鼠胰腺病理变化 (HE × 100). A: 假手术组; B: 肠内营养组; C: 肠外营养组; D: SAP空白对照组.

■应用要点

本研究利用动物模型, 有效解决了临床研究中患者起病时间的不准确性、治疗的安全性、患者的依从性等限制因素, 并证实超早期肠内营养能改善SAP大鼠肠道屏障功能, 减轻肠源性内毒素血症, 为进一步的临床研究提供依据.

表 3 各组大鼠胰腺病理评分和胰腺脓肿发生率

分组	Schmidt+Rongione评分法	胰腺脓肿发生率(%)
假手术组	0.70 ± 0.82[d]	0.00
肠内营养组	8.08 ± 1.24[b]	13.33
肠外营养组	10.44 ± 1.01[bd]	40.00
SAP空白对照组	14.50 ± 1.05[bd]	60.00[e]

[b]P<0.05, [e]P<0.00313 *vs* 假手术组; [d]P<0.01 *vs* 肠内营养组.

3, 图1).

2.6 各组大鼠末端回肠病理学分析 (1)与假手术组相比, 其他各组大鼠的肠黏膜均有不同程度的损害, 表现为肠黏膜结构破坏, 淋巴细胞浸润增加等, 其中黏膜厚度和绒毛高度均有明显下降(P<0.05, P<0.01); (2)与SAP空白对照组比较, EN组和PN组黏膜厚度和绒毛高度均优于SAP空白对照组(P<0.01), 但EN组和PN组比较无明显差异(表4, 图2).

3 讨论

SAP是消化系统疾病中常见的需要紧急入院治疗的疾病之一. 该病发病机制复杂, 其中肠道屏障功能障碍作为SAP发生发展的“中心器官”之一, 在SIRS及MODS的演变进展中扮演重要角色. 一系列动物实验显示, SAP发病后3 h即可出现肠上皮细胞凋亡, 6 h肠道通透性开始增高、在起病8-18 h内即有肠道细菌移位、感染[5-7]. 在临床研究中发现, SAP患者的肠道通透性明显高于轻症患者, 特别是合并有MODS或者最终死亡的患者[21]. 因此, 早期干预肠道屏障功能的继续损害, 显得尤为重要.

近年来众多基础实验和临床研究均发现, 早期EN能有效改善肠黏膜屏障功能, 限制肠道细菌移位, 有效减轻SIRS和MODS的发生发展, 从而显著改善预后[8-17]. 但是关于实施早期EN的具体时机国内外学界尚无定论, 鉴于SAP发病后数小时即可能出现肠道屏障功能损害, 故本研究选择SAP超早期(发病后6 h)给予EN, 探讨其对SAP大鼠肠道屏障功能的影响, 为早期EN在SAP中的临床应用提供理论基础和实验依据.

在本试验中我们首先观察到, 与假手术组相比, 各组重度急性胰腺炎大鼠血清淀粉酶水平明显升高, 结合胰腺病理切片, 可以证实SAP大鼠模型制作成功.

其次, 正常运作的肠黏膜屏障可以阻止肠腔

■同行评价
本文立意较新颖, 实验结果可信, 对临床工作有一定参考价值.

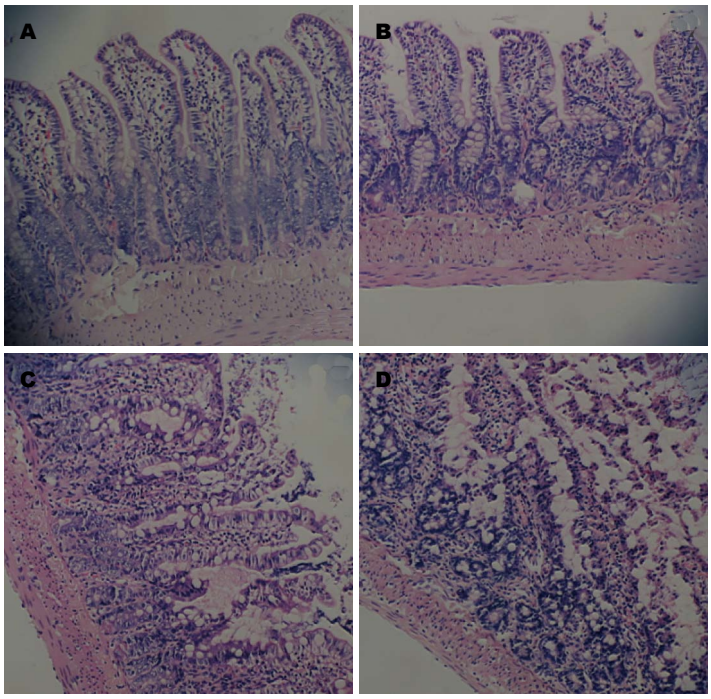


图 2 各组大鼠末端回肠病理变化(HE × 200). A: 假手术组; B: 肠内营养组; C: 肠外营养组; D: SAP空白对照组.

表 4 各组大鼠末端回肠黏膜厚度、绒毛高度(mean ± SD, μm)

分组	黏膜厚度	绒毛高度
假手术组	331.50 ± 19.94[c]	238.50 ± 22.95[d]
肠内营养组	294.79 ± 20.49[a]	194.54 ± 11.96[b]
肠外营养组	306.11 ± 24.34[a]	201.72 ± 10.60[b]
SAP空白对照组	226.67 ± 20.84[ad]	137.33 ± 9.38[bd]

[a]*P*<0.05, [b]*P*<0.01 *vs* 假手术组; [c]*P*<0.05, [d]*P*<0.01 *vs* 肠内营养组.

内有害的物质包括细菌及其内毒素等进入血循环[22,23]. 但是在SAP时, 肠黏膜通透性增加, 大分子的内毒素可以通过门静脉进入全身各组织器官, 参与SIRS、MODS的过程, 而肠源性内毒素血症又进一步增加肠道黏膜通透性, 形成恶性循环[24-26]. 有资料表明, 内毒素在发病早期即可移位至各器官, 在大多数SAP患者外周血中均可以测到内毒素, 且疾病严重程度与内毒素水平呈正相关[27,28]. 因此内毒素水平可作为评价SAP肠道屏障功能和疾病预后的有价值的指标. 本研究血浆内毒素水平检测显示, 各组大鼠血浆内毒素水平均较假手术组有明显上升, 故初步考虑SAP已经导致肠道黏膜通透性增加, 而组间比较发现, EN组大鼠内毒素水平最低, 从而推测EN组大鼠肠道屏障损害最小, 说明超早期EN可减少内毒素的吸收.

DAO存在于人类和所有哺乳动物小肠绒毛上皮细胞胞浆中, 具有高特异性、高活性、高含量的特点. 当肠屏障功能障碍时, 绒毛上皮细胞破坏, 该酶释放入血, 导致血浆浓度增高, 因其在外周血中活性稳定, 故可通过测定其在外周血中的变化, 评估肠道屏障破坏程度[29]. 通过检测血浆DAO, 我们发现, 与假手术组相比较, 其他各组大鼠血浆DAO浓度明显增加. 在SAP空白对照组、EN组和PN组的比较中, SAP空白对照组大鼠血DAO水平较EN组和PN组增高, 说明该组大鼠末端回肠绒毛上皮细胞破坏更加严重. EN组与PN组相比, 血DAO水平下降, 提示SAP发病后6 h给予EN能部分改善SAP重创下的肠道屏障. PN组与SAP空白对照组相比, 血中DAO水平亦低于后者, 提示在SAP高代谢的状态下, 及时给予营养支持的重要性, 结合三组实验结果, 可以推测在SAP治疗过程中, 营养支持及其途径的选择均是影响SAP预后的重要因素.

上述提及, 肠道是SAP发生发展的“中心器官”之一. 有研究发现, 多数的胰腺及其周围组织感染是由肠源性菌群移位引起[30,31]. 我们在观察SAP空白对照组、EN组、PN组大鼠胰腺组织时发现: SAP空白对照组中, 出现胰腺脓肿的大鼠只数明显多于EN组和PN组, 虽三组组间胰腺脓肿的发生率未见明显差异, 但根据胰腺脓肿发生的趋势, 结合本实验中所观察到的末端回肠组织病理学变化情况, 我们考虑SAP大鼠在发病后48 h内可能就有细菌移位至胰腺, 并且肠道屏障功能的保存程度与胰腺感染的严重度呈一定的相关性.

总之, 超早期EN可能通过改善肠黏膜屏障功能, 减少肠源性内毒素移位, 从而减轻SIRS及MODS发生发展, 在动物实验中体现了其有效性和安全性, 为早期EN在SAP中的临床应用提供理论基础和实验依据.

4 参考文献

1 中华医学会消化病分会胰腺疾病学组. 中国急性胰腺炎诊治指南(2013, 上海). 中华消化杂志 2013; 23: 217-222

2 Ammori BJ. Role of the gut in the course of severe acute pancreatitis. *Pancreas* 2003; 26: 122-129 [PMID: 12604908 DOI: 10.1097/00006676-200303000-00006]

3 Gloor B, Müller CA, Worni M, Martignoni ME, Uhl W, Büchler MW. Late mortality in patients with severe acute pancreatitis. *Br J Surg* 2001; 88: 975-979 [PMID: 11442530 DOI: 10.1046/j.0007-1323.2001.01813.x]

4 Ogawa M. Acute pancreatitis and cytokines: "second attack" by septic complication leads to organ failure. *Pancreas* 1998; 16: 312-315 [PMID: 9548672]

5 王兴鹏, 王冰娴, 吴恺, 徐选福. 细胞凋亡在急性坏死型胰腺炎早期肠粘膜上皮细胞死亡中的作用. 中华消化杂志 2001; 21: 267-270

6 Yasuda T, Takeyama Y, Ueda T, Shinzeki M, Sawa H, Nakajima T, Kuroda Y. Breakdown of intestinal mucosa via accelerated apoptosis increases intestinal permeability in experimental severe acute pancreatitis. *J Surg Res* 2006; 135: 18-26 [PMID: 16603187 DOI: 10.1016/j.jss.2006.02.050]

7 Schwarz M, Thomsen J, Meyer H, Büchler MW, Beger HG. Frequency and time course of pancreatic and extrapancreatic bacterial infection in experimental acute pancreatitis in rats. *Surgery* 2000; 127: 427-432 [PMID: 10776434 DOI: 10.1067/msy.2000.104116]

8 秦环龙, 苏振东, 高琦, 林擎天. 早期肠内营养支持对犬重症急性胰腺炎肠道屏障功能的影响. 肠外与肠内营养 2002; 9: 31-33

9 陈洁, 王兴鹏, 刘丕, 吴恺, 于晓峰, 王根生. 持续性早期肠内营养对急性坏死型胰腺炎犬全身炎症反应的影响. 中华急诊医学杂志 2005; 14: 717-721

10 冯茂辉, 薛新波, 朱彤, 夏穗生. 早期肠内营养对急性胰腺炎的肠源性细菌移位及免疫应答功能的影响. 武汉大学学报医学版 2004; 25: 51-53

11 Kotani J, Usami M, Nomura H, Iso A, Kasahara H, Kuroda Y, Oyanagi H, Saitoh Y. Enteral nutrition prevents bacterial translocation but does not improve survival during acute pancreatitis. *Arch Surg* 1999; 134: 287-292 [PMID: 10088570 DOI: 10.1001/archsurg.134.3.287]

12 Wang G, Sun B, Gao Y, Meng QH, Jiang HC. The effect of emodin-assisted early enteral nutrition on severe acute pancreatitis and secondary hepatic injury. *Mediators Inflamm* 2007; 2007: 29638 [PMID: 18288270 DOI: 10.1155/2007/29638]

13 Omura K, Hirano K, Kanehira E, Kaito K, Tamura M, Nishida S, Kawakami K, Watanabe Y. Small amount of low-residue diet with parenteral nutrition can prevent decreases in intestinal mucosal integrity. *Ann Surg* 2000; 231: 112-118 [PMID: 10636110 DOI: 10.1097/00000658-200001000-00016]

14 Windsor AC, Kanwar S, Li AG, Barnes E, Guthrie JA, Spark JI, Welsh F, Guillou PJ, Reynolds JV. Compared with parenteral nutrition, enteral feeding attenuates the acute phase response and improves disease severity in acute pancreatitis. *Gut* 1998; 42: 431-435 [PMID: 9577354 DOI: 10.1136/gut.42.3.431]

15 Marik PE, Zaloga GP. Meta-analysis of parenteral nutrition versus enteral nutrition in patients with acute pancreatitis. *BMJ* 2004; 328: 1407 [PMID: 15175229 DOI: 10.1136/bmj.38118.593900.55]

16 Petrov MS, Pylypchuk RD, Uchugina AF. A systematic review on the timing of artificial nutrition in acute pancreatitis. *Br J Nutr* 2009; 101: 787-793 [PMID: 19017421 DOI: 10.1017/S0007114508123443]

17 Heyland DK, Dhaliwal R, Drover JW, Gramlich L, Dodek P. Canadian clinical practice guidelines for nutrition support in mechanically ventilated, critically ill adult patients. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 2003; 27: 355-373 [PMID: 12971736]

18 黎君友, 于燕, 郝军, 晋桦, 许惠君. 分光光度法测定血和小肠组织二胺氧化酶活性. 氨基酸和生物资源 1996; 18: 28-30

19 Rongione AJ, Kusske AM, Kwan K, Ashley SW, Reber HA, McFadden DW. Interleukin 10 reduces the severity of acute pancreatitis in rats. *Gastroenterology* 1997; 112: 960-967 [PMID: 9041259 DOI: 10.1053/gast.1997.v112.pm9041259]

20 Schmidt J, Rattner DW, Lewandrowski K, Compton CC, Mandavilli U, Knoefel WT, Warshaw AL. A better model of acute pancreatitis for evaluating therapy. *Ann Surg* 1992; 215: 44-56 [PMID: 1731649]

21 Ammori BJ, Leeder PC, King RF, Barclay GR, Martin IG, Larvin M, McMahon MJ. Early increase in intestinal permeability in patients with severe acute pancreatitis: correlation with endotoxemia, organ failure, and mortality. *J Gastrointest Surg* 1999; 3: 252-262 [PMID: 10481118 DOI: 10.1016/S1091-255X(99)80067-5]

22 Wischmeyer PE. Glutamine: role in gut protection in critical illness. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2006; 9: 607-612 [PMID: 16912558 DOI: 10.1097/01.mco.0000241672.09676.03]

23 MacFie J. Enteral versus parenteral nutrition: the significance of bacterial translocation and gut-barrier function. *Nutrition* 2000; 16: 606-611 [PMID: 10906570 DOI: 10.1016/S0899-9007(00)00249-5]

24 杨永久, 高乃荣. 内源性一氧化氮对急性坏死性胰腺炎大鼠肠黏膜通透性的影响. 世界华人消化杂志 2005; 13: 389-391

25 王代宏, 张训臣. 重症急性胰腺炎时细胞因子与肠源性细菌和内毒素移位的实验研究. 中国医师杂志 2004; 6: 1051-1054

26 张喜平, 张宇. 急性胰腺炎肠道屏障损害机制的研究进展. 世界华人消化杂志 2006; 14: 417-421

27 Penalva JC, Martínez J, Laveda R, Esteban A, Muñoz C, Sáez J, Such J, Navarro S, Feu F, Sánchez-Payá J, Pérez-Mateo M. A study of intestinal permeability in relation to the inflammatory response and plasma endocab IgM levels in patients with acute pancreatitis. *J Clin Gastroenterol* 2004; 38: 512-517 [PMID: 15220687]

28 Vasilescu C, Herlea V, Buttenschoen K, Beger HG. Endotoxin translocation in two models of experimental acute pancreatitis. *J Cell Mol Med* 2003; 7: 417-424 [PMID: 14754510 DOI: 10.111/j.1582-4934.2003.tb00244.x]

29 吴承堂, 黎沾良. 二胺氧化酶在急性坏死性胰腺炎肠道损伤中的作用. 世界华人消化杂志 1999; 7: 64-65

30 Nettelbladt CG, Katouli M, Bark T, Svenberg T,

Möllby R, Ljungqvist O. Evidence of bacterial translocation in fatal hemorrhagic pancreatitis. *J Trauma* 2000; 48: 314-315 [PMID: 10697094 DOI: 1079-6061/00/4802-0314]

31 张泰昌. 急性胰腺炎继发细菌性感染的临床特点及治疗. 国外医学: 消化系疾病分册 1993; 13: 5-8

编辑 田滢 电编 鲁亚静

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

• 消息 •

中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》影响因子0.873

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

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

世界华人消化杂志 2014年5月8日; 22(13): 1793-1800
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

PKCα–Annexin A2–S100A10在胃癌组织中的表达及意义

赵 强, 张志伟, 刘重元, 肖 娟, 李增波, 伍石华, 吴勇军, 杨代水, 权里平, 雷明生

赵强, 南华大学附属第一医院病理科 湖南省衡阳市 421001
赵强, 张志伟, 湖南省胃癌研究中心 湖南省衡阳市 421001
张志伟, 刘重元, 伍石华, 南华大学医学院肿瘤研究所 湖南省衡阳市 421001
张志伟, 刘重元, 肿瘤细胞与分子病理学湖南省高校重点实验室 湖南省衡阳市 421001
肖娟, 南华大学附属第二医院耳鼻喉科 湖南省衡阳市 421001
李增波, 南华大学附属第二医院儿科 湖南省衡阳市 421001
伍石华, 邵阳医学高等专科学校附属医院病理科 湖南省邵阳市 422000
吴勇军, 湘潭市第一人民医院病理科 湖南省湘潭市 411101
杨代水, 权里平, 雷明生, 南华大学医学院临床医学卓越医师班 湖南省衡阳市 421001
赵强, 副主任医师, 主要从事临床肿瘤的病理诊断.
国家自然科学基金资助项目, No. 81172575
湖南省自然科学衡阳联合基金资助项目, No. 12JJ9033
湖南省自然科学基金资助项目, Nos. 04JJ3059, 12JJ3102, 13JJ3079
湖南省科技厅基金资助项目, Nos. 2011SK3089, 2013SK3118
湖南省高校创新平台基金资助项目, Nos. 10K052, 12K094, 13K082, 13K083
湖南省教育厅课题基金资助项目, Nos. 11C1112, 12C0340
湖南省研究生科研创新基金资助项目, No. CX2010B380
衡阳市科技局基金资助项目, Nos. 2013KJ02, 2013KJ12, 2013KJ28
邵阳市科技局重点基金资助项目, No. 2013SK13
湖南省重点学科建设基金资助项目, No. 2011-76
作者贡献分布: 此课题由张志伟设计; 实验操作由雷明生、杨代水、权里平及舒友成完成; 实验标本来源由赵强与吴勇军提供; 数据分析由肖娟与李增波完成; 本论文撰写由赵强、刘重元及伍石华完成.
通讯作者: 张志伟, 副教授, 421001, 湖南省衡阳市常胜西路28号, 南华大学医学院肿瘤研究所. nhdxzzw@qq.com
电话: 0734-8281510
收稿日期: 2014-02-17 修回日期: 2014-03-24
接受日期: 2014-03-28 在线出版日期: 2014-05-08

Significance of expression of PKCα, Annexin A2 and S100A10 proteins in gastric cancer

Qiang Zhao, Zhi-Wei Zhang, Chong-Yuan Liu, Juan Xiao, Zeng-Bo Li, Shi-Hua Wu, Yong-Jun Wu, Dai-Shui Yang, Li-Ping Quan, Min-Sheng Lei

Qiang Zhao, Department of Pathology, the First Affiliated Hospital of University of South China, Center for Gastric Cancer Research of Hunan Province, Hengyang 421001, Hunan Province, China
Qiang Zhao, Zhi-Wei Zhang, Center for Gastric Cancer Research of Hunan Province, Hengyang 421001, Hunan Province, China
Zhi-Wei Zhang, Chong-Yuan Liu, Shi-Hua Wu, Cancer Research Institute, University of Southern China, Hengyang 421001, Hunan Province, China
Zhi-Wei Zhang, Chong-Yuan Liu, University Key Laboratory of Cancer Cellular and Molecular Pathology in Hunan Province, Hengyang 421001, Hunan Province, China
Juan Xiao, Department of Otorhinolaryngology, the Second Affiliated Hospital of University of South China, Hengyang, 421001, Hunan Province, China
Zeng-Bo Li, Department of Pediatrics, the Second Affiliated Hospital of University of South China, Hengyang, Hunan 421001, Hunan Province, China
Shi-Hua Wu, Department of Pathology, Shaoyang Medical School, Shaoyang 422000, Hunan Province, China
Yong-Jun Wu, Department of Pathology, Xiangtan City First People's Hospital, Xiangtan 411101, Hunan Province, China
Dai-Shui Yang, Li-Ping Quan, Min-Sheng Lei, Clinical Medicine Excellent Undergraduate of Medical College, University of Southern China, Hengyang 421001, Hunan Province, China
Supported by: the National Natural Science Foundation of China, No. 81172575; the Hunan Provincial Natural Science Committee and Hengyang City Government Unification Foundation of China, No. 12JJ9033; Hunan Provincial Natural Science Foundation of China, Nos. 04JJ3059, 12JJ3102 and 13JJ3079; Hunan Provincial Science and Technology Department Foundation of China, Nos. 2011SK3089 and 2013SK3118; Hunan Provincial Groundbreaking Platform Open Fund of University of China, Nos. 10K052, 12K094, 13K082 and 13K083; Hunan Provincial Education Department Foundation of China, Nos. 11C1112 and 12C0340; Hunan Provincial Postgraduate Groundbreaking Scientific Research Foundation of China, No. CX2010B380; Hunan Provincial Hengyang Science and Technology Department Foundation of China, Nos. 2013KJ02, 2013KJ12 and 2013KJ28; Hunan Provincial Shaoyang Science and Technology Department Key Foundation of China, Nos.2013SK13; Construction Program of the Key Discipline in Hunan Province, No. 2011-76
Correspondence to: Zhi-Wei Zhang, Associate Professor, Cancer Research Institute of Medical College, University of Southern China, 28 Changsheng West Road, Hengyang 421001, Hunan Province, China. nhdxzzw@qq.com
Received: 2014-02-17 Revised: 2014-03-24
Accepted: 2014-03-28 Published online: 2014-05-08

Abstract

AIM: To investigate the clinical significance of expression of protein kinase C (PKC), Annexin A2 and S100A10 proteins in gastric cancer and provide valuable data for finding diagnosis related proteins in gastric cancer.

METHODS: The expression of PKCα, Annexin A2 and S100A10 proteins was detected by Western blot in normal gastric mucosa and gastric cancer tissues. Moreover, their expression was analyzed by immunohistochemistry in a tissue array containing normal gastric mucosa and gastric cancer tissues. The clinicopathologic signifi-

■背景资料
胃癌发生与发展过程中存在众多蛋白质的表达异常, 重要信号通路相关蛋白在肿瘤中常存在表达的协调性, 他们异常表达与胃癌组织学类型、分化程度、转移、临床治疗及预后相关.

■同行评议者
张小晋, 主任医师, 北京积水潭医院

■研发前沿
了解胃癌组织中同一信号通路相关蛋白PKCα、Annexin A2与S100A10的表达情况, 可为胃癌的早期诊断、组织学分型及预后提供实验依据.

cance of their expression was evaluated.

RESULTS: Western blot analysis showed that the expression of PKCα, Annexin A2 and S100A10 proteins was significantly higher in gastric cancer tissue than in normal gastric mucosa tissue ($P < 0.01$ for all). Immunohistochemistry analysis showed that the positive expression rates of PKCα, Annexin A2 and S100A10 proteins were significantly lower in normal gastric mucosa tissue than in gastric cancer tissue [8.82% (3/34) *vs* 76.54% (62/81), 5.88% (2/34) *vs* 79.01% (64/81), 2.94% (1/34) *vs* 59.26% (48/81); $P < 0.01$ for all].

CONCLUSION: The expression of PKCα, Annexin A2 and S100A10 proteins is up-regulated in gastric cancer tissue compared with normal gastric mucosa tissue and may be related with the occurrence and differentiation degree of gastric cancer.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Gastric cancer; PKCα protein; Annexin A2 protein; S100A10 protein; Clinical significance

Zhao Q, Zhang ZW, Liu CY, Xiao J, Li ZB, Wu SH, Wu YJ, Yang DS, Quan LP, Lei MS. Significance of expression of PKCα, Annexin A2 and S100A10 proteins in gastric cancer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(13): 1793-1800 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1793.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1793

摘要

目的: 观察蛋白激酶Cα(protein kinase Cα, PKCα)、Annexin A2和S100A10蛋白在胃癌组织中的表达及意义, 为获取胃癌诊断相关的蛋白分子提供实验依据.

方法: Western blot分析PKCα、Annexin A2和S100A10蛋白在正常胃黏膜与胃癌组织中的表达情况; 免疫组织化学染色观察组织芯片中三者的表达情况, 并分析其临床病理学意义.

结果: (1)Western blot检测结果显示, PKCα、Annexin A2和S100A10蛋白在胃癌组织中表达较正常胃黏膜组织中高($P<0.01$); (2)免疫组织化学染色结果显示, PKCα蛋白在正常胃黏膜及胃癌组织中的阳性表达率分别为8.82%(3/34)和76.54%(62/81); Annexin A2蛋白在正常胃黏膜及胃癌组织中的阳性表达率分别为5.88%(2/34)和79.01%(64/81); S100A10蛋白在正常胃黏膜及胃癌组织中的阳性表达率分别为2.94%(1/34)、59.26%(48/81); (3)PKCα、Annexin A2和S100A10蛋白在胃癌组织中的阳性表达率较正常胃黏膜组织高($P<0.01$).

结论: PKCα、Annexin A2和S100A10蛋白在胃癌组织中表达较正常胃黏膜组织中表达高, 其表达与胃癌的发生及分化程度有关.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 胃癌; PKCα蛋白; Annexin A2蛋白; S100A10蛋白; 临床意义

核心提示: 早期诊断对提高胃癌患者5年生存率具有十分重要的影响, 获得早期诊断的特异性分子标志则是早期确诊的关键因素. 蛋白激酶Cα(protein kinase Cα)、Annexin A2与S100A10相互关联蛋白的检测为早期诊断胃癌提供了新的思路.

赵强, 张志伟, 刘重元, 肖娟, 李增波, 伍石华, 吴勇军, 杨代水, 权里平, 雷明生. PKCα-Annexin A2-S100A10在胃癌组织中的表达及意义. 世界华人消化杂志 2014; 22(13): 1793-1800 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1793.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1793

0 引言

胃癌是我国常见的恶性肿瘤之一, 是当今严重威胁人们健康与生命的重大疾病. 胃癌的发生与众多癌基因和抑癌基因等的异常表达有关. 胃癌的组织学类型、分化程度及耐药等均与不同蛋白质表达存在密切的关系[1-4]. 因此, 了解相关蛋白质在胃癌中的表达情况, 对胃癌的早期诊断、临床治疗、评估和预测患者预后, 均具有十分重要的临床意义与应用价值. 我们选取课题组前期通过蛋白质组学方法筛选的胃癌相关蛋白质蛋白激酶Cα(protein kinase Cα, PKCα)、Annexin A2和S100A10[5], 检测三者在胃癌组织中的表达情况, 以期为胃癌诊断相关蛋白的发现提供有价值的实验资料.

1 材料和方法

1.1 材料 收集2011-01/2011-12南华大学附属第一医院胃癌手术切除标本5例(癌旁10 cm以上胃黏膜组织作为正常对照), 其中男性3例, 女性2例; 年龄34-56岁, 平均年龄42.6岁. 组织芯片由湘潭市第一人民医院吴勇军主任医师赠送. 组

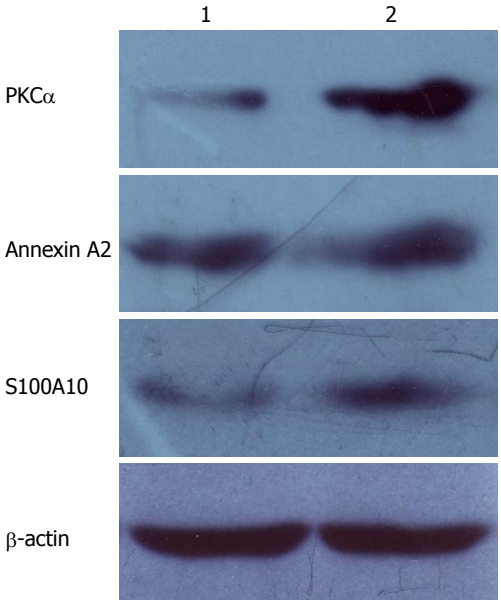


图 1 Western blot检测PKCα、Annexin A2和S100A10蛋白的表达. 1: 正常胃黏膜; 2: 胃癌组织. PKCα: 蛋白激酶Cα.

织芯片中收集包括2003-2009年湘潭市第一人民医院经病理确诊的胃癌手术标本81例, 其中女性25例, 男性56例, 平均年龄55.35岁(27-81岁), 肿块体积32例≤3.0 cm, 49例＞3.0 cm. 81例胃癌组织中病理诊断为高分化腺癌患者5例, 中分化腺癌患者17例, 低分化腺癌患者59例. 按照TNM分期Ⅰ-Ⅱ期者32例, Ⅲ-Ⅳ期者49例. 另外, 选取34例距癌灶10 cm以上正常胃黏膜作为对照组织. 上述所有收集的病例均经病理HE切片确诊, 所有胃癌患者手术前均未进行放疗或化疗. 鼠抗人PKCα、Annexin A2和S100A10蛋白的抗体为Santa Cruz公司产品, 购自湖南科泰生物有限公司. SP免疫组织化学检测试剂盒购自福建迈新生物技术有限公司.

1.2 方法

1.2.1 Western blot检测蛋白质的表达: 将收集组织加入组织裂解液后, 在匀浆器中研磨, 制备总蛋白液, 测定浓度后, 以各泳道50 μg的总蛋白进行10%SDS不连续聚丙烯酰胺凝胶电泳, 转膜、封闭, 一抗(1∶1000)及抗β-actin单体(1∶2000)4 ℃孵育过夜, 洗膜后, HRP标记的羊抗兔二抗(1∶1000)孵育、洗膜、发光、曝光、显影、定影以及分析结果.

1.2.2 免疫组织化学染色蛋白质的表达: 操作按照超敏SP试剂盒所附说明书进行, 用已知阳性片作阳性对照(福建迈新生物有限公司提供), 同时用PBS替代第一抗体作阴性对照, 实验步骤如下: (l)将制备好的石蜡切片58 ℃隔水式恒温培养箱中过夜; (2)二甲苯脱蜡2次后水化, PBS洗片3次, 每次3 min; (3)将切片浸入盛有枸橼酸盐缓冲液容器中微波炉加热进行抗原修复; (4)加3%过氧化物酶阻断液, 37 ℃ 15 min, PBS洗片3次, 每次3 min; (5)加足量非免疫性动物血清, 37 ℃ 10 min, 阻断非特异性结合位点; (6)分别滴加一抗, 置湿盒中4 ℃冰箱过夜; (7)滴加生物素标记的二抗, 37 ℃ 15 min; (8)滴加链霉菌抗生物素蛋白-过氧化物酶溶液, 37 ℃ 15 min; (9)DAB显色、苏木素复染、返蓝、脱水、透明、封片、显微镜观察、照相(结果阳性部位呈棕黄色).

1.2.3 免疫组织化学染色结果判定: 组织芯片中黄色、棕色、棕褐色部位为蛋白阳性表达. 选取5个不重复视野, 记数组织中细胞总数与阳性表达细胞数, 计算阳性表达率. 蛋白表达结果的判定, 按染色强度与阳性细胞数占细胞总数的百分比综合计分. 染色强度: 无色者为1分, 黄色者为2分, 棕褐色者为3分; 阳性细胞数: ≤总数的10%者为1分; 11%-50%者为2分; >50%者为3分. 将染色强度分值与阳性细胞数分值相乘, 1分者为阴性“-”; 2-4分者为阳性“+”, ≥6分者为强阳性“+++”, 其中阳性细胞数>10%者为阳性表达.

统计学处理 采用SPSS17.0统计软件对所有数据进行统计处理和分析. PKCα、Annexin A2和S100A10蛋白的表达与不同胃组织的临床资料分析时, 选用χ^2检验和方差分析, 组间的相关性分析用Spearman等级相关进行比较, P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 Western blot检测PKCα、Annexin A2和S100A10蛋白的表达 将提取的正常胃黏膜与胃癌组织总蛋白分别混合与混匀后, 通过Western blot检测PKCα、Annexin A2和S100A10蛋白在正常胃黏膜与胃癌组织中的表达. 结果显示, 在胃癌组织中PKCα、Annexin A2和S100A10蛋白表达较正常胃黏膜组织高(P<0.01)(图1).

2.2 免疫组织化学染色检测胃癌组织中PKCα蛋白的表达 PKCα蛋白表达主要位于细胞浆(图2), PKCα蛋白在正常胃黏膜及胃癌组织中的表达率分别为8.82%(3/34)和76.54%(62/81); PKCα蛋白在胃癌组织中阳性表达率较正常胃黏膜组织高(P<0.01)(表1). PKCα蛋白在胃高、中、低分腺癌中的表达率分别为60%(3/5)、70.59%(12/17)和79.66%(47/59). 结果显示, 随着

■创新盘点
本文通过选取课题组前期筛选的胃癌组织差异表达蛋白质PKCα、Annexin A2与S100A10, 观察相互作用蛋白间的表达情况, 分析他们表达的意义, 为胃癌的早期诊断, 疗效及预后评估等提供新的检测方法.

■应用要点
分析PKCα、Annexin A2与S100A10蛋白在胃癌组织中的表达及意义，为胃癌诊断相关蛋白的发现提供有价值的实验资料.

表 1 胃癌组织中PKCα蛋白的阳性表达率

分组	*n*	PKCα蛋白表达		阳性率(%)	χ^2(*P*)值
		–	(+)–(+++)		
正常胃黏膜	34	31	3	8.82	
胃癌组织					
高分化腺癌	5	2	3	60.00	5.28(0.01 < *P* < 0.05; WDAC *vs* N)
中分化腺癌	17	5	12	70.59	20.83, 3.28(*P* < 0.01; MDAC *vs* N and WDAC)
低分化腺癌	59	12	47	79.66	43.54, 4.53, 16.29(*P* < 0.01; PDAC *vs* N, WDAC and MDAC)

N: 正常胃黏膜; WDAC: 高分化腺癌; MDAC: 中分化腺癌; PDAC: 低分化腺癌. PKCα: 蛋白激酶Cα.

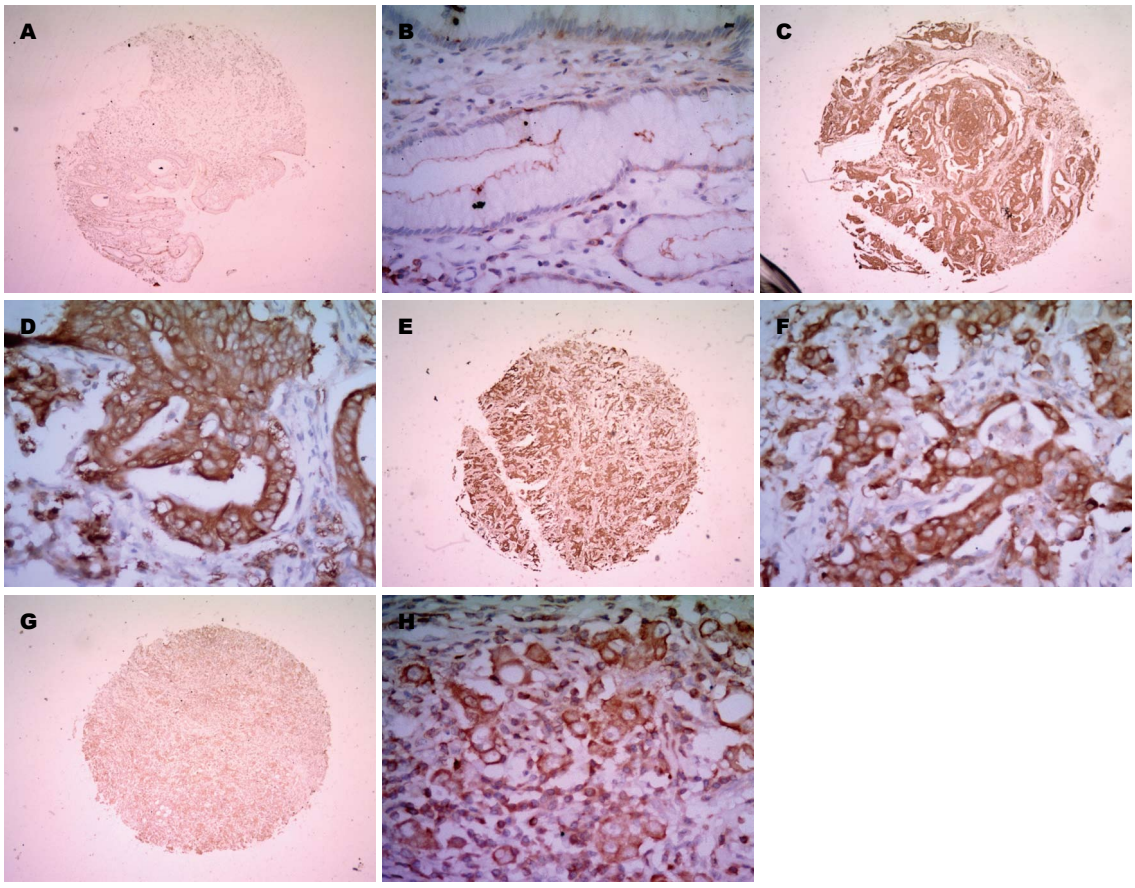


图 2 免疫组织化学染色观察胃癌组织中PKCα蛋白的表达(SP法). A: 正常胃黏膜(×40); B: 正常胃黏膜(×400); C: 高分化腺癌(×40); D: 高分化腺癌(×400); E: 中分化腺癌(×40); F: 中分化腺癌(×400); G: 低分化腺癌(×40); H: 低分化腺癌(×400).

胃癌分化程度的降低, PKCα蛋白的表达逐渐升高(*P*<0.01)(表1).

2.3 免疫组织化学染色检测胃癌组织中Annexin A2蛋白的表达 Annexin A2蛋白表达主要位于细胞浆(图3), Annexin A2蛋白在正常胃黏膜及胃癌组织中的表达率分别为5.88%(2/34)和79.01%(64/81); Annexin A2蛋白在胃癌组织中阳性表达率较正常胃黏膜组织高(*P*<0.01)(表2). Annexin A2蛋白在胃高、中、低分腺癌中的表达率分别为60%(3/5)、76.47%(13/17)和81.36%(48/59). 结果显示, 随着胃癌分化程度的降低, Annexin A2蛋白的表达逐渐升高(*P*<0.01)(表2).

2.4 免疫组织化学染色检测胃癌组织中S100A10蛋白的表达 S100A10蛋白表达主要位于细胞浆(图4), S100A10蛋白在正常胃黏膜及胃癌组织中的表达率分别为2.94%(1/34)和59.26%(48/81); S100A10蛋白在胃癌组织中阳性表达率较正常胃黏膜组织高(*P*<0.01)(表3). S100A10蛋白在胃高、中、低分腺癌中的表达率分别为

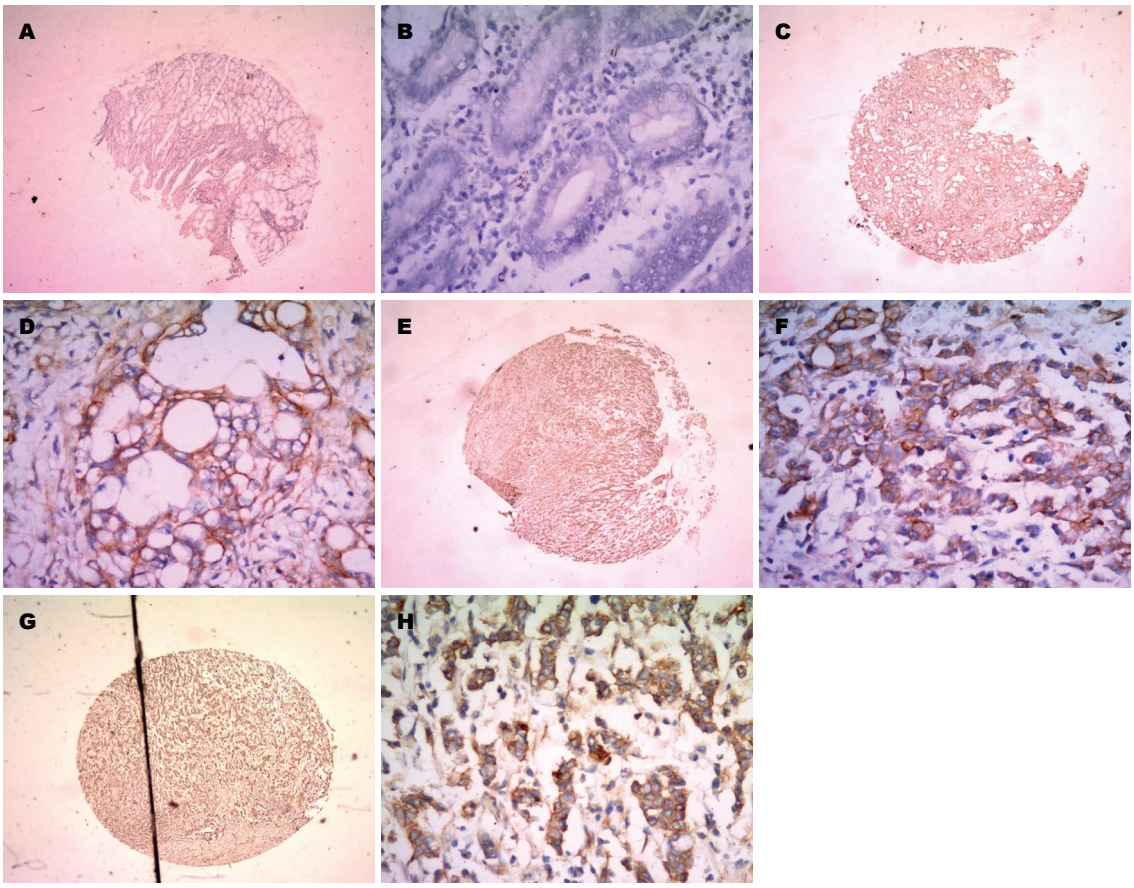


图 3 免疫组织化学染色观察胃癌组织中Annexin A2蛋白的表达(SP法). A: 正常胃黏膜(×40); B: 正常胃黏膜(×400); C: 高分化腺癌(×40); D: 高分化腺癌(×400); E: 中分化腺癌(×40); F: 中分化腺癌(×400); G: 低分化腺癌(×40); H: 低分化腺癌(×400).

表 2 胃癌组织中Annexin A2蛋白的阳性表达率

分组	*n*	Annexin A2蛋白表达		阳性率(%)	χ^2(*P*)值
		–	(+)–(+++)		
正常胃黏膜	34	32	2	5.88	
胃癌组织					
高分化腺癌	5	2	3	60.00	13.88(*P* < 0.01; WDAC *vs* N)
中分化腺癌	17	4	13	76.47	27.2, 3.02(*P* < 0.01; MDAC *vs* N and WDAC)
低分化腺癌	59	11	48	81.36	49.43, 4.82, 8.31(*P* < 0.01; PDAC *vs* N, WDAC and MDAC)

N: 正常胃黏膜; WDAC: 高分化腺癌; MDAC: 中分化腺癌; PDAC: 低分化腺癌.

40%(2/5)、52.94%(9/17)和62.71%(37/59). 结果显示, 随着胃癌分化程度的降低, S100A10蛋白的表达逐渐升高(*P*<0.01)(表3).

3 讨论

近年来, 由于蛋白质组学技术的不断完善, 许多科学家试图寻找胃癌相关的诊断标志物, 获取大量的蛋白信息, 但常存在各种误差, 如仪器与人为误差等, 可影响结果的准确性与真实性[6,7]. 因此, 被筛选的蛋白质的临床应用仍需后续的大量研究证实与完善. PKC、Annexin A2和S100A10分别为同一信号通路上下游蛋白分子, 相互影响表达与蛋白活性.

PKC作为信号分子, 是一类依赖于Ca^{2+}、磷脂(phospholipid, PS)和二酰甘油(diacylglycerol, DAG)激活的Ser/Thr蛋白激酶家族, 在跨膜信号转导中起作重要作用[8-11]. 有研究发现, 整合素(integrin)的联合与PKC的激活对于结肠癌细胞

■同行评论
本文设计较合理, 结果可信, 具有一定指导意义.

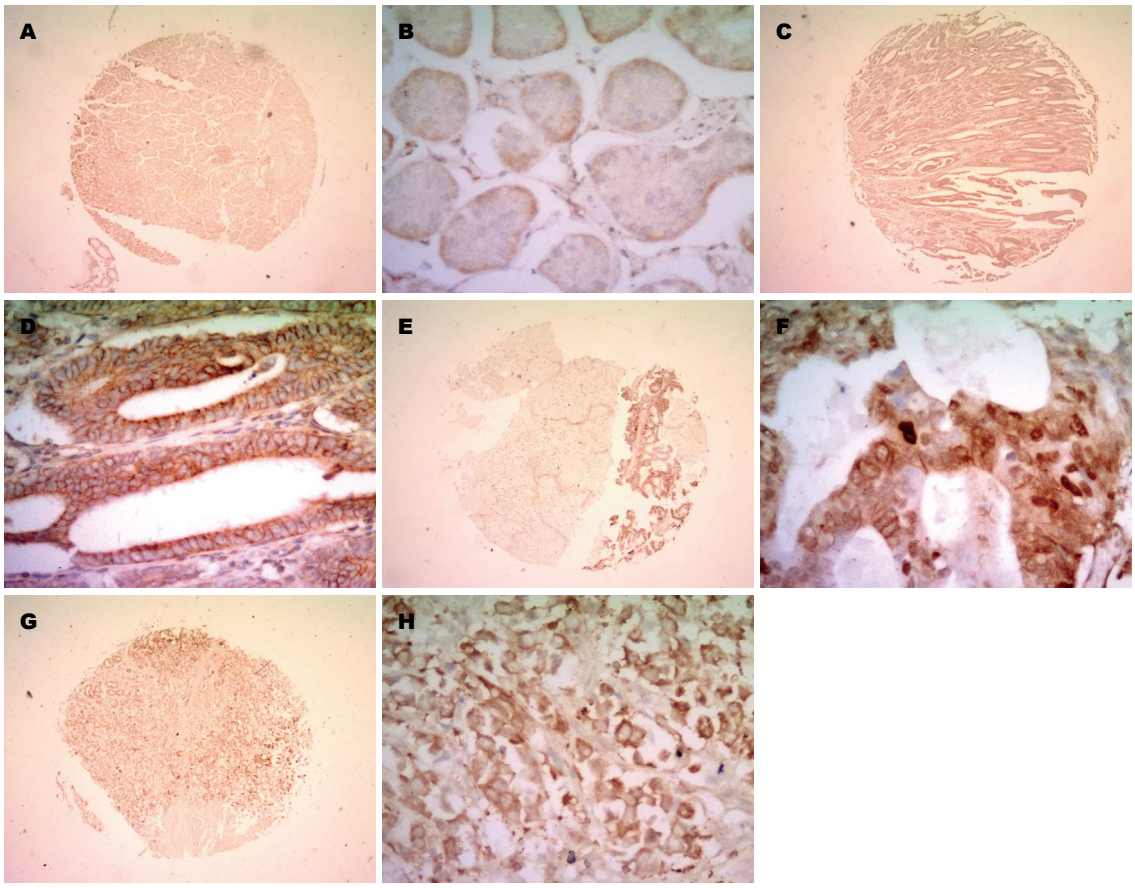


图 4 免疫组织化学染色观察胃癌组织中S100A10蛋白的表达(SP法). A: 正常胃黏膜(×40); B: 正常胃黏膜(×400); C: 高分化腺癌(×40); D: 高分化腺癌(×400); E: 中分化腺癌(×40); F: 中分化腺癌(×400); G: 低分化腺癌(×40); H: 低分化腺癌(×400).

表 3 胃癌组织中S100A10蛋白的阳性表达率

分组	*n*	S100A10蛋白表达		阳性率(%)	χ^2/*P*值
		–	(+)–(+++)		
正常胃黏膜	34	33	1	2.94	
胃癌组织					
高分化腺癌	5	3	2	40.00	4.02(0.01<*P*<0.05; WDAC *vs* N)
中分化腺癌	17	8	9	52.94	14.94, 3.42(*P*<0.01; MDAC *vs* N and WDAC)
低分化腺癌	59	22	37	62.71	31.89, 4.13, 5.14(*P*<0.01; PDAC *vs* NAHT, WDAC and MDAC)

N: 正常胃黏膜; WDAC: 高分化腺癌; MDAC: 中分化腺癌; PDAC: 低分化腺癌.

的转移是必不可少的, 用PKC的激活剂PMA处理结肠癌细胞株HT29-D4后, 诱导PKC蛋白表达, 细胞的迁移与侵袭能力增加[12]. 采用特异性抑制剂Safingol抑制PKCα活性后, 可抑制立早基因c-fos和c-jun的表达, 而应用特异性激活剂PMA增加PKC活性后, 同时使两者的表达增加, 且与膀胱癌细胞的增殖能力相关[13]. 本研究发现PKCα蛋白在胃癌组织中表达较正常胃黏膜组织高, PKCα蛋白的表达随着胃癌分化程度的降低, PKCα蛋白的表达逐渐升高. 我们推测PKCα可能将成为胃癌诊断的相关蛋白, 但其临床应用仍需以后的大样本分析与临床探索.

Annexin A2蛋白为Annexins家族中的重要成员之一, 在细胞生长、增殖及分化过程中可能扮演十分重要的角色[14-16]. 在肝癌、口鳞状细胞癌、前列腺癌中, 低分化类型的肿瘤中Annexin A2呈现更高的表达[17-19]. Anneixn A2低表达与鼻咽癌细胞的淋巴结转移成正相关. Annexin A2高表达与胃癌、肝癌、乳腺癌、肾癌、胰腺癌及前列腺癌的浸润与转移能力相关,

可作为临床判断患者预后的独立指标之一[16,17]. Annexin A2高表达可促进肺癌、胰腺癌与前列腺癌细胞的增殖, 提示手术或化疗后肿瘤有复发的趋势[20,21]. 我们的结果显示, Annexin A2蛋白在胃癌组织中阳性表达率较正常胃黏膜组织高, 与以往在多种肿瘤中报道的基本一致. 另外, 我们发现随着胃癌分化程度的降低, Annexin A2蛋白的表达逐渐升高, 提示该蛋白可能成为评估临床胃癌治疗的指标之一.

S100A10蛋白(也称p11蛋白), 为钙结合蛋白家族的S100蛋白家族的成员之一. S100家族多个成员在多种肿瘤组织呈现异常表达, 且与肿瘤的发生、浸润与转移有关[22,23]. Annexin A2与S100家族成员在肿瘤发生发展过程中起相互协同作用[24]. S100A10为Annexin A2高亲和力的配体[25]. Annexin A2和S100A10表达水平在不同细胞中存在差异[26]. Annexin A2与S100A10结合可调节Annexin A2在核-质中的分布[27]. 研究表明S100A10与Annexin A2相互作用可加速组织型纤溶酶原激活物介导的纤溶酶生成, 进一步激活蛋白酶前体, 活化基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs), 促进血管生成和肿瘤的浸润与转移[28]. 我们的结果显示, S100A10蛋白在胃癌组织中阳性表达率较正常胃黏膜组织高. 随着胃癌分化程度的降低, S100A10蛋白的表达逐渐升高. 实验结果提示S100A10可能参与胃癌的发生与发展.

总之, 本研究采用Western blot和免疫组织化学检测了胃癌相关蛋白PKCα、Annexin A2和S100A10在正常胃黏膜和胃癌不同分化程度组织中的表达情况, 证实了三者在胃癌组织中的表达相对正常高, 且与胃癌的分化程度密切相关, 并分析了三者表达在临床病理中的意义. 我们选取三个胃癌相关且相互调节的蛋白进行分析, 比单一分析其中一个蛋白的表达更具有临床评价意义与应用价值. 本研究为临床寻找早期诊断、临床治疗及评估患者预后的预警分子提供了非常有价值的实验资料与线索. 但由于胃癌存在遗传学个体差异以及本研究样本量有限, 因此临床应用前仍需扩大样本进行评估.

4 参考文献

1 陈万青, 张思维, 郑荣寿, 雷正龙, 李光琳, 邹小农, 赵平. 中国肿瘤登记地区2007年肿瘤发病和死亡分析. 中国肿瘤 2011; 20: 162-169

2 张志伟, 汤国辉, 赵强, 刘重元, 吴勇军, 贺修胜. AKT-p27Kip1-Cyclin E在胃癌组织中的表达及意义. 世界华人消化杂志 2011; 19: 2233-2240

3 郭玉凤, 张志伟, 贺修胜, 汤国辉, 谢妮, 杨科. 组织芯片检测p16蛋白在不同胃组织中的表达意义. 肿瘤学杂志 2012; 18: 746-749

4 李臻, 张志伟, 赵强, 刘重元, 杨科, 邓彦君, 伍石华, 杨林. TG2在胃癌组织中表达的临床意义. 世界华人消化杂志 2013; 21: 3858-3862

5 陈苏琼. LCM结合定量蛋白质组学技术筛选胃癌组织差异表达蛋白质. 南华大学, 2011: 1-68

6 Cappellani A, Zanghi A, Di Vita M, Zanet E, Veroux P, Cacopardo B, Cavallaro A, Piccolo G, Lo Menzo E, Murabito P, Berretta M. Clinical and biological markers in gastric cancer: update and perspectives. *Front Biosci* (Schol Ed) 2010; 2: 403-412 [PMID: 20036956]

7 Bai Z, Ye Y, Liang B, Xu F, Zhang H, Zhang Y, Peng J, Shen D, Cui Z, Zhang Z, Wang S. Proteomics-based identification of a group of apoptosis-related proteins and biomarkers in gastric cancer. *Int J Oncol* 2011; 38: 375-383 [PMID: 21165559 DOI: 10.3892/ijo.2010.873]

8 Bosco R, Melloni E, Celeghini C, Rimondi E, Vaccarezza M, Zauli G. Fine tuning of protein kinase C (PKC) isoforms in cancer: shortening the distance from the laboratory to the bedside. *Mini Rev Med Chem* 2011; 11: 185-199 [PMID: 21534929]

9 Redden JM, Le AV, Singh A, Federkiewicz K, Smith S, Dodge-Kafka KL. Spatiotemporal regulation of PKC via interactions with AKAP7 isoforms. *Biochem J* 2012; 446: 301-309 [PMID: 22670899 DOI: 10.1042/BJ20120366]

10 Farah CA, Sossin WS. The role of C2 domains in PKC signaling. *Adv Exp Med Biol* 2012; 740: 663-683 [PMID: 22453964 DOI: 10.1007/978-94-007-2888-2_29]

11 Chen T, Cao L, Dong W, Luo P, Liu W, Qu Y, Fei Z. Protective effects of mGluR5 positive modulators against traumatic neuronal injury through PKC-dependent activation of MEK/ERK pathway. *Neurochem Res* 2012; 37: 983-990 [PMID: 22228200 DOI: 10.1007/s11064-011-0691-z]

12 Lai KC, Huang AC, Hsu SC, Kuo CL, Yang JS, Wu SH, Chung JG. Benzyl isothiocyanate (BITC) inhibits migration and invasion of human colon cancer HT29 cells by inhibiting matrix metalloproteinase-2/-9 and urokinase plasminogen (uPA) through PKC and MAPK signaling pathway. *J Agric Food Chem* 2010; 58: 2935-2942 [PMID: 20136087 DOI: 10.1021/jf9036694]

13 Li L, She H, Yue S, Feng D, Luo Z. Vasoactive intestinal peptide induces surfactant protein A expression in ATII cells through activation of PKC/c-Fos pathway. *Peptides* 2010; 31: 2046-2051 [PMID: 20688121 DOI: 10.1016/j.peptides.2010.07.017]

14 Reddy TR, Li C, Guo X, Myrvang HK, Fischer PM, Dekker LV. Design, synthesis, and structure-activity relationship exploration of 1-substituted 4-aroyl-3-hydroxy-5-phenyl-1H-pyrrol-2(5H)-one analogues as inhibitors of the annexin A2-S100A10 protein interaction. *J Med Chem* 2011; 54: 2080-2094 [PMID: 21375334 DOI: 10.1021/jm101212e]

15 Wang YX, Lv H, Li ZX, Li C, Wu XY. Effect of shRNA mediated down-regulation of Annexin A2 on biological behavior of human lung adencarcinoma cells A549. *Pathol Oncol Res* 2012; 18: 183-190 [PMID: 21688086 DOI: 10.1007/s12253-011-9427-2]

16 Zhang X, Liu S, Guo C, Zong J, Sun MZ. The association of annexin A2 and cancers. *Clin Transl Oncol*

2012; 14: 634-640 [PMID: 22855149 DOI: 10.1007/s12094-012-0855-6]
17 Pena-Alonso E, Rodrigo JP, Parra IC, Pedrero JM, Meana MV, Nieto CS, Fresno MF, Morgan RO, Fernandez MP. Annexin A2 localizes to the basal epithelial layer and is down-regulated in dysplasia and head and neck squamous cell carcinoma. *Cancer Lett* 2008; 263: 89-98 [PMID: 18262347 DOI: 10.1016/j.canlet.2007.12.029]
18 Madureira PA, Hill R, Miller VA, Giacomantonio C, Lee PW, Waisman DM. Annexin A2 is a novel cellular redox regulatory protein involved in tumorigenesis. *Oncotarget* 2011; 2: 1075-1093 [PMID: 22185818]
19 Zhang Y, Yu G, Wang Y, Zhang J, Wei S, Lee W, Zhang Y. A novel annexin A2 protein with platelet aggregation-inhibiting activity from amphibian Bombina maxima skin. *Toxicon* 2010; 56: 458-465 [PMID: 20466017 DOI: 10.1016/j.toxicon.2010.04.015]
20 Lokman NA, Ween MP, Oehler MK, Ricciardelli C. The role of annexin A2 in tumorigenesis and cancer progression. *Cancer Microenviron* 2011; 4: 199-208 [PMID: 21909879 DOI: 10.1007/s12307-011-0064-9]
21 Rezvanpour A, Santamaria-Kisiel L, Shaw GS. The S100A10-annexin A2 complex provides a novel asymmetric platform for membrane repair. *J Biol Chem* 2011; 286: 40174-40183 [PMID: 21949189 DOI: 10.1074/jbc.M111.244038]
22 Zhang L, Su TP, Choi K, Maree W, Li CT, Chung MY, Chen YS, Bai YM, Chou YH, Barker JL, Barrett JE, Li XX, Li H, Benedek DM, Ursano R. P11 (S100A10) as a potential biomarker of psychiatric patients at risk of suicide. *J Psychiatr Res* 2011; 45: 435-441 [PMID: 20863517 DOI: 10.1016/j.jpsychires.2010.08.012]
23 Rescher U, Gerke V. S100A10/p11: family, friends and functions. *Pflugers Arch* 2008; 455: 575-582 [PMID: 17638009]
24 Hou Y, Yang L, Mou M, Hou Y, Zhang A, Pan N, Qiang R, Wei L, Zhang N. Annexin A2 regulates the levels of plasmin, S100A10 and Fascin in L5178Y cells. *Cancer Invest* 2008; 26: 809-815 [PMID: 18608216 DOI: 10.1080/07357900801898664]
25 Reddy TR, Li C, Fischer PM, Dekker LV. Three-dimensional pharmacophore design and biochemical screening identifies substituted 1,2,4-triazoles as inhibitors of the annexin A2-S100A10 protein interaction. *ChemMedChem* 2012; 7: 1435-1446 [PMID: 22644793 DOI: 10.1002/cmdc.201200107]
26 Umbrecht-Jenck E, Demais V, Calco V, Bailly Y, Bader MF, Chasserot-Golaz S. S100A10-mediated translocation of annexin-A2 to SNARE proteins in adrenergic chromaffin cells undergoing exocytosis. *Traffic* 2010; 11: 958-971 [PMID: 20374557 DOI: 10.1111/j.1600-0854.2010.01065.x]
27 Kwon M, Yoon CS, Jeong W, Rhee SG, Waisman DM. Annexin A2-S100A10 heterotetramer, a novel substrate of thioredoxin. *J Biol Chem* 2005; 280: 23584-23592 [PMID: 15849182]
28 He KL, Deora AB, Xiong H, Ling Q, Weksler BB, Niesvizky R, Hajjar KA. Endothelial cell annexin A2 regulates polyubiquitination and degradation of its binding partner S100A10/p11. *J Biol Chem* 2008; 283: 19192-19200 [PMID: 18434302 DOI: 10.1074/jbc.M800100200]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2014年5月8日; 22(13): 1801-1805
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

文献综述 REVIEW

VEGF –634G/C基因多态性与疾病相关性的研究进展

柏立婧, 杨宝山

柏立婧, 杨宝山, 哈尔滨医科大学附属第二医院感染内科 黑龙江省哈尔滨市 150000
柏立婧, 主要从事重型肝炎发病机制及慢性肝炎基因多态性研究.
作者贡献分布: 本文综述由柏立婧完成; 杨宝山审校.
通讯作者: 杨宝山, 教授, 主任医师, 150000, 黑龙江省哈尔滨市南岗区保健路148号, 哈尔滨医科大学附属第二医院感染内科.
bai_lijing@163.com
电话: 0451-86297509
收稿日期: 2014-02-21 修回日期: 2014-03-17
接受日期: 2014-03-31 在线出版日期: 2014-05-08

Association between VEGF -634G/C polymorphism and diseases

Li-Jing Bai, Bao-Shan Yang

Li-Jing Bai, Bao-Shan Yang, Department of Infectious Diseases, the 2nd Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150000, Heilongjiang Province, China
Correspondence to: Bao-Shan Yang, Professor, Chief Physician, Department of Infectious Diseases, the 2nd Affiliated Hospital of Harbin Medical University, 148 Baojian Road, Nangang District, Harbin 150000, Heilongjiang Province, China. bai_lijing@163.com
Received: 2014-02-21 Revised: 2014-03-17
Accepted: 2014-03-31 Published online: 2014-05-08

Abstract

Vascular endothelial growth factor (VEGF) is a special heparin-binding growth factor, and can significantly stimulate vasculogenesis and angiogenesis in both cancer and healthy tissues. There have been many studies confirming that the single nucleotide polymorphisms (SNP) of VEGF have a close relationship with the occurrence, development, and prognosis of diseases. According to statistics, the human VEGF gene has at least 30 SNP loci, among which VEGF -634C/G, -936C/T and -2578C/A mutations have been proved to regulate the VEGF plasma levels. Here we review the recent advances in understanding the association between VEGF -634G/C polymorphism and diseases.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Vascular endothelial growth factor; -634G/C; Single nucleotide polymorphism

Bai LJ, Yang BS. Association between VEGF -634G/C polymorphism and diseases. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(13): 1801-1805 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1801.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1801

摘要

血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)是对血管内皮细胞具有特异性的肝素结合生长因子, 可在体内刺激血管新生, 在正常组织以及肿瘤组织中都发挥着强大的促进血管生成的作用. 现已有较多研究证实VEGF的基因多态性与多种疾病的发生、发展、预后都有着密切的关系. 据统计人类的VEGF基因至少包含30多个单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphisms, SNP)位点, 其中VEGF -634C/G、-936C/T和-2578C/A突变位点已被证明可改变VEGF的血浆水平, 现本文选取VEGF -634G/C位点对其多态性与疾病的相关性进行综述.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 血管内皮生长因子; –634G/C; 单核苷酸多态性

核心提示: 血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor)634G/C基因多态性几乎与全身各个系统的疾病相关, 多国学者都在积极努力的研究, 但更多的挑战需要我们共同迎接.

柏立婧, 杨宝山. VEGF –634G/C基因多态性与疾病相关性的研究进展. 世界华人消化杂志 2014; 22(13): 1801-1805 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1801.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1801

0 引言

血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)是由细胞产生的能刺激新生血管形成的化学因子[1], 是目前发现的活性和特异性最强的血管生成因子[2], 在多种疾病的发生发展过程中发挥着强大的调节作用, 并能维持血管内皮细胞分化状态、提高微血管通透性. VEGF

■背景资料
血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)是人体最重要的促血管生成因子, 对新生血管的形成起到了重要作用. 近几年的研究发现单核苷酸基因位点的突变影响了血管内皮生长因子的血浆水平, 与疾病的发生、发展和预后有着密切的关系. 对其与疾病相关性的研究将为今后医疗事业的发展提供新思路.

■同行评议者
黄缘, 教授, 南昌大学第二附属医院消化内科, 江西省分子医学重点实验室

■研发前沿
*VEGF*基因至少包含30多个单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphisms, SNP)位点, 目前研究较多的有-460C/T、-634G/C、+936C/T、-2578C/A、-1154G/A等. VEGF的SNP位点与多种疾病不同预后的相关性研究已经越来越引起人们的重视, 类于此项的研究将为未来疾病的基因诊疗起到重要的推动作用.

蛋白家族共有6个成员, 分别是VEGF(亦称VEGFA)、VEGFB、VEGFC、VEGFD、VEGFE和胎盘生长因子(placenta growth factor, PLGF)[3], 分子量从35 kDa到45 kDa不等. VEGF蛋白质结构具有高度保守性, 是通过两对链间二硫键共价连接的反平行同型二聚体[4]. 编码VEGF的基因定位于6p21.3, 全长约14 kb, 由8个外显子和7个内含子交替组成[5]. VEGF具有两大重要功能: 促进血管内皮细胞分裂增生和增加血管通透性, 主要是通过与血管内皮细胞表面特异性受体结合而发挥生物学效用[6]. VEGF因能特异性的促进血管内皮分裂、增殖及迁移, 被公认为是血管生成的"中心调节者", 是最为有力的血管生成因子[7].

1 *VEGF*的基因多态性

单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphisms, SNP), 即散在的单个碱基的不同, 包括单个碱基的缺失和插入, 但更多的是单个碱基的置换, 使同一基因位点可存在两种以上的基因型, 他是人类可遗传变异中最常见的一种, 占所有已知多态性的90%以上. SNPs是人与人之间基因差异的主要表现形式, 也就是这些SNPs位点的不同决定了人在寿命、体质、外形、性格、疾病的转归等方面的差异. 人类的*VEGF*基因至少有30多个SNP位点, 仅在其启动子区就有10种多态性, 目前研究比较多的SNP位点有-460C/T(rs833061)、-634G/C(rs2010963)、+936C/T(rs3025039)、-2578C/A(rs699947)、-1154G/A(rs1570360)等[8,9]. 基于近几年的研究, VEGF -634C/G、-936C/T和-2578C/A突变位点已被证明可改变VEGF的血浆水平[10-12], 现本文对-634G/C(rs2010963)位点与近年研究较多的与之相关的疾病进行综述.

2 VEGF –634G/C基因多态性与相关性疾病

2.1 VEGF -634G/C基因多态性与眼部疾病 经多年研究发现VEGF -634G/C SNPs与2型糖尿病视网膜病变关系密切. Awata等[13]对来自日本的378例2型糖尿病患者进行研究, 其中203例无视网膜病变, 93例为非增殖性糖尿病视网膜病变(non-proliferative diabetic retinopathy, NPDR), 82例为增殖性糖尿病视网膜病变(proliferative diabetic retinopathy, PDR), 其中黄斑水肿在NPDR、PDR中分别为16例和47例. 研究结果显示, 在*VEGF*基因启动区(5p-UTR、3p-UTR), 5p-UTR的-634G/C基因多态性与糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)关系最为密切, DR患者的-624C等位基因频率明显高于不伴DR患者. 由此得出, -634CC基因型是黄斑水肿的遗传危险因素, 并与2型糖尿病的黄斑部视网膜厚度明显相关. 另一项于2012年对巴西53例视网膜样本的分析[14]显示在-634G/C位点多态性中C等位基因的频率与VEGFA的表达率呈正相关, 而目前的研究表明VEGFA与糖尿病视网膜病变关系密切. Errera等[15]对501例欧洲2型糖尿病患者的研究中发现, VEGF -634C等位基因是PDR的独立危险因素之一(OR = 1.9, 95%CI: 1.01-3.79, P = 0.04). 2012年Liu等[16]对VEGF基因多态性与早产儿视网膜病变(retinopathy of prematurity, ROP)关系的大样本Meta分析显示VEGF -634G/C多态性与进展期ROP无相关性.

2.2 VEGF -634G/C基因多态性与消化系统疾病 Kim等[17]对来自韩国的864例人群进行了研究, 其中148例为患有胃十二指肠溃疡病组、716例为对照组, 研究人员对他们的*VEGF*基因多态性进行了检测, 结果显示-634G/C位点与胃十二指肠溃疡易感性无明显关联. Guan等[18]对美国德克萨斯大学MD安德森癌症中心(德克萨斯·休斯顿)病理证实为胃癌的171例患者, 以及从人群中招募的353例对照者进行VEGF SNPs检测, 统计结果显示杂合子-634CG以及-634CG+CC合并的基因型携带者患胃癌的风险与-634GG基因型相比明显增加. 然而来自韩国的研究表明-634CC基因型明显降低胃癌的发病风险[19]. 一项对韩国350例大肠癌患者的研究[20]表明虽然在韩国患有大肠癌的人群中血管内皮生长因子基因多态性的调查未被发现是独立的预后标志物, 但携带-634GG单倍型的患者在总的大肠癌患者中存活率较低.

2.3 VEGF -634G/C基因多态性与泌尿生殖系统疾病 2010年Sfar等[21]研究发现VEGF -634GG/CC单倍体基因型可显著降低前列腺癌的发病风险(OR = 0.14, P = 0.00005). Hefler等[22]对来自欧洲的563例卵巢癌患者的研究发现, 同时携带VEGF -634CC, VEGF -1154GG, VEGF -2578CC三个纯合子基因型是降低卵巢癌整体存活率的独立因素, 为VEGF SNPs与卵巢癌的研究提供了第一手数据. Jeon等[23]对韩国118例孕期小于20 wk的自发性流产(spontaneously aborted fetuses, SAFs)患者和380例正常对照者的研究发现, VEGF -2578CA+AA/-634CC和-1154GA+AA/-

634CC联合基因型显著增加SAFs的发病率. 但2012年一篇关于基因多态性能否作为妇科肿瘤的预测生物学指标的系统评价提示*VEGF*基因多态性与妇产科肿瘤的总生存率以及治疗毒性均无相关性[24], 然而该评价没有详细的描述妇科肿瘤与VEGF基因多态性的关系且纳入病例仅有140例.

2.4 VEGF -634G/C基因多态性与心脑血管疾病 VEGF是目前已知最强的促有丝分裂因子和血管生成因子, 能特异性的刺激血管内皮细胞增殖, 参与新生血管的形成, 其与心血管系统疾病的产生及预后关系十分密切. 据相关资料显示, 室间隔缺损(ventricular septal defect, VSD)是最常见的先天性心脏缺陷, 2007年Xie等[25]对中国222例单纯性室间隔缺损的儿童和352例健康对照者的研究发现-634C等位基因在患病组(OR = 0.39, 95%CI: 0.25-0.62, χ^2 = 8.11, P = 0.004)的频率明显低于健康对照组(OR = 0.76, 95%CI: 0.59-0.97, χ^2 = 5.06, P = 0.024), 提示-634C等位基因对VSD来说是重要的保护因素, 其可通过维持VEGF的稳定表达来防止VSD的发生. 然而, 与之相反的是另一项对匈牙利儿童的研究[26]表明-634C等位基因在先天性心脏病组出现的频率更高, 因此更多的探讨需要我们进行. 2012年Park等[27]对韩国烟雾病患者的对照研究发现, -634CC基因型较少出现在小儿烟雾病组(P = 0.040)且携带-634CC基因型的患者手术后呈现出更好的侧支血管构建, 此研究表明-634G等位基因与小儿烟雾病和侧支血管构建不良有相关性.

2.5 VEGF -634G/C基因多态性与骨关节运动疾病 2008年Kim等[28]首次报道了在*VEGF*基因启动区的-634G/C多态性与韩国人口股骨头坏死的易感性增加相关. 随后, 2012年Liu等[29]的一项研究同样验证了血管内皮生长因子基因rs2010963位点(-634G/C)多态性与中国地区非创伤性股骨头坏死(osteonecrosis of the femoral head, ONFH)相关. Liu等[29]将220例ONFH患者与同样数量的健康人用PCR-RFLP方法对比研究, 分析显示病例组该位点CC基因型(OR = 1.64, 95%CI: 1.03-2.60, P = 0.04)的频率高于对照组, 基因型与病因(激素、酒精、自发)无明显相关. 此外, 欧洲一项研究[30]发现VEGF SNPs与女性双磷酸盐相关的颌骨坏死(bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws, BRONJ)相关. 其将实验分为3组: A组为30例来自意大利患有BRONJ的女性, B组为30例曾静脉注射双磷酸盐但不伴有骨坏死的阴性对照组, C组为125例健康对照者. 结果显示: A组-634CC基因型的频率高于C组, 表明VEGF的表达可能与意大利女性BRONJ的易感性相关, 但此结果需要大样本实验的进一步证明. Lambrechts等[31]研究发现-634GG基因型可通过降低血管内皮生长因子的表达、加速运动神经元损伤和死亡增加肌萎缩性侧索硬化症的患病风险. 综上研究显示VEGF -634G/C位点多态性与运动关节疾病的关系值得我们进一步探究.

2.6 VEGF -634G/C基因多态性与其他恶性肿瘤 乳腺癌是最常诊断出的癌症和女性癌症死亡的首要原因, 占癌症病例总数的23%和癌症死亡人数的14%[32]. 2013年Luo等[33]对中国汉族乳腺癌患者的研究发现, -634CC基因型与乳腺癌肿瘤的高侵袭性明显相关[肿瘤体积大(OR = 2.63, 95%CI: 1.15-6.02, P = 0.02); 组织学分级高(OR = 1.47, 95%CI: 1.06-2.03, P = 0.02), 但与区域性或远处转移、诊断分期、雌激素或孕激素受体状态等其他肿瘤特性无关联. 此外, VEGF -634G/C基因多态性还可能与其他恶性肿瘤存在相关性. 2012年一项关于261例根治性放射治疗非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)患者的研究[34]发现, -460T/-634C/-936T单倍体型发生严重放射性肺炎(radiation pneumonitis, RP)的风险较高, 所以可能是用来预测RP易感性的重要生物学标志物.

3 结论

VEGF -634G/C基因多态性几乎与全身各个系统的疾病相关, 因-634CC基因型可通过增加VEGF的表达影响疾病的进展而成为多国研究的热点. 虽然VEGF -634G/C基因多态性几乎与全身各个系统的疾病相关, 随着, 靶向治疗药物的发明、疾病诊断基因分型等需求的不断进展, *VEGF*基因多态性的研究也越来越有助于新位点的确立. 希望, 今后多领域、大样本、多种族的研究能通过更多的国际间的合作来进行.

■相关报道
VEGF是目前已知的作用最强的促血管生成因子. VEGF -634C/G、-936C/T和-2578C/A突变位点已被证明可改变VEGF的血浆水平, -634CC等位基因型可通过增加VEGF的表达影响疾病发展.

4 参考文献

1 Niu G, Chen X. Vascular endothelial growth factor as an anti-angiogenic target for cancer therapy. *Curr Drug Targets* 2010; 11: 1000-1017 [PMID: 20426765 DOI: 10.2174/138945010791591395]

2 Hsueh C, Lin JD, Wu IC, Chao TC, Yu JS, Liou MJ, Yeh CJ. Vascular endothelial growth factors and angiopoietins in presentations and prognosis of papillary thyroid carcinoma. *J Surg Oncol* 2011; 103: 395-399 [PMID: 21400522 DOI: 10.1002/jso.21844]

■创新盘点

本文综述了二十年以内多地区关于VEGF -634G/C基因多态性与多种疾病相关性的研究, 具有一定的参考价值, 并探讨了该项研究所能起到的重要作用. 为今后科研的进一步发展提供了新的思路.

3 Roskoski R. Vascular endothelial growth factor (VEGF) signaling in tumor progression. *Crit Rev Oncol Hematol* 2007; 62: 179-213 [PMID: 17324579 DOI: 10.1016/j.critrevonc.2007.01.006]

4 Muller YA, Christinger HW, Keyt BA, de Vos AM. The crystal structure of vascular endothelial growth factor (VEGF) refined to 1.93 A resolution: multiple copy flexibility and receptor binding. *Structure* 1997; 5: 1325-1338 [PMID: 9351807]

5 Vincenti V, Cassano C, Rocchi M, Persico G. Assignment of the vascular endothelial growth factor gene to human chromosome 6p21.3. *Circulation* 1996; 93: 1493-1495 [PMID: 8608615 DOI: 10.1161/01.CIR.93.8.1493]

6 Neufeld G, Cohen T, Gengrinovitch S, Poltorak Z. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors. *FASEB J* 1999; 13: 9-22 [PMID: 9872925]

7 Wu MY, Ho HN. The role of cytokines in endometriosis. *Am J Reprod Immunol* 2003; 49: 285-296 [PMID: 12854733 DOI: 10.1034/j.1600-0897.2003.01207.x]

8 Jacobs EJ, Feigelson HS, Bain EB, Brady KA, Rodriguez C, Stevens VL, Patel AV, Thun MJ, Calle EE. Polymorphisms in the vascular endothelial growth factor gene and breast cancer in the Cancer Prevention Study II cohort. *Breast Cancer Res* 2006; 8: R22 [PMID: 16613616 DOI: 10.1186/bcr1400]

9 Lu H, Shu XO, Cui Y, Kataoka N, Wen W, Cai Q, Ruan ZX, Gao YT, Zheng W. Association of genetic polymorphisms in the VEGF gene with breast cancer survival. *Cancer Res* 2005; 65: 5015-5019 [PMID: 15958542 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-04-2786]

10 Boiardi L, Casali B, Nicoli D, Farnetti E, Chen Q, Macchioni P, Catanoso MG, Pulsatelli L, Meliconi R, Salvarani C. Vascular endothelial growth factor gene polymorphisms in giant cell arteritis. *J Rheumatol* 2003; 30: 2160-2164 [PMID: 14528511]

11 Renner W, Kotschan S, Hoffmann C, Obermayer-Pietsch B, Pilger E. A common 936 C/T mutation in the gene for vascular endothelial growth factor is associated with vascular endothelial growth factor plasma levels. *J Vasc Res* 2000; 37: 443-448 [PMID: 11146397 DOI: 10.1159/000054076]

12 Watson CJ, Webb NJ, Bottomley MJ, Brenchley PE. Identification of polymorphisms within the vascular endothelial growth factor (VEGF) gene: correlation with variation in VEGF protein production. *Cytokine* 2000; 12: 1232-1235 [PMID: 10930302]

13 Awata T, Kurihara S, Takata N, Neda T, Iizuka H, Ohkubo T, Osaki M, Watanabe M, Nakashima Y, Inukai K, Inoue I, Kawasaki I, Mori K, Yoneya S, Katayama S. Functional VEGF C-634G polymorphism is associated with development of diabetic macular edema and correlated with macular retinal thickness in type 2 diabetes. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; 333: 679-685 [PMID: 15963467]

14 Vailati FB, Crispim D, Sortica DA, Souza BM, Brondani LA, Canani LH. The C allele of -634G/C polymorphism in the VEGFA gene is associated with increased VEGFA gene expression in human retinal tissue. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012; 53: 6411-6415 [PMID: 22915033 DOI: 10.1167/iovs.12-9727]

15 Errera FI, Canani LH, Silva ME, Yeh E, Takahashi W, Santos KG, Souto KE, Tschiedel B, Roisenberg I, Gross JL, Passos-Bueno MR. Functional vascular endothelial growth factor -634G>C SNP is associated with proliferative diabetic retinopathy: a case-control study in a Brazilian population of European ancestry. *Diabetes Care* 2007; 30: 275-279 [PMID: 17259494 DOI: 10.2337/dc06-1399]

16 Liu P, Wu D, Zhou W, Li Y, Lian C, Yang Y, Feng Z. Association of VEGF gene polymorphisms with advanced retinopathy of prematurity: a meta-analysis. *Mol Biol Rep* 2012; 39: 10731-10737 [PMID: 23065202 DOI: 10.1007/s11033-012-1964-6]

17 Kim YS, Park SW, Kim MH, Jang EJ, Park JS, Park SJ, Baik HW, Chung G, Hahm KB. Novel single nucleotide polymorphism of the VEGF gene as a risk predictor for gastroduodenal ulcers. *J Gastroenterol Hepatol* 2008; 23 Suppl 2: S131-S139 [PMID: 19120886 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2008.05404.x]

18 Guan X, Zhao H, Niu J, Tang D, Ajani JA, Wei Q. The VEGF -634G>C promoter polymorphism is associated with risk of gastric cancer. *BMC Gastroenterol* 2009; 9: 77 [PMID: 19835575 DOI: 10.1186/1471-230X-9-77]

19 Chae YS, Kim JG, Sohn SK, Cho YY, Moon JH, Bae HI, Park JY, Lee MH, Lee HC, Chung HY, Yu W. Investigation of vascular endothelial growth factor gene polymorphisms and its association with clinicopathologic characteristics in gastric cancer. *Oncology* 2006; 71: 266-272 [PMID: 17671399 DOI: 10.1159/000106788]

20 Jang MJ, Kim JW, Jeon YJ, Chong SY, Oh D, Kim NK. Prognostic significance of vascular endothelial growth factor gene polymorphisms in patients with colorectal cancer. *Int J Clin Oncol* 2013; 18: 1032-1041 [PMID: 23132736 DOI: 10.1007/s10147-012-0493-6]

21 Sfar S, Saad H, Mosbah F, Chouchane L. Synergistic effect and VEGF/HSP70-hom haplotype analysis: relationship to prostate cancer risk and clinical outcome. *Hum Immunol* 2010; 71: 377-382 [PMID: 20096741 DOI: 10.1016/j.humimm.2010.01.017]

22 Hefler LA, Mustea A, Könsgen D, Concin N, Tanner B, Strick R, Heinze G, Grimm C, Schuster E, Tempfer C, Reinthaller A, Zeillinger R. Vascular endothelial growth factor gene polymorphisms are associated with prognosis in ovarian cancer. *Clin Cancer Res* 2007; 13: 898-901 [PMID: 17289883 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-06-1008]

23 Jeon YJ, Kim JH, Rah H, Kim SY, Yoon TK, Choi DH, Cha SH, Shim SH, Kim NK. Vascular endothelial growth factor gene polymorphisms in spontaneously aborted fetuses. *Am J Reprod Immunol* 2011; 66: 544-553 [PMID: 21902756 DOI: 10.1111/j.1600-0897.2011.01067.x]

24 Diaz-Padilla I, Amir E, Marsh S, Liu G, Mackay H. Genetic polymorphisms as predictive and prognostic biomarkers in gynecological cancers: a systematic review. *Gynecol Oncol* 2012; 124: 354-365 [PMID: 22063461 DOI: 10.1016/j.ygyno.2011.10.034]

25 Xie J, Yi L, Xu ZF, Mo XM, Hu YL, Wang DJ, Ren HZ, Han B, Wang Y, Yang C, Zhao YL, Shi DQ, Jiang YZ, Shen L, Qiao D, Chen SL, Yu BJ. VEGF C-634G polymorphism is associated with protection from isolated ventricular septal defect: case-control and TDT studies. *Eur J Hum Genet* 2007; 15: 1246-1251 [PMID: 17625508 DOI: 10.1038/sj.ejhg.5201890]

26 Vannay A, Vásárhelyi B, Környei M, Treszl A, Kozma G, Györffy B, Tulassay T, Sulyok E. Single-nucleotide polymorphisms of VEGF gene are associated with risk of congenital valvuloseptal heart defects. *Am Heart J* 2006; 151: 878-881 [PMID: 16569553 DOI: 10.1016/j.ahj.2005.10.012]

27 Park YS, Jeon YJ, Kim HS, Chae KY, Oh SH, Han

IB, Kim HS, Kim WC, Kim OJ, Kim TG, Choi JU, Kim DS, Kim NK. The role of VEGF and KDR polymorphisms in moyamoya disease and collateral revascularization. *PLoS One* 2012; 7: e47158 [PMID: 23077562 DOI: 10.1371/journal.pone.0047158]

28 Kim T, Hong JM, Lee J, Oh B, Park EK, Lee C, Bae S, Kim S. Promoter polymorphisms of the vascular endothelial growth factor gene is associated with an osteonecrosis of the femoral head in the Korean population. *Osteoarthritis Cartilage* 2008; 16: 287-291 [PMID: 17698375 DOI: 10.1016/j.joca.2007.06.017]

29 Liu B, Cao Y, Wang D, Yao G, Bi Z. Vascular endothelial growth factor -634G/C polymorphism associated with osteonecrosis of the femoral head in a Chinese population. *Genet Test Mol Biomarkers* 2012; 16: 739-743 [PMID: 22612467 DOI: 10.1089/gtmb.2011.0384]

30 Arduino PG, Menegatti E, Scoletta M, Battaglio C, Mozzati M, Chiecchio A, Berardi D, Vandone AM, Donadio M, Gandolfo S, Scully C, Broccoletti R. Vascular endothelial growth factor genetic polymorphisms and haplotypes in female patients with bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws. *J Oral Pathol Med* 2011; 40: 510-515 [PMID: 21251073 DOI: 10.1111/j.1600-0714.2010.01004.x]

31 Lambrechts D, Storkebaum E, Morimoto M, Del-Favero J, Desmet F, Marklund SL, Wyns S, Thijs V, Andersson J, van Marion I, Al-Chalabi A, Bornes S, Musson R, Hansen V, Beckman L, Adolfsson R, Pall HS, Prats H, Vermeire S, Rutgeerts P, Katayama S, Awata T, Leigh N, Lang-Lazdunski L, Dewerchin M, Shaw C, Moons L, Vlietinck R, Morrison KE, Robberecht W, Van Broeckhoven C, Collen D, Andersen PM, Carmeliet P. VEGF is a modifier of amyotrophic lateral sclerosis in mice and humans and protects motoneurons against ischemic death. *Nat Genet* 2003; 34: 383-394 [PMID: 12847526 DOI: 10.1038/ng1211]

32 Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 69-90 [PMID: 21296855 DOI: 10.3322/caac.20107]

33 Luo T, Chen L, He P, Hu QC, Zhong XR, Sun Y, Yang YF, Tian TL, Zheng H. Vascular endothelial growth factor (VEGF) gene polymorphisms and breast cancer risk in a Chinese population. Asian *Pac J Cancer Prev* 2013; 14: 2433-2437 [PMID: 23725153]

34 Yin M, Liao Z, Yuan X, Guan X, O'Reilly MS, Welsh J, Wang LE, Wei Q. Polymorphisms of the vascular endothelial growth factor gene and severe radiation pneumonitis in non-small cell lung cancer patients treated with definitive radiotherapy. *Cancer Sci* 2012; 103: 945-950 [PMID: 22320189 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2012.02229.x]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

■同行评价

该文选题好, 条理清晰, 语言流畅, 能够比较全面概括近二十年国内外研究情况.

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2014年5月8日; 22(13): 1806-1811
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

文献综述 REVIEW

MicroRNA-143与消化系肿瘤的研究进展

陈小林, 周 贤

■背景资料
微小RNA是一种非编码单链小分子RNA, 参与基因的转录后表达调控, 调节许多重要的细胞活动; 近年研究发现miRNA在多种人类肿瘤细胞中表达异常, 在肿瘤的发生、发展中起癌基因或抑癌基因的作用. 大量研究表明miR-143的下调表达在消化系肿瘤的发生、发展中起着重要的作用.

陈小林, 周贤, 泸州医学院附属医院消化内科 四川省泸州市 646000
陈小林, 在读硕士, 主要从事消化内科的相关研究.
作者贡献分布: 本文综述由陈小林完成; 周贤审校.
通讯作者: 周贤, 教授, 主任医师, 646000, 四川省泸州市太平街25号, 泸州医学院附属医院消化内科. zhouxian68@163.com
电话: 0830-3165331
收稿日期: 2014-03-05 修回日期: 2014-03-25
接受日期: 2014-03-28 在线出版日期: 2014-05-08

MicroRNA143 and tumors of the digestive system

Xiao-Lin Chen, Xian Zhou

Xiao-Lin Chen, Xian Zhou, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, Luzhou 646000, Sichuan Province, China
Correspondence to: Xian Zhou, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, 25 Taiping Street, Luzhou 646000, Sichuan Province, China. zhouxian68@163.com
Received: 2014-03-05 Revised: 2014-03-25
Accepted: 2014-03-28 Published online: 2014-05-08

Abstract
Recent studies have found that microRNAs have functions analogous to oncogenes or tumor suppressor genes and are important molecules in tumor occurrence and development. In particular, downregulation of microRNA-143 expression in tumors of the digestive system can inhibit tumor proliferation, infiltration and metastasis via regulation of its target genes. In this paper, we review the latest research progress in understanding the role of microRNA-143 in the digestive system.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: MicroRNA143; Digestive system tumors

Chen XL, Zhou X. MicroRNA143 and tumors of the digestive system. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(13): 1806-1811 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1806.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1806

摘要
近来研究发现microRNA具有癌基因或抑癌基因样作用, 是肿瘤发生、发展过程中的重要分子, 其中miR-143在消化系肿瘤中表达下调, 通过其对靶基因的调控, 可抑制肿瘤细胞的增殖、浸润及转移. 本文就近年来miR-143在消化系肿瘤中的作用的研究进展作一综述.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: MicroRNA143; 消化系肿瘤

核心提示: 大量研究表明miR-143的下调表达在消化系肿瘤的发生、发展中起着重要的作用. 本文综述了miR-143与各种消化系肿瘤的研究进展.

陈小林, 周贤. MicroRNA143与消化系肿瘤的研究进展. 世界华人消化杂志 2014; 22(13): 1806-1811 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1806.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1806

0 引言
微小RNA(microRNA, miRNA)是真核生物中一种约18-22个核苷酸大小、参与转录后基因调控的非编码单链小分子RNA, 可特异性识别靶microRNA的3'-非翻译区(3'-untranslated region, 3'UTR)并与之结合, 引起靶microRNA的降解或翻译抑制, 从而对基因进行转录后的表达调控, 调节许多重要的细胞活动[1-4]. 近年研究发现miRNA在多种人类肿瘤细胞中表达异常, 在肿瘤的发生、发展中起癌基因或抑癌基因的作用. 现已发现了千余个miRNA, 推测他们在细胞的增殖、分化、迁移、代谢和凋亡中起重要调节作用[5-7], 但对于miRNA在肿瘤发生中的作用机制及其如何影响肿瘤的生物学特性目前知之甚少. 在众多的microRNAs 中, microRNA-143(miR-143)定位于人类第5号染色体长臂3区2带(5q32), 其最初在鼠组织被发现, 其表达具有明显的组织特异性,与细胞的分化密切相关[8,9]; 近年研究发现miR-143在食管癌[10,11]、胰

■同行评议者
陈洪, 主任医师, 副教授, 东南大学附属中大医院消化科

腺癌[12,13]、前列腺癌[14-16]、膀胱癌[17-19]、白血病[20,21]、结肠癌[22,23]等肿瘤发生发展过程中发挥肿瘤抑制作用, 本文就miR-143在消化系肿瘤中的作用的研究进展作一综述.

1 MiR-143与食管癌

Wu等[24]通过miRNA微列阵分析方法确定miR-143、miR-145在食管癌细胞和正常组织中差异性表达, 并用荧光定量RT-PCR方法检测了86例食管鳞状细胞癌患者中miR-143和miR-145的表达情况, 结果显示在大部分食管鳞癌组织中miR-143和-145的表达水平显著下降, 且miR-143和miR-145的表达水平与肿瘤浸润深度相关; 在细胞划痕实验中, 将miR-143和miR-145表达质粒转染入人的食管癌细胞, 随着转染pcDNA-miR143和pcDNA-miR145后, 这两个microRNAs的表达水平显着增加, 结果显示转染后的食管癌细胞的迁移距离非常短, 不能使“划痕”愈合, 推测miR-143和miR-145对食管癌细胞的迁移能力有明显的抑制作用. Liu等[25]也对110例诊断为食管鳞状细胞癌患者进行分析研究, 通过定量RT-PCR技术对食管癌样本与邻近非癌组织进行miRNAs分析, 结果研究发现miR-143和miR-145食管癌组织中显著低表达, 提示miR-143和miR-145能抑制食管癌的发生. 同时, 为进一步寻找其作用靶点, 通过生物信息学分析及荧光素酶实验发现miR-143和miR-145在抑制肌动蛋白结合蛋白(fascin homolog 1, FSCNl)上表现出协同效应; miR-143对靶点抑制效率高于miR-145, 提示*FSCN1*基因的3'UTR可能是miR-143和miR-145调节的靶点, 但同时也有不同研究发现, FSCN1蛋白质在人食管癌细胞株(KYSE-510、EC109)中分别呈高水平表达及低水平表达, miR-143/miR-145集群同FSCN1蛋白质表达水平的无明显关联性, 推测其可能受到多种miRNAs的共同调节. 而对食管癌危险因素分析发现大量吸烟患者的miR-145的表达水平比不吸烟者或偶尔吸烟者显著减少; 酗酒患者miR-143的表达水平比非饮酒或偶尔饮酒者的明显下降, 证明环境因素可以影响miRNA的表达情况, 吸烟、饮酒等不良生活习惯可以通过miRNA增加食管癌的发病风险. 随后, Ni等[26]也通过RT-PCR检测了40例食管癌和正常食管组织中miR-143和miR-145的表达情况, 结果也发现miR-143和miR-145在食管鳞状细胞癌中的表达水平明显降低, 提示食管癌的发生与miR-143和miR-145下调相关; 将miR-143转染入人食管癌细胞株(TE-1、Ec109)中, 并检测miR-143对细胞增殖、凋亡及细胞迁移能力的影响, 其结果显示上调的miR-143对人食管癌细胞株(TE-1、Ec109)的增殖、凋亡及、迁移能力有明显的抑制作用. 故miR-143在食管癌中作为一个抑癌基因, 他可能与食管癌的发生、发展及转移密切相关. 但也有研究发现[27-29], 食管癌复发及有淋巴结转移患者miR-143表达水平上调, miR-143表达水平越高, 食管癌患者生存率越低, 这些研究提示miR-143可能是致癌基因, 与前述研究相异. 我们推测, 这种差异可能是由于不同的miRNA的活性与不同组织类型及细胞代谢所引起的; 也有可能是miR-143初始失表达使得致瘤性转化, 但其再表达促使肿瘤向不同表型的转化, 并有可能参与了肿瘤的淋巴结转移.

2 miR-143与胃癌

邹丰等[30]研究发现低浓度的雌激素促进胃癌细胞的侵袭, 高浓度的雌激素抑制胃癌细胞的侵袭, 进一步的研究表明胃癌的侵袭能力和雌激素受体ER-α36的表达呈正相关, 其机制可能与miR-143的调控有关. Takagi等[31]也应用实时荧光定量RT-PCR检测了43个胃癌组织中的miR-143和miR-145表达情况, 发现在胃癌组织中miR-143和miR-145表达下调. 其后, 林巧爱等[32]通过茎环逆转录实时定量PCR技术检测了32例胃癌组织相对于对应癌旁正常组织miR-143的表达情况, 其结果也同样显示在肿瘤组织中miR-143的表达量明显减少; 进一步分析了miR-143表达水平与胃癌多种临床病理特征的关系, 发现miR-143表达水平与性别、年龄、癌症位置、癌症大小、癌症浸润深度及TMN分期无关, 但与分化程度及有无淋巴结转移有关, miR-143的表达与分化程度呈正相关, miR-143低表达于有淋巴结转移胃癌组织, 而高表达于无淋巴结转移胃癌组织, 这些结果提示miR-143的低表达同胃癌的发生发展关系密切; 进一步的ROC分析显示, miR-143评价胃癌细胞分化程度的特异性和敏感性可达75.0%和79.2%; 以上研究结果表明, miR-143表达下调可能与胃癌的发生发展有关, miR-143可作为评价低分化胃癌的辅助指标.

3 miR-143与胰腺癌

Pramanik等[33]合成了基于脂质的毫微粒, 使其

■研发前沿

miRNAs的表达失调与肿瘤发病密切相关, 具有癌基因或抑癌基因的作用, 是肿瘤诊断和治疗的重要靶点, 近年来关于miRNA的研究热点主要集中在miRNA在肿瘤发生和进展中所参与的具体信号通路及miRNA本身的表达变化.

■相关报道
近年来研究发现, miR-143不仅与消化系肿瘤的发生、发展密切相关, 还与白血病、乳腺癌、骨肉瘤、脂肪肉瘤、尤文氏肉瘤、膀胱癌、前列腺癌等肿瘤密切相关, 并且miR-143与miR-145在某些肿瘤中表现出协同作用.

携带miRNA至癌细胞内, 这种毫微粒无明显毒性, 直径大约100 nm; 将含有miR-143/miR-145的毫微粒注射入小鼠体内, 结果发现小鼠皮下的人胰腺癌细胞(MiaPaCa-2)移植物的生长速度减缓, 将其注射入胰腺内将产生更为明显的抑制生长的效应; 伴随着胰腺癌细胞生长速度的减慢以及增殖的抑制和凋亡的增加, 研究发现该效应是通过靶基因KRAS2和RAS反应元件结合蛋白1(ras responsive element binding protein-1, RREB1)实现. Kent等[34]通过慢病毒载体上调胰腺癌细胞中miR-143/145簇后发现, 人胰腺癌细胞PANC-1和其他人胰腺癌细胞(PANC-2.03、HPNE-KrasGl2D和Miapaca-2)表现出明显的体外克隆形成及体内成瘤受抑, 但分别转染miR-143及miR-145后人胰腺癌细胞PANC-1就不表现出上述变化, 显示上调miR-143对人胰腺癌细胞PANC-1的增殖凋亡并没有显著影响; 推断可能在某些细胞中, miR-143需要与miR-145共同表达才能充分发挥其抑癌作用, 而且miR-143在不同肿瘤细胞中所起到的抑癌作用的具体表现也可能会有所差异. 其后, 程文捷等[35]通过人工合成miR-143的模拟物, 转染入人胰腺癌细胞PANC-1, 并检测miR-143的模拟物对细胞增殖、凋亡及细胞迁移能力的影响, 其结果显示示上调miR-143对人胰腺癌细胞PANC-1的增殖凋亡并没有显著影响, 而对胰腺癌细胞迁移能力有明显的抑制作用, 并提示TAK1可能是其靶基因之一. 该研究与Kent等[34]研究结果一致, 进一步提示miR-143与胰腺癌的转移相关, 也为胰腺癌的发病机制提供了新的认识, 提示对miR-143干预可能成为潜在治疗胰腺癌的新方法并作为胰腺癌是否转移的潜在标志物. Ali等[36]研究发现, 3种人胰腺癌细胞(MiaPaCa-2、COLO-357、BxPC-3)中, 人胰腺癌细胞MiaPaCa-2中miR-143呈低表达, 但人胰腺癌细胞MiaPaCa-2中*ras*基因的表达及其活性比在其他两种细胞中高, 推测miR-143对*ras*基因的表达及其活性呈负性调控作用; 进一步将miR-143前体转染入人胰腺癌细胞(COLO-357和MIAPaCa-2)中, 通过qRT-PCR技术检测miR-143表达水平, 显示miR-143表达上调, 上调表达的miR-143负性调控*ras*基因, 使Ras蛋白表达及其GTP酶活性减低, 从而抑制肿瘤细胞增殖和克隆, 故推测miR-143的靶基因是*ras*, 肿瘤细胞内的miR-143重新表达会负性调控*ras*基因的活性, 使得体外细胞增殖和集落形成受到抑制. 随后的研究发现[37,38], miR-143对GEF1、GEF2和 KRAS 3种靶基因进行调控, 使得Ras相似物GTP酶(Ras homologue GTPases, RhoGTPases)活性减低, 通过对Rho信号通路的控制来抑制胰腺癌细胞的转移及浸润. 故miR-143可能作为抑癌基因, 参与了胰腺癌的发生发展, 并可能成为胰腺癌治疗的新靶点.

4 MiR-143与肝癌

MiR-143与肝癌的关系研究较少, 马兆龙等[39]研究发现, 与正常肝脏组织相比, 乙型肝炎肝硬化和HBV相关性肝癌组织中miR-143表达下调. Zhang等[40]进一步研究发现, miR-143对肝癌的迁移和侵袭能力有显著抑制, 但是对肝癌细胞的增殖、凋亡没有明显的影响.

5 MiR-143与结肠癌

Michael等[41]第一次报道了miR-143在结肠癌细胞株和肿瘤组织中下调表达, 并且在结肠癌癌前病变的腺瘤性息肉组织中就已经检测到了miR-143的表达下调, 进一步研究显示, miR-143的发夹状前体的含量在肿瘤组织及正常组织中几乎是等量的, 提示miR-143表达水平的降低发生在转录后加工水平, 可能是由于其加工过程受到了破坏, 特定miRNA稳定性下降. 此后许多研究[22,42-44]也发现, miR-143在结肠癌中呈下调表达或者不表达, miR-143有抑制肿瘤细胞增殖生长作用, 起着抑癌基因的作用; 进一步研究发现, miR-143在肿瘤中的表达极其复杂, 在不同的肿瘤标本细胞与细胞系上其表达水平不同, 其表达情况同时还与肿瘤大小及临床分期可能有关. 随着研究的不断深入, Ng等[43]研究发现, 在结肠癌组织中, miR-143与DNA甲基转移酶3A在mRNA和蛋白水平的表达呈负相关, 通过荧光素酶检测证实DNA甲基转移酶3A是miR-143的靶点. Chen等[45]研究发现, miR-143通过抑制ERK1/2的磷酸化来抑制*KRAS*基因的表达, 以此来抑制结肠癌细胞的生长, 推测癌基因*KRAS*可能是miR-143的靶点. Zhang等[46]发现, 结肠癌转移相关基因1(metastasis-associated in colon cancer-1, MACC1)也可能是miR-143的靶点, miR-143通过对MACC1的调控来抑制结肠癌细胞的侵袭和转移. 多项研究发现[47-49], miR-143可能通过调节靶目标己糖激酶2(hexokinase 2, HK2), 影响结肠癌细胞的糖代谢, 由此来

抑制癌细胞的增殖和生长. 以上研究结果表明, miR-143可能通过不同的靶点及调控途径, 在肿瘤的发生和发展过程中发挥着重要的作用.

6 结论

MiR-143作为一种重要的微小RNA, 在多种消化系恶性肿瘤中均下调表达, 其通过对靶基因的调控参与调控消化系恶性肿瘤细胞的增殖生长、凋亡、侵袭及转移, 在对消化系恶性肿瘤的治疗及对其预后的判断上, miR-143具有重要的意义. 现在, 对于miR-143的生物学功能有很多研究, 但对其在抑制癌症发生发展的作用机制及针对miR-143的基因治疗方面的研究甚少. 可以预见的是, 随着科学技术的发展, 分子生物学研究的继续深入, miR-143在消化系恶性肿瘤的预防、预测及个体化治疗中发挥重要作用, 具有广阔的应用前景.

■创新盘点

miR-143作为一种新的基因表达调控因子, 本文阐述了其在消化系肿瘤中的表达情况, 并详细综述了其参与肿瘤发生、发展的调控通道及靶点.

7 参考文献

1 Chen CZ, Li L, Lodish HF, Bartel DP. MicroRNAs modulate hematopoietic lineage differentiation. *Science* 2004; 303: 83-86 [PMID: 14657504]

2 Fabian MR, Sonenberg N, Filipowicz W. Regulation of mRNA translation and stability by microRNAs. *Annu Rev Biochem* 2010; 79: 351-379 [PMID: 20533884 DOI: 10.1146/annurev-biochem-060308-103103]

3 Bartel DP. MicroRNAs: target recognition and regulatory functions. *Cell* 2009; 136: 215-233 [PMID: 19167326 DOI: 10.1016/j.cell.2009.01.002]

4 Krol J, Loedige I, Filipowicz W. The widespread regulation of microRNA biogenesis, function and decay. *Nat Rev Genet* 2010; 11: 597-610 [PMID: 20661255 DOI: 10.1038/nrg2843]

5 Berezikov E, Guryev V, van de Belt J, Wienholds E, Plasterk RH, Cuppen E. Phylogenetic shadowing and computational identification of human microRNA genes. *Cell* 2005; 120: 21-24 [PMID: 15652478]

6 Flynt AS, Lai EC. Biological principles of microRNA-mediated regulation: shared themes amid diversity. *Nat Rev Genet* 2008; 9: 831-842 [PMID: 18852696 DOI: 10.1038/nrg2455]

7 Ventura A, Jacks T. MicroRNAs and cancer: short RNAs go a long way. *Cell* 2009; 136: 586-591 [PMID: 19239879 DOI: 10.1016/j.cell.2009.02.005]

8 Esau C, Kang X, Peralta E, Hanson E, Marcusson EG, Ravichandran LV, Sun Y, Koo S, Perera RJ, Jain R, Dean NM, Freier SM, Bennett CF, Lollo B, Griffey R. MicroRNA-143 regulates adipocyte differentiation. *J Biol Chem* 2004; 279: 52361-52365 [PMID: 15504739]

9 Lagos-Quintana M, Rauhut R, Yalcin A, Meyer J, Lendeckel W, Tuschl T. Identification of tissue-specific microRNAs from mouse. *Curr Biol* 2002; 12: 735-739 [PMID: 12007417]

10 Fu HL, Wu de P, Wang XF, Wang JG, Jiao F, Song LL, Xie H, Wen XY, Shan HS, Du YX, Zhao YP. Altered miRNA expression is associated with differentiation, invasion, and metastasis of esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) in patients from Huaian, China. *Cell Biochem Biophys* 2013; 67: 657-668 [PMID: 23516093 DOI: 10.1007/s12013-013-9554-3]

11 Mayne GC, Hussey DJ, Watson DI. MicroRNAs and esophageal cancer--implications for pathogenesis and therapy. *Curr Pharm Des* 2013; 19: 1211-1226 [PMID: 23092342]

12 Link A, Becker V, Goel A, Wex T, Malfertheiner P. Feasibility of fecal microRNAs as novel biomarkers for pancreatic cancer. *PLoS One* 2012; 7: e42933 [PMID: 22905187 DOI: 10.1371/journal.pone.0042933]

13 Liu L, Gong L, Zhang Y, Li N. Glycolysis in Panc-1 human pancreatic cancer cells is inhibited by everolimus. *Exp Ther Med* 2013; 5: 338-342 [PMID: 23251295]

14 Clapé C, Fritz V, Henriquet C, Apparailly F, Fernandez PL, Iborra F, Avancès C, Villalba M, Culine S, Fajas L. miR-143 interferes with ERK5 signaling, and abrogates prostate cancer progression in mice. *PLoS One* 2009; 4: e7542 [PMID: 19855844 DOI: 10.1371/journal.pone.0007542]

15 Szczyrba J, Löprich E, Wach S, Jung V, Unteregger G, Barth S, Grobholz R, Wieland W, Stöhr R, Hartmann A, Wullich B, Grässer F. The microRNA profile of prostate carcinoma obtained by deep sequencing. *Mol Cancer Res* 2010; 8: 529-538 [PMID: 20353999 DOI: 10.1158/1541-7786.MCR-09-0443]

16 Wu D, Huang P, Wang L, Zhou Y, Pan H, Qu P. MicroRNA-143 inhibits cell migration and invasion by targeting matrix metalloproteinase 13 in prostate cancer. *Mol Med Rep* 2013; 8: 626-630 [PMID: 23732700 DOI: 10.3892/mmr.2013.1501]

17 Song T, Zhang X, Wang C, Wu Y, Dong J, Gao J, Cai W, Hong B. Expression of miR-143 reduces growth and migration of human bladder carcinoma cells by targeting cyclooxygenase-2. *Asian Pac J Cancer Prev* 2011; 12: 929-933 [PMID: 21790228]

18 Pignot G, Cizeron-Clairac G, Vacher S, Susini A, Tozlu S, Vieillefond A, Zerbib M, Lidereau R, Debre B, Amsellem-Ouazana D, Bieche I. microRNA expression profile in a large series of bladder tumors: identification of a 3-miRNA signature associated with aggressiveness of muscle-invasive bladder cancer. *Int J Cancer* 2013; 132: 2479-2491 [PMID: 23169479 DOI: 10.1002/ijc.27949]

19 Puerta-Gil P, García-Baquero R, Jia AY, Ocaña S, Alvarez-Múgica M, Alvarez-Ossorio JL, Cordon-Cardo C, Cava F, Sánchez-Carbayo M. miR-143, miR-222, and miR-452 are useful as tumor stratification and noninvasive diagnostic biomarkers for bladder cancer. *Am J Pathol* 2012; 180: 1808-1815 [PMID: 22426337 DOI: 10.1016/j.ajpath.2012.01.034]

20 张媛媛, 郑永青, 李小雨, 吴淡森, 谢水玲, 沈建箴. MicroRNA-143在急性白血病患者与正常人骨髓细胞中的差异表达及意义. 中国实验血液学杂志 2011; 19: 308-311

21 Dou L, Zheng D, Li J, Li Y, Gao L, Wang L, Yu L. Methylation-mediated repression of microRNA-143 enhances MLL-AF4 oncogene expression. *Oncogene* 2012; 31: 507-517 [PMID: 21706045 DOI: 10.1038/onc.2011.248]

22 Akao Y, Nakagawa Y, Naoe T. MicroRNA-143 and -145 in colon cancer. *DNA Cell Biol* 2007; 26: 311-320

■应用要点

本文综述miR-143在消化系肿瘤发病机制中的作用，可能在消化系肿瘤的预防、预测及个体化治疗中发挥重要作用.

[PMID: 17504027]
23 Luo X, Burwinkel B, Tao S, Brenner H. MicroRNA signatures: novel biomarker for colorectal cancer? *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2011; 20: 1272-1286 [PMID: 21551242 DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-11-0035]
24 Wu BL, Xu LY, Du ZP, Liao LD, Zhang HF, Huang Q, Fang GQ, Li EM. MiRNA profile in esophageal squamous cell carcinoma: downregulation of miR-143 and miR-145. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 79-88 [PMID: 21218087 DOI: 10.3748/wjg.v17.i1.79]
25 Liu R, Liao J, Yang M, Sheng J, Yang H, Wang Y, Pan E, Guo W, Pu Y, Kim SJ, Yin L. The cluster of miR-143 and miR-145 affects the risk for esophageal squamous cell carcinoma through co-regulating fascin homolog 1. *PLoS One* 2012; 7: e33987 [PMID: 22457808 DOI: 10.1371/journal.pone.0033987]
26 Ni Y, Meng L, Wang L, Dong W, Shen H, Wang G, Liu Q, Du J. MicroRNA-143 functions as a tumor suppressor in human esophageal squamous cell carcinoma. *Gene* 2013; 517: 197-204 [PMID: 23276710 DOI: 10.1016/j.gene.2012.12.031]
27 Akagi I, Miyashita M, Ishibashi O, Mishima T, Kikuchi K, Makino H, Nomura T, Hagiwara N, Uchida E, Takizawa T. Relationship between altered expression levels of MIR21, MIR143, MIR145, and MIR205 and clinicopathologic features of esophageal squamous cell carcinoma. *Dis Esophagus* 2011; 24: 523-530 [PMID: 21453382 DOI: 10.1111/j.1442-2050.2011.01177.x]
28 Feber A, Xi L, Pennathur A, Gooding WE, Bandla S, Wu M, Luketich JD, Godfrey TE, Litle VR. MicroRNA prognostic signature for nodal metastases and survival in esophageal adenocarcinoma. *Ann Thorac Surg* 2011; 91: 1523-1530 [PMID: 21420070 DOI: 10.1016/j.athoracsur.2011.01.056]
29 Liu SG, Qin XG, Zhao BS, Qi B, Yao WJ, Wang TY, Li HC, Wu XN. Differential expression of miRNAs in esophageal cancer tissue. *Oncol Lett* 2013; 5: 1639-1642 [PMID: 23761828]
30 邹丰, 王绪明, 刘丽江. ER -α36和miR-143介导胃癌细胞的侵袭. 中国病理生理杂志 2012; 28: 2167-2171
31 Takagi T, Iio A, Nakagawa Y, Naoe T, Tanigawa N, Akao Y. Decreased expression of microRNA-143 and -145 in human gastric cancers. *Oncology* 2009; 77: 12-21 [PMID: 19439999 DOI: 10.1159/000218166]
32 林巧爱, 李玲玲, 巩文辞, 武文一, 沈贤, 张丽芳, 薛向阳. miR-143在胃癌中的表达及其临床病理意义. 中国病理生理杂志 2010; 26: 1674-1678
33 Pramanik D, Campbell NR, Karikari C, Chivukula R, Kent OA, Mendell JT, Maitra A. Restitution of tumor suppressor microRNAs using a systemic nanovector inhibits pancreatic cancer growth in mice. *Mol Cancer Ther* 2011; 10: 1470-1480 [PMID: 21622730 DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-11-0152]
34 Kent OA, Chivukula RR, Mullendore M, Wentzel EA, Feldmann G, Lee KH, Liu S, Leach SD, Maitra A, Mendell JT. Repression of the miR-143/145 cluster by oncogenic Ras initiates a tumor-promoting feed-forward pathway. *Genes Dev* 2010; 24: 2754-2759 [PMID: 21159816 DOI: 10.1101/gad.1950610]
35 程文捷, 唐健, 黄凤婷, 庄燕妍, 陈文博, 张世能. 微小RNA-143对人胰腺癌PANC-1细胞迁移的抑制作用及其机制的探讨. 肿瘤 2012; 32: 855-861
36 Ali S, Ahmad A, Aboukameel A, Bao B, Padhye S, Philip PA, Sarkar FH. Increased Ras GTPase activity is regulated by miRNAs that can be attenuated by CDF treatment in pancreatic cancer cells. *Cancer Lett* 2012; 319: 173-181 [PMID: 22261338 DOI: 10.1016/j.canlet.2012.01.013]
37 Wang X, Zhao J, Huang J, Tang H, Yu S, Chen Y. The regulatory roles of miRNA and methylation on oncogene and tumor suppressor gene expression in pancreatic cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2012; 425: 51-57 [PMID: 22820191 DOI: 10.1016/j.bbrc.2012.07.047]
38 Hu Y, Ou Y, Wu K, Chen Y, Sun W. miR-143 inhibits the metastasis of pancreatic cancer and an associated signaling pathway. *Tumour Biol* 2012; 33: 1863-1870 [PMID: 23070684 DOI: 10.1007/s13277-012-0446-8]
39 马兆龙, 杨 炼, 陈立波, 黄金明, 王冬冬, 王国斌. miRNA在HBV从感染经由肝硬化到肝癌进程中表达谱的变化. 世界华人消化杂志 2009; 17: 2112-2116
40 Zhang X, Liu S, Hu T, Liu S, He Y, Sun S. Up-regulated microRNA-143 transcribed by nuclear factor kappa B enhances hepatocarcinoma metastasis by repressing fibronectin expression. *Hepatology* 2009; 50: 490-499 [PMID: 19472311 DOI: 10.1002/hep.23008]
41 Michael MZ, O' Connor SM, van Holst Pellekaan NG, Young GP, James RJ. Reduced accumulation of specific microRNAs in colorectal neoplasia. *Mol Cancer Res* 2003; 1: 882-891 [PMID: 14573789]
42 Slaby O, Svoboda M, Fabian P, Smerdova T, Knoflickova D, Bednarikova M, Nenutil R, Vyzula R. Altered expression of miR-21, miR-31, miR-143 and miR-145 is related to clinicopathologic features of colorectal cancer. *Oncology* 2007; 72: 397-402 [PMID: 18196926 DOI: 10.1159/000113489]
43 Ng EK, Tsang WP, Ng SS, Jin HC, Yu J, Li JJ, Röcken C, Ebert MP, Kwok TT, Sung JJ. MicroRNA-143 targets DNA methyltransferases 3A in colorectal cancer. *Br J Cancer* 2009; 101: 699-706 [PMID: 19638978 DOI: 10.1038/sj.bjc.6605195]
44 Akao Y, Nakagawa Y, Hirata I, Iio A, Itoh T, Kojima K, Nakashima R, Kitade Y, Naoe T. Role of anti-oncomirs miR-143 and -145 in human colorectal tumors. *Cancer Gene Ther* 2010; 17: 398-408 [PMID: 20094072 DOI: 10.1038/cgt.2009.88]
45 Chen X, Guo X, Zhang H, Xiang Y, Chen J, Yin Y, Cai X, Wang K, Wang G, Ba Y, Zhu L, Wang J, Yang R, Zhang Y, Ren Z, Zen K, Zhang J, Zhang CY. Role of miR-143 targeting KRAS in colorectal tumorigenesis. *Oncogene* 2009; 28: 1385-1392 [PMID: 19137007 DOI: 10.1038/onc.2008.474]
46 Zhang Y, Wang Z, Chen M, Peng L, Wang X, Ma Q, Ma F, Jiang B. MicroRNA-143 targets MACC1 to inhibit cell invasion and migration in colorectal cancer. *Mol Cancer* 2012; 11: 23 [PMID: 22533346 DOI: 10.1186/1476-4598-11-23]
47 Peschiaroli A, Giacobbe A, Formosa A, Markert EK, Bongiorno-Borbone L, Levine AJ, Candi E, D'Alessandro A, Zolla L, Finazzi Agrò A, Melino G. miR-143 regulates hexokinase 2 expression in cancer cells. *Oncogene* 2013; 32: 797-802 [PMID: 22469988 DOI: 10.1038/onc.2012.100]
48 Fang R, Xiao T, Fang Z, Sun Y, Li F, Gao Y, Feng Y, Li L, Wang Y, Liu X, Chen H, Liu XY, Ji H. MicroRNA-143 (miR-143) regulates cancer glycolysis via targeting hexokinase 2 gene. *J Biol Chem* 2012; 287: 23227-23235 [PMID: 22593586 DOI: 10.1074/jbc.

M112.373084]
49 Gregersen LH, Jacobsen A, Frankel LB, Wen J, Krogh A, Lund AH. MicroRNA-143 down-regulates Hexokinase 2 in colon cancer cells. *BMC Cancer* 2012; 12: 232 [PMID: 22691140 DOI: 10.1186/1471-2407-12-232]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

■同行评价
本文立意新颖, 资料翔实, 条理清晰, 可读性好, 具有一定的学术和参考价值.

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版)

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

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

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

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2014年5月8日; 22(13): 1812-1819
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

文献综述 REVIEW

Th22细胞在炎症免疫性疾病及肿瘤中的研究进展

黄小丽, 郭晓云, 姜海行

■背景资料
Th22细胞是新近发现的一类独立于Th1、Th2和Th17细胞的$CD4^+$ T淋巴细胞亚群, 以高水平分泌白介素-22(interleukin-22, IL-22), 而不分泌IL-17和干扰素-γ(interferon-γ, IFN-γ)为特点. Th22细胞及其效应分子IL-22参与多种疾病的病理生理过程, 在机体免疫调节、宿主防御及组织修复中发挥重要作用.

黄小丽, 郭晓云, 姜海行, 广西医科大学第一附属医院消化内科 广西壮族自治区南宁市 530021
黄小丽, 在读硕士, 主要从事肝纤维化机制的研究.
国家自然科学基金资助项目, No. 81260083
作者贡献分布: 黄小丽负责文献检索与论文撰写; 郭晓云负责课题设计与论文修改; 姜海行审校.
通讯作者: 郭晓云, 副主任医师, 530021, 广西壮族自治区南宁市双拥路6号, 广西医科大学第一附属医院消化内科.
withoutgloom@sohu.com
电话: 0771-5356725
收稿日期: 2014-03-03 修回日期: 2014-03-24
接受日期: 2014-03-28 在线出版日期: 2014-05-08

Role of Th22 cells in inflammatory, autoimmune diseases and tumors

Xiao-Li Huang, Xiao-Yun Guo, Hai-Xing Jiang

Xiao-Li Huang, Xiao-Yun Guo, Hai-Xing Jiang, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81260083
Correspondence to: Xiao-Yun Guo, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, 6 Shuangyong Road, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. withoutgloom@sohu.com
Received: 2014-03-03 Revised: 2014-03-24
Accepted: 2014-03-28 Published online: 2014-05-08

Abstract
T-helper (Th) 22 cells are a recently identified subset of T cells, which are characterized by abundant secretion of interleukin-22 (IL-22) but not interleukin-17 (IL-17) or interferon-γ (IFN-γ) and are therefore distinct from Th1, Th2 and Th17 cells. The functions of Th22 cells are predominantly executed by their signature cytokine IL-22, which has been shown to play an important role in the pathogenesis of inflammatory, autoimmune diseases and tumors. Th22 cells and related cytokine IL-22 regulate multiple biological functions and have an important role in a number of diseases. The effect of Th22 cells and IL-22 on different cells seems to be quite similar, including improving the innate immunity, protecting from injury, and enhancing their regeneration, but whether its role is protective or pathogenic is dependent on the nature of the affected tissue and local cytokine milieu. Nevertheless, there are still many questions about the role of Th22 and related cytokine IL-22 in various diseases. This article reviews the role of Th22 cells and its cytokine IL-22 in inflammatory, autoimmune diseases and tumors.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: T helper 22 cells; Interleukin-22; Inflammatory; Autoimmune diseases; Tumor

Huang XL, Guo XY, Jiang HX. Role of Th22 cells in inflammatory, autoimmune diseases and tumors. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(13): 1812-1819 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1812.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1812

摘要
近年来, 一群在细胞分化及生物学特性等方面不同于Th1、Th2和Th17细胞的新型辅助性T细胞-Th22细胞被识别, 该亚群以分泌白介素-22(interleukin-22, IL-22)为特点, 而不分泌IL-17或干扰素-γ(interferon-γ, IFN-γ). 其功能主要通过IL-22来实现, 介导炎症反应、自身免疫性疾病、肿瘤等的发生发展. Th22细胞及其效应分子IL-22参与多种疾病的病理生理过程, 在机体免疫调节、宿主防御及组织修复中发挥重要作用, 但是他们发挥保护还是致病的作用是由受影响的组织的性质和局部细胞因子环境决定的. 针对Th22和IL-22在疾病中的作用还有待进一步的解答. 本文就Th22细胞及其效应因子IL-22在炎症免疫性疾病及肿瘤中的研究进展进行阐述.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: Th22细胞; 白介素-22; 炎症; 免疫性疾病; 肿瘤

核心提示: 白介素-22(interleukin-22, IL-22)细胞作为一种新型的辅助性T细胞亚群, 在自身免疫性

■同行评议者
高英堂, 研究员, 天津市第三中心医院

疾病、感染性疾病、肿瘤中发挥重要调节作用, 但是否加剧或改善疾病的进展, 目前尚无定论, 仍有许多问题有待进一步解答.

黄小丽, 郭晓云, 姜海行. Th22细胞在炎症免疫性疾病及肿瘤中的研究进展. 世界华人消化杂志 2014; 22(13): 1812-1819
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1812.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1812

0 引言

辅助性T淋巴细胞是机体重要的免疫调节细胞, 根据其产生细胞因子的不同可分为不同的功能亚群Th1、Th2、Th9、Th17、Th22、滤泡辅助性T细胞(T follicular helper cells, Tfh)和调节性T细胞(regulatory T cells, Treg)[1]. Th22细胞是新发现的一类效应性T细胞, 其功能主要通过白介素-22(interleukin-22, IL-22)来实现. 研究表明, Th22细胞参与了炎症反应、自身免疫性疾病、肿瘤等的发生发展, 在机体免疫调节、宿主防御及组织修复中发挥重要作用. 本文现就Th22细胞研究进展作一简要综述.

1 Th22细胞的特征

Th22细胞是新近发现的一类独立于Th1、Th2和Th17细胞的$CD4^+$T淋巴细胞亚群, 以高水平分泌IL-22, IL-17和干扰素-γ(interferon-γ, IFN-γ)为特点, 是一个终末分化且独立稳定的谱系[2,3]. 在浆细胞样树突细胞(plasmacytoid dendritic cells, PDCs)刺激条件下, 肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)和IL-6能够诱导初始$CD4^+$T细胞向Th22的表型方向转化[4]. Th22细胞表达趋化因子受体6(chemokine receptor 6, CCR6)以及皮肤归巢受体CCR4和CCR10, 表型特征是$CCR6^+CCR4^+CCR10^+$, 芳香烃受体(aryl-hydrocarbon receptor, AHR)是其关键的转录调控因子, 低表达或不表达Th17和Th1的转录因子ROR-γt和T-bet[4].

2 IL-22及其信号通路

Th22细胞的主要效应细胞因子是IL-22, 起初被命名为IL-10相关的T细胞来源的诱导因子(IL-10-related T cell derived inducible factor, IL-TIF), 他属于IL-10家族细胞因子[5]. 目前已知的在人类适应性免疫系统中, Th22、 Th17和Th1细胞是主要分泌IL-22的细胞亚群[2,4,6]. 此外$CD8^+$T细胞和其他天然免疫淋巴细胞包括自然杀伤细胞如NK22细胞和$CD11c^+$细胞也能分泌IL-22[7-9]. 和所有其他的IL-10家族成员一样, IL-22信号系统的传导是通过IL-10R2和IL-22R1构成的异源二聚体受体复合物来完成的[10]. 与受体复合物结合后, IL-22首先激活JAK/STAT(Janus kinase-signal transducers and activators of transcription)细胞信号通路. Lejeune等[11]研究发现IL-22与大鼠肝癌细胞系H4IIE表面受体结合后, 可激活下游的JAKs及TYK2迅速活化, 导致STAT1、STAT3和STAT5磷酸化. IL-22也可以激活MAPK的3条主要信号通路, 包括MEK-ERK-RSK、JNK-SAPK和p38激酶途径. 此外, IL-22还可以诱导STAT3丝氨酸残基磷酸化[12]. 其中IL-22结合特异性依赖于IL-22R1, 而IL-10R2则介导细胞内的信号转导[13]. IL-22R1主要表达在胰腺、皮肤、肾脏、肝脏、小肠、呼吸道等, 而在T细胞、B细胞、NK细胞和单核细胞等免疫细胞中不表达; 而IL-10R2全身分布广泛[13,14]. 由此看来, IL-22虽然由免疫细胞产生, 但对他们并不起作用, 所以Th22作用特点有别于其他淋巴细: 作用对象不是免疫细胞, 而是肝脏、皮肤等表达IL-22R1的组织细胞. 除了细胞表面的IL-22受体复合物, 还存在一种可溶性的、高亲和力的单链IL-22受体, 称之为IL-22结合蛋白(IL-22 bind protein, IL-22BP), 他能直接结合IL-22抑制其细胞学功能可作为IL-22的拮抗剂发挥着多种生物学功能[15].

3 Th22和IL-22在自身免疫性疾病中的作用

Th22细胞是以主要分泌IL-22为特征, 因此, 通过了解IL-22在疾病中的作用, 我们可以间接了解有关Th22细胞在许多炎症和自身免疫性疾病中的主要功能. Th22细胞数量和功能的紊乱, 可导致多种自身免疫性疾病的发生。

3.1 类风湿性关节炎(rheumatoid arthritis, RA)

RA是以对称性多关节滑膜炎症为主的慢性自身免疫性疾病, 能引起软骨破坏, 关节间隙变窄, 晚期可出现关节畸形, 是一种致残率很高的疾病. Zhang等[16]报道在RA患者外周血中, Th22细胞比例明显高于骨性关节炎(osseous arthritis, OA)患者和健康对照组. 他们还观察到RA患者中随着Th22细胞比例的升高血浆IL-22水平也随之发生相应的升高, Th22细胞水平与疾病活动之间呈正相关. 这提示了Th22细胞和IL-22在RA发病机制中可能发挥致病作用. RA患者的关节

■研发前沿
对Th22细胞及IL-22的研究是近年来基础医学研究的一个热点, Th22细胞的发现极大推进了我们对$CD4^+$T细胞在疾病中作用的了解. Th22细胞的生物学功能与IL-22并不能等同, 且Th22与其他T细胞亚群的关系及在疾病中如何相互作用还有待进一步深入研究.

■相关报道
近年来, 人们对Th22细胞介导的免疫应答所起的作用给予了很多的关注. 但他的分化调控、下游信号通路、生理功能等尚不完全明确, 其具体作用机制亟待进一步的研究.

中滑膜内膜层和内膜下层组织中高表达IL-22, 表达IL-22的绝大多数细胞是滑膜成纤维细胞(synovial fibroblasts derived from RA patients, RASF)和巨噬细胞, 表达IL-22R1的主要是RASF, 体外培养的RASF表达IL-22R1并分泌IL-22, 重组IL-22可以促进RASF分泌单核细胞趋化蛋白-1(monocyte chemoattractant protein 1, MCP-1)从而使RA的炎性反应加重[17]. 在小鼠胶原诱导的关节炎(collagen-induced arthritis, CIA)模型中, 血清中IL-22水平显著高于正常对照组; 与野生型小鼠相比, IL-22敲基因模型小鼠CIA发生率低、关节损伤程度轻、血管翳形成少; 体外实验中发现, IL-22可以促进破骨细胞生成, 可能与关节病中骨和软骨的破坏有关. 据此推测IL-22参与CIA致病过程[18].

3.2 炎症性肠病(inflammatory bowel diseases, IBD) IBD包括克罗恩病(Crohn's disease, CD)和溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC). 目前认为IBD是遗传、环境和黏膜免疫3方面因素共同作用的结果, 其中免疫功能紊乱是IBD发病的关键因素之一[19]. Schmechel等[20]研究发现, CD患者血液中IL-22水平显著升高, 且与疾病活动度相关. IL-22刺激肠上皮细胞和上皮下肌成纤维细胞分泌多种抗微生物肽, 这些抗微生物肽通过各种机制进一步隔离以及杀灭入侵的病原体, 发挥抗炎、再生及增强肠上皮细胞迁移的作用[21]. UC患者外周血中IL-22水平、Th17、Th22细胞比例与健康对照组相比明显升高, 且与疾病活动度密切相关[22]. 而在小鼠UC模型中, 局部使用IL-22微注射靶向治疗的方式导入外源性IL-22, 结果证明IL-22以STAT3依赖方式上调黏液相关分子表达和产黏液杯状细胞重建, 有效地抑制炎症反应, 促进肠道局部炎症的快速愈合, 提示IL-22在UC炎症反应中可能起保护作用[23]. 另外一些研究也证明了这个观点, 在葡聚糖硫酸钠诱导的结肠炎模型中, *IL-22*基因敲除小鼠或用IL-22抗体中和野生型小鼠体内的IL-22, 都会导致小鼠的体重减轻, 恢复延迟, 加重结肠炎症及上皮细胞损伤[24]. Leppkes等[25]研究将IL-22缺陷的T细胞转移进入重组激活基因1(recombination activating gene 1, RAG1)缺陷的小鼠体内, 发现与转移了野生型T细胞的RAG1缺陷小鼠相比, 前者可导致严重的结肠炎, 进一步证实了IL-22在炎症性肠病中的保护性作用.

3.3 炎症性皮肤病 Th22细胞表达皮肤趋化因子受体CCR4和CCR10, 表明Th22细胞可能在皮肤的自稳调节和病理状态中发挥重要作用. Th22细胞在外周血单核细胞(peripheral blood mononuclear cell, PBMCs)中很少被发现, 而他们却可以从银屑病(psoriasis, PS)、过敏性湿疹(atopic eczema, AE)及过敏性接触性皮炎(allergic contact dermatitis, ACD)患者皮肤分离的T细胞群中被检测出来. 且在皮损组织中检测到IL-22$^+$T细胞的比例明显高于外周血单个核细胞中的比例, 提示IL-22$^+$T细胞富集于炎性皮损中[3]. Kagami等[26]在对银屑病患者皮肤及外周血的检测中发现血浆中IL-22的水平显著升高且与疾病的严重程度成正相关. 抗银屑病治疗可以明显降低皮损IL-22 mRNA的表达和血浆IL-22的水平[27].

3.4 系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE) SLE是一组病因不明、免疫调节紊乱所致的慢性系统性自身免疫性疾病. Th17细胞分泌的炎性细胞因子包括IL-22在内被认为是SLE的病因之一[28]. IL-22的靶器官包括皮肤、肾脏等, 而约80%的SLE患者有不同程度的皮肤、肾脏损害, 提示Th22细胞也可能在SLE的发病中起重要作用. 基于以上这些理论基础, Zhao等[29]研究报道SLE患者血液IL-22$^+$CD4$^+$T细胞、IL-22水平较健康对照组明显升高, 且IL-22$^+$CD4$^+$ T细胞与Th22比例及疾病活动性评分(SLE disease activity index, SLEDAI)呈明显的正相关. 经甲泼尼龙、环磷酰胺和羟氯喹治疗4 wk后, 大多数SLE患者Th22细胞比例及IL-22水平下降[30]. 新近的研究发现, 仅出现狼疮性皮肤病变的患者外周血Th22显著高于正常对照组, 而狼疮性肾炎的患者外周血Th22比例下降; 且Th22细胞比例与IL-22分泌呈正相关, Th22作为预测SLE疾病受累组织的指标较Th17更有价值[31].

3.5 其他自身免疫性疾病 Truchetet等[32]研究发现Th22细胞在系统性硬化病(systemic sclerosis, SSc)患者中较健康对照组明显升高. 此外, 系统性硬化症肺间质疾病与IL-22阳性细胞密切相关, Th22细胞也可能参与了SSc的病理过程. Hu等[33]研究发现, 免疫性血小板减少性紫癜(immune thrombocytopenic purpura, ITP)患者Th22细胞、Th17细胞、Th1细胞及血浆IL-22水平较正常对照组明显升高, 且Th22细胞比例分别与IL-22水平、Th17和Th1细胞比例呈正相关, 提示Th22、Th1、Th17细胞分化过程可能相互关

联, 共同参与ITP发病. 此外, 自身抗体阴性ITP患者Th22细胞比例明显高于自身抗体阳性患者. 大剂量糖皮质激素治疗后, 患者血清IL-22水平较治疗前明显下降, 且治疗前后IL-22水平均与Th1和Th22细胞比例呈正相关, 推测IL-22与Th1和Th22细胞在ITP中可能发挥协同致病作用[34]. Zhang等[16]研究发现, 与骨关节炎患者和健康对照组相比, 强直性脊柱炎(ankylosing spondylitis, AS)患者外周血Th22细胞比例显著升高; 此外, 他们还发现血浆IL-22水平与Th22细胞呈正相关, 这些发现提示Th22细胞及其细胞因子IL-22可能参与了AS的发病机制.

4 Th22和IL-22在感染性疾病中的作用

当机体遭受病原体侵袭, Th22细胞能够激活其他免疫细胞, 协助机体控制炎症, 通过参与维护上皮屏障的完整性, IL-22可阻止致病菌传播. Zheng等[9]研究发现在柠檬酸杆菌*C. rodentium*诱导的肠炎中, IL-22诱导小肠上皮细胞产生RegIIIβ及RegIIIγ抗菌蛋白来清除细菌感染; 敲除IL-22基因会导致感染小鼠肠上皮细胞损伤加重, 全身细菌的扩散及死亡率明显升高. 在革兰氏阴性细菌*K. pneumoniae*诱导的肺炎模型小鼠中IL-22同样发挥保护性作用, 细菌感染后IL-22表达增高, 而中和IL-22抗体则会使细菌清除率下降导致感染的扩散. 体外实验进一步表明IL-22可能通过诱导肺上皮细胞产生抗微生物蛋白lipocalin-2介导IL-22对细菌的防御作用[35].

IL-22在宿主抵御病毒感染的过程中也发挥了一定的作用. Kim等[36]研究发现Th22细胞比例下降和IL-22生成减少是HIV黏膜免疫发病机制的重要因素. 此外, 在体外肠上皮细胞培养体系中, 重组IL-22可以抵抗HIV病毒感染及TNF-α诱导的肠上皮细胞损伤. Kong等[37]通过建立柯萨奇病毒B3诱导的小鼠急性病毒性心肌炎模型, 发现心肌炎组小鼠Th22细胞、血浆IL-22水平及心肌组织IL-22、IL-22R1 mRNA较正常对照组升高, 中和IL-22后使模型组小鼠心肌炎症状加重, 并且降低Th22细胞比例和血浆IL-22水平, 明显促进心肌病毒的复制, IL-22通过IL-22-IL-22R通路发挥其抗病毒的保护性作用. 针对Th22细胞和IL-22-IL-22R途径可以为治疗急性病毒性心肌炎提供新的治疗思路. IL-22在慢性乙型病毒性肝炎(chronic hepatitis B, CHB)和急性乙型病毒性肝炎患者的肝内表达是增高的[38,39]. 然而乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染后升高的IL-22是发挥抗炎作用还是促炎作用目前尚存争议. 杨智等[40]在对慢性HBV感染者PBMCs中IL-22表达的研究中发现肝硬化患者IL-22的表达水平升高, 推测IL-22使患者清除病毒的能力下降, 从而使病情进入慢性迁延期. Zhang等[39]在HBV转基因小鼠模型的研究中发现单剂量注射IL-22增加肝脏炎症基因的表达, 但没有直接抑制病毒复制, 相反中和IL-22后却可以改善肝损害的严重程度. Park等[38]的研究发现, 在CHB患者肝内IL-22也是升高的, 且IL-22阳性T细胞与肝脏炎症分级、ALT和AST等呈正相关; 同时, *IL-22*转基因小鼠可以抵抗刀豆蛋白A诱导的急性肝损伤, 并加速部分肝切除后肝细胞再生. 既往有研究报道, IL-22并不能抑制丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)在体外培养体系中的复制[41], 然而我们不能排除IL-22可以通过调节干扰素的抗病毒活性间接影响HCV或HBV复制, 因为IL-22主要的下游信号STAT3可以调节干扰素介导的信号通路[42].

目前对Th22及IL-22在真菌及寄生虫感染中作用了解甚少. Liu等[43]研究发现机体感染白色念珠菌后, $CCR6^{+}IL\text{-}22^{+}CD4^{+}$记忆T细胞较健康对照组升高. Eyerich等[12]在体外皮肤感染模型中发现, 用Th22细胞上清液或重组的IL-22联合TNF-α作用于角质细胞可有效的抑制白色念珠菌的生长并维持上皮细胞的存活.

5 Th22和IL-22在肿瘤中的作用

目前关于Th22细胞在肿瘤微环境中的分化、调控及功能的研究尚少, 而关于Th22细胞在各系统肿瘤免疫中的作用是促进肿瘤生长还是抑制肿瘤免疫, 目前结论不一. 深入研究Th22细胞在肿瘤免疫中的作用机制, 将可能为肿瘤的预防、早期诊断和靶向免疫治疗提供更有效的策略.

5.1 消化系肿瘤 Wang等[44]研究证明IL-22在保护肝脏的同时也可能促进肝脏肿瘤的生成, 使肝细胞抗凋亡活性增强、增殖活性增加和肝癌易感性增加. Jiang等[45]的研究表明, IL-22在人类原发性肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)肿瘤浸润淋巴细胞(tumor infiltrated leukocytes, TILs)的表达较外周淋巴细胞增高, 且Ⅲ、Ⅳ期肿瘤组织IL-22的表达远远高于Ⅰ、Ⅱ期的肿瘤; 将肝癌患者的$IL\text{-}22^{+}$TILs与MHCC-97H(一株高转移性的肝癌细胞)同时注入小鼠体内, 可增

■创新盘点

由于Th17细胞也可分泌IL-22, 这就需要对原本归于Th17细胞的致病机制进行重新探讨, 本文总结了目前Th22细胞在疾病发生发展过程中的重要作用, 指出了尚存争议及未阐明的问题, 为进一步深入研究Th22细胞在不同疾病发病机制中的作用提供了新的依据.

■应用要点
全面深入了解Th22细胞的功能及其作用机制, 完善T细胞亚群理论, 有望在不远的将来生产出针对Th22细胞作用的生物制剂, 通过调控其分化及下游信号通路, 为疾病的诊断治疗开辟新的途径.

加MHCC-97H的生长和转移速度; 在二乙基亚硝胺(diethyl-nitrosamine, DEN)诱导的HCC模型中, *IL-22*基因敲除小鼠形成HCC的易感性明显降低. Park等[38]的研究表明, IL-22转基因小鼠肝脏部分切除后的肝细胞再生速度加快, 并且对DEN诱导HCC的易感性增加. IL-22的上调可能会促进损伤肝细胞的存活, 从而起到保护肝脏的作用, 但IL-22的长期刺激可能促进肝炎向肝癌的发展, 那些在炎症损伤过程中存活的肝细胞可能是原发性肝癌的前体细胞.

Zhuang等[46]研究发现, 与正常对照组相比, 胃癌患者体内也存在高水平的Th22细胞, 且与胃癌患者的病理TNM分期及总体生存率相关, Ⅲ-Ⅳ期胃癌患者Th22细胞比例高于Ⅰ-Ⅱ期胃癌患者. Zhuang等[46]研究小组也发现在胃癌患者肿瘤组织中IL-22$^+$CD4$^+$T细胞和Th22细胞的比例高于肿瘤引流淋巴结、癌旁组织和非肿瘤组织, 并与肿瘤的进展和患者的生存率相关联.

Xu等[47]研究发现IL-22$^+$CD4$^+$T细胞和Th22细胞在胰腺癌组织中的表达高于胰腺癌患者外周血及对照组外周血，且升高的IL-22、IL-22$^+$CD4$^+$T细胞和Th22细胞与肿瘤进展和淋巴结转移正相关.

5.2 呼吸系统肿瘤 Ye等[48]研究发现, Th22细胞在恶性胸腔积液(malignant pleural effusion, MPE)中的比例较外周血明显增高, 可能是由于局部炎性细胞因子和趋化因子增加引起Th22增多, 趋化轴CCL20/CCR6、CCL22/CCR4和/或CCL27/CCR10可能在趋化Th22细胞向胸膜腔转移的过程中发挥了重要作用. Zhang等[49]研究发现在非小细胞肺癌患者中, 肿瘤组织、恶性胸腔积液和血清高表达IL-22, 肿瘤通过自分泌的方式高表达IL-22增强其抗凋亡作用.

5.3 血液系统肿瘤 骨髓增生异常综合征(myelodysplastic syndromes, MDS)是血液系统免疫介导的造血干/祖细胞的恶性克隆性疾病, 具有向急性髓系白血病(acute myeloid leukemia, AML)转化的高风险. 国内学者研究发现MDS较高危组和较低危组Th22细胞及其效应因子、相关转录因子的表达水平明显低于正常对照组, 且与MDS较低危组相比, 较高危组Th22细胞比例降低, 随着疾病危险度的升高表现更加明显, 说明Th22细胞可能与MDS的发生发展紧密相关[50]. MDS可分为两个相对独立的阶段: 早期MDS(E-MDS)和晚期MDS(L-MDS). Shao等[51]研究指出, 较之E-MDS, L-MDS患者Th22细胞比例、IL-6、TNF-α mRNA的表达明显升高. Th22细胞水平的变化提示Th22细胞参与MDS的发生与发展, 其动态变化可作为反映疾病活动的新型生物学指标. 刘立民等[52]研究发现急性髓系白血病AML初诊组和AML缓解组的Th22细胞及其效应因子IL-22、IL-6、TNF-α的水平以及IL-22 mRNA的表达水平明显低于正常对照组, 而且AML缓解组Th22细胞比例及其效应因子、相关转录因子的表达水平较AML初诊组高, 提示AML患者疾病的控制达到完全缓解后Th22细胞得以一定程度回升, 说明Th22细胞可能与AML的发生发展呈负相关. 在急性淋巴细胞性白血病(acute lymphocytic leukemia, ALL)患者外周血中Th22细胞比例降低, 可能与ALL的发生发展呈负相关, ALL患者体内IL-6、TNF-α的低表达及TGF-β的过度表达可能抑制ALL中Th22细胞的分化发育[53].

6 结论

对Th22细胞的研究是近年来基础医学研究的一个热点, Th22的发现极大推进了我们对CD4$^+$T细胞在疾病中作用的了解. Th22细胞作为一种新型的辅助性T细胞亚群, 在自身免疫性疾病、感染性疾病、肿瘤中发挥重要作用. 但是否加剧或改善疾病的进展, 目前尚无定论, 仍有许多问题有待进一步解答. Th22细胞的生物学功能与IL-22并不能等同, 且Th22与其他T细胞亚群的关系尚不明确, Th22在疾病发病过程中的作用是非常复杂的, 其分化调控、下游信号通路、生理功能等尚不完全明确, Th22分泌的效应因子之间在疾病中如何相互作用还有待进一步深入研究, 全面深入了解Th22细胞的功能及其作用机制, 完善T细胞亚群理论, 有望在不远的将来生产出针对Th22细胞作用的生物制剂, 通过调控其分化及下游信号通路，为疾病的诊断治疗开辟新的途径.

7 参考文献

1 Akdis M, Palomares O, van de Veen W, van Splunter M, Akdis CA. TH17 and TH22 cells: a confusion of antimicrobial response with tissue inflammation versus protection. *J Allergy Clin Immunol* 2012; 129: 1438-1449; 1438-1449; [PMID: 22657405 DOI: 10.1016/j.jaci.2012.05.003]

2 Trifari S, Kaplan CD, Tran EH, Crellin NK, Spits H. Identification of a human helper T cell population that has abundant production of interleukin 22 and

is distinct from T(H)-17, T(H)1 and T(H)2 cells. *Nat Immunol* 2009; 10: 864-871 [PMID: 19578368 DOI: 10.1038/ni.1770]
3 Eyerich S, Eyerich K, Pennino D, Carbone T, Nasorri F, Pallotta S, Cianfarani F, Odorisio T, Traidl-Hoffmann C, Behrendt H, Durham SR, Schmidt-Weber CB, Cavani A. Th22 cells represent a distinct human T cell subset involved in epidermal immunity and remodeling. *J Clin Invest* 2009; 119: 3573-3585 [PMID: 19920355 DOI: 10.1172/JCI40202]
4 Duhen T, Geiger R, Jarrossay D, Lanzavecchia A, Sallusto F. Production of interleukin 22 but not interleukin 17 by a subset of human skin-homing memory T cells. *Nat Immunol* 2009; 10: 857-863 [PMID: 19578369]
5 Dumoutier L, Louahed J, Renauld JC. Cloning and characterization of IL-10-related T cell-derived inducible factor (IL-TIF), a novel cytokine structurally related to IL-10 and inducible by IL-9. *J Immunol* 2000; 164: 1814-1819 [PMID: 10657629]
6 Zhang N, Pan HF, Ye DQ. Th22 in inflammatory and autoimmune disease: prospects for therapeutic intervention. *Mol Cell Biochem* 2011; 353: 41-46 [PMID: 21384158 DOI: 10.1007/s11010-011-0772-y]
7 Nograles KE, Zaba LC, Shemer A, Fuentes-Duculan J, Cardinale I, Kikuchi T, Ramon M, Bergman R, Krueger JG, Guttman-Yassky E. IL-22-producing "T22" T cells account for upregulated IL-22 in atopic dermatitis despite reduced IL-17-producing TH17 T cells. *J Allergy Clin Immunol* 2009; 123: 1244-1252.e2 [PMID: 19439349 DOI: 10.1016/j.jaci.2009.03.041]
8 Cella M, Fuchs A, Vermi W, Facchetti F, Otero K, Lennerz JK, Doherty JM, Mills JC, Colonna M. A human natural killer cell subset provides an innate source of IL-22 for mucosal immunity. *Nature* 2009; 457: 722-725 [PMID: 18978771 DOI: 10.1038/nature07537]
9 Zheng Y, Valdez PA, Danilenko DM, Hu Y, Sa SM, Gong Q, Abbas AR, Modrusan Z, Ghilardi N, de Sauvage FJ, Ouyang W. Interleukin-22 mediates early host defense against attaching and effacing bacterial pathogens. *Nat Med* 2008; 14: 282-289 [PMID: 18264109 DOI: 10.1038/nm1720]
10 Xie MH, Aggarwal S, Ho WH, Foster J, Zhang Z, Stinson J, Wood WI, Goddard AD, Gurney AL. Interleukin (IL)-22, a novel human cytokine that signals through the interferon receptor-related proteins CRF2-4 and IL-22R. *J Biol Chem* 2000; 275: 31335-31339 [PMID: 10875937 DOI: 10.1074/jbc.M005304200]
11 Lejeune D, Dumoutier L, Constantinescu S, Kruijer W, Schuringa JJ, Renauld JC. Interleukin-22 (IL-22) activates the JAK/STAT, ERK, JNK, and p38 MAP kinase pathways in a rat hepatoma cell line. Pathways that are shared with and distinct from IL-10. *J Biol Chem* 2002; 277: 33676-33682 [PMID: 12087100 DOI: 10.1074/jbc.M204204200]
12 Eyerich S, Wagener J, Wenzel V, Scarponi C, Pennino D, Albanesi C, Schaller M, Behrendt H, Ring J, Schmidt-Weber CB, Cavani A, Mempel M, Traidl-Hoffmann C, Eyerich K. IL-22 and TNF-α represent a key cytokine combination for epidermal integrity during infection with Candida albicans. *Eur J Immunol* 2011; 41: 1894-1901 [PMID: 21469124 DOI: 10.1002/eji.201041197]
13 Wolk K, Witte E, Witte K, Warszawska K, Sabat R. Biology of interleukin-22. *Semin Immunopathol* 2010; 32: 17-31 [PMID: 20127093 DOI: 10.1007/s00281-009-0188-x]
14 Zenewicz LA, Yancopoulos GD, Valenzuela DM, Murphy AJ, Karow M, Flavell RA. Interleukin-22 but not interleukin-17 provides protection to hepatocytes during acute liver inflammation. *Immunity* 2007; 27: 647-659 [PMID: 17919941 DOI: 10.1016/j.immuni.2007.07.023]
15 Wolk K, Witte E, Hoffmann U, Doecke WD, Endesfelder S, Asadullah K, Sterry W, Volk HD, Wittig BM, Sabat R. IL-22 induces lipopolysaccharide-binding protein in hepatocytes: a potential systemic role of IL-22 in Crohn's disease. *J Immunol* 2007; 178: 5973-5981 [PMID: 17442982]
16 Zhang L, Li YG, Li YH, Qi L, Liu XG, Yuan CZ, Hu NW, Ma DX, Li ZF, Yang Q, Li W, Li JM. Increased frequencies of Th22 cells as well as Th17 cells in the peripheral blood of patients with ankylosing spondylitis and rheumatoid arthritis. *PLoS One* 2012; 7: e31000 [PMID: 22485125 DOI: 10.1371/journal.pone.0031000]
17 Ikeuchi H, Kuroiwa T, Hiramatsu N, Kaneko Y, Hiromura K, Ueki K, Nojima Y. Expression of interleukin-22 in rheumatoid arthritis: potential role as a proinflammatory cytokine. *Arthritis Rheum* 2005; 52: 1037-1046 [PMID: 15818686 DOI: 10.1002/art.20965]
18 Geboes L, Dumoutier L, Kelchtermans H, Schurgers E, Mitera T, Renauld JC, Matthys P. Proinflammatory role of the Th17 cytokine interleukin-22 in collagen-induced arthritis in C57BL/6 mice. *Arthritis Rheum* 2009; 60: 390-395 [PMID: 19180498 DOI: 10.1002/art.24220]
19 万姗姗, 曹倩. Th17细胞在炎症性肠病发生过程中的效应应答. 世界华人消化杂志 2013; 21: 574-578
20 Schmechel S, Konrad A, Diegelmann J, Glas J, Wetzke M, Paschos E, Lohse P, Göke B, Brand S. Linking genetic susceptibility to Crohn's disease with Th17 cell function: IL-22 serum levels are increased in Crohn's disease and correlate with disease activity and IL23R genotype status. *Inflamm Bowel Dis* 2008; 14: 204-212 [PMID: 18022867 DOI: 10.1002/ibd.20315]
21 Brand S, Beigel F, Olszak T, Zitzmann K, Eichhorst ST, Otte JM, Diepolder H, Marquardt A, Jagla W, Popp A, Leclair S, Herrmann K, Seiderer J, Ochsenkühn T, Göke B, Auernhammer CJ, Dambacher J. IL-22 is increased in active Crohn's disease and promotes proinflammatory gene expression and intestinal epithelial cell migration. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2006; 290: G827-G838 [PMID: 16537974 DOI: 10.1152/ajpgi.00513.2005]
22 李莉, 曹江, 刘玲, 朱祖安, 吴克俭, 费素娟. 溃疡性结肠炎患者外周血IL-22及相关CD4 T细胞亚群的表达. 中华微生物学和免疫学杂志 2012; 32: 323-325
23 Sugimoto K, Ogawa A, Mizoguchi E, Shimomura Y, Andoh A, Bhan AK, Blumberg RS, Xavier RJ, Mizoguchi A. IL-22 ameliorates intestinal inflammation in a mouse model of ulcerative colitis. *J Clin Invest* 2008; 118: 534-544 [PMID: 18172556 DOI: 10.1172/jci33194]
24 Neufert C, Pickert G, Zheng Y, Wittkopf N, Warntjen M, Nikolaev A, Ouyang W, Neurath MF, Becker C. Activation of epithelial STAT3 regulates intestinal homeostasis. *Cell Cycle* 2010; 9: 652-655 [PMID: 20160497]
25 Leppkes M, Becker C, Ivanov II, Hirth S, Wirtz S, Neufert C, Pouly S, Murphy AJ, Valenzuela DM,

■同行评价
本文详尽地介绍了近年Th22细胞及其效应因子IL-22在自身免疫性疾病、感染性疾病和恶性肿瘤中的研究进展, 内容充实丰富、结构合理.

Yancopoulos GD, Becher B, Littman DR, Neurath MF. RORgamma-expressing Th17 cells induce murine chronic intestinal inflammation via redundant effects of IL-17A and IL-17F. *Gastroenterology* 2009; 136: 257-267 [PMID: 18992745 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.10.018]

26 Kagami S, Rizzo HL, Lee JJ, Koguchi Y, Blauvelt A. Circulating Th17, Th22, and Th1 cells are increased in psoriasis. *J Invest Dermatol* 2010; 130: 1373-1383 [PMID: 20032993 DOI: 10.1038/jid.2009.399]

27 Jabbari A, Johnson-Huang LM, Krueger JG. Role of the immune system and immunological circuits in psoriasis. *G Ital Dermatol Venereol* 2011; 146: 17-30 [PMID: 21317854]

28 Pan HF, Ye DQ, Li XP. Type 17 T-helper cells might be a promising therapeutic target for systemic lupus erythematosus. *Nat Clin Pract Rheumatol* 2008; 4: 352-353 [PMID: 18477998 DOI: 10.1038/ncprheum0815]

29 Zhao L, Jiang Z, Jiang Y, Ma N, Wang K, Zhang Y, Feng L. IL-22+CD4+ T-cells in patients with active systemic lupus erythematosus. *Exp Biol Med* (Maywood) 2013; 238: 193-199 [PMID: 23576801 DOI: 10.1177/1535370213477597]

30 Zhao L, Ma H, Jiang Z, Jiang Y, Ma N. Immunoregulation therapy changes the frequency of IL-22+CD4+ T cells in systemic lupus erythematosus patients. *Clin Exp Immunol* 2014 Mar 18. *[Epub ahead of print]* [PMID: 24635166 DOI: 10.1111/cei.12330]

31 Yang XY, Wang HY, Zhao XY, Wang LJ, Lv QH, Wang QQ. Th22, but not Th17 might be a good index to predict the tissue involvement of systemic lupus erythematosus. *J Clin Immunol* 2013; 33: 767-774 [PMID: 23435610 DOI: 10.1007/s10875-013-9878-1]

32 Truchetet ME, Brembilla NC, Montanari E, Allanore Y, Chizzolini C. Increased frequency of circulating Th22 in addition to Th17 and Th2 lymphocytes in systemic sclerosis: association with interstitial lung disease. *Arthritis Res Ther* 2011; 13: R166 [PMID: 21996293 DOI: 10.1186/ar3486]

33 Hu Y, Li H, Zhang L, Shan B, Xu X, Li H, Liu X, Xu S, Yu S, Ma D, Peng J, Hou M. Elevated profiles of Th22 cells and correlations with Th17 cells in patients with immune thrombocytopenia. *Hum Immunol* 2012; 73: 629-635 [PMID: 22537755 DOI: 10.1016/j.humimm.2012.04.015]

34 Cao J, Chen C, Li L, Ling-yu Z, Zhen-yu L, Zhi-ling Y, Wei C, Hai C, Sang W, Kai-lin X. Effects of high-dose dexamethasone on regulating interleukin-22 production and correcting Th1 and Th22 polarization in immune thrombocytopenia. *J Clin Immunol* 2012; 32: 523-529 [PMID: 22289995 DOI: 10.1007/s10875-012-9649-4]

35 Aujla SJ, Chan YR, Zheng M, Fei M, Askew DJ, Pociask DA, Reinhart TA, McAllister F, Edeal J, Gaus K, Husain S, Kreindler JL, Dubin PJ, Pilewski JM, Myerburg MM, Mason CA, Iwakura Y, Kolls JK. IL-22 mediates mucosal host defense against Gram-negative bacterial pneumonia. *Nat Med* 2008; 14: 275-281 [PMID: 18264110 DOI: 10.1038/nm1710]

36 Kim CJ, Nazli A, Rojas OL, Chege D, Alidina Z, Huibner S, Mujib S, Benko E, Kovacs C, Shin LYY, Grin A, Kandel G, Loutfy M, Ostrowski M, Gommerman JL, Kaushic C, Kaul R. A role for mucosal IL-22 production and Th22 cells in HIV-associated mucosal immunopathogenesis. *Mucosal Immunology* 2012; 5: 670-680 [DOI: 10.1038/Mi.2012.72]

37 Kong Q, Wu WF, Yang F, Liu YL, Xue YM, Gao MS, Lai WY, Pan XF, Yan YL, Pang Y, Deng YH. Increased expressions of IL-22 and Th22 cells in the coxsackievirus B3-induced mice acute viral myocarditis. *Virol J* 2012; 9: 232 [PMID: 23050732 DOI: 10.1186/1743-422x-9-232]

38 Park O, Wang H, Weng H, Feigenbaum L, Li H, Yin S, Ki SH, Yoo SH, Dooley S, Wang FS, Young HA, Gao B. In vivo consequences of liver-specific interleukin-22 expression in mice: Implications for human liver disease progression. *Hepatology* 2011; 54: 252-261 [PMID: 21465510 DOI: 10.1002/hep.24339]

39 Zhang Y, Cobleigh MA, Lian JQ, Huang CX, Booth CJ, Bai XF, Robek MD. A proinflammatory role for interleukin-22 in the immune response to hepatitis B virus. *Gastroenterology* 2011; 141: 1897-1906 [PMID: 21708106 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.06.051]

40 杨智, 陈洪涛, 张毅, 吴诗品, 杨智, 张毅. IL-22和IL-17 mRNA在慢性HBV感染者PBMCs中的表达及其意义. 世界华人消化杂志 2012; 20: 3380-3384

41 Dambacher J, Beigel F, Zitzmann K, Heeg MH, Göke B, Diepolder HM, Auernhammer CJ, Brand S. The role of interleukin-22 in hepatitis C virus infection. *Cytokine* 2008; 41: 209-216 [PMID: 18191408 DOI: 10.1016/j.cyto.2007.11.016]

42 Ho HH, Ivashkiv LB. Role of STAT3 in type I interferon responses. Negative regulation of STAT1-dependent inflammatory gene activation. *J Biol Chem* 2006; 281: 14111-14118 [PMID: 16571725 DOI: 10.1074/jbc.M511797200]

43 Liu Y, Yang B, Zhou M, Li L, Zhou H, Zhang J, Chen H, Wu C. Memory IL-22-producing CD4+ T cells specific for Candida albicans are present in humans. *Eur J Immunol* 2009; 39: 1472-1479 [PMID: 19449309 DOI: 10.1002/eji.200838811]

44 Wang Z, Yang L, Jiang Y, Ling ZQ, Li Z, Cheng Y, Huang H, Wang L, Pan Y, Wang Z, Yan X, Chen Y. High fat diet induces formation of spontaneous liposarcoma in mouse adipose tissue with overexpression of interleukin 22. *PLoS One* 2011; 6: e23737 [PMID: 21897855 DOI: 10.1371/journal.pone.0023737]

45 Jiang R, Tan Z, Deng L, Chen Y, Xia Y, Gao Y, Wang X, Sun B. Interleukin-22 promotes human hepatocellular carcinoma by activation of STAT3. *Hepatology* 2011; 54: 900-909 [PMID: 21674558 DOI: 10.1002/hep.24486]

46 Zhuang Y, Peng LS, Zhao YL, Shi Y, Mao XH, Guo G, Chen W, Liu XF, Zhang JY, Liu T, Luo P, Yu PW, Zou QM. Increased intratumoral IL-22-producing CD4(+) T cells and Th22 cells correlate with gastric cancer progression and predict poor patient survival. *Cancer Immunol Immunother* 2012; 61: 1965-1975 [PMID: 22527243 DOI: 10.1007/s00262-012-1241-5]

47 Xu X, Tang Y, Guo S, Zhang Y, Tian Y, Ni B, Wang H. Increased intratumoral interleukin 22 levels and frequencies of interleukin 22-producing CD4+ T cells correlate with pancreatic cancer progression. *Pancreas* 2014; 43: 470-477 [PMID: 24622082 DOI: 10.1097/mpa.0000000000000055]

48 Ye ZJ, Zhou Q, Yin W, Yuan ML, Yang WB, Xiang F, Zhang JC, Xin JB, Xiong XZ, Shi HZ. Interleukin 22-producing CD4+ T cells in malignant pleural effusion. *Cancer Lett* 2012; 326: 23-32 [PMID: 22809567 DOI: 10.1016/j.canlet.2012.07.013]

49 Zhang W, Chen Y, Wei H, Zheng C, Sun R, Zhang J, Tian Z. Antiapoptotic activity of autocrine inter-

leukin-22 and therapeutic effects of interleukin-22-small interfering RNA on human lung cancer xenografts. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 6432-6439 [PMID: 18927282 DOI: 10.1158/1078-0432.ccr-07-4401]

50 韩雪花, 刘立民, 张彦明, 张兴霞, 赵广圣, 司叶俊, 林国强, 何广胜, 吴德沛. 骨髓增生异常综合征患者外周血Th22细胞水平的变化及意义. 中国免疫学杂志 2013; 29: 62-65

51 Shao LL, Zhang L, Hou Y, Yu S, Liu XG, Huang XY, Sun YX, Tian T, He N, Ma DX, Peng J, Hou M. Th22 cells as well as Th17 cells expand differentially in patients with early-stage and late-stage myelodysplastic syndrome. *PLoS One* 2012; 7: e51339 [PMID: 23236476 DOI: 10.1371/journal.pone.0051339]

52 刘立民, 张兴霞, 张彦明, 赵广圣, 孙雨梅, 吴德沛. 急性髓系白血病患者外周血Th22细胞水平的变化. 中华血液学杂志 2012; 33: 133-134

53 刘立民, 张兴霞, 赵广圣, 司叶俊, 林国强, 张彦明, 何广胜, 吴德沛. 急性淋巴细胞白血病患者外周血Th22细胞水平的变化及意义. 中华血液学杂志 2012; 33: 985-988

编辑 田滢 电编 鲁亚静



世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2014年5月8日; 22(13): 1820-1825
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

研究快报 RAPID COMMUNICATION

解毒化瘀健脾方及拆方对胃黏膜异型增生大鼠多基因去甲基化诱导表达的比较

李志钢, 张 伟, 邱作成, 纪 勇, 李 玲, 夏宽宏

■背景资料
肠化生与胃黏膜异型增生属胃癌前病变阶段, 选择合适的药物可有效阻断胃癌前病变向胃癌的转变.

李志钢, 邱作成, 新疆维吾尔自治区中医医院专家门诊 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830000
张伟, 新疆维吾尔自治区中医医院耳鼻喉科 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830000
纪勇, 李玲, 新疆医科大学动物实验中心 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830000
夏宽宏, 新疆维吾尔自治区中医医院病理科 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830000
李志钢, 副主任医师, 主要从事消化系统疾病的临床与实验的研究.
国家自然科学基金资助项目, No. 81060288
作者贡献分布: 本课题由李志钢与张伟共同设计; 研究过程由李志钢、张伟及邱作成共同完成; 病理分析由夏宽宏完成; 数据分析由纪勇与李玲共同完成; 写作由李志钢完成、纪勇及李玲进行修改.
通讯作者: 张伟, 主管护师, 830000, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市黄河路116号, 新疆维吾尔自治区中医医院耳鼻喉科.
doctorzhangwei@163.com
电话: 0991-5857265
收稿日期: 2014-02-20 修回日期: 2014-03-18
接受日期: 2014-03-31 在线出版日期: 2014-05-08

Comparative analysis of each prescription of Jiedu Huayu Jianpi Fang for multiple gene demethylation and expression in mucosal dysplasia in rats

Zhi-Gang Li, Wei Zhang, Zuo-Cheng Qiu, Yong Ji, Ling Li, Kuan-Hong Xia

Zhi-Gang Li, Zuo-Cheng Qiu, Department of Expert Outpatient Service, Uygur Autonomous Region Hospital of Traditional Chinese Medicine, Urumqi 830000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China
Wei Zhang, Department of ENT, Uygur Autonomous Region Hospital of Traditional Chinese Medicine, Urumqi 830000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China
Yong Ji, Ling Li, Animal Experimental Center of Xinjiang Medical University, Urumqi 830000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China
Kuan-Hong Xia, Department of Pathology, Uygur Autonomous Region Hospital of Traditional Chinese Medicine, Urumqi 830000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81060288
Correspondence to: Wei Zhang, Chief Nurse, Department of ENT, the Xinjiang Uygur Autonomous Region Hospital of Traditional Chinese Medicine, 116 Huanghe Road, Urumqi 830000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. doctorzhangwei@163.com
Received: 2014-02-20 Revised: 2014-03-18
Accepted: 2014-03-31 Published online: 2014-05-08

Abstract

AIM: To evaluate the contribution of each prescription of Jiedu Huayu Jianpi Fang to the therapeutic effects on gastric mucosal dysplasia from the perspective of induced gene expression.

METHODS: We divided gastric mucosal dysplasia rats into a model control (MG) group, a Western medicine (retinoic acid) treatment (PCG) group, a combined prescription (Jiedu Huayu Jianpi) treatment (A) group, and Jiedu (B), Huayu (C), Yiqi (D), Yangying (E) and Liqi (F) single prescription treatment groups. Normal rats were used as controls (CG). Methylation specific PCR technique was used to detect the methylation status of *p16*, *PETN*, *Thbs1*, *E-Cadherin*, and *Runx3* genes in gastric mucosal cells of rats. Real-time PCR and immunohistochemistry were used to detect the mRNA and protein expression of each genes.

RESULTS: All of the Jiedu Huayu Jianpi treatment groups showed a certain degree of demethylation of *p16*, *PETN*, *Thbs1*, *E-Cadherin*, and *Runx3* gene. Compared with group CG, the mRNA expression of *p16* ($P < 0.01$), *PETN*, *E-Cadherin* and *Thbs1* in group A, *Thbs1* in group B, *p16*, *PETN* and *Thbs1* in group C, *Thbs1* in group E, *p16* and *Thbs1* in group F increased significantly ($P < 0.05$ for all); and the protein expression of p16, PTEN, E-cad, RUNX3, and THBS1 in group A, p16 in group B, p16 and THBS1 in group C, p16, PTEN, E-cad and THBS1 in group D, p16, E-cad, RUNX3 and THBS1 in group E, p16, PTEN, E-cad, RUNX3 and THBS1 in group F increased significantly ($P < 0.05$ for all). The effect of Jiedu Huayu Jianpi Fang on gastric mucosal dysplasia was the most prominent, followed by Liqi, Yangyin, Huayu, Yiqi and Jiedu single prescriptions.

CONCLUSION: The effect of Jiedu Huayu Jianpi Fang on gastric mucosal dysplasia is much better than those of each single prescription. Gastric

■同行评议者
李康, 副教授, 广东药学院药科学院药物分析教研室

mucosal dysplasia should be treated mainly by means of Liqi and Yangyin.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Jiedu Huayu Jianpi; Gastric mucosal dysplasia; Methylmion specific PCR; Real-time PCR; Immunohistochemistry

Li ZG, Zhang W, Qiu ZC, Ji Y, Li L, Xia KH. Comparative analysis of each prescription of Jiedu Huayu Jianpi Fang for multiple gene demethylation and expression in mucosal dysplasia in rats. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(13): 1820-1825 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1820.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1820

摘要

目的: 从诱导基因表达角度评估解毒化瘀健脾方及拆方对胃黏膜异型增生模型大鼠治疗的贡献作用.

方法: 甲基化特异性PCR(methylmion specific PCR, MSP)法检测正常对照组、胃黏膜异型增生组、西药维甲酸治疗组、解毒化瘀健脾全组方治疗组、中药单组方解毒组、化瘀组、益气组、养阴组、理气组抑癌基因及肿瘤相关基因*p16*、*PETN*、凝血栓蛋白酶基因1(thrombospondin 1, *Thbs1*)、*E-Cadherin*、*Runx3*的甲基化程度; Real-time PCR及免疫组织化学法检测解毒化瘀健脾中药各组处理因促使各基因去甲基化导致的mRNA及蛋白表达水平表达变化.

结果: 解毒化瘀健脾方及各拆方组均可一定程度实现*p16*、*PETN*、*Thbs1*、*E-Cadherin*、*Runx3*的去甲基化; 转录水平各组相比CG组基因表达变化分别为: A组*p16*极显著升高($P<0.01$), *PETN*、*E-Cadherin*、*Thbs1*、B组*Thbs1*、C组*p16*、*PETN*、*Thbs1*、E组*Thbs1*、F组*p16*、*Thbs1*显著升高($P<0.05$); 蛋白水平各组相比CG组蛋白表达的变化为: A组p16、PTEN、E-Cadherin、RUNX3、THBS1、B组p16、C组p16、THBS1、D组除RUNX3外的蛋白、E组除PTEN的蛋白、F组除THBS1外的蛋白均显著上调($P<0.05$); 统计各组在转录和蛋白翻译水平的变化积分, 结果表明解毒化瘀健脾中药方贡献分值最为突出, 其次为单组方理气组、养阴组、化瘀、益气组及解毒组.

结论: 解毒化瘀健脾方对胃黏膜异型增生的治疗作用优于各拆方治疗组, 对胃黏膜异型增生的治疗应以理气养阴为主.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: **解毒化瘀健脾**; **胃黏膜异型增生**; MSP; Real-time PCR; **免疫组织化学**

核心提示: 解毒化瘀健脾中药全组方相比各组拆方对于胃黏膜异型增生的治疗作用更佳, 对于胃黏膜异型增生的治疗应以理气养阴为主.

李志钢, 张伟, 邱作成, 纪勇, 李玲, 夏宽宏. 解毒化瘀健脾方及拆方对胃黏膜异型增生大鼠多基因去甲基化诱导表达的比较. 世界华人消化杂志 2014; 22(13): 1820-1825 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1820.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1820

■研究前沿
抑癌基因及肿瘤相关基因的甲基化与胃癌的发生发展密切相关. 选择有效的药物干预, 逆转抑癌基因及肿瘤相关基因的甲基化状态可改变这些基因在转录和蛋白水平的表达, 可有效抑制胃癌前病变向胃癌的发展, 甚至转归.

0 引言

胃癌是常见的消化系癌症之一. 病死率居我国恶性肿瘤首位[1], 居世界癌症第2位[2], 每年死于此病者超过16万例, 约占全部肿瘤死亡的1/5[3]. 研究证实, 胃癌的发生发展是涉及多种抑癌基因及肿瘤相关基因参与的多步骤过程. 胃癌发生之前, 常经历被称为胃癌前病变的肠化生及胃黏膜异型增生阶段, 如何有效抑制胃癌前病变的发展, 逆转胃癌的发生成为胃癌防治的关键. 胃癌的发生涉及遗传学及表观遗传学两大作用机制, 其中表观遗传学机制的DNA甲基化在胃癌发生进展中具有重要的作用[4-6], 成为除基因突变和缺失之外的促使抑癌基因失活的第3种机制[7], 抑癌基因CpG岛甲基化也成为目前肿瘤分子生物学的研究热点. 甲基化常导致抑癌基因*p16*[8]、*PETN*、凝血栓蛋白酶基因1(thrombospondin 1, *Thbs1*)[9]以及肿瘤远端转移相关基因上皮细胞钙黏蛋白基因(*E-Cadherin*)[10]、转录因子*Runx3*[11]等肿瘤相关基因的失活, 与胃癌的发生密切相关. DNA甲基化可因外界环境的干预而逆转, 因此选用合适的药物干预改变抑癌基因及肿瘤相关基因的甲基化程度, 可以一定程度抑制胃癌前病变的进程, 预防胃癌的发生.

本研究前期的研究发现解毒化瘀健脾方对于胃黏膜异型增生模型大鼠具有一定的治疗作用, 该中药方由解毒、化瘀、益气、养阴、理气5个单组方组成, 本研究拟通过检测该中药全组方及各单组方处理下胃黏膜异型增生大鼠*p16*、*PETN*、*Thbs1*、*E-Cadherin*、*Runx3*基因的甲基化逆转情况, 及检测各基因在mRNA和蛋白水平的表达变化, 从因去甲基化诱导基因表达的角度评估该中药全组方及各单组方对胃黏

■相关报道
范尧夫等研究认为P16蛋白异常表达对胃癌的发生发展、恶变程度密切相关. 刘芬、Kang等认为PTEN的甲基化与胃癌的发生及分化程度存在一定到各相关性, 但Sato的报道得出截然相反的结论. Yuecheng等研究发现胃癌中E-Cadherin因启动子区CpG岛的高甲基化而导致该基因的低表达. Kim等发现在胃癌中基因因甲基化低表达. Sakakura和刘芬等认为超过半数的胃癌组织和更高比例的胃癌细胞株中, 转录因子*Runx3*基因表达明显降低甚至缺失.

表 1 各检测基因甲基化特异性聚合酶链反应(MSP)扩增引物

引物	序列	扩增片段长度(bp)
p16	F: 5'-TGTTTGTTGAGGATAAGGATTATTC-3'	147
	R: 5'-AAAAAAAACACAAAAAAATCACGAC-3'	
PTEN	F: 5'-TTTTGAGTAGTTTTGGAAAGAGATG-3'	126
	R: 5'-AACCCTAACAATAATAACAAACAAC-3'	
E-cad	F: 5'-AGGTTATTAAAGAAAATCGTCGG-3'	128
	R: 5'-AAAAATTTTAAATAACATTTTAACGTA-3'	
RUNX3	F: 5'-TTTTTTATTTACGGGGAGAAAGC-3'	119
	R: 5'-AAAACACAACAAAACCTACAACGA-3'	
Thbs1	F: 5'-ATTATATTTTTGTTTTGGGAGTTGA-3'	132
	R: 5'-ATAACCACTCATATTTCTTAACATA-3'	

膜异型增生治疗的贡献大小, 为解毒化瘀健脾中药的临床应用提供参考依据.

1 材料和方法

1.1 材料 SPF级健康♂SD大鼠[SCXK(新)2011-0004]10只, 胃黏膜异型增生模型大鼠123只, 置于新疆医科大学实验动物中心SPF动物实验室条件下饲养. 解毒化瘀健脾方药材: 购自新疆医科大学附属中医医院门诊中药房, 经自治区中医医院中药药理鉴定室李玲主任中药师鉴定. 维甲酸: 上海第六制药厂生产, 批号: H31020263. 盐酸雷尼替丁胶囊: 赛诺菲安万特(杭州)制药有限公司产品, 产品批号: 2011; 雷尼替丁饲料. 由新疆新疆医科大学实验动物中心制成0.04%雷尼替丁的颗粒状SPF级大鼠饲料. 乙醇: 汕头市光华化学厂产品, 批号: 20110706. 精确称取解毒化瘀健脾方全组方及各拆方相应剂量的生药, 加入清洁自来水浸泡30 min, 常规煎煮2次, 30 min/次, 4层纱布过滤滤液, 2次药液混合后, 加热浓缩为提取药液. 为保证各拆方组及配伍组合组中组成药物的生药浓度与全方中相应生药浓度相同, 各拆方组及配伍组合组加热浓缩后的体积与全方煎液的浓缩体积相同. 制备好的药液, 装入玻璃器具中, 4 ℃放置备用.

1.2 方法

1.2.1 分组: 造模成功的胃黏膜异型增生大鼠随机分为: 模型组(MG组, n = 18)、维甲酸阳性对照组(positive control group, PCG组, n = 15)、解毒化瘀健脾方中药全方组(A组, n = 15)、解毒组(B组, n = 15)、化瘀组(C组, n = 15)、益气组(D组, n = 15)、养阴组(E组, n = 15)、理气组(F组, n = 15). 另外, 以SPF级♂SD大鼠10只为空白对照组(CG).

1.2.2 给药: 各组中药方剂量按实验动物与成人用药量的换算方法[12]计算, 同时采用中剂量动物实验标准方法给药. 解毒化瘀健脾方全方水煎剂30.5 g/(kg·d)+三七粉0.83 g/(kg·d)、及解毒组中药水煎剂6.5 g/(kg·d)、化瘀组化瘀中药水煎剂4 g/(kg·d)+三七粉0.83 g/(kg·d)、益气组中药水煎剂8.33 g/(kg·d)、养阴组中药水煎剂3.33 g/(kg·d)、理气组中药水煎剂8.33 g/(kg·d)分别灌胃相应各组大鼠; 维甲酸对照组灌服维甲酸悬浊液0.04 g/(kg·d). 其中空白对照组、模型组分别灌服生理盐水10 mL/(kg·d); 治疗6 wk后断颈处死.

1.2.3 取材及实验设计: 摘离全胃, 迅速沿大弯侧剪开, 冷生理盐水漂洗内容物, 再沿小弯侧剪开, 一半用滤纸吸干水分, 钝刀片从胃窦侧刮取胃黏膜约50-100 mg, 然后分别行甲基化特异性PCR(methylmion specific PCR, MSP)检测(引物如表1)、Real-time PCR检测(引物如表2)、免疫组织化学检测*p16*、*PETN*、*Thbs1*、*E-Cadherin*、*Runx3*的甲基化程度及各基因在转录与蛋白翻译水平的表达变化.

统计学处理 采用SPSS19.0统计软件进行数据分析, GraphPad Prism5.0软件绘图, 计数资料的比较采用秩和检验; Real-time PCR与免疫组织化学数据以3次独立试验mean±SD表示, 计量资料用单因素方差分析, 两两比较用q检验(LSD法), P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 MSP检测结果 各检测基因甲基化检测结果表明, 各药物处理组各检测基因的甲基化程度相比模型组均有下降, 或降至与正常对照组甲基化程度, 或降低为零, 即各组药物治疗均不同程度抑制了被检测基因的甲基化程度(图1).

表 2 各检测基因Real-time PCR引物

基因名	序列	扩增片段长度(bp)
p16	F: 5'-TCGTGCGGTATTTGCGGTAT-3'	184
	R: 5'-TAGTCTCGCGTTGCCAGAAG-3'	
PTEN	F: 5'-TACCAGGACCAGAGGAAACCT-3'	120
	R: 5'-GGGTGAGCACAAGATACTCCT-3'	
E-cad	F: 5'-GCGGCGAAGAAGACTAGAGA-3'	156
	R: 5'-ACTGGTAGGTAGAGTGGGACC-3'	
RUNX3	F: 5'-ACCGAGCCATCAAGGTTACTG-3'	101
	R: 5'-GTCTCCGAAGCGGTCGGG-3'	
Thbs1	F: 5'-ACTTGGACGCTCTGCCTATG-3'	248
	R: 5'-TTGCGGGGGTTGTAGA-3'	

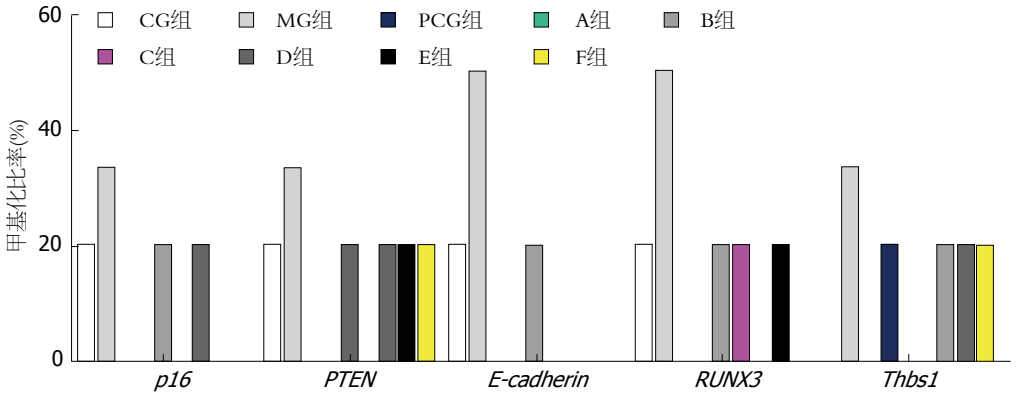


图 1 各组被检测基因甲基化比率. 每个基因在每组中的甲基化比率以每组中被检测出该基因甲基化的大鼠只数占每组被检测大鼠总数的百分比表示. MG组: 模型组; PCG组: 维甲酸阳性对照组; A组: 解毒化瘀健脾方中药全方组; B组: 解毒组; C组: 化瘀组; D组: 益气组; E组: 养阴组; F组: 理气组.

2.2 Real-time PCR检测结果 表3汇总了各治疗组对目标基因去甲基化影响的Real-time PCR结果, 可以清楚地看到, 在中药治疗组中, A组对*p16*、*PTEN*、*E-cadherin*、*Thbs1* 4个基因在mRNA水平的上调表达具有积极干预作用; 其次, C组、F组对*p16*、*Thbs1* 2个基因在mRNA水平的上调表达也具有积极干预作用; 除D组外, 各中药组方处理均使*Thbs1*在mRNA水平的表达显著增加.

表4从蛋白表达水平汇总了各治疗组对目标基因去甲基化影响的免疫组织化学结果, 结果显示: 在中药治疗组中, A组、E组、F组分别对4个被检测基因在蛋白水平的上调表达具有积极干预作用; 其次, D组对3个被检测基因在蛋白水平的上调表达具有积极干预作用; 而C组则使p16、Thbs1 2个蛋白及B组(解毒组)使Thbs1蛋白的表达量显著增加.

由于抑癌基因及肿瘤相关基因的甲基化而导致的此类基因失活与胃癌发生发展密切相关, 使用药物干预实现该类基因的去甲基化, 诱导该类基因表达对于控制胃癌前病变进程, 实现胃癌转归有重要的贡献作用. 因此, 本研究制定以下评分规则评估各组药物处理对于因药物治疗使各被检测基因去甲基化而诱导基因在mRNA水平和蛋白表达水平表达上调的贡献, 间接反映各组药物对于治疗胃黏膜异型增生的贡献. 以各处理组各被检测基因在mRNA水平和蛋白表达水平与模型对照组具有显著差异记1分, 具有极显著差异记2分, 汇总每组各检测基因总得分值为该组处理总得分. 结果显示, 中药全方组贡献分值最高(9分), 且高于阳性对照西药维甲酸治疗组(7分); 各拆方治疗组的贡献分值由高到低依次为理气组(6分)、养阴组(5分)、化瘀(4分)、益气组(4分)及解毒组(2分).

3 讨论

DNA甲基化是对DNA的一种化学修饰, 在维持染色体结构、胚胎发育、细胞分化及肿瘤发生等方面发挥重要的作用[13]. 近期人们对比分析几

■创新盘点

本研究采用MSP法检测解毒化瘀健脾中药各个组方干预后抑癌基因及肿瘤相关基因*p16*, *PETN*, *Thbs1*, *E-Cadherin*, *Runx3*甲基化受抑制程度及被检测基因在转录和蛋白水平的表达量变化, 且对比分析该中药方各组成成分对胃黏膜异型增生治疗的贡献贡献.

■应用要点

探讨解毒化瘀健脾中药全组方及各组拆方对胃黏膜异型增生抑癌基因、肿瘤相关基因*p16, PETN, Thbs1, E-Cadherin, Runx3*的甲基化及表达异常的干预作用, 分析各组药物处理治疗胃黏膜异型增生的贡献, 为确认采用中药治疗胃黏膜异型增生可能的侧重方向提供数据资料.

表 3 各治疗组对目标基因去甲基化影响的Real-time PCR结果汇总

基因	PCG组(维甲酸组)	A组(全方组)	B组(解毒组)	C组(化瘀组)	D组(益气组)	E组(养阴组)	F组(理气组)
p16	2.62 ± 0.61	1618.86 ± 262.44[b]	1.60 ± 0.62	1914.90 ± 238.17[a]	3.58 ± 1.27	1.53 ± 0.50	1744.58 ± 377.63[a]
PTEN	1.02 ± 0.07[a]	1.06 ± 0.07[a]	0.67 ± 0.10	0.06 ± 0.02[a]	0.96 ± 0.11	0.69 ± 0.12	0.003 ± 0.002
E-cadherin	0.87 ± 0.06[a]	0.97 ± 0.04[a]	0.83 ± 0.05	0.77 ± 0.06	0.67 ± 0.04	0.76 ± 0.07	0.73 ± 0.11
RUNX3	0.88 ± 0.04[a]	0.80 ± 0.03	0.65 ± 0.06	0.71 ± 0.07	0.74 ± 0.05	0.67 ± 0.03	0.50 ± 0.04
Thbs1	1.65 ± 0.08[a]	1.49 ± 0.09[a]	1.51 ± 0.10[a]	1.58 ± 0.19[a]	0.98 ± 0.08	1.59 ± 0.11[a]	1.35 ± 0.13[a]

[a]*P*<0.05; [b]*P*<0.01 *vs* 同一被检测基因对应空白对照组(CG组, 相对表达量为1, 表中未列出).

表 4 各治疗组对目标基因去甲基化影响的免疫组织化学结果汇总

基因	PCG组(维甲酸组)	A组(全方组)	B组(解毒组)	C组(化瘀组)	D组(益气组)	E组(养阴组)	F组(理气组)
p16	0.78 ± 0.11[a]	1.61 ± 0.10[a]	1.51 ± 0.10[a]	0.80 ± 0.11[a]	1.22 ± 0.10[a]	1.12 ± 0.08[a]	0.55 ± 0.05[a]
PTEN	0.74 ± 0.21	1.07 ± 0.11[a]	0.50 ± 0.07	0.67 ± 0.06	0.97 ± 0.10[a]	0.70 ± 0.08	1.06 ± 0.19[a]
E-cadherin	0.34 ± 0.09	1.07 ± 0.07[a]	0.23 ± 0.06	0.26 ± 0.04	1.04 ± 0.06[a]	1.07 ± 0.09[a]	1.02 ± 0.09[a]
RUNX3	0.85 ± 0.12[a]	0.58 ± 0.07	0.44 ± 0.10	0.38 ± 0.04	0.70 ± 0.12	1.46 ± 0.11[a]	1.06 ± 0.07[a]
Thbs1	0.51 ± 0.03[a]	0.52 ± 0.07[a]	0.24 ± 0.06	0.63 ± 0.05[a]	0.26 ± 0.06	0.44 ± 0.06[a]	0.27 ± 0.03

[a]*P*<0.05 *vs* 同一被检测基因对应空白对照组(CG组, 相对表达量为1, 表中未列出).

种癌、癌旁组织和正常组织的DNA, 发现某些癌基因的低甲基化和抑癌基因的高甲基化改变是细胞癌变的重要特征[14,15]. 由于甲基化调节基因表达的过程是可逆且受环境因素的影响, 因此可以选择合适的药物干预达到去甲基化, 诱导相关基因蛋白上调表达, 从而控制癌症发展进程. 本研究的结果也表明, 解毒化瘀健脾中药无论是全组方还是单组方, 均能够一定程度的实现被检测基因的去甲基化, 预示解毒化瘀健脾中药对于控制胃癌前病变进程具有调节作用.

抑癌基因及肿瘤相关基因的异常表达与肿瘤的发生发展密切相关. 抑癌基因*p16*可通过与CDK4/6结合抑制后者的作用, 进而低磷酸化RB蛋白, 调控G_1/S转变而抑制细胞增殖[8], 胃癌中该基因异常甲基化是使其失活的主要机制[16], 该基因蛋白异常表达与胃癌的发生发展、恶变程度、淋巴结转移预后有密切关系[17]. 肿瘤远端转移相关基因*E-cadherin*因启动子区CpG岛的高甲基化而导致该基因的低表达的现象在胃癌、结直肠癌、乳腺癌及前列腺癌等肿瘤中均得到证实[10]. Thbs1具抑制肿瘤发生发展的作用[9], 据文献报道胃癌[18,19]中因该基因甲基化而导致该蛋白表达量的下调. 此外, 超过半数的胃癌组织和更高比例的胃癌细胞株中, 转录因子*Runx3*基因表达明显降低甚至缺失[20,21]. 本研究Real-time PCR及免疫组织化学结果均表明, 该基因无论在mRNA水平或蛋白水平, 解毒化瘀健脾方及拆方干预均可一定程度诱导以上被检测基因表达量上调. 抑癌基因*PTEN*与胃癌的关系文献报道较少, 且结论并不一致, 部分学者认为该基因的甲基化与胃癌的发生及分化程度存在相关性[22,23], 也有研究得出截然相反的结论[24]. 我们的研究结果显示, 解毒化瘀健脾方及拆方的干预均使异型增生胃黏膜中该基因甲基化程度降低, 也诱导该基因在mRNA和蛋白水平表达量增加.

汇总各药物处理组诱导的基因表达变化与模型对照组间的差异显著性积分, 结果表明: 解毒化瘀健脾中药全组方对于诱导基因表达的贡献分值最高; 单组方中理气与养阴组总积分较高. 该结果从侧面提示我们应选择解毒化瘀健脾中药全组方用于胃黏膜异型增生治疗, 且应以理气养阴为主. 此外, 该中药方在胃黏膜异型增生的治疗中*P16*、*E-Cadherin*、*PTEN*、*Thbs1*相比*Runx3*更为易感, 其中抑癌基因*Thbs1*对该

药物干预的易感性最为突出.

该研究为解毒化瘀健脾中药的临床应用提供了分子生物学方面的参考依据. 胃癌的发生还涉及其他多种抑癌基因的参与, 解毒化瘀健脾方及拆方对胃癌前病变的干预贡献还应结合临床病理生理的变化得出进一步结论.

4 参考文献

1 Jemal A, Siegel R, Xu J, Ward E. Cancer statistics, 2010. *CA Cancer J Clin* 2010; 60: 277-300 [PMID: 20610543 DOI: 10.3322/caac.20073]
2 胡品津, 刘新光. 消化内科学. 第1版. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 34
3 梁国英. 谢晶日教授治疗慢性萎缩性胃炎伴肠化及异型增生经验举隅. 中医药信息 2013; 30: 72-73
4 刘玺, 陈卫刚, 李睿, 刘芳, 刘晓燕, 康雪, 马聪, 窦玉琴, 郑勇. 新疆哈萨克族胃癌中Smad4基因启动子的甲基化状态. 世界华人消化杂志 2013; 21: 1907-1913
5 Saito K, Kawakami K, Matsumoto I, Oda M, Watanabe G, Minamoto T. Long interspersed nuclear element 1 hypomethylation is a marker of poor prognosis in stage IA non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 2010; 16: 2418-2426 [PMID: 20371677 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-09-2819]
6 朱新江, 戴冬秋. 表遗传学与胃肠道肿瘤. 世界华人消化杂志 2006; 14: 3251-3256
7 Lund AH, van Lohuizen M. Epigenetics and cancer. *Genes Dev* 2004; 18: 2315-2335 [PMID: 15466484 DOI: 10.1101/gad.1232504]
8 王燕, 周力, 陈晓琴, 张维, 王岚. 巢式MSP法检测胃癌患者血浆p16, MGMT基因甲基化. 世界华人消化杂志 2010; 18: 384-387
9 Filleur S, Volpert OV, Degeorges A, Voland C, Reiher F, Clézardin P, Bouck N, Cabon F. In vivo mechanisms by which tumors producing thrombospondin 1 bypass its inhibitory effects. *Genes Dev* 2001; 15: 1373-1382 [PMID: 11390357 DOI: 10.1101/gad.193501]
10 Yuecheng Y, Hongmei L, Xiaoyan X. Clinical evaluation of E-cadherin expression and its regulation mechanism in epithelial ovarian cancer. *Clin Exp Metastasis* 2006; 23: 65-74 [PMID: 16826427 DOI: 10.1007/s10585-006-9020-3]
11 Bangsow C, Rubins N, Glusman G, Bernstein Y, Negreanu V, Goldenberg D, Lotem J, Ben-Asher E, Lancet D, Levanon D, Groner Y. The RUNX3 gene--sequence, structure and regulated expression. *Gene* 2001; 279: 221-232 [PMID: 11733147 DOI: 10.1016/S0378-1119(01)00760-0]
12 苗明三. 实验动物学和动物实验技术. 北京: 中国中医药出版社, 1997: 144
13 Li Y, Tollefsbol TO. Impact on DNA methylation in cancer prevention and therapy by bioactive dietary components. *Curr Med Chem* 2010; 17: 2141-2151 [PMID: 20423306 DOI: 10.2174/092986710791299966]
14 Wong ML, Tao Q, Fu L, Wong KY, Qiu GH, Law FB, Tin PC, Cheung WL, Lee PY, Tang JC, Tsao GS, Lam KY, Law S, Wong J, Srivastava G. Aberrant promoter hypermethylation and silencing of the critical 3p21 tumour suppressor gene, RASSF1A, in Chinese oesophageal squamous cell carcinoma. *Int J Oncol* 2006; 28: 767-773 [PMID: 16465383]
15 Fang JY, Lu R, Mikovits JA, Cheng ZH, Zhu HY, Chen YX. Regulation of hMSH2 and hMLH1 expression in the human colon cancer cell line SW1116 by DNA methyltransferase 1. *Cancer Lett* 2006; 233: 124-130 [PMID: 16473673 DOI: 10.1016/j.canlet.2005.03.005]
16 Li Q, Wang X, Lu Z, Zhang B, Guan Z, Liu Z, Zhong Q, Gu L, Zhou J, Zhu B, Ji J, Deng D. Polycomb CBX7 directly controls trimethylation of histone H3 at lysine 9 at the p16 locus. *PLoS One* 2010; 5: e13732 [PMID: 21060834 DOI: 10.1371/journal.pone.0013732]
17 范尧夫, 魏睦新. 胃癌癌前病变的研究进展及防治对策. 世界华人消化杂志 2012; 20: 1807-1812
18 Guo W, Dong Z, He M, Guo Y, Guo J, Chen Z, Yang Z, Kuang G. Aberrant methylation of thrombospondin-1 and its association with reduced expression in gastric cardia adenocarcinoma. *J Biomed Biotechnol* 2010; 2010: 721485 [PMID: 20300551]
19 Kim JH, Jung EJ, Lee HS, Kim MA, Kim WH. Comparative analysis of DNA methylation between primary and metastatic gastric carcinoma. *Oncol Rep* 2009; 21: 1251-1259 [PMID: 19360301 DOI: 10.3892/or_00000348]
20 Oshimo Y, Oue N, Mitani Y, Nakayama H, Kitadai Y, Yoshida K, Ito Y, Chayama K, Yasui W. Frequent loss of RUNX3 expression by promoter hypermethylation in gastric carcinoma. *Pathobiology* 2004; 71: 137-143 [PMID: 15051926 DOI: 10.1159/000076468]
21 Sakakura C, Hagiwara A, Miyagawa K, Nakashima S, Yoshikawa T, Kin S, Nakase Y, Ito K, Yamagishi H, Yazumi S, Chiba T, Ito Y. Frequent downregulation of the runt domain transcription factors RUNX1, RUNX3 and their cofactor CBFB in gastric cancer. *Int J Cancer* 2005; 113: 221-228 [PMID: 15386419 DOI: 10.1002/ijc.20551]
22 刘芬, 于皆平, 于红刚. 胃癌中抑癌基因PTEN甲基化状态的检测. 中华消化杂志 2006; 28: 551-552
23 Kang YH, Lee HS, Kim WH. Promoter methylation and silencing of PTEN in gastric carcinoma. *Lab Invest* 2002; 82: 285-291 [PMID: 11896207 DOI: 10.1038/labinvest.3780422]
24 Sato K, Tamura G, Tsuchiya T, Endoh Y, Sakata K, Motoyama T, Usuba O, Kimura W, Terashima M, Nishizuka S, Zou T, Meltzer SJ. Analysis of genetic and epigenetic alterations of the PTEN gene in gastric cancer. *Virchows Arch* 2002; 440: 160-165 [PMID: 11964046 DOI: 10.1007/s004280100499]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

■同行评价

研究具有一定科学价值. 解毒化瘀健脾方及拆方对胃黏膜异型增生大鼠多基因去甲基化诱导表达, 说明全方治疗作用优于各拆方治疗组, 对胃黏膜异型增生的治疗应以理气养阴为主. 从去甲基化诱导基因表达的角度评估, 为解毒化瘀健脾中药的临床应用提供参考依据.

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2014年5月8日; 22(13): 1826-1833
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

研究快报 RAPID COMMUNICATION

Th17及Th1细胞在四氯化碳致肝纤维化小鼠模型中的表达及关系

黄小丽, 郭晓云, 姜海行, 覃山羽, 罗 薇, 马诗家, 卢东红, 陈 梅, 王家旭, 杨显文

■背景资料
肝纤维化是各种原因引起的慢性肝损伤所共有的病理改变, 也是进一步向肝硬化发展的中间环节. 固有免疫系统和适应性免疫系统在肝纤维化过程中发挥重要作用. 辅助性T淋巴细胞是机体重要的免疫调节细胞, 其在肝病中的作用引起人们的广泛关注, 明确辅助性T细胞(T helper cells 17, Th)17和Th1细胞在肝纤维化进展中的相互作用, 可为治疗提供新的研究方向.

黄小丽, 郭晓云, 姜海行, 覃山羽, 罗薇, 马诗家, 卢东红, 陈梅, 王家旭, 杨显文, 广西医科大学第一附属医院消化内科 广西壮族自治区南宁市 530021
黄小丽, 在读硕士, 主要从事肝纤维化机制的研究.
国家自然科学基金资助项目, Nos. 81260083, 31360221
作者贡献分布: 此课题由郭晓云、姜海行、覃山羽、罗薇及黄小丽设计; 研究过程由黄小丽、马诗家、卢东红、陈梅、王家旭及杨显文操作完成; 研究所用试剂及分析工具由姜海行提供; 数据分析由黄小丽完成; 本论文写作由黄小丽完成.
通讯作者: 郭晓云, 副主任医师, 530021, 广西壮族自治区南宁市双拥路6号, 广西医科大学第一附属医院消化内科.
withoutgloom@sohu.com
电话: 0771-5356725
收稿日期: 2014-02-20 修回日期: 2014-03-21
接受日期: 2014-03-28 在线出版日期: 2014-05-08

Expression of Th17 and Th1 cells in a murine model of carbon tetrachloride-induced liver fibrosis

Xiao-Li Huang, Xiao-Yun Guo, Hai-Xing Jiang, Shan-Yu Qin, Wei Luo, Shi-Jia Ma, Dong-Hong Lu, Mei Chen, Jia-Xu Wang, Xian-Wen Yang

Xiao-Li Huang, Xiao-Yun Guo, Hai-Xing Jiang, Shan-Yu Qin, Wei Luo, Shi-Jia Ma, Dong-Hong Lu, Mei Chen, Jia-Xu Wang, Xian-Wen Yang, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, Nos. 81260083 and 31360221
Correspondence to: Xiao-Yun Guo, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, 6 Shuangyong Road, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. withoutgloom@sohu.com
Received: 2014-02-20 Revised: 2014-03-21
Accepted: 2014-03-28 Published online: 2014-05-08

Abstract

AIM: To investigate the expression of T helper cells 17 (Th17) and type I helper T cells (Th1) as well as their cytokines interleukin-17 (IL-17) and interferon-γ (IFN-γ) in a murine model of carbon tetrachloride (CCl_4)-induced liver fibrosis.

METHODS: Fifty male Balb/c mice were randomly divided into five groups, including a normal control group (N), two liver fibrosis groups (F4 and F8; induced for 4 and 8 weeks, respectively) and two control groups (C4 and C8), with 10 mice in each group. Liver fibrosis was induced by intraperitoneal injection of CCl4. HE staining and Masson's staining were used to detect hepatic pathological changes. The expression of α-smooth muscle actin (α-SMA) in the liver of mice was determined by immunohistochemical staining. The proportions of $CD4^+IL\text{-}17^+$ T (Th17) cells and $CD4^+IFN\text{-}\gamma^+$ T (Th1) cells in the murine spleen were detected by flow cytometric analysis. Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) was used to measure the levels of IL-17 and IFN-γ in murine peripheral blood. The correlation analyses between all the above parameters were conducted.

RESULTS: HE staining and Masson's staining showed that hepatic fibrosis was successfully induced by CCl_4 injection. After CCl_4 administration, increased expression of α-SMA was detected in the hepatic fibrosis groups. The α-SMA spread to the portal, portal area and fibrous septa. Continuous CCl_4 injection led to enlarged fibrosis area in the hepatic fibrosis groups. The percentages of Th17 and Th1 cells in the spleen in the F4 and F8 groups were significantly increased as compared with those in the N, C4 and C8 groups, particularly in F8 ($P < 0.05$ for all). The levels of IL-17 and IFN-γ in the F4 and F8 groups were significantly increased as compared with those in the N, C4 and C8 groups ($P < 0.05$ for all). Th17 cells and Th1 cells in the spleen in the hepatic fibrosis groups had a positive correlation with α-SMA expression ($P < 0.01$ for all). Th17 cells had a positive correlation with Th1 cells and the levels of IL-17 ($P < 0.01$ for both).

CONCLUSION: Th17 and Th1 cells in the spleen as well as the levels of IL-17 and IFN-γ in peripheral blood are significantly increased in the murine model of CCl_{40}-induced liver fibrosis. Th17 cells may be involved in the pathogenesis of liver fibrosis through producing IL-17.

■同行评议者
李涛, 副主任医师, 北京大学人民医院肝胆外科

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: T helper 17 cells; Type Ⅰ helper T cells; Liver fibrosis; Interleukin-17; Interferon-γ

Huang XL, Guo XY, Jiang HX, Qin SY, Lou W, Ma SJ, Lu DH, Chen M, Wang JX, Yang XW. Expression of Th17 and Th1 cells in a murine model of carbon tetrachloride-induced liver fibrosis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(13): 1826-1833 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1826.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1826

摘要

目的: 研究辅助性T细胞17(T helper cells 17, Th17)和Ⅰ型辅助性T细胞(type Ⅰ helper T cells, Th1)及其相关因子白介素-17(interleukin-17, IL-17)、干扰素-γ(interferon-γ, IFN-γ)在四氯化碳(carbon tetrachloride, CCl_4)诱导肝纤维化小鼠模型中的表达及相互关系.

方法: 将50只♂Balb/c小鼠按随机数字表法分为5组: 正常对照组(N)、4 wk对照组(C4)、8 wk对照组(C8)、4 wk肝纤维化组(F4)、8 wk肝纤维化组(F8), 每组10只. 采用腹腔内注射CCl_4以复制肝纤维化小鼠模型. HE和Masson染色观察小鼠肝脏病理改变; 免疫组织化学染色检测肝脏组织中α-平滑肌肌动蛋白(α-smooth muscle actin, α-SMA)的表达; 流式细胞检测小鼠脾脏中$CD4^+IL\text{-}17^+$T(Th17)细胞、$CD4^+IFN\text{-}\gamma^+$ T(Th1)细胞的比例; 酶联免疫吸附试验(ELISA)测定外周血IL-17、IFN-γ的含量, 并分析这些指标的相关性.

结果: (1) 肝组织病理切片HE染色和Masson染色显示, CCl_4腹腔注射成功诱导小鼠肝纤维化模型; (2)α-SMA免疫组织化学显示: 模型组α-SMA表达增加, 在门静脉、汇管区及纤维间隔区域内可见α-SMA大量表达, 且随肝纤维化程度加重而增加; (3)F4组和F8组小鼠脾脏Th17细胞、Th1细胞比例明显高于N组、C4组和C8组, 且以F8组增高更为明显, 差异均有统计学意义(均P<0.05); (4)F4组和F8组外周血IL-17、IFN-γ的含量较N组、C4组和C8组明显增高, 差异均有统计学意义(均P<0.05); (5)模型组脾脏Th17细胞、Th1细胞与肝脏α-SMA含量密切正相关(均P<0.01), 脾脏Th17细胞分别与Th1细胞、外周血IL-17水平密切正相关(均P <0.01).

结论: CCl_4致肝纤维化小鼠模型中脾脏Th17和Th1细胞及外周血IL-17、IFN-γ水平明显升高, Th17细胞通过分泌IL-17参与肝纤维化过程.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: Th17细胞; Th1细胞; 肝纤维化; 白介素-17; 干扰素-γ

核心提示: 辅助性T细胞17(T helper cells 17)与Ⅰ型辅助性T细胞(type Ⅰ helper T cells)细胞的免疫调节作用可能在肝纤维化的发病机制中发挥关键的作用; 同时与其相关的细胞因子也参与了疾病的免疫过程.

黄小丽, 郭晓云, 姜海行, 覃山羽, 罗薇, 马诗家, 卢东红, 陈梅, 王家旭, 杨显文. Th17及Th1细胞在四氯化碳致肝纤维化小鼠模型中的表达及关系. 世界华人消化杂志 2014; 22(13): 1826-1833 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1826.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1826

■**研发前沿**
由于$CD4^+$T细胞具有分化为不同的效应T细胞亚群的潜能, 所以被认为是临床预防和治疗肝纤维化的潜在靶细胞, 尤其是其对基质金属蛋白酶系统的调控、与肝纤维化相关细胞因子之间的关系以及在肝星状细胞增殖、迁移中等方面的作用是肝纤维化研究的热点.

0 引言

肝纤维化是由于各种致病因素引起的肝损伤, 在组织修复过程中导致肝脏细胞外基质(extracellular matrix, ECM)代谢失衡, 发生异常增多和过度沉积的病理过程, 是肝组织修复过程中的代偿反应[1]. ECM主要来源于活化的肝星状细胞(hepatocyte stellate cell, HSC), 而表达α-平滑肌肌动蛋白(α-smooth muscle actin, α-SMA)是HSC活化的标志. 辅助性T淋巴细胞是机体重要的免疫调节细胞, 根据其产生细胞因子的不同, 辅助性$CD4^+$T细胞可分为调节性T细胞(regulatory T cells, Treg)、辅助性T细胞17(T helper cells 17, Th17)、Th1及Th2等细胞亚群, 他们之间相互调节, 在分化发育上相互制约, 在功能上存在着拮抗或协同的复杂关系, 影响免疫应答的格局. 其中, Th1细胞分泌白介素-2(interleukin-2, IL-2)、干扰素-γ(interferon-γ, IFN-γ)、肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)等, 主要效应是增强吞噬细胞功能, 介导机体细胞免疫反应; Th1细胞功能低下是乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)相关肝硬化、原发性肝癌发生的重要危险因素. IFN-γ是典型的Th1型细胞因子, 可通过抑制肝星状细胞的增殖、胶原的合成, 同时增强自然杀伤细胞(natural killer cell, NK)清除激活的HSC的活性, 发挥抗纤维化作用[2]. 然而, Th1细胞的作用并不能完全解释肝纤维化的发病机制, 多种因素和机制参与肝纤维化的发生和发展. 随着对肝纤维化免疫发病机制研究

■相关报道
既往研究显示Th17细胞及Th1细胞在许多炎症性疾病和自身免疫性疾病中往往同时存在, 并通过产生特异性的细胞因子调节免疫反应的不同阶段, Th17细胞和Th1细胞均参与肝纤维化发病, 二者在肝纤维化发病过程中的相互作用却少见报道.

的深入, 一种新型的$CD4^+$T细胞-Th17细胞被发现. Th17细胞通过特征性分泌IL-17, 同时分泌IL-21、IL-22等炎症性细胞因子, 参与了病毒性肝炎、自身免疫性肝病及脂肪性肝病等多种肝病的发病过程[3]. Th17细胞和Th1细胞均参与肝纤维化发病[4], 但二者在肝纤维化发病过程中的相互作用却少见报道. 本研究通过腹腔内注射CCl_4复制肝纤维化小鼠模型, 并观察Th17、Th1细胞表达及其相互作用, 为认识肝纤维化发病机制及寻找新的有效治疗靶点提供理论依据.

1 材料和方法

1.1 材料 ♂Balb/c小鼠50只, SPF级, 6-8周龄, 体质量约25 g, 由广西医科大学实验动物中心提供, 自由饮水和进食. CCl_4及橄榄油购自上海国药集团化学试剂有限公司. RPMI 1640培养基及胎牛血清购自美国Hyclone公司; 乙酸肉豆蔻佛波酯(phorbol myristate acetate, PMA)、离子霉素、α-SMA一抗购自Sigma-Aldrich公司; 免疫组织化学试剂盒购自北京中杉生物技术有限公司; 红细胞裂解液、蛋白质转运抑制剂莫能霉素、破膜剂购自美国BD公司; 流式细胞检测抗体: 大鼠抗小鼠单克隆流式抗体AF488-IFN-γ mAb、PE-Cy5-CD4 mAb、PE-IL-17 mAb及相应抗体的同型对照IgG购自美国BD公司; 小鼠IL-17、IFN-γ酶联免疫吸附试验(ELISA)法检测试剂盒购自美国eBioscience公司.

1.2 方法

1.2.1 动物分组及模型的建立: 将50只♂Balb/c小鼠按随机数字表法分为5组: 正常对照组(N)、4 wk对照组(C4)、8 wk对照组(C8)、4 wk肝纤维化组(F4)、8 wk肝纤维化组(F8), 每组10只, CCl_4腹腔注射法建立小鼠肝纤维化模型. C4组和C8组腹腔内注射橄榄油, 2 mg/kg体质量, 2次/wk; 模型组腹腔内注射CCl_4溶液(橄榄油配制), 浓度20%, 2 mg/kg体质量, 2次/wk. 各组小鼠分别于对应时间点处死, 处死时距最后一次注射时间为72 h.

1.2.2 外周血采集: 小鼠通过眶后动脉放血处死, 收集血液1 mL, 以3000 r/min离心20 min, 吸取上层血清, 于-80 ℃冰箱中保存备检. 分别使用IL-17、IFN-γ ELISA试剂盒检测血清中IL-17、IFN-γ的水平. 操作过程严格按照试剂盒说明进行, 采用EXCEL软件绘制标准曲线, 计算血清中IL-17、IFN-γ的含量.

1.2.3 肝脏组织病理学检查: 打开腹腔, 取肝脏左叶, 投入40 g/L中性甲醛溶液中固定、脱水、石蜡包埋, 制取4 μm切片, 行HE染色及Masson染色, 显微镜下观察肝组织炎性反应及纤维化程度. 由两位病理科医生进行盲法阅片.

1.2.4 免疫组织化学染色检测肝脏组织中α-SMA的表达: 用SP法作α-SMA免疫组织化学染色. 肝脏组织石蜡切片常规脱蜡、水化、PBS洗、抗原修复、PBS洗、加正常山羊血清封闭液、依次滴加一抗和二抗、DAB显色, 苏木精复染, 自来水冲洗、脱水、透明、封片、镜检. 用已知阳性表达的肝组织切片作为阳性对照, 以PBS代替一抗作阴性对照. 肝脏组织α-SMA免疫组织化学阳性染色是胞浆呈棕黄色, 每张切片随机选取10个高倍镜视野(×400), 使用Image pro-plus6.0图像分析系统半定量测定α-SMA的表达, 计算平均光密度值, 同一标本三张切片测量值取均值.

1.2.5 流式细胞术检测小鼠脾脏Th17、Th1细胞: 在各时间点取小鼠脾脏, PBS中剪碎, 玻璃皿研磨组织, 100、200、400目不锈钢细网依次过滤, 制成脾单细胞悬液. 用红细胞裂解液裂解红细胞, 用含10%胎牛血清的RPMI 1640培养基调整淋巴细胞浓度为1×10^6/mL接种于24孔板, 同时每孔加入PMA(25 ng/mL)、离子霉素(1 μg/mL)和莫能霉素(1.7 μg/mL), 37 ℃、5%CO_2培养5 h, 收集细胞, 进行细胞表面CD4分子染色, 破膜剂破膜后进行胞内IL-17因子及相应同型对照抗体染色, 利用BD公司FACS Calibur流式细胞仪进行检测. 结果用Flowjo7.6.1软件分析. 以前向散射角(forward-scattering angle, FSC)和侧向散射角(side scatter, SSC)圈定淋巴细胞, 以$CD4^+$设门, CD4荧光以及IL-17荧光双阳性细胞表示Th17细胞亚群, CD4荧光以及IFN-γ荧光双阳性细胞表示Th1细胞亚群. CD4荧光以及IgG荧光双阳性为非特异性结合细胞. Th17细胞占$CD4^+$细胞比例 = (CD4及IL-17双阳性细胞数-CD4及IgG双阳性细胞数)/CD4阳性细胞总数×100%; Th1细胞占$CD4^+$细胞比例 = (CD4及IFN-γ双阳性细胞数-CD4及IgG双阳性细胞数)/CD4阳性细胞总数×100%.

统计学处理 采用SPSS16.0软件进行统计学分析. 正态分布的计量资料用mean±SD表示, 多组间均数的比较采用单因素方差分析(one-way ANOVA), 组间比较采用SNK检验. 采用Pearson相关分析法进行相关性检验, $P<0.05$为差异有统计学意义.

表 1 各组小鼠α-SMA的表达 (n = 10, mean ± SD)

分组	α-SMA
N组	0.07 ± 0.03
C4组	0.07 ± 0.02
F4组	0.25 ± 0.05[ac]
C8组	0.08 ± 0.03
F8组	0.38 ± 0.09[aeg]

[a]P<0.05 *vs* N组; [c]P<0.05 *vs* C4组; [e]P<0.05 *vs* C8组; [g]P<0.05 *vs* F4组. N组: 正常对照组; C4组: 4 wk对照组; F4组: 4 wk模型组; C8组: 8 wk对照组; F8组: 8 wk模型组.

2 结果

2.1 动物模型的建立情况, 鼠肝的肉眼形态学观察 在整个实验期间, 对照组及模型组小鼠全部存活, CCl_4造模后小鼠饮食及活动逐渐减少, 体质量减轻, 反应稍迟钝, 被毛杂乱无光泽. 对照组小鼠肝脏色鲜红, 有光泽, 质软, 表面光滑细腻, 边缘锐利. 4 wk肝纤维化组小鼠的肝脏呈暗红色, 表面呈细颗粒状. 8 wk肝纤维化组的肝脏呈灰白色; 边缘钝圆, 表面可见大小不一的细小结节, 质地稍硬.

2.2 肝组织病理学改变 HE染色显示: 对照组小鼠肝脏标本肝小叶结构完整, 界限清晰. 模型组肝细胞索排列紊乱, 肝小叶结构破坏或消失, 汇管区小胆管增生, 增生小胆管周围有纤维组织生成, 随着造模时间的延长, 中央静脉周围及汇管区纤维沉积逐渐增多, 纤维隔内有大量炎性细胞及成纤维细胞浸润. Masson染色镜下观察, 所见与HE染色中纤维化基本一致, 纤维沉积显色为淡绿色. 对照组肝组织仅见少许纤细纤维分布于血管壁. 模型组肝组织汇管区、中央静脉可见大量胶原纤维, 肝小叶被宽窄不一的纤维间隔分割(图1), 提示肝纤维化模型成功建立.

2.3 各组小鼠肝脏组织中α-SMA的表达 对照组小鼠α-SMA表达较少, 主要分布于血管壁. 在肝纤维化时α-SMA表达增加, 在门静脉、汇管区及纤维间隔区域内可见有α-SMA大量表达, 且随肝纤维化程度加重而增加(图1). 与对照组比较, 模型组各时间段的肝组织α-SMA的表达均增强(均P<0.05)(表1).

2.4 各组小鼠脾脏中Th17、Th1细胞数量变化及其相关细胞因子水平的变化 $CD4^+IL\text{-}17^+$ T细胞被定义为Th17细胞, $CD4^+$ $IFN\text{-}\gamma^+$ T细胞被定义为Th1细胞. 本实验结果显示: 与N组、C4组和C8组比较, 模型组F4组和F8组小鼠Th17、Th1细胞比例明显增高, 且8 wk模型组增高更为显著(均P<0.05)(表2, 图2). 模型组F4、F8组血清IL-17、IFN-γ的水平较对照组N组、C4组、C8组明显增高(均P<0.05)(表2).

2.5 各组小鼠Th1、Th17细胞与相关细胞因子、肝脏组织α-SMA的关系 本实验结果显示, 4 wk模型组和8 wk模型组小鼠脾脏Th17细胞、Th1细胞比例与肝脏α-SMA均呈显著正相关关系(r = 0.716, 0.778, 均P<0.01). 脾脏Th17细胞与Th1细胞呈正相关(r = 0.874, P<0.01). 脾脏Th17细胞与外周血IL-17水平呈显著正相关(r = 0.892, P<0.01). 然而Th1细胞与IFN-γ、IL-17均无显著相关性(P>0.05).

3 讨论

肝纤维化是肝脏对慢性损伤的修复反应, 以ECM异常增生和过度沉积为特征, 是多种慢性肝病的共同病理过程, 慢性乙型病毒性肝炎引起的肝纤维化最常见, 是疾病进展为肝硬化、肝癌的关键环节, 而机体的免疫系统在其中扮演着重要角色. 在肝纤维化过程中发挥中心作用的是HSC, HSC的活化、增殖是肝纤维化形成的中心环节[5]. 因此, 要阐明Th17、Th1细胞与肝纤维化的关系, 就必须了解纤维化过程中Th17、Th1细胞与HSC之间的联系及对其活化增殖的影响. 本研究采用经典的CCl_4复制肝纤维化模型, 其在病理生理方面与人体肝纤维化的过程比较相似, 同时具有制模方便、时间短和成模率高的特点, 造模过程中未出现小鼠死亡, 表明肝纤维化模型制备有效, 成功模拟了肝纤维化发生发展过程.

过度的和非特异性Th17和Th1效应细胞的反应可能参与了乙型肝炎病毒相关的肝脏炎症及肝细胞损害的发病机制. 特别是Th17细胞效应, 可能加剧炎症过程并导致肝衰竭[6]. $CD4^+$T细胞按其所产生的细胞因子谱, 最初被分为Th1和Th2细胞亚群. Th1细胞主要分泌IFN-γ, T-bet是其特异性转录因子, 胞内细菌感染时, Th1细胞优先分化并引发吞噬细胞介导的宿主防御应答. IFN-γ信号通过信号转导转录激活子1(signal transducer and activator of transcription 1, STAT1)转导, 激活下游转录因子T-bet, 进而上调Th1细胞特定基因的表达. 随后一类新的以大量分泌IL-17为特征的Th17细胞亚群被发现, 在转化生长因子-β(transforming growth factor β, TGF-β)与IL-6共同作用下, $CD4^+$T细胞大量分化形成Th17

■创新盘点

由于肝纤维化患者从发病到就诊的时间不一, 难以反映Th17、Th1细胞实际分化的时间规律, 本实验通过CCl_4腹腔注射建立肝纤维化动物模型, 研究肝纤维化不同时期Th17、Th1细胞表达情况, 初步探讨Th17、Th1细胞及其主要效应因子IL-17、IFN-γ在肝纤维化过程的变化规律, 对于研究肝纤维化的发病机制有重要意义.

■应用要点
本研究结果表明在肝纤维化的发病过程中Th1和Th17可能同时发挥协同作用, 完善T细胞亚群在肝纤维化发病机制的理论, 有望在不远的将来生产出针对Th17/IL-17的靶向治疗的生物制剂为疾病的诊断治疗开辟新途径.

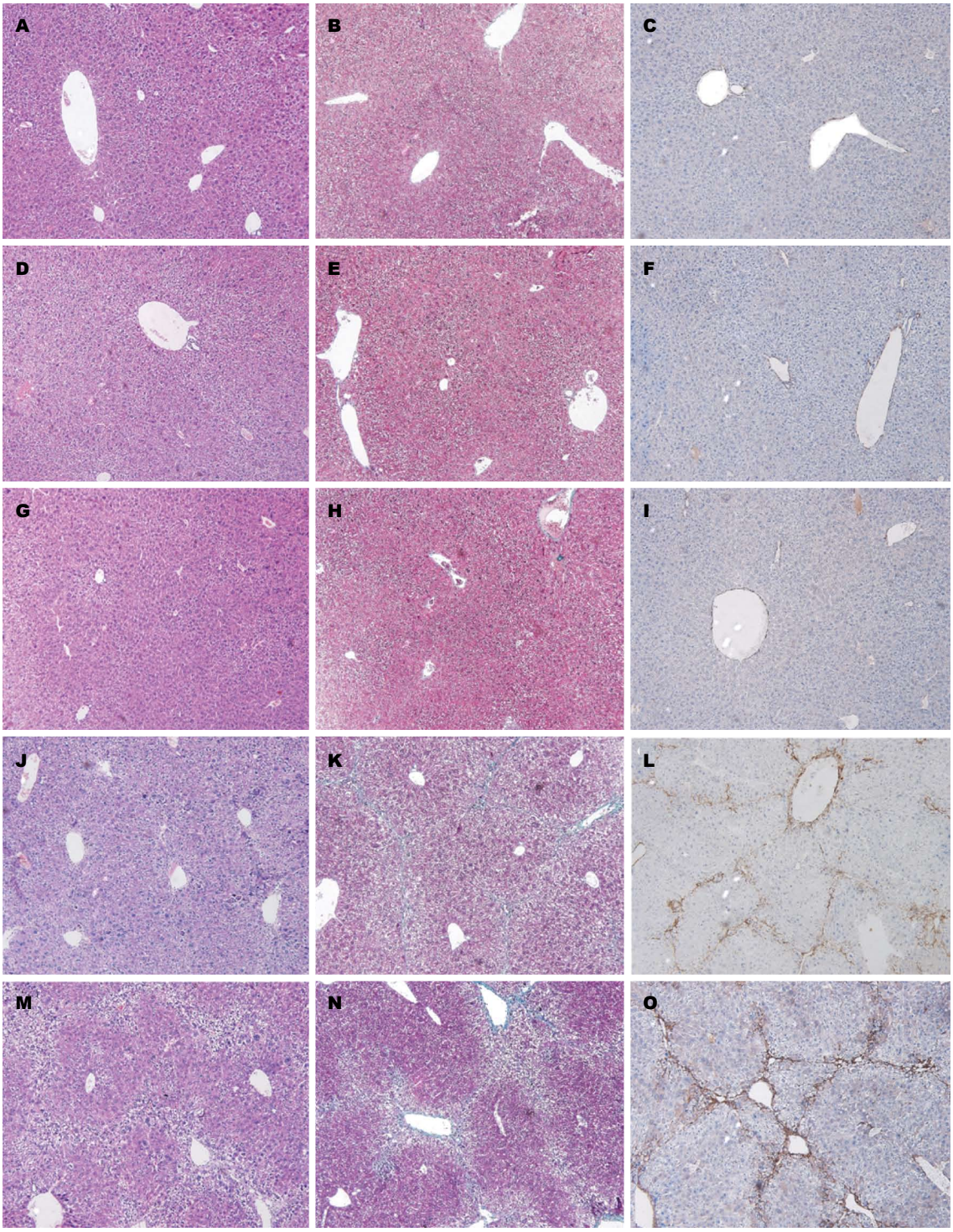


图 1 各组小鼠肝脏组织HE、Masson染色及α-SMA免疫组织化学染色(×100). A, D, G, J, M: HE染色(×100); B, E, H, K, N: Masson染色(×100); C, F, I, L, O: α-SMA免疫组织化学染色(×100); A-C: 正常对照组; D-F: 4 wk对照组; G-I: 8 wk对照组; J-L: 4周模型组; M-O: 8 wk模型组.

细胞[7]. 维甲酸孤独核相关受体RORγt(在人类中称为RORC)是调节初始CD4$^+$细胞分化为Th17细胞的主要转录因子[8]. 目前的证据显示, Th17细胞参与了各种肝脏疾病的炎症进程, 包括酒精性肝损伤、非酒精性肝炎、病毒性肝炎、原发性胆汁性肝硬化和自身免疫性肝炎等[9-11].

Yang等[12]研究发现, Th17和Th1细胞在分化时具有相互拮抗的作用. 但在一些自身免疫性疾病的炎性病变中, Th17和Th1细胞之间并不总是处于相互拮抗的关系, 两者可以共存[13]. 甚至在有些时候Th17和Th1细胞之间存在着协同效应, 在某些病理反应中相互依赖, 通过合作来完

表 2 各组小鼠脾脏Th1、Th17细胞的比例 (mean ± SD)

分组	Th1细胞(%)	Th17细胞(%)	IL-17(pg/mL)	IFN-γ(pg/mL)
N组	1.26 ± 0.10	0.52 ± 0.09	11.05 ± 2.52	32.05 ± 4.33
C4组	1.25 ± 0.45	0.51 ± 0.20	10.08 ± 2.32	31.08 ± 2.44
F4组	2.01 ± 0.59[ac]	1.88 ± 0.52[ac]	62.00 ± 18.37[ac]	112.54 ± 16.80[ac]
C8组	1.35 ± 0.32	0.63 ± 0.45	11.63 ± 3.86	33.83 ± 3.57
F8组	2.35 ± 1.34[aeg]	2.21 ± 1.06[aeg]	75.00 ± 11.43[aeg]	115.58 ± 19.55[ae]

[a]*P*<0.05 *vs* N组; [c]*P*<0.05 *vs* C4组; [e]*P*<0.05 *vs* C8组; [g]*P*<0.05 *vs* F4组. N组: 正常对照组; C4组: 4 wk对照组; F4组: 4 wk模型组; C8组: 8 wk对照组; F8组: 8 wk模型组. IL: 白介素; IFN: 干扰素.

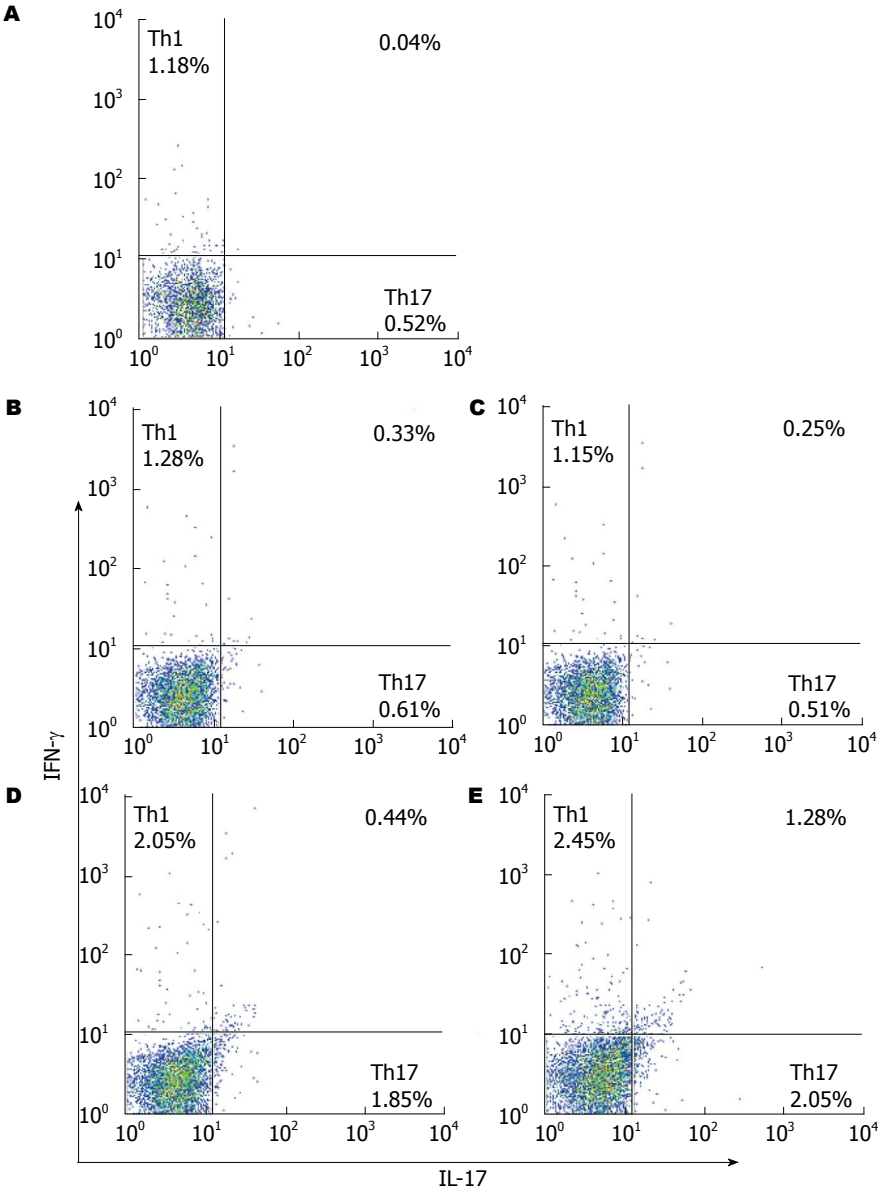


图 2 各组小鼠脾脏中Th17细胞和Th1细胞的表达状况流式细胞示意图. 左上象限为$CD4^+$ $IFN-\gamma^+$ T(Th1)细胞比例, 右上象限为$CD4^+$ $IL-17^+$ (Th17)细胞比例. A: 正常对照组; B: 4 wk对照组; C: 8 wk对照组; D: 4 wk模型组; E: 8 wk模型组.

成一定的生物学功能. 本组资料显示模型组小鼠Th17、Th1细胞比例增高, 且以8 wk模型组增高尤为显著. 并且模型组小鼠脾脏Th17、Th1细胞比例均与肝脏α-SMA含量密切正相关, 提示

■同行评价
本文探讨Th17、Th1及相关因子IL-17、IFN-γ在肝纤维化小鼠模型中的表达及相互关系, 有一定的创新性, 研究设计较合理, 有一定的学术价值.

肝纤维化环境有利于这两个细胞亚群的分化扩增. 大量研究已证实TGF-β在肝纤维化中发挥重要作用, 在肝纤维化动物模型及患者肝组织中TGF-β表达明显增高, TGF-β/Smad信号通路在肝纤维化中起着重要作用, 通过激活HSC, 促进HSC分泌胶原及纤维连接蛋白等, 促进肝纤维化的发生[14]. 同样, 增高的TGF-β在IL-6存在的情况下, 可促进Th17细胞大量分化增殖, 分泌IL-17[15]. 本研究显示与对照组比较, 模型组外周血IL-17水平增高, IL-17的水平与小鼠肝脏α-SMA含量及脾脏Th17细胞比例密切正相关, 提示Th17细胞通过分泌IL-17参与肝纤维化的进展, 促进肝星状细胞的活化及肝脏胶原纤维的沉积. 生理状态下, 静止的HSC不表达α-SMA; 肝纤维化时, HSC在细胞因子、炎症介质、乙醛、氧自由基等作用下由静止状态活化为表达α-SMA的肌成纤维样细胞, 并在肝损伤部位移行、增殖, 表达各种信号转导蛋白, 产生大量以胶原为主的细胞外间质成分和细胞因子[16]. 本实验结果显示对照组小鼠仅有少量α-SMA表达于血管平滑肌细胞, 随着肝纤维化程度的加重, 模型组小鼠肝组织中α-SMA阳性细胞逐渐增多, 即活化HSC逐渐增多. Tan等[17]研究发现从C57BL/6小鼠中分离的肝星状细胞在IL-17的作用下引起IL-6、α-SMA、胶原蛋白和TGF-β mRNA表达的增高, 提示IL-17促进肝纤维化的发展. 此外, Meng等[18]研究发现IL-17通过两种途径发挥强大的促纤维化作用: 一是激活枯否细胞表达促炎因子IL-6、IL-1β、TNF-α及主要的纤维化因子TGF-β; 二是IL-17直接通过激活信号转导子和转录活化子纤维细胞表达I型胶原蛋白, 造成细胞外胶原沉积. 由此可见, 应用抑制剂对Th17/IL-17的靶向治疗可能是一种有效的治疗肝纤维化的方法.

Th17细胞及Th1细胞在许多炎症性疾病和自身免疫性疾病中往往同时存在, 并通过产生特异性的细胞因子调节免疫反应的不同阶段[19-21]. 我们在肝纤维化模型组中均检测到Th17和Th1细胞的比例增高, 提示在肝纤维化的发病过程中Th17和Th1可能发挥协同作用. 此外, 肝纤维化小鼠外周血中IFN-γ浓度较正常对照组明显增高, 且Th1细胞比例与Th17细胞比例均呈显著正相关关系, 提示在肝纤维化环境中, 活化的Th1细胞通过分泌IFN-γ促进小鼠体内Th17细胞上调, 当然直接的证据有待于我们的体外细胞功能实验进一步证实.

总之, Th17与Th1细胞的免疫调节作用可能在肝纤维化的发病机制中发挥关键的作用; 同时与其相关的细胞因子也参与了疾病的免疫过程. 但Th17细胞在肝纤维化中的具体作用、Th1细胞可能的协同作用机制及这两种细胞之间存在着怎样的具体联系还需要大量的研究, 进一步阐明他们的相互作用、免疫调节功能, 从而为治疗肝纤维化开辟新的道路.

4 参考文献

1 Hernandez-Gea V, Friedman SL. Pathogenesis of liver fibrosis. *Annu Rev Pathol* 2011; 6: 425-456 [PMID: 21073339 DOI: 10.1146/annurev-pathol-011110-130246]

2 Melhem A, Muhanna N, Bishara A, Alvarez CE, Ilan Y, Bishara T, Horani A, Nassar M, Friedman SL, Safadi R. Anti-fibrotic activity of NK cells in experimental liver injury through killing of activated HSC. *J Hepatol* 2006; 45: 60-71 [PMID: 16515819 DOI: 10.1016/j.jhep.2005.12.025]

3 薛芝敏, 姚冬梅. Th17细胞与肝脏疾病关系的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21: 1185-1190

4 Li J, Qiu SJ, She WM, Wang FP, Gao H, Li L, Tu CT, Wang JY, Shen XZ, Jiang W. Significance of the balance between regulatory T (Treg) and T helper 17 (Th17) cells during hepatitis B virus related liver fibrosis. *PLoS One* 2012; 7: e39307 [PMID: 22745730 DOI: 10.1371/journal.pone.0039307]

5 Sarem M, Znaidak R, Macías M, Rey R. [Hepatic stellate cells: it's role in normal and pathological conditions]. *Gastroenterol Hepatol* 2006; 29: 93-101 [PMID: 16448612 DOI: 10.1157/13083906]

6 Ye Y, Xie X, Yu J, Zhou L, Xie H, Jiang G, Yu X, Zhang W, Wu J, Zheng S. Involvement of Th17 and Th1 effector responses in patients with Hepatitis B. *J Clin Immunol* 2010; 30: 546-555 [PMID: 20393789 DOI: 10.1007/s10875-010-9416-3]

7 Mangan PR, Harrington LE, O'Quinn DB, Helms WS, Bullard DC, Elson CO, Hatton RD, Wahl SM, Schoeb TR, Weaver CT. Transforming growth factor-beta induces development of the T(H)17 lineage. *Nature* 2006; 441: 231-234 [PMID: 16648837 DOI: 10.1038/nature04754]

8 Yang XO, Pappu BP, Nurieva R, Akimzhanov A, Kang HS, Chung Y, Ma L, Shah B, Panopoulos AD, Schluns KS, Watowich SS, Tian Q, Jetten AM, Dong C. T helper 17 lineage differentiation is programmed by orphan nuclear receptors ROR alpha and ROR gamma. *Immunity* 2008; 28: 29-39 [PMID: 18164222 DOI: 10.1016/j.immuni.2007.11.016]

9 Zhang JY, Zhang Z, Lin F, Zou ZS, Xu RN, Jin L, Fu JL, Shi F, Shi M, Wang HF, Wang FS. Interleukin-17-producing CD4(+) T cells increase with severity of liver damage in patients with chronic hepatitis B. *Hepatology* 2010; 51: 81-91 [PMID: 19842207 DOI: 10.1002/hep.23273]

10 O'Quinn DB, Palmer MT, Lee YK, Weaver CT. Emergence of the Th17 pathway and its role in host defense. *Adv Immunol* 2008; 99: 115-163 [PMID: 19117534 DOI: 10.1016/S0065-2776(08)00605-6]

11 Tang Y, Bian Z, Zhao L, Liu Y, Liang S, Wang Q, Han X, Peng Y, Chen X, Shen L, Qiu D, Li Z, Ma X. Interleukin-17 exacerbates hepatic steatosis and in-

flammation in non-alcoholic fatty liver disease. *Clin Exp Immunol* 2011; 166: 281-290 [PMID: 21985374 DOI: 10.1111/j.1365-2249.2011.04471.x]
12 Yang Y, Xu J, Niu Y, Bromberg JS, Ding Y. T-bet and eomesodermin play critical roles in directing T cell differentiation to Th1 versus Th17. *J Immunol* 2008; 181: 8700-8710 [PMID: 19050290]
13 Pène J, Chevalier S, Preisser L, Vénéreau E, Guilleux MH, Ghannam S, Molès JP, Danger Y, Ravon E, Lesaux S, Yssel H, Gascan H. Chronically inflamed human tissues are infiltrated by highly differentiated Th17 lymphocytes. *J Immunol* 2008; 180: 7423-7430 [PMID: 18490742]
14 Wells RG. Fibrogenesis. V. TGF-beta signaling pathways. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2000; 279: G845-G850 [PMID: 11052979]
15 Veldhoen M, Hocking RJ, Atkins CJ, Locksley RM, Stockinger B. TGFbeta in the context of an inflammatory cytokine milieu supports de novo differentiation of IL-17-producing T cells. *Immunity* 2006; 24: 179-189 [PMID: 16473830 DOI: 10.1016/j.immuni.2006.01.001]
16 Urtasun R, Nieto N. [Hepatic stellate cells and oxidative stress]. *Rev Esp Enferm Dig* 2007; 99: 223-230 [PMID: 17590105]
17 Tan Z, Qian X, Jiang R, Liu Q, Wang Y, Chen C, Wang X, Ryffel B, Sun B. IL-17A plays a critical role in the pathogenesis of liver fibrosis through hepatic stellate cell activation. *J Immunol* 2013; 191: 1835-1844 [PMID: 23842754 DOI: 10.4049/jimmunol.1203013]
18 Meng F, Wang K, Aoyama T, Grivennikov SI, Paik Y, Scholten D, Cong M, Iwaisako K, Liu X, Zhang M, Osterreicher CH, Stickel F, Ley K, Brenner DA, Kisseleva T. Interleukin-17 signaling in inflammatory, Kupffer cells, and hepatic stellate cells exacerbates liver fibrosis in mice. *Gastroenterology* 2012; 143: 765-776. e1-e3 [PMID: 22687286 DOI: 10.1053/j.gastro.2012.05.049]
19 Luger D, Silver PB, Tang J, Cua D, Chen Z, Iwakura Y, Bowman EP, Sgambellone NM, Chan CC, Caspi RR. Either a Th17 or a Th1 effector response can drive autoimmunity: conditions of disease induction affect dominant effector category. *J Exp Med* 2008; 205: 799-810 [PMID: 18391061 DOI: 10.1084/jem.20071258]
20 Stromnes IM, Cerretti LM, Liggitt D, Harris RA, Goverman JM. Differential regulation of central nervous system autoimmunity by T(H)1 and T(H)17 cells. *Nat Med* 2008; 14: 337-342 [PMID: 18278054 DOI: 10.1038/nm1715]
21 O'Connor RA, Prendergast CT, Sabatos CA, Lau CW, Leech MD, Wraith DC, Anderton SM. Cutting edge: Th1 cells facilitate the entry of Th17 cells to the central nervous system during experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Immunol* 2008; 181: 3750-3754 [PMID: 18768826]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2014年5月8日; 22(13): 1834-1840
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

研究快报 RAPID COMMUNICATION

二十二碳六烯酸对人肝癌细胞HepG2的作用与调控β-catenin及C-myc表达的关系

李衍彦, 范友杰, 邹 浩, 姜海涛, 李洁旭, 孙良金, 曹景玉

■背景资料
二十二碳六烯酸(docosahexaenoic acid, DHA)是人体所必需的一种ω-3多不饱和脂肪酸, 是含有6个双键且碳链长度为22个碳原子的直链脂肪酸, 主要从食物尤其是深海鱼类中获得. 自发现以来, 其在防治心脑血管疾病方面的积极作用已得到世界公认. 近年来, 流行病学及基础研究均证明其具有降低肿瘤发病率及杀伤肿瘤细胞的作用, 然而其机制十分复杂, 详尽机制仍有待深入探讨.

李衍彦, 邹浩, 姜海涛, 李洁旭, 孙良金, 曹景玉, 青岛大学附属医院(黄岛院区) 山东省青岛市 266003
范友杰, 新乡市中心医院普外科 河南省新乡市 453000
李衍彦, 青岛大学医学院肝胆外科硕士研究生, 主要从事肝脏肿瘤外科治疗方面的研究.
作者贡献分布: 李衍彦与曹景玉对此文献贡献均等. 此课题由李衍彦设计; 曹景玉指导; 研究过程由李衍彦、范友杰及邹浩完成; 研究所用试剂由李衍彦与曹景玉提供; 数据分析由李衍彦、姜海涛、李洁旭及孙良金完成; 本论文写作由李衍彦完成.
通讯作者: 曹景玉, 主任医师, 266003, 青岛市黄岛区五台山路1677号, 青岛大学附属医院(黄岛院区). cjy7027@163.com
收稿日期: 2014-02-14 修回日期: 2014-03-19
接受日期: 2014-03-28 在线出版日期: 2014-05-08

Docosahexaenoic acid promotes apoptosis and inhibits proliferation of HepG2 cells by altering β-catenin and C-myc expression

Yan-Yan Li, You-Jie Fan, Hao Zou, Hai-Tao Jiang, Jie-Xu Li, Liang-Jin Sun, Jing-Yu Cao

Yan-Yan Li, Hao Zou, Hai-Tao Jiang, Jie-Xu Li, Liang-Jin Sun, Jing-Yu Cao, Department of Hepatobiliary Surgery, the Affiliated Hospital (Huangdao District) of Qingdao University, Qingdao 266003, Shandong Province, China
You-Jie Fan, Department of General Surgery, Central Hospital of Xinxiang City, Xinxiang 453000, Henan Province, China
Correspondence to: Jing-Yu Cao, Chief Physician, Department of Hepatobiliary Surgery, the Affiliated Hospital (Huangdao District) of Qingdao University, 1677 Wutaishan Road, Huangdao District, Qingdao 266003, Shandong Province, China. cjy7027@163.com
Received: 2014-02-14 Revised: 2014-03-19
Accepted: 2014-03-28 Published online: 2014-05-08

Abstract

AIM: To investigate the effects of docosahexaenoic acid (DHA) of different concentrations on the proliferation and apoptosis of human hepatocelluar carcinoma HepG2 cells, and to explore the possible molecular mechanisms involved.

METHODS: HepG2 cells were cultured in vitro and treated with different concentrations of DHA (15, 30, 45, 60, 75 μg/mL) for different durations, with untreated cells as controls. The relative rate of reduced growth of HepG2 cells was detected by the CCK-8 method. Flow cytometry assay was applied to determine the rate of HepG2 cell apoptosis. After DHA treatment, the levels of β-catenin and C-myc mRNAs and proteins were measured by real-time PCR and Western blot, respectively.

RESULTS: In the concentration range from 0 to 45 μg/mL and with a treatment time of 24 h, DHA significantly inhibit the growth of HepG2 cells *in vitro*, and significant differences in the absorbance (A value) were observed between the experimental group and control group ($P < 0.01$), and between each two concentrations in the experimental group. If drug concentration or action time was increased, the results showed no statistically significant differences. Flow cytometric analysis indicated that DHA promotes the apoptosis of HepG2 cells. There were significant differences in the apoptosis rate between the experimental group and control group ($P < 0.01$), and between each two concentrations in the experimental group. Real-time PCR detected low levels of C-myc expression in HepG2 cells treated with DHA, and significant differences in C-myc expression were observed between the experimental group and control group ($P < 0.01$) and between each two concentrations in the experimental group. There was no significant difference in β-catenin relative expression between the experimental group and control group, or between different concentrations in the experimental group. Western blot analysis demonstrated that DHA could decrease the protein expression of β-catenin and C-myc in HepG2 cells.

CONCLUSION: DHA promotes apoptosis and inhibits proliferation of HepG2 cells possibly via mechanism associated with down-regulating the protein expression of β-catenin and the mRNA expression of C-myc.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Docosahexaenoic acid; Hepatocelluar carcinoma; Wnt/β-catenin

■同行评议者
戴朝六, 教授, 中国医科大学第二临床学院(盛京医院)肝胆外科

Li YY, Fan YJ, Zou H, Jiang HT, Li JX, Sun LJ, Cao JY. Docosahexaenoic acid promotes apoptosis and inhibits proliferation of HepG2 cells by altering β-catenin and C-myc expression. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(13): 1834-1840 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1834.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1834

摘要

目的: 探讨不同浓度的二十二碳六烯酸(docosahexaenoic acid, DHA)对人肝癌细胞HepG2生长增殖抑制及促进凋亡的作用及其机制, 为其应用于肝癌的药物预防和治疗提供实验及理论依据.

方法: 以DHA浓度0 μg/mL为阴性对照, 设置浓度为15、30、45、60、75 μg/mL的实验组. 采用CCK-8和流式细胞术检测不同浓度DHA对HepG2细胞生长的相对抑制率及凋亡情况, 并运用荧光定量PCR及Western blot分别从基因和蛋白质水平分析不同浓度DHA作用前后β-连环蛋白(β-catenin)及C-myc表达量的变化.

结果: CCK-8实验表明DHA在体外能抑制HepG2细胞生长, 在DHA作用浓度为0-45 μg/mL, 作用时间24 h时, 实验组与对照组细胞吸光度(*A*)值差异有显著的统计学意义(*P*<0.01), 实验组内两两比较差异有统计学意义(*P*<0.01), 细胞生长抑制率最高达90.7%. 继续增加药物浓度或作用时间, 差异无统计学意义. 流式细胞术发现DHA可促进HepG2细胞凋亡, 实验组与对照组细胞凋亡率差异有显著的统计学意义(*P*<0.01), 实验组内两两比较差异有统计学意义(*P*<0.01). 荧光定量PCR显示DHA可下调HepG2细胞中*C-myc*基因表达水平, 实验组与对照组*C-myc*基因相对表达量的差异有显著的统计学意义(*P*<0.01), 实验组内两两比较差异有统计学意义(*P*<0.01); 实验组与对照组及各实验者组之间*β-catenin*基因的相对表达量差异无统计学意义. Western blot显示DHA可降低HepG2细胞β-catenin、C-myc蛋白质的表达量.

结论: DHA对人肝癌HepG2细胞有明显的生长增殖抑制及促进凋亡的作用, 与其降低β-catenin蛋白质水平进而下调*C-myc*基因表达水平有关.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 二十二碳六烯酸; 肝癌; Wnt/β-catenin信号通路

核心提示: 二十二碳六烯酸对体外培养的人肝癌HepG2细胞有明显的生长增殖抑制及促进凋亡的作用, 与其降低β-catenin蛋白质水平进而下调*C-myc*基因表达水平有关.

李衍彦, 范友杰, 邹浩, 姜海涛, 李洁旭, 孙良金, 曹景玉. 二十二碳六烯酸对人肝癌细胞HepG2的作用与调控β-catenin及C-myc表达的关系. 世界华人消化杂志 2014; 22(13): 1834-1840 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1834.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1834

■研发前沿
从基因及分子水平上探讨DHA对肝癌细胞的作用是当前研究的热点. Wnt/β-catenin通路异常活化与肿瘤的发生发展有着密切关系. 通过研究DHA对该通路的影响或能更进一步揭示及丰富其抗肿瘤的机制.

0 引言

二十二碳六烯酸(docosahexaenoic acid, DHA)属于ω-3多不饱和脂肪酸, 是分子结构中含有6个碳碳双键的脂肪酸. 自被发现以来, 已证实其具有调节人体内血脂和脂蛋白正常代谢, 降低血液粘稠度和胆固醇水平, 预防心脑血管疾病等诸多生理效应. 近年来, DHA对肿瘤防治方面的研究愈来愈受到重视, 流行病学调查表明: 饮食中高ω-3多不饱和脂肪酸摄入的人群中乳腺癌、前列腺癌、结肠癌等肿瘤的发病率明显降低[1,2]. 大量的实验研究证实: 以DHA为代表的ω-3多不饱和脂肪酸能够抑制肿瘤的生长、侵袭及转移; 诱导肿瘤细胞分化、凋亡; 延长荷瘤宿主的生存时间[3-5]. 但目前关于DHA对人肝癌细胞的影响及其作用机制研究较少. 本实验中运用不同浓度的DHA处理人肝癌细胞HepG2, 观察药物作用前后对细胞增殖及凋亡的影响并探讨其作用机制, 以期为其应用于肝癌的药物预防和治疗提供实验及理论依据.

1 材料和方法

1.1 材料 DHA购自美国Sigma公司; 胎牛血清、胰酶、1640、双抗购自Hyclone公司; CCK-8购自南京建成生物工程研究所有限公司; Annexin-Ⅴ-FITC/PI凋亡检测试剂盒购自江苏南京凯基生物科技发展有限公司; DRR037逆转录试剂盒(PrimeScript® RT reagent Kit Perfect Real Time), RR820荧光定量PCR试剂盒(SYBR® Premix Ex Taq™ Ⅱ)购自TaKaRa公司; 小鼠抗人β-catenin蛋白抗体; 兔抗人c-myc抗体购自美国CST公司.

1.2 方法

1.2.1 细胞株及其培养: 人肝癌HepG2细胞由青岛大学医学院附属医院中心实验室惠赠. 细胞培养于含10%胎牛血清、100 U/mL青霉素和100 U/mL链霉素的1640培养液中, 置于37 ℃、

■相关报道
相关研究表明Wnt通路被激活后可以使β-catenin在细胞内积聚，进而影响靶基因表达，与肿瘤的发生发展有密切联系. C-myc已证实在多种肿瘤组织中高表达，是决定细胞从G_0/G_1期进入S期的开关，细胞提前进入S期，启动和加速肿瘤的发生，使肿瘤向恶性转化. 阻断wnt/β-catenin通路可以抑制肿瘤细胞生长并促进凋亡.

5%CO_2及饱和湿度的培养箱中培养生长.

1.2.2 DHA稀释: DHA用2.5 mL过滤除菌的无水酒精溶解后, 再用含2%胎牛血清的1640培养液稀释成15、30、45、60、75 μg/mL. 另配制成1 mg/mL的DHA储存液, 置于-80 ℃冰箱备用.

1.2.3 CCK-8法检测DHA对HepG2细胞生长增殖的影响: 培养细胞至对数生长期, 胰酶消化细胞制成细胞数为1×10^5/mL的细胞悬液, 以每孔200 μL接种于96孔板, 置于细胞培养箱中培养24 h细胞贴壁后, 分别加入15、30、45、60、75 μg/mL的DHA, 用等量的含2%胎牛血清的1640培养液设置阴性对照, 另外用不含细胞和DHA的含2%胎牛血清的1640培养液设置空白对照. 每种浓度均设5个复孔, 边缘孔加入少量PBS溶液, 置于细胞培养箱中分别培养24、48、72 h后取出每孔加入10 μL的CCK-8, 于摇床摇匀后置于细胞培养箱中培养3 h后终止培养, 测定每孔在波长为450 nm的细胞吸光度(A), 计算各组细胞的相对生在抑制率. 重复试验3次. 细胞存活率(%) = [(A s-A b)/(A c-A b)]×100%, A s: 实验孔(含有细胞的培养基、CCK-8、DHA), A c:对照孔(含有细胞的培养基、CCK-8、没有DHA), A b:空白孔(不含细胞和DHA的培养基、CCK-8).

1.2.4 流式细胞术测定DHA对HepG2细胞的凋亡影响: 取对数生长期细胞, 胰酶消化后制成1×10^5/mL的细胞悬液, 以每孔1 mL加入24孔板, 待细胞培养箱中培养24 h后加入15、30、45 μg/mL的DHA, 用等量的2% 1640培养液设置阴性对照, 于细胞培养箱中培养24 h后用不含EDTA的胰酶消化细胞, 消化时加入2%的胎牛血清防止细胞消化过度. 离心收集细胞, 用预冷1×PBS(4 ℃)重悬细胞, 离心收集洗涤细胞, 加入300 μL的1×Binding Buffer重新悬浮细胞, 加入5 μL的Annexin V-FITC混匀后, 避光, 室温孵育15 min, 上机前5 min再加入5 μL的PI染色, 上机前, 补加200 μL的1×Binding Buffer. 阴性对照组分别设置双阴(不加Annexin V-FITC和PI)、双阳(加Annexin V-FITC和PI)、单阳(只加Annexin V-FITC或PI).

1.2.5 实时荧光定量RT-RCR测定HepG2细胞中*β-catenin*及*C-myc*基因的表达: (1)引物设计与合成 引物由上海生物工程股份有限公司设计合成. *C-myc*(Forward): CCTCCACTCGGAAGGACTATC; *C-myc*(Reverse): GTGTTCGCCTCTTGACATTCTC. *β-catenin*(Forward): ATGTCCAGCGTTTGGCTGAA; *β-catenin* (Reverse): TGGTCCTCGTCATTTAGCAGTT. *GAPDH*(Forward): CGGGGCTCTCCAGAACATC; *GAPDH*(Reverse): ATGACCTTGCCCACAGCCT; (2)RNA提取及cDNA合成将浓度为1×10^5/mL的细胞悬液2 mL铺至六孔板, 于细胞培养箱中培养24 h后弃去培养液, PBS冲洗两遍, 加入浓度分别为15、30、45 μg/mL的DHA后再培养24 h. 每孔加入0.5 mL的TRIzol按说明书步骤提取RNA, 所有标本通过光密度分析结果$A_{260/280}$ = 1.8-2.0, 取RNA 3 μL逆转录成cDNA 10 μL, 反应体系包括: 5×PrimeScript® Buffer(for Real Time)2 μL, PrimeScript® RT Enzyme Mix I 0.5 μL, Oligo dT Primer(50 μmol/L)0.5 μL, Random 6 mers(100 μmol/L)0.5 μL, Total RNA 3 μL, RNase Free dH_2O 3.5 μL. 反应条件37 ℃ 15 min, 85 ℃ 5 s; (3)实时荧光定量RT-PCR 20 μL反应体系包括SYBR®Premix Ex Taq™(2×)10 μL, PCR Forward Primer(10 μmol/L)0.8 μL, PCR Reverse Primer(10 μmol/L)0.8 μL, DNA模板2 μL, dH_2O 6.4 μL. *C-myc*基因扩增反应条件: 95 ℃ 30 s变性, 95 ℃ 5 s, 58 ℃ 20 s, 60个循环. *β-catenin*基因扩增反应条件: 95 ℃ 30 s变性, 95 ℃ 5 s, 60 ℃ 20 s, 60个循环. 扩增完毕后, 进行溶解曲线及扩增曲线分析; (4)目的基因mRNA表达水平相对定量分析 以GAPDH为内参, 进行RT-PCR扩增, 测量各cDNA模板的Ct值, 通过Ct值进行相对定量分析, 实验组和对照组的基因表达的相对定量用$2^{-\Delta\Delta Ct}$表示, 即$2^{-\Delta\Delta Ct}$值表示实验组和对照组目的基因表达的倍数关系, 其中ΔΔCt = (实验组目的基因平均Ct值-实验组内参基因平均Ct值)-(对照组目的基因平均Ct值-对照组内参基因平均Ct值).

1.2.6 Western blot检测HepG2细胞中β-catenin和C-myc蛋白的表达: 将HepG2细胞经浓度为15、30、45 μg/mL的DHA处理后, 以等量的2%的不含DHA的1640培养液为对照组, 制备细胞蛋白裂解液, BCA蛋白试剂盒测定蛋白浓度, 取50 μg蛋白质样品上样, 与上样缓冲液按照4∶1混合, 95 ℃ 5 min, 经聚丙烯酰胺凝胶电泳(75 V恒压80 min, 120 V恒压出现溴酚蓝刚出胶底部止)分离后转移至硝酸纤维素膜, 5%脱脂奶粉PBST溶液封闭1 h后加入相应的一抗(小鼠抗人β-catenin蛋白抗体, 稀释倍数1∶1000、兔抗人C-myc蛋白抗体, 稀释倍数1∶1000)4 ℃过夜, 和

表 1 CCK-8检测人肝癌细胞HepG2各组细胞的*A*值 (mean ± SD)

DHA浓度(μg/mL)	DHA作用时间		
	24 h	48 h	72 h
0	1.273 ± 0.028[bdfhjln]	1.158 ± 0.030[bdfh]	1.236 ± 0.075[bdfh]
15	0.996 ± 0.075[bdfhln]	0.493 ± 0.025[bdfh]	0.512 ± 0.020[bdfh]
30	0.727 ± 0.025[bdfln]	0.443 ± 0.038[bdf]	0.468 ± 0.001[bdf]
45	0.376 ± 0.012	0.328 ± 0.010	0.323 ± 0.003
60	0.330 ± 0.012	0.327 ± 0.002	0.332 ± 0.006
75	0.346 ± 0.028	0.309 ± 0.020	0.319 ± 0.009

[b]*P*<0.01 *vs* 75 μg/mL; [d]*P*<0.01 *vs* 60 μg/mL; [f]*P*<0.01 *vs* 45 μg/mL; [h]*P*<0.01 *vs* 30 μg/mL; [j]*P*<0.01 *vs* 15 μg/mL; [l]*P*<0.01 *vs* 72 h; [n]*P*<0.01 *vs* 48 h. DHA: 二十二碳六烯酸.

表 2 HepG2细胞中*C-myc*和*β-catenin*基因的相对表达量

DHA浓度(μg/mL)	HepG2-C-myc	HepG2-β-catenin
0	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00
15	0.71 ± 0.072[bdf]	2.06 ± 1.025
30	0.40 ± 0.062[bd]	6.48 ± 4.281
45	0.30 ± 0.052[b]	7.13 ± 4.720

[b]*P*<0.01 *vs* 对照组; [d]*P*<0.01 *vs* 45 μg/mL; [f]*P*<0.01 *vs* 30 μg/mL. DHA: 二十二碳六烯酸.

相应二抗37 ℃孵育1 h, PBST液洗涤5 min×3次, 按ECL试剂盒说明进行显色. 以β-actin为内参, 应用图像分析软件进行图像扫描分析蛋白表达情况.

统计学处理 应用SPSS18.0软件进行统计分析, 数据用mean±SD表示, CCK-8检测细胞生长增殖数据运用多因素方差分析, 其余数据采用单因素方差分析进行比较. *P*<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 DHA对HepG2细胞生长增殖的影响

2.1.1 DHA作用浓度的影响: 不同浓度的DHA(15、30、45、60、75 μg/mL)对HepG2细胞作用前后细胞*A*值与对照组的差异均有显著的统计学意义(*P*<0.01). 在DHA浓度为15、30、45 μg/mL作用时, HepG2细胞任意两组相比细胞吸光度*A*的差异有显著统计学意义(*P*<0.01), 继续增加药物浓度, 差异无统计学意义.

2.1.2 DHA作用时间的影响: HepG2细胞在DHA作用24与48、72 h相比, 细胞吸光度*A*的差异有显著统计学意义(*P*<0.01), DHA作用48与72 h相比细胞吸光度*A*差异无统计学意义(*P* = 0.493>0.1). 不同DHA浓度和作用时间下各组HepG2细胞的吸光度如表1, 对各组细胞生长抑制率的影响如图1. 因此, 将DHA作用浓度为15、30、45 μg/mL, 作用时间24 h作为探讨其对人肝癌HepG2细胞作用机制的最佳条件.

2.2 DHA对HepG2细胞凋亡的影响 HepG2细胞经浓度为0、15、30、45 μg/mL的DHA处理后, 其细胞凋亡率分别为3.717%±1.013%、7.353%±2.206%、11.153%±1.240%、16.377%±2.000%(图2). 任意两组之间细胞凋亡率差异有显著统计学意义(*P*<0.01).

2.3 Real-time荧光定量RT-PCR检测DHA对HepG2细胞*β-catenin*和*C-myc*基因表达的影响 在不同DHA浓度作用下, 两种目的基因的相对表达量$2^{-\Delta\Delta Ct}$值如表2. 不同浓度DHA对HepG2细胞作用前后实验组与对照组及各实验组之间*C-myc*基因相对表达量的差异有显著的统计学意义(*P*<0.01); 细胞实验组与对照组及各实验者组之间*β-catenin*基因的相对表达量差异无统计学意义.

2.4 Western blot检测DHA对HepG2细胞β-catenin和C-myc蛋白表达的影响 在不同浓度的DHA作用下, HepG2细胞的β-catenin、C-myc蛋白表达的结果如图3. 从图中可以看到: HepG2细胞β-catenin蛋白及C-myc蛋白水平随着DHA作用浓度升高表达量降低.

3 讨论

肝癌在所有恶性肿瘤的患病率中位居第5位, 然而其死亡率却高达第2位. 世界上每年死于肝癌的患者高达70万例, 且新增肝癌患者约75万例, 其中约一半的患者发生在中国[6]. 肝癌患者约有80%丧失手术机会, 即使获得根治性手术切除, 5

■创新盘点
本研究主要基于CCK-8和流式细胞术检测不同浓度DHA对肝癌HepG2细胞抑制增殖及诱导凋亡的影响, 并且分别从基因和分子水平分析不同浓度DHA作用前后β-连环蛋白(β-catenin)及C-myc表达量的变化.

■应用要点
针对DHA对人肝癌HepG2细胞的影响及其作用机制的探讨, 有一定的理论价值并对将来开发相关药物有参考意义.

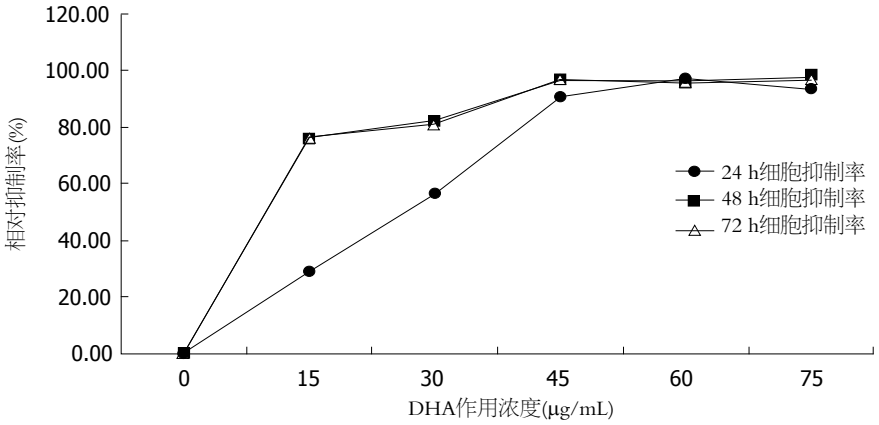


图 1 CCK8对人肝癌细胞HepG2生长抑制率的影响. DHA: 二十二碳六烯酸.

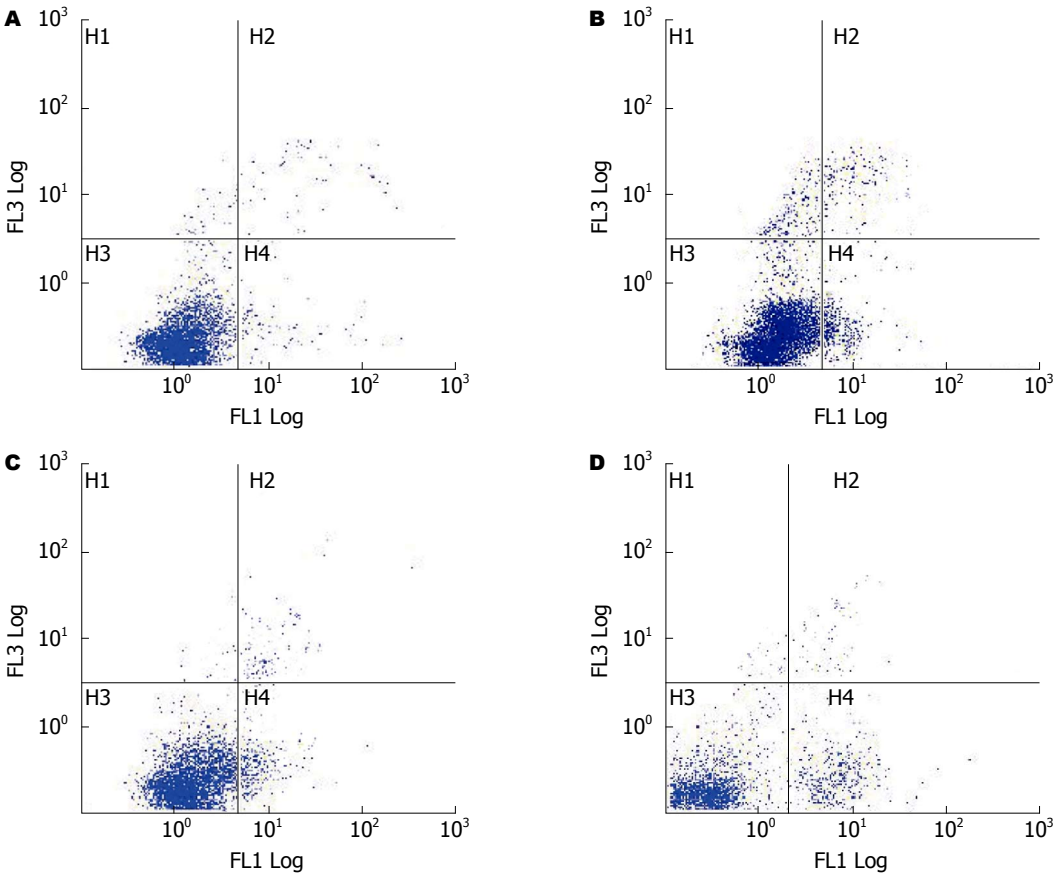


图 2 经不同浓度DHA作用后人肝癌细胞HepG2的细胞凋亡率. A: 0 μg/mL; B: 15 μg/mL; C: 30 μg/mL; D: 45 μg/mL. DHA: 二十二碳六烯酸.

年内仍有60%-70%的患者出现转移复发. 因此, 积极寻求一种针对肝癌患者安全有效的药物治疗方案已是十分必要.

本次研究中发现DHA在体外对人肝癌细胞HepG2起到抑制细胞生长增殖作用. 当DHA作用浓度从15-45 μg/mL, 作用时间24-48 h内对HepG2的生长增殖抑制作用呈现剂量-时间依赖关系, 在该范围内DHA作用浓度越大, 作用时间越长, 对肝癌细胞的生长增殖抑制作用就越大. 当进一步增加DHA的作用浓度可以发现其对肝癌细胞生长增殖的抑制作用并无明显增加. 同时, 通过流式细胞术发现DHA对肝癌细胞有促进凋亡的作用.

以DHA为代表的ω-3多不饱和脂肪酸可以杀伤人体多种肿瘤细胞, 但其具体机制却不甚明确, 可能与其改变生物膜的结构和功能, 增加

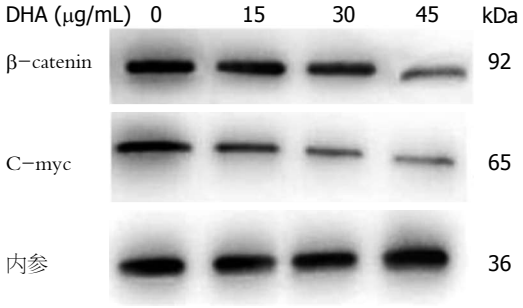


图 3 不同浓度DHA对HepG2细胞的β-catenin和C-myc蛋白表达的影响. DHA: 二十二碳六烯酸.

细胞脂质过氧化作用、抑制相关癌基因编码蛋白及肿瘤新生血管形成、抑制细胞信号转导通路等有关[7,8]. Wnt信号通路是最近发现在肿瘤发生发展中起重要作用的信号传导通路, Wei等[9]发现Wnt蛋白在肝癌组织及其细胞系中表达增高, 与肝癌的发生有密切关系. Wnt信号进入胞内后, 使β-catenin不能被GSK-3β磷酸化. 磷酸化的β-catenin才可通过遍在蛋白化而被胞浆内的蛋白酶体所降解, 由于非磷酸化的β-catenin不能被蛋白酶体降解, 从而导致β-catenin在胞浆内积聚, 并移向核内, 上调靶基因*C-myc*等的表达. 通过推动细胞周期发展或产生异常蛋白, 使细胞发生癌变[10]. Wnt信号传导通路在肝癌细胞发生发展的许多阶段均有重要作用[11,12]. 本次研究中运用荧光定量PCR及Western blot从多个层面检测了不同浓度DHA作用前后*β-catenin*和*C-myc*基因及蛋白质水平的变化情况. 结果表明: 随着DHA的作用浓度增加, HepG2细胞中的β-catenin及C-myc蛋白的表达量降低, *C-myc*基因表达量降低, 但是*β-catenin*基因表达量未见明显变化. 说明DHA通过某种机制降低β-catenin蛋白质水平, 使得Wnt通路中的靶基因*C-myc*表达量降低. 进一步支持Lim[13]等研究, 其发现DHA可以促进Axin和GSK-3β结合形成降解β-catenin的复合物, 从而降低细胞质中β-catenin的蛋白浓度. 同时El-Bassiouni等[14]研究发现C-myc的过度表达与肝癌的发生发展有密切关系. 并有研究表明肝癌细胞中β-catenin在胞质中分布较多, 胞核可见明显积聚现象[15]. β-catenin在肝癌细胞中高表达并与其分化程度有关[16]. 这就进一步说明DHA对人肝癌的作用机制与降低β-catenin的蛋白质水平进而下调*C-myc*基因表达有关.

本次研究证实DHA可以抑制肝癌细胞生长增殖, 促进细胞凋亡. 其可能的机制是从蛋白质水平上降低了β-catenin的表达量, 进而下调了靶基因*C-myc*的表达量, 但随着DHA作用浓度及作用时间的进一步增加, 细胞的生在增殖的抑制作用趋于平缓, 推测在DHA抑制肝癌细胞生在增殖的过程中可能存在某个关键物质达到饱和状态, 限制了下游机制的进一步发生发展, 亦或当DHA作用浓度和作用时间达到一定程度时又引发了细胞的其他机制拮抗了药物的进一步作用, 其对肝癌细胞的作用机制还有待进一步研究.

4 参考文献

1 Fernández E, Gallus S, La Vecchia C. Nutrition and cancer risk: an overview. *J Br Menopause Soc* 2006; 12: 139-142 [PMID: 17178013 DOI: 10.1258/136218006779160481]

2 Gutt CN, Brinkmann L, Mehrabi A, Fonouni H, Müller-Stich BP, Vetter G, Stein JM, Schemmer P, Büchler MW. Dietary omega-3-polyunsaturated fatty acids prevent the development of metastases of colon carcinoma in rat liver. *Eur J Nutr* 2007; 46: 279-285 [PMID: 17593466 DOI: 10.1007/s00394-007-0662-y]

3 Larsson SC, Kumlin M, Ingelman-Sundberg M, Wolk A. Dietary long-chain n-3 fatty acids for the prevention of cancer: a review of potential mechanisms. *Am J Clin Nutr* 2004; 79: 935-945 [PMID: 15159222]

4 Kojima M, Wakai K, Tokudome S, Suzuki K, Tamakoshi K, Watanabe Y, Kawado M, Hashimoto S, Hayakawa N, Ozasa K, Toyoshima H, Suzuki S, Ito Y, Tamakoshi A. Serum levels of polyunsaturated fatty acids and risk of colorectal cancer: a prospective study. *Am J Epidemiol* 2005; 161: 462-471 [PMID: 15718482 DOI: 10.1093/aje/kwi066]

5 Kim J, Lim SY, Shin A, Sung MK, Ro J, Kang HS, Lee KS, Kim SW, Lee ES. Fatty fish and fish omega-3 fatty acid intakes decrease the breast cancer risk: a case-control study. *BMC Cancer* 2009; 9: 216 [PMID: 19566923 DOI: 10.1186/1471-2407-9-216]

6 Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 69-90 [PMID: 21296855 DOI: 10.3322/caac.20107]

7 Yu JH, Kang SG, Jung UY, Jun CH, Kim H. Effects of omega-3 fatty acids on apoptosis of human gastric epithelial cells exposed to silica-immobilized glucose oxidase. *Ann N Y Acad Sci* 2009; 1171: 359-364 [PMID: 19723076 DOI: 10.1111/j.1749-6632.2009.04703.x]

8 Spencer L, Mann C, Metcalfe M, Webb M, Pollard C, Spencer D, Berry D, Steward W, Dennison A. The effect of omega-3 FAs on tumour angiogenesis and their therapeutic potential. *Eur J Cancer* 2009; 45: 2077-2086 [PMID: 19493674 DOI: 10.1016/j.ejca.2009.04.026]

9 Wei W, Chua MS, Grepper S, So SK. Blockade of Wnt-1 signaling leads to anti-tumor effects in hepatocellular carcinoma cells. *Mol Cancer* 2009; 8: 76 [PMID: 19778454 DOI: 10.1186/1476-4598-8-76]

10 Hoppler S, Kavanagh CL. Wnt signalling: variety at the core. *J Cell Sci* 2007; 120: 385-393 [PMID: 17251379]

11 Branda M, Wands JR. Signal transduction cascades

■同行评价
本文探讨DHA对人肝癌HepG2细胞有的生长增殖抑制与促进凋亡作用及其机制, 实验结果达到论文设计的要求, 对结果的解释恰当、合理. 具有一定的指导意义.

and hepatitis B and C related hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2006; 43: 891-902 [PMID: 16628664 DOI: 10.1002/hep.21196]
12 Monga SP. Hepatic adenomas: presumed innocent until proven to be beta-catenin mutated. *Hepatology* 2006; 43: 401-404 [PMID: 16496344 DOI: 10.1002/hep.21110]
13 Lim K, Han C, Dai Y, Shen M, Wu T. Omega-3 polyunsaturated fatty acids inhibit hepatocellular carcinoma cell growth through blocking beta-catenin and cyclooxygenase-2. *Mol Cancer Ther* 2009; 8: 3046-3055 [PMID: 19887546 DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-09-055]
14 El-Bassiouni A, Nosseir M, Zoheiry M, El-Ahwany E, Ghali A, El-Bassiouni N. Immunohistochemical expression of CD95 (Fas), c-myc and epidermal growth factor receptor in hepatitis C virus infection, cirrhotic liver disease and hepatocellular carcinoma. *APMIS* 2006; 114: 420-427 [PMID: 16856963 DOI: 10.1111/j.1600-0463.2006.apm_323.x]
15 王宝松, 魏德全, 于树娜, 姜栋栋, 赵金岭, 史才兴, 蒋吉英. Wnt信号通路在HepG2细胞株及其克隆形成细胞中表达的异质性. 世界华人消化杂志 2011; 19: 284-288
16 金世龙, 刘宏鸣, 刘宝华, 肖静, 杨俊涛, 顾红光, 申海军.肝癌组织和肝癌HepG2、SMCC-7721细胞株β-catenin的表达. 解放军医学杂志 2007; 32: 826-829

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年5月8日; 22(13): 1841-1847
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

研究快报 RAPID COMMUNICATION

直接肾素抑制剂对大鼠急性胰腺炎的保护作用及机制

黄元龙, 尹 青, 颜 琼, 邓明明

黄元龙, 尹青, 颜琼, 邓明明, 泸州医学院附属医院消化内科 四川省泸州市 646000
黄元龙, 主要从事胰腺病学方面的研究.
泸州市科技计划基金资助项目, No. 2013-S-48(3/30)
作者贡献分布: 此课题由邓明明与黄元龙共同设计完成; 研究过程由黄元龙、尹青及颜琼共同完成; 本论文写作由邓明明与黄元龙共同完成.
通讯作者: 邓明明, 教授, 主任医师, 646000, 四川省泸州市江阳区太平街25号, 泸州医学院附属医院消化内科.
793070544@qq.com
收稿日期: 2014-01-11 修回日期: 2014-03-26
接受日期: 2014-04-09 在线出版日期: 2014-05-08

Protective effects of aliskiren, a direct renin inhibitor, in rats with acute pancreatitis

Yuan-Long Huang, Qing Yin, Qiong Yan, Ming-Ming Deng

Yuan-Long Huang, Qing Yin, Qiong Yan, Ming-Ming Deng, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, Luzhou 646000, Sichuan Province, China
Supported by: Luzhou Science and Technology Project, No. 2013-S-48(3/30)
Correspondence to: Ming-Ming Deng, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, 25 Taiping Road, Jiangyang District, Luzhou 646000, Sichuan Province, China. 793070544@qq.com
Received: 2014-01-11 Revised: 2014-03-26
Accepted: 2014-04-09 Published online: 2014-05-08

Abstract

AIM: To investigate the inhibitory effects of aliskiren on the renin angiotensin system (RAS) in rats with acute pancreatitis (AP) and to explore the mechanisms involved.

METHODS: Seventy-two SD rats were randomly divided into a sham operation group, an acute AP model group, and an aliskiren therapy group. AP was induced by retrograde injection of 3.5% sodium taurocholate (0.1 mL/100 g) into the biliopancreatic duct. Aliskiren solution was administered in rats of the aliskiren therapy group by gavage at a dose of 20 mg/kg, and equivalent volume of normal saline (NS) was given in the other two groups. Rats in each group were further divided into three subgroups for taking inferior vena cava blood samples at 6, 12 and 24 h, respectively. The rats were then killed to observe pancreatic pathological changes and measure serum amylase (AMY), tumor necrosis factor-α (TNF-α), angiotensin Ⅱ (Ang Ⅱ), and plasma renin activity (PRA). The expression of nuclear factor kappa-B (NF-κB) and angiotensin Ⅱ type 1 receptor (AT1R) in the pancreas was determined by immunohistochemistry.

RESULTS: Compared with the AP group, pancreatic histopathological score (7.25 ± 0.80, 9.57 ± 1.54, 12.75 ± 1.22), AMY (2230.87 U/L ± 224.71 U/L, 2137.41 U/L ± 193.31 U/L, 2457.01 U/L ± 188.81 U/L), TNF-α (26.28 ng/L ± 2.45 ng/L, 27.51 ng/L ± 1.91 ng/L, 27.17 ng/L ± 2.02 ng/L), PRA [7.31 ng/(mL•h) ± 1.94 ng/(mL•h), 8.69 ng/(mL•h) ± 1.78 ng/(mL•h), 9.04 ng/(mL•h) ± 1.78 ng/(mL•h)], Ang Ⅱ (755.47 ng/L ± 121.33 ng/L, 871.17 ng/L ± 129.43 ng/L, 878.39 ng/L ± 81.29 ng/L), positive rates of AT1R (48.60 ± 6.28, 49.62 ± 7.19, 51.20 ± 7.04) and NF-κB (65.66 ± 4.93, 68.66 ± 5.23, 68.13 ± 7.14) at each time point (6, 12, 24 h) were decreased significantly ($P < 0.05$ for all) in the aliskiren therapy group.

CONCLUSION: Aliskiren can protect from pancreatic inflammation and injury in AP rats.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Acute pancreatitis; Direct renin inhibitor; Aliskiren; Renin-angiotensin system

Huang YL, Yin Q, Yan Q, Deng MM. Protective effects of aliskiren, a direct renin inhibitor, in rats with acute pancreatitis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(13): 1841-1847 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1841.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1841

摘要

目的: 探讨直接肾素抑制剂(阿利吉仑)抑制肾素-血管紧张素系统(renin-angiotensin system, RAS)首位环节对大鼠急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)的保护作用及机制.

■背景资料
急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)的病因和发病机制众多. 近年来, 随着对RAS的研究, 其在炎症性病变中起着重要作用. 本文用阿利吉仑从肾素-血管紧张素系统(renin-angiotensin system, RAS)起始部位抑制其活性, 观察阿利吉仑对大鼠AP的作用, 为AP的治疗提供一种新的理论基础和实验依据.

■同行评议者
谷俊朝, 主任医师, 首都医科大学附属北京友谊医院普外科; 陈海龙, 教授, 大连医科大学附属第一医院院办

■研发前沿
阿利吉仑在心血管系统疾病已有很多研究报道，且也证实其可抑制肾素活性减少Ang血管紧张素Ⅱ (angiotensin, AngⅡ)生成，同时具有抗炎、减轻氧化应激、抑制炎症信号通路等作用. 随着对阿利吉仑的深入研究，其在胰腺炎等炎症性病变中亦可能起到一定保护作用.

方法: 72只SD大鼠随机分为假手术组(SO组)、急性胰腺炎组(AP组)、阿利吉仑治疗组(R组). 采用3.5%牛磺胆酸钠(0.1 mL/100 g)逆行胰胆管注射制备AP组和R组大鼠急性胰腺炎模型; 而SO组仅开腹并轻轻触动十二指肠和胰腺后关腹. R组于造模成功后给予阿利吉仑溶液灌胃(20 mg/kg); SO组及AP组给予同等剂量的生理盐水灌胃. 各组大鼠于术后6、12、24 h, 分批次等数量[8只/(组•批)]下腔静脉抽血后处死. 取胰腺组织观察胰腺病理变化及进行病理学评分, 并检测大鼠血清淀粉酶(serum amylase, AMY)、肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)、血管紧张素Ⅱ(angiotensin Ⅱ, Ang Ⅱ)、血浆肾素活性(plasma enin activity, PRA)的变化. 免疫组织化学方法观察胰腺组织血管紧张素Ⅱ 1型受体(angiotensin Ⅱ type 1 receptor, AT1R)血管紧张素Ⅱ 1型受体(AT1R)和核因子-κB(nuclear factor kappa-B, NF-κB)的表达情况.

结果: 与AP组比较, R组各时间点(6、12、24 h)的病理学评分(7.25±0.80、9.57±1.54、12.75±1.22)、AMY(2230.87 U/L±224.71 U/L、2137.41 U/L±193.31 U/L、2457.01 U/L±188.81 U/L)、TNF-α(26.28 ng/L±2.45 ng/L、27.51 ng/L±1.91 ng/L、27.17 ng/L±2.02 ng/L), PRA[7.31 ng/(mL·h)±1.94 ng/(mL·h)、8.69 ng/(mL·h)±1.78 ng/(mL·h)、9.04 ng/(mL·h)±1.78 ng/(mL·h)]和AngⅡ(755.47 ng/L±121.33 ng/L、871.17 ng/L±129.43 ng/L、878.39 ng/L±81.29 ng/L)明显降低(P<0.05), AT1受体阳性表达率(48.60%±6.28%、49.62%±7.19%、51.20%±7.04%)下降(P<0.05), 以及NF-κB的阳性表达率(65.66%±4.93%、68.66%±5.23%、68.13%±7.14%)亦下降(P<0.05).

结论: 肾素抑制剂(阿利吉仑)对大鼠急性胰腺炎的炎症病变及损伤具有一定保护作用.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 急性胰腺炎; 直接肾素抑制剂; 阿利吉仑; 肾素–血管紧张素系统

核心提示: 阿利吉仑可以通过抑制肾素-血管紧张素系统(renin-angiotensin system, RAS)减少血管紧张素Ⅱ(angiotensin Ⅱ, AngⅡ)的生成, 弱化AngⅡ在急性胰腺炎的病理生理作用, 同时可抑制炎症信号通路核因子-κB(nuclear factor kappa-B)所致的炎症反应不断放大失控, 减少下游肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α)等炎症因子的产生, 对大鼠急性胰腺炎的炎症病变及损伤具有保护作用.

黄元龙, 尹青, 颜琼, 邓明明. 直接肾素抑制剂对大鼠急性胰腺炎的保护作用及机制. 世界华人消化杂志 2014; 22(13): 1841-1847
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1841.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1841

0 引言

肾素-血管紧张素系统(renin-angiotensin system, RAS)为一神经内分泌系统, 且有着复杂的酶促反应链. 随着对其的深入研究, 新成员的不断发现, RAS形成了一多元系统, 其不同分支点在RAS的不同位点发挥着不同作用. 急性胰腺炎时RAS的激活与胰腺的病理损伤及全身炎症反应综合征和多器官功能障碍有密切关系[1]. 通过对RAS不同位点的调控可以减轻炎症反应以及炎症持续放大所致的远隔器官的损伤. RAS不同位点的抑制剂如血管紧张素转换酶抑制(angiotensin converting enzyme inhibition, ACEI)和血管紧张素Ⅱ受体拮抗剂(angiotensin Ⅱ receptor blocker, ARB)在动物急性胰腺炎模型中具有一定的保护作用[2,3]. 本实验中阿利吉仑为一小分子量非肽类肾素抑制, 其作为RAS的首步限速酶抑制剂, 对肾素具有很高的亲和力, 能与肾素活性位点结合阻断其催化活性[4], 从而降低血管紧张素Ⅰ(angiotensin, AngⅠ)和血管紧张素Ⅱ(angiotensin Ⅱ, Ang Ⅱ)的水平. 另在相关实验中发现阿利吉仑有减少炎症细胞浸润、减轻氧化应激、抑制促炎信号丝裂原活化蛋白激酶的激活以及抗纤维化等作用[5-7], 从而发挥对组织器官的保护作用. 然而关于阿利吉仑在急性胰腺炎时是否发挥保护作用目前尚缺乏相关研究报道. 本文通过建立急性胰腺炎模型, 观察肾素抑制剂(阿利吉仑)在急性胰腺炎时所发挥的作用, 为急性胰腺炎的治疗提供新的理论基础和实验依据.

1 材料和方法

1.1 材料 阿利吉仑(瑞士诺华医药公司); 牛黄胆酸钠(Sigma, 美国); 血管紧张素Ⅰ、Ⅱ放射免疫试剂盒(北京北方生物技术研究所); TNF-α ELISA试剂盒(武汉博士德生物工程公司); AT1受体兔抗大鼠多克隆抗体(Biworld, 美国)、大鼠NF-κB p65抗体(Biworld, 美国); SD大鼠, 雌雄不限, 72只(泸州医学院实验动物中心提供).

1.2 方法

1.2.1 实验动物分组及模型制作: 将72只SD大鼠随机分为假手术组(SO组)、急性胰腺炎模型组(AP组)、阿利吉仑治疗组(R组), 每组24只. 造模前大鼠禁食12 h, 不禁水. 参照Aho等[8]的方法复制大鼠急性胰腺炎模型. 1%戊巴比妥钠(30 mg/kg)腹腔麻醉, 采用上腹正中切口开腹, 寻及十二指肠及胰胆管, 用一小动脉夹夹闭胆管近肝门端, 以1 mL磨钝针头经肠壁从十二指肠乳头刺入胰管约0.8 cm, 以0.1 mL/100 g剂量向胰管内逆行推注3.5%牛黄胆酸钠, 压迫5 min后去除小动脉夹关腹. 假手术组仅开腹并轻轻触动十二指肠和胰腺后关腹. R组于造模成功后给予2.0 g/L阿利吉仑溶液灌胃(20 mg/kg); SO及AP组给予同等剂量的生理盐水灌胃. 术后各组动物分笼饲养, 自由进水. 各组大鼠在造模后6、12、24 h分3批(每批8只/组)下腔静脉取血后处死, 快速切取胰腺组织以多聚甲醛固定, 测定各项指标.

1.2.2 检测指标及方法: (1)胰腺HE染色及病理学评分: 胰腺组织标本以4%中性甲醛固定, 常规石蜡包埋、HE染色, 于光镜下观察, 采用Schmidt[9]评分标准对胰腺组织进行病理学评分; (2)血清淀粉酶(serum amylase, AMY)的测定: 经大鼠下腔静脉抽取2 mL, 2000 r/min离心10 min后留取血清, 保存于-70 ℃冰箱备测. 采用全自动生化分析仪检测血清淀粉酶, 单位为U/L; (3)血清TNF-α的测定: 严格按照ELISA试剂盒说明, 取上述血清后, 采用双抗体夹心法测定血清TNF-α含量; (4)AngⅡ、PRA: 下腔静脉取血2 mL注入酶抑制剂抗凝管, 轻轻混匀, 置于冰水浴中2 h, 取出后4 ℃低温离心机2500 r/min离心7 min, 分离血浆低温冰箱内保存备测, 按照放射免疫试剂盒说明, 测定各样本放射性, 联机电脑得出待测样品结果; (5)NF-κB及AT1受体在胰腺组织的表达情况: 采用二步免疫组织化学方法(PV法)染色, 参照AT1受体兔抗大鼠多克隆抗体、大鼠NF-κB p65抗体试剂盒进行, 显色采用DAB试剂盒进行, 光镜观察胞质和(或)胞核中有棕黄色颗粒者为阳性细胞, 且计算阳性表达率, 计算方法: 数5个高倍视野, 分别计算阳性细胞和总细胞数, 阳性率 = 阳性细胞数/总细胞数×100%.

统计学处理 应用SPSS13.0统计软件, 计量资料用均数mean±SD表示. 多组样本均数之间比较采用单因素方差分析. 各组间的两两比较采用多个均数间的多重比较(Dunnett-*t*检验). *P*<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 胰腺组织大体及病理学改变和病理评分

2.1.1 大体观察: SO组大鼠胰腺肉眼观呈均匀一致的粉红色, 质软, 薄片状, 光泽度好, 且随着时间延长未见明显水肿、出血坏死, 腹腔内无腹水及皂化斑, 3个时间点大鼠胰腺未见明显变化. AP组在造模后随即可见沿胰胆管周围腺体组织出现充血, 水肿, 范围逐渐加大, 颜色逐渐加深. 随着时间延长, 6 h大鼠胰腺肿胀明显, 色泽变淡, 呈暗红色, 无光泽, 少量腹水及胰腺表面皂化斑的形成. 12 h可见大鼠胰腺出血坏死, 呈暗褐色, 胰腺及网膜皂化斑的增多, 且胰腺与相邻脏器粘连明显, 胃肠胀气亦明显, 同时可见较多血性腹水形成; 24 h大鼠胰腺呈暗褐色, 广泛的坏死出血及钙化灶形成, 与周围脏器大量黏连, 胃肠淤张胀气更为明显, 可见大量血性腹水. R组各时间点与AP组同一时间点相比, 胰腺水肿、出血、坏死、皂化斑的形成及腹水量均减轻.

2.1.2 光镜观察: SO组胰腺组织镜下胰腺小叶结构完整, 间质轻度水肿, 少量炎性细胞浸润, 且三个时间点胰腺组织镜下所见无明显差异. AP组病程6 h, 胰腺间质水肿, 小叶间隔稍增宽, 有炎症细胞浸润; 12 h可见胰腺间质明显水肿, 小叶间隙明显增宽, 部分小叶结构破坏, 片状坏死、出血, 大量炎症细胞浸润; 24 h可见胰腺病理损伤程度加重, 小叶结构消失, 大量炎细胞浸润, 呈现大片状出血、坏死, 部分见脂肪液化坏死及腺泡细胞固缩, 崩解, 部分小叶甚至成为一片红染的无结构区; R组与AP 组同一时间点相比, 胰腺小叶水肿、间隔增宽、炎细胞浸润、出血、坏死等病变程度均减轻(图1).

2.1.3 胰腺组织病理学评分: 采用Schmidt评分标准对胰腺组织进行病理学评分, 可见AP组3个时间点胰腺组织病理学评分较SO组明显升高(*P*<0.05); R组3个时间点胰腺组织病理学评分较AP组明显减低(*P*<0.05), 但仍高于SO组(*P*<0.05)(表1).

2.2 大鼠AMY、TNF-α、Ang Ⅱ、PRA水平变化及比较 急性胰腺炎造模成功后, AP组3个时间点的AMY、TNF-α、Ang Ⅱ、PRA较SO组明显升高(*P*<0.05); 和AP组比较, R组3个时间点的AMY、TNF-α、Ang Ⅱ、PRA较SO组明显下降(*P*<0.05), 但仍高于SO组(*P*<0.05)(表2).

2.3 免疫组织化学方法观察胰腺组织AT1受体、NF-κB的表达

2.3.1 AT1受体在胰腺组织中的表达: AT1受体

■相关报道

Dong等报道阿利吉仑可以减轻氧化应激对2型糖尿病大鼠的胰腺损伤及心血管系统并发症有保护作用.

■创新盘点

本研究以RAS起始部位作为切入点，通过阿利吉仑对肾素活性的抑制，可以减少RAS主要活性物质AngⅡ的生成，减弱其生物学活性，同时阿利吉仑抑制核因子-κB(nuclear factor kappa-B, NF-κB)炎症信号通路，减少肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α)的生成，减轻炎症反应. 但目前阿利吉仑在急性胰腺方面的研究尚不多见，通过对其的实验研究，可为AP的治疗寻找一种新的途径和治疗方法.

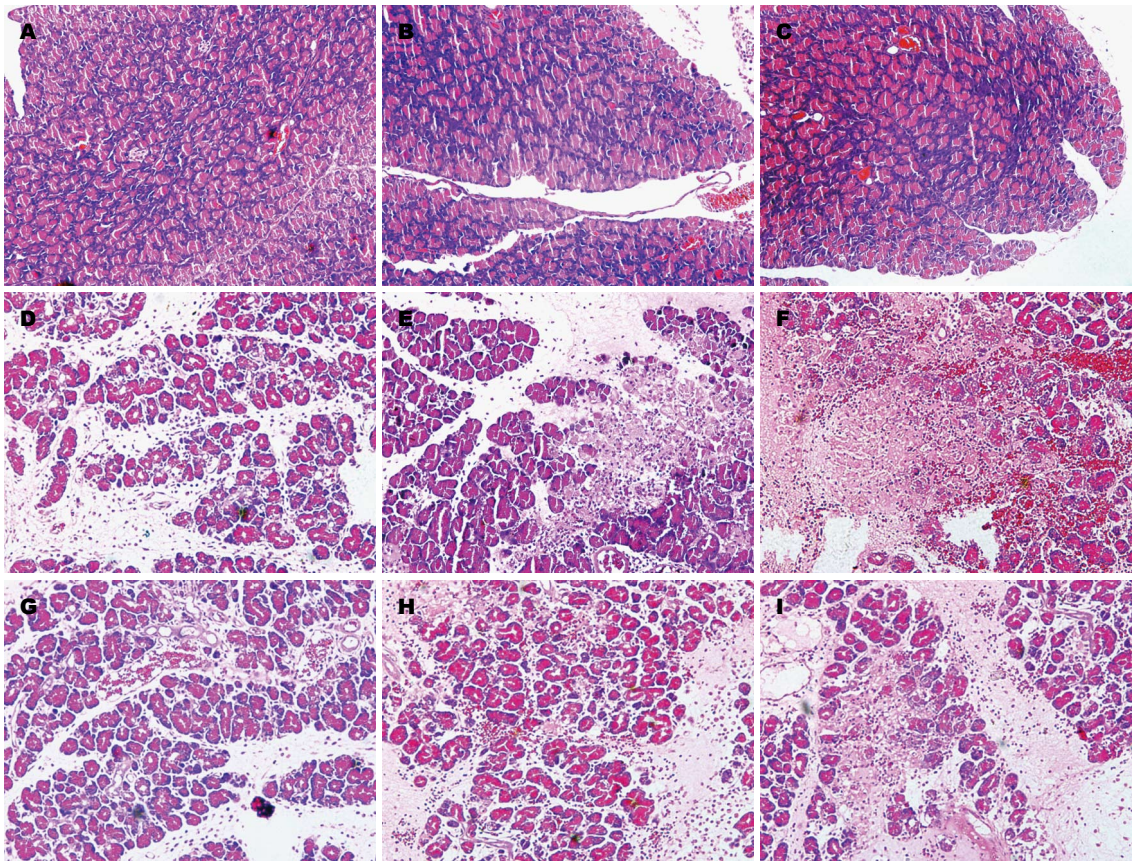


图 1 光学显微镜下各组大鼠胰腺组织病理学变化(HE × 200). A: SO组6 h; B: SO组12 h; C: SO组24 h; D: AP组6 h; E: AP组12 h; F：AP组24 h; G: R组6 h; H: R组12 h; I: R组24 h. SO组: 假手术组; AP组: 急性胰腺炎组; R组: 阿利吉仑治疗组.

表 1 胰腺组织病理学评分 (mean ± SD, n = 8)

分组	6 h	12 h	24 h
SO组	0.31 ± 0.12	0.48 ± 0.12	0.51 ± 0.08
AP组	13.00 ± 1.01[a]	15.25 ± 0.96[a]	17.81 ± 0.84[a]
R组	7.25 ± 0.80[ac]	9.57 ± 1.54[ac]	12.75 ± 1.22[ac]

[a]P<0.05 *vs* SO组同一时间点; [c]P<0.05 *vs* AP组同一时间点. SO组: 假手术组; AP组: 急性胰腺炎组; R组: 阿利吉仑治疗组.

主要表达于胰腺组织的血管壁，在胰管壁也有表达，腺泡基本不表达，阳性细胞呈棕黄色染色. 其中AT1受体在SO组各时间点表达很少; 在AP组各时间点AT1受体表达较SO组明显增多(P<0.05); 阿利吉仑干预的R组在各时间点AT1受体表达均弱于同时间点AP组(P<0.05)，但仍较同时间点的SO组高(P<0.05). 在5个高倍视野下观察阳性细胞数N1，总细胞数N，计算各组阳性率 = N1/N×l00%(表3).

2.3.2 NF-κB在胰腺组织中的表达: NF-κB主要在胰腺腺泡胞核和胞浆中表达，阳性细胞为胞核和/或胞浆呈棕黄色染色. 其中在SO组各时间点胰腺细胞NF-κB少量表达; 在AP组各时间点胰腺细胞NF-κB活化明显，阳性表达率较SO组明显增多(P<0.05); 在阿利吉仑干预的R组胰腺细胞的阳性表达率均弱于同时间点AP组(P<0.05)，但仍较同时间点的SO组高(P<0.05). 在5个高倍视野下观察阳性细胞数N1，总细胞数N，计算各组阳性率 = N1/N×l00%(表4).

3 讨论

AP是以胰腺组织水肿、腺泡细胞变性、坏死以及受损腺体的出血和炎细胞浸润为特点的一种炎症性疾病，其总体死亡率为5%-10%[10]. 若病情进行性发展为重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)，其死亡率可高达30%以上[11]. AP的病因及发病机制众多，有多种学说和观点，包括胰腺自身消化学说、炎症介质学说、氧化应激学说、肠道细菌移位学说、胰腺腺泡细胞凋亡及钙超载学说等[12]. 传统意义上，RAS被视为一种调节血压、维持水电解质平衡的神经内分泌系统，且有着复杂的酶促反应链. 近年来研究发现，RAS除了存在于传统意义的循环系统

表 2 各组不同时间血清淀粉酶、TNF-α、Ang II、PRA的比较 (mean ± SD, n = 8)

分组	时间(h)	血清淀粉酶(U/L)	TNF-α(ng/L)	Ang II(ng/L)	PRA[ng/(mL•h)]
SO组	6	1148.91 ± 145.32	12.65 ± 3.14	466.62 ± 93.51	2.38 ± 1.08
	12	1222.13 ± 180.33	13.37 ± 2.86	502.96 ± 104.92	2.59 ± 1.10
	24	1241.66 ± 127.90	13.01 ± 2.88	522.83 ± 116.78	2.98 ± 1.22
AP组	6	3166.14 ± 155.82[a]	32.30 ± 3.64[a]	908.94 ± 110.73[a]	10.45 ± 2.39[a]
	12	3336.87 ± 149.76[a]	34.28 ± 3.99[a]	1128.12 ± 196.76[a]	12.30 ± 1.92[a]
	24	3402.97 ± 118.48[a]	34.08 ± 4.41[a]	1205.11 ± 214.18[a]	13.00 ± 2.15[a]
R组	6	2230.87 ± 224.71[ac]	26.28 ± 2.45[ac]	755.47 ± 121.33[ac]	7.31 ± 1.94[ac]
	12	2137.41 ± 193.31[ac]	27.51 ± 1.91[ac]	871.17 ± 129.43[ac]	8.69 ± 1.78[ac]
	24	2457.01 ± 188.81[ac]	27.17 ± 2.02[ac]	878.39 ± 81.29[ac]	9.04 ± 1.78[ac]

[a]P<0.05 *vs* SO组同一时间点; [c]P<0.05 *vs* AP组同一时间点. SO组: 假手术组; AP组: 急性胰腺炎组; R组: 阿利吉仑治疗组. TNF: 肿瘤坏死因子; Ang: 促血管生成素; PRA: 群体反应性抗体.

表 3 各组胰腺组织中AT1受体的表达 (mean ± SD, n = 8)

分组	6 h	12 h	24 h
SO组	1.90 ± 1.05	2.10 ± 0.73	2.00 ± 0.74
AP组	69.12 ± 5.03[a]	72.63 ± 5.65[a]	71.38 ± 6.60[a]
R组	48.60 ± 6.28[ac]	49.62 ± 7.19[ac]	51.20 ± 7.04[ac]

[a]P<0.05 *vs* SO组同一时间点; [c]P<0.05 *vs* AP组. SO组: 假手术组; AP组: 急性胰腺炎组; R组: 阿利吉仑治疗组.

表 4 各组胰腺组织中核因子-κB的表达 (mean ± SD, n = 8)

分组	6 h	12 h	24 h
SO组	1.63 ± 0.58	1.55 ± 0.39	1.80 ± 0.54
AP组	85.06 ± 7.67[a]	89.26 ± 7.43[a]	88.66 ± 6.25[a]
R组	65.66 ± 4.93[ac]	68.66 ± 5.23[ac]	68.13 ± 7.14[ac]

[a]P<0.05 *vs* SO组同一时间点; [c]P<0.05 *vs* AP组. SO组: 假手术组; AP组: 急性胰腺炎组; R组: 阿利吉仑治疗组.

中, 在胰腺等局部组织器官也存在RAS[13], 且随着对RAS的深入研究和RAS组分的新发现, RAS与AP关系亦得到重视.

急性胰腺炎时的炎症病变及损伤结局与RAS活化密切相关, RAS可能在以下几个方面参与AP的发病机制: (1)微循环障碍. AngⅡ为RAS的主要活性分子, 急性胰腺炎时RAS激活, AngⅡ水平明显上调, 与其受体结合后对胰腺小叶内血管产生强烈的缩血管作用, 引起胰腺组织缺血和局部微循环淤滞, 持续的微血管痉挛将促进胰腺炎变由水肿性向出血坏死性发展; (2)抗炎-促炎介质失衡. 急性胰腺炎时, 胰腺的损伤会启动抗炎与促炎两大系统. RAS参与了细胞因子、黏附分子、转化因子等炎症因子的产生[14]. 其中AngⅡ可作为一种较强的致炎因子,他可以诱导单核细胞活化,促进巨噬细胞分泌表达TNF-α、IL-6、IL-1等细胞因子, 还可以诱导血管内皮细胞和平滑肌细胞表达多种黏附分子, 促进单核细胞和中性粒细胞与血管内皮细胞的黏附, 这些炎症因子的产生对炎症反应的放大及损伤加重有重要作用[15-17]. 此过程可能与Ang Ⅱ激活NF-κB信号转导通路[18,19], 继而激活其他炎症因子和细胞因子的合成和释放有关. 相关研究发现在使用NF-κB特异性抑制剂PDTC后, 抑制NF-κB的激活可减弱了Ang Ⅱ介导的炎症反应[20]. 炎症细胞在产生促炎介质时, 也产生抗炎介质, 启动抗炎系统, 有助于控制炎症, 恢复内环境稳定. 当抗炎-促炎介质的失衡, 炎症失控, 炎症介质泛滥, 可发展为全身炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome, SIRS), 导致胰腺炎变和受损进行性加重; (3)氧自由基损伤. Schieffer等[21]发现Ang Ⅱ可增加氧自由基, 活化炎症信号转到通路JAKs和STAT. Leung等[1]通过研究证实, Ang Ⅱ可通过增加还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸氧化酶或黄嘌呤氧化酶(xanthine oxidase, XOD)的活性刺激血管内皮细胞和平滑肌细胞大量合成活性氧(reactive oxygen species, ROS). 大量氧自可引起细胞膜脂质过氧化而导致细胞稳定性降低、卵磷脂分解、细胞蜕变, 形成细胞毒效应[22].

在RAS介导的炎症性病变中, 可以通过对RAS不同位点的调控减轻炎症反应和病理损伤. 因此可以从2个位点对RAS的病理生理作用进行调控: (1)ACEI减少AngⅠ向AngⅡ转化.

■应用要点

国外目前已有多种规格的阿利吉仑上市(如锐思力), 其整体临床应用价值得到肯定. 本研究以RAS在急性胰腺炎的发病机制着手, 以阿利吉仑干预RAS的其中一位点, 从而在急性胰腺炎中发挥一定的保护作用.

■同行评价
本文具有一定的探索和创新性, 有一定科学意义和临床应用价值.

国内外已有学者在大鼠急性胰腺炎模型中运用ACEI(卡托普利)可以起到一定保护作用[2,23]; (2)ARB阻断AngⅡ的生物学活性. Abramowich等[24]在大鼠急性胰腺炎模型中应用AT1受体亚型拮抗剂Losartan, 可改善胰腺微循环障碍, 减轻胰腺损伤, 亦可以减少活性氧的产生; (3)肾素抑制剂(阿利吉仑)则从源头上阻断RAS,有效减少AngⅠ、AngⅡ的生成. 阿利吉仑是近年来合成的第一个口服、非肽类、直接肾素抑制剂. 其从源头阻断RAS活性, 在与肾素结合, 进入肾素分子的裂隙占据肾素的酶活性部位后, 肾素再也无法接纳和水解血管紧张素原. 这种情况下, 即使肾素分泌增多, 但血浆肾素活性仍然降低, 低水平活性肾素在单位时间内作用于血管紧张素原生成AngⅠ的速率减低, 进而生成的AngⅡ亦减少; 阿利吉仑除了通过减少AngⅡ生成抑制其生物学效应外, 其自身亦有抗炎、抗氧化、抑制炎症信号通路等作用. Lee等[25]用阿利吉仑干预CCl_4诱导的慢性肝损伤小鼠, 发现阿利吉仑能够减轻肝脏炎症和肝纤维化; Dong等[26]研究发现阿利吉仑通过减轻氧化应激对2型糖尿病小鼠的胰腺损伤及心血管并发症起到保护作用; Goldenberg等[27]在2型糖尿病KK-Ay/Ta小鼠实验中, 发现阿利吉仑可抑制2型糖尿病KK-Ay/Ta小鼠NF-κB的活性及有丝分裂原激活蛋白激酶(mitogen activated protein kinase, MAPK)ERKl的磷酸化.

本实验以RAS首位起始环节肾素作为研究点, 造模成功后给以肾素抑制剂阿利吉仑予以灌胃治疗, 模型组和假手术组给予同等剂量的生理盐水. 术后观察到模型组各时间点胰腺病理组织评分, AMY、TNF-α、PRA、AngⅡ及胰腺组织NF-κB和AT1R的阳性表达率较假手术组组明显升高(P<0.05); 而同时间点的阿利吉仑治疗组大鼠各检测指标较模型组有明显减轻(P<0.05), 免疫组织化学显示NF-κB和AT1R的阳性表达率较模型组亦明显减少(P<0.05). 本研究结果表明阿利吉仑在急性胰腺炎时对胰腺的炎症病变和损伤有一定的保护作用, 其原因可能为两方面: (1)AngⅡ作为RAS重要的炎症活化因子, 其生成减少, 作用亦减弱. 阿利吉仑作为RAS系统的首步限速酶抑制剂, 对RAS的阻断作用更为完全, 可显著、持续地降低PRA水平, 阻止AngⅠ和AngⅡ的生成, 抑制了AngⅡ的病理生理作用, 如加重胰腺微循环障碍, 激活NF-κB等炎症信号通路及大量氧自由基的产生, 且不会像ACEI和ARB反馈性引起PRA水平上调及AngⅡ的反跳逃逸; (2)阿利吉仑的抗炎、抗氧化、抑制炎症信号通路的作用. NF-κB作为炎症反应持续放大的重要信号通路, 在急性胰腺炎模型组可看到NF-κB的活性增加,胰腺细胞阳性表达率明显升高, 同时炎症因子TNF-α的水平也明显升高, 而阿利吉仑干预组NF-κB阳性表达率却较模型组明显减少(P<0.05), 且TNF-α的水平亦降低, 从而减轻AP的病理损害. 但阿利吉仑具体通过怎样的方式和途径抑制NF-κB的活性尚不明确, 值得进一步深入研究.

4 参考文献

1 Leung PS. Local renin-angiotensin system in the pancreas: the significance of changes by chronic hypoxia and acute pancreatitis. *JOP* 2001; 2: 3-8 [PMID: 11862015]
2 Ip SP, Kwan PC, Williams CH, Pang S, Hooper NM, Leung PS. Changes of angiotensin-converting enzyme activity in the pancreas of chronic hypoxia and acute pancreatitis. *Int J Biochem Cell Biol* 2003; 35: 944-954 [PMID: 12676178]
3 Chan YC, Leung PS. AT1 receptor antagonism ameliorates acute pancreatitis-associated pulmonary injury. *Regul Pept* 2006; 134: 46-53 [PMID: 16443293]
4 Rahuel J, Rasetti V, Maibaum J, Rüeger H, Göschke R, Cohen NC, Stutz S, Cumin F, Fuhrer W, Wood JM, Grütter MG. Structure-based drug design: the discovery of novel nonpeptide orally active inhibitors of human renin. *Chem Biol* 2000; 7: 493-504 [PMID: 10903938]
5 Kukkar A, Singh N, Jaggi AS. Neuropathic pain-attenuating potential of aliskiren in chronic constriction injury model in rats. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst* 2013; 14: 116-123 [PMID: 23087256 DOI: 10.1177/1470320312460899]
6 Swanson MW. Association of antibody titer and chorioretinal scarring in toxoplasmosis retinochoroiditis. *J Am Optom Assoc* 1989; 60: 735-740 [PMID: 2584588 DOI: 10.1210/en.2008-0070]
7 Kavvadas P, Weis L, Abed AB, Feldman DL, Dussaule JC, Chatziantoniou C. Renin inhibition reverses renal disease in transgenic mice by shifting the balance between profibrotic and antifibrotic agents. *Hypertension* 2013; 61: 901-907 [PMID: 23438929 DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.111.00639]
8 Aho HJ, Koskensalo SM, Nevalainen TJ. Experimental pancreatitis in the rat. Sodium taurocholate-induced acute haemorrhagic pancreatitis. *Scand J Gastroenterol* 1980; 15: 411-416 [PMID: 7433903]
9 Saackel LR, Heuck F. [A practicable method for measuring volume employing the x-ray image and a microcalculator (author's transl)]. *Biomed Tech* (Berl) 1975; 20: 95-98 [PMID: 1242369]
10 Banks PA. Practice guidelines in acute pancreatitis. *Am J Gastroenterol* 1997; 92: 377-386 [PMID: 9068455]
11 Abu-Zidan FM, Bonham MJ, Windsor JA. Severity of acute pancreatitis: a multivariate analysis of

oxidative stress markers and modified Glasgow criteria. *Br J Surg* 2000; 87: 1019-1023 [PMID: 10931044 DOI: 10.1046/j.1365-2168.2000.01464.x]
12 林旭红, 李永渝. 急性胰腺炎发病机制及相关治疗的研究进展. 中国病理生理杂志 2010; 26: 1029-1032, 1040
13 Leung PS, Chappell MC. A local pancreatic renin-angiotensin system: endocrine and exocrine roles. *Int J Biochem Cell Biol* 2003; 35: 838-846 [PMID: 12676170]
14 Suzuki Y, Ruiz-Ortega M, Lorenzo O, Ruperez M, Esteban V, Egido J. Inflammation and angiotensin II. *Int J Biochem Cell Biol* 2003; 35: 881-900 [PMID: 12676174]
15 Dörffel Y, Lätsch C, Stuhlmüller B, Schreiber S, Scholze S, Burmester GR, Scholze J. Preactivated peripheral blood monocytes in patients with essential hypertension. *Hypertension* 1999; 34: 113-117 [PMID: 10406833]
16 Nakamura A, Johns EJ, Imaizumi A, Yanagawa Y, Kohsaka T. Effect of beta(2)-adrenoceptor activation and angiotensin II on tumour necrosis factor and interleukin 6 gene transcription in the rat renal resident macrophage cells. *Cytokine* 1999; 11: 759-765 [PMID: 10525314 DOI: 10.1006/cyto.1999.0488]
17 Mervaala EM, Müller DN, Park JK, Schmidt F, Löhn M, Breu V, Dragun D, Ganten D, Haller H, Luft FC. Monocyte infiltration and adhesion molecules in a rat model of high human renin hypertension. *Hypertension* 1999; 33: 389-395 [PMID: 9931135]
18 Moon JY, Tanimoto M, Gohda T, Hagiwara S, Yamazaki T, Ohara I, Murakoshi M, Aoki T, Ishikawa Y, Lee SH, Jeong KH, Lee TW, Ihm CG, Lim SJ, Tomino Y. Attenuating effect of angiotensin-(1-7) on angiotensin II-mediated NAD(P)H oxidase activation in type 2 diabetic nephropathy of KK-A(y)/Ta mice. *Am J Physiol Renal Physiol* 2011; 300: F1271-F1282 [PMID: 21367916 DOI: 10.1152/ajprenal.00065.2010]
19 Ruiz-Ortega M, Lorenzo O, Rupérez M, Suzuki Y, Egido J. Angiotensin II activates nuclear transcription factor-kappaB in aorta of normal rats and in vascular smooth muscle cells of AT1 knockout mice. *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16 Suppl 1: 27-33 [PMID: 11369817]
20 Muller DN, Dechend R, Mervaala EM, Park JK, Schmidt F, Fiebeler A, Theuer J, Breu V, Ganten D, Haller H, Luft FC. NF-kappaB inhibition ameliorates angiotensin II-induced inflammatory damage in rats. *Hypertension* 2000; 35: 193-201 [PMID: 10642297]
21 Schieffer B, Luchtefeld M, Braun S, Hilfiker A, Hilfiker-Kleiner D, Drexler H. Role of NAD(P)H oxidase in angiotensin II-induced JAK/STAT signaling and cytokine induction. *Circ Res* 2000; 87: 1195-1201 [PMID: 11110778]
22 Yasar M, Yildiz S, Mas R, Dundar K, Yildirim A, Korkmaz A, Akay C, Kaymakcioglu N, Ozisik T, Sen D. The effect of hyperbaric oxygen treatment on oxidative stress in experimental acute necrotizing pancreatitis. *Physiol Res* 2003; 52: 111-116 [PMID: 12625815]
23 胡铭荣, 徐德征, 王雄陆, 江素君. 卡托普利对急性胰腺炎大鼠肾素血管紧张素II水平的影响. 消化外科 2002; 1: 315-317
24 Abramowich D, Scapa E, Eshchar J. [Serologic diagnosis of hepatitis viruses--update]. *Harefuah* 1992; 123: 403-406 [PMID: 1464389]
25 Lee KC, Chan CC, Yang YY, Hsieh YC, Huang YH, Lin HC. Aliskiren attenuates chronic carbon tetrachloride-induced liver injury in mice. *Eur J Clin Invest* 2012; 42: 1261-1271 [PMID: 22998019 DOI: 10.1111/j.1365-2362.2012.02725.x]
26 Dong YF, Liu L, Kataoka K, Nakamura T, Fukuda M, Tokutomi Y, Nako H, Ogawa H, Kim-Mitsuyama S. Aliskiren prevents cardiovascular complications and pancreatic injury in a mouse model of obesity and type 2 diabetes. *Diabetologia* 2010; 53: 180-191 [PMID: 19894030 DOI: 10.1007/s00125-009-1575-5]
27 Goldenberg RL, Foster JM, Cutter GR, Nelson KG. Fetal deaths in Alabama, 1974-1983: a birth weight-specific analysis. *Obstet Gynecol* 1987; 70: 831-835 [PMID: 3684115 DOI: 10.1155/2013/519130]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2014年5月8日; 22(13): 1848-1853
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

研究快报 RAPID COMMUNICATION

益气养阴化瘀通络中药对糖尿病胃轻瘫大鼠平滑肌细胞凋亡的影响

王 飞, 郭沛然, 韩 菲, 孙玉凤, 何莉莉, 朱雅娜

■背景资料
糖尿病的发病率在发达国家和发展中国家都已达到流行病的程度, 影响全球3.66亿多人. 糖尿病几乎影响全身的各个器官系统, 疾病的持续时间以及严重程度可能直接影响器官受累程度. 糖尿病胃轻瘫是糖尿病最常见慢性并发症之一, 是排除机械性梗阻情况下出现胃排空延迟, 其相关症状包括早饱、恶心、呕吐、腹胀等.

王飞, 郭沛然, 韩菲, 孙玉凤, 何莉莉, 朱雅娜, 河北医科大学第二医院消化内科 河北省消化病重点实验室 河北省石家庄市 050000
王飞, 在读硕士, 主要从事消化系统疾病的研究.
河北省卫生厅科研基金资助项目, No. 20110074
作者贡献分布: 课题由孙玉凤与王飞设计; 研究过程由王飞、韩菲及郭沛然操作完成; 课题资料查找及数据统计由王飞、何莉莉及朱雅娜共同完成; 论文写作由王飞完成; 孙玉凤审校.
通讯作者: 孙玉凤, 教授, 主任医师, 050000, 河北省石家庄市和平西路215号, 河北医科大学第二医院消化内科.
sunyfey@163.com
电话: 0311-66002951
收稿日期: 2014-02-10 修回日期: 2014-03-17
接受日期: 2014-03-28 在线出版日期: 2014-05-08

Effect of Yiqi Yangyin Huayu Tongluo Recipe on apoptosis of gastric smooth muscle cells in rats with diabetic gastroparesis

Fei Wang, Pei-Ran Guo, Fei Han, Yu-Feng Sun, Li-Li He, Ya-Na Zhu

Fei Wang, Pei-Ran Guo, Fei Han, Yu-Feng Sun, Li-Li He, Ya-Na Zhu, Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Hebei Medical University, Hebei Key Laboratory of Gastroenterology, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China
Supported by: Foundation of Department of Health of Hebei Province, No. 20110074
Correspondence to: Yu-Feng Sun, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Hebei Medical University, Hebei Key Laboratory of Gastroenterology, 215 Heping West Road, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China. sunyfey@163.com
Received: 2014-02-10 Revised: 2014-03-17
Accepted: 2014-03-28 Published online: 2014-05-08

Abstract

AIM: To explore the effect of Yiqi Yangyin Huayu Tongluo Recipe on oxidative stress and apoptosis of gastric smooth muscle cells in rats with diabetic gastroparesis.

METHODS: Thirty Sprague-Dawley male rats were randomly divided into three groups: a normal control (NC) group, a diabetic model (DM) group and a Chinese medicine (ZY) group. Diabetes was induced by injecting streptozotocin (STZ). The Chinese medicine group was treated with traditional Chinese medicine, while the other two groups received the same volume of saline. Six weeks later, rate of gastric emptying was measured with phenol red; levels of malondialdehyde (MDA) and activity of superoxide dismutase (SOD) in gastric tissues were detected; apoptosis of gastric smooth muscle cells was detected by TUNEL assay; and expression of Bcl-2 and Bax mRNAs was examined by real-time PCR.

RESULTS: Compared with the NC group, the rates of gastric emptying in the DM and ZY groups decreased significantly (62.64% ± 4.51% *vs* 18.65% ± 4.30%, 26.84% ± 2.35%, $P < 0.05$ for both), while the gastric emptying rate was significantly higher in the ZY group than in the DM group ($P < 0.05$). Compared with the NC group, gastric MDA contents were significantly elevated in the DM and ZY groups (2.12 nmol/mgprot ± 0.08 nmol/mgprot *vs* 7.55 nmol/mgprot ± 0.27 nmol/mgprot, 2.82 nmol/mgprot ± 0.16 nmol/mgprot, $P < 0.05$ for both), while gastric MDA content was significantly lower in the ZY group than in the DM group ($P < 0.05$). SOD activity was reduced significantly in the DM and ZY groups in comparison with the NC group (48.18 U/mgprot ± 1.46 U/mgprot, 73.66 U/mgprot ± 0.55 U/mgprot *vs* 120.20 U/mgprot ± 1.21 U/mgprot, $P < 0.05$ for both), while SOD activity was significantly higher in the ZY group than in the DM group ($P < 0.05$). The apoptotic index (AI) of gastric smooth muscle cells was significantly increased in the DM and ZY groups compared with the NC group (10.84% ± 1.18%, 1.73% ± 0.09% *vs* 0.28% ± 0.25%, $P < 0.05$ for both), while the AI was significantly lower in the ZY group than in the DM group ($P < 0.05$). The levels of Bcl-2 mRNA in the DM and ZY groups were significantly lower compared with the NC group (1.65 ± 0.28 *vs* 0.59 ± 0.09, 1.10 ± 0.27, $P < 0.05$ for both), while the level of Bcl-2 mRNA was significantly higher in the ZY group than in the DM group ($P < 0.05$). The expression of Bax mRNA

■同行评议者
于珮, 主任医师, 天津医科大学代谢病医院

in the DM group was significantly higher than that in the NC group (1.96 ± 0.28 *vs* 0.87 ± 0.83, $P < 0.05$), while there was no significant difference between the NC group and ZY group (0.87 ± 0.83 *vs* 1.13 ± 0.11, $P > 0.05$). Compared with the DM group, the expression of Bax mRNA in the ZY group was significantly decreased (1.96 ± 0.28 *vs* 1.13 ± 0.11, $P < 0.05$).

CONCLUSION: Yiqi Yangyin Huayu Tongluo Recipe can improve gastric motility by increasing antioxidative action, decreasing oxidative stress and inhibiting apoptosis in rats with diabetic gastroparesis.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Diabetic gastroparesis; Oxidative stress; Apoptosis; Traditional Chinese medicine therapy

Wang F, Guo PR, Han F, Sun YF, He LL, Zhu YN. Effect of Yiqi Yangyin Huayu Tongluo Recipe on apoptosis of gastric smooth muscle cells in rats with diabetic gastroparesis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(13): 1848-1853 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1848.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1848

摘要

目的: 研究益气养阴化瘀通络中药对糖尿病胃轻瘫大鼠中氧化应激和细胞凋亡的影响.

方法: 30只♂SD大鼠随机分为正常对照组(normal control group, NC组)、糖尿病模型组(diabetic model group, DM组)、中药干预组(Chinese medicine group, ZY组). 予腹腔注射链脲佐菌素(streptozotocin, STZ)制备糖尿病大鼠模型, 中药干预组予以中药灌胃, 其余两组分别予等体积生理盐水灌胃. 6 wk后检测胃排空率; 测定胃组织超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)水平及丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量; 原位末端标记(TUNEL)法检测胃平滑肌细胞凋亡; Real-time PCR法检测胃组织Bcl-2及Bax mRNA表达.

结果: 与NC组相比, DM组及ZY组大鼠胃排空率明显下降(62.64%±4.51% *vs* 18.65%±4.30%, 26.84%±2.35%, $P<0.05$), 与DM组相比, ZY组胃排空率明显升高(18.65%±4.30% *vs* 26.84%±2.35%, $P<0.05$); 与NC组相比, DM组及ZY组大鼠胃组织MDA含量均明显升高(2.12 nmol/mgprot±0.08 nmol/mgprot *vs* 7.55 nmol/mgprot±0.27 nmol/mgprot, 2.82 nmol/mgprot±0.16 nmol/mgprot, $P<0.05$), ZY组MDA含量较DM组明显降低(2.82 nmol/mgprot±0.16 nmol/mgprot *vs* 7.55 nmol/mgprot±0.27 nmol/mgprot, $P<0.05$); DM组及ZY组大鼠胃组织SOD活性较NC组均明显降低(48.18 U/mgprot±1.46 U/mgprot, 73.66 U/mgprot±0.55 U/mgprot *vs* 120.20 U/mgprot±1.21 U/mgprot, $P<0.05$), 与DM组相比, ZY组大鼠胃组织SOD活性较DM组明显升高(48.18 U/mgprot±1.46 U/mgprot *vs* 73.66 U/mgprot±0.55 U/mgprot, $P<0.05$); DM组及ZY组胃平滑肌凋亡细胞数目较NC组明显增多(10.84%±1.18%, 1.73%±0.09% *vs* 0.28%±0.25%, $P<0.05$), ZY组大鼠胃平滑肌细胞凋亡数量明显较DM组明显减少(1.73%±0.09% *vs* 10.84%±1.18%, $P<0.05$); DM组和ZY组Bcl-2 mRNA表达水平较NC组明显降低(1.65±0.28 *vs* 0.59±0.09, 1.10±0.27, $P<0.05$), ZY组Bcl-2 mRNA表达水平较DM组明显升高, 差异具有统计学意义(1.10±0.27 *vs* 0.59±0.09, $P<0.05$); 与NC组相比, DM组Bax mRNA表达水平显著升高(0.87±0.83 *vs* 1.96±0.28, $P<0.05$), ZY组Bax mRNA表达水平没有明显变化((0.87±0.83 *vs* 1.13±0.11, $P>0.05$); ZY组Bax mRNA表达水平明显低于DM组(1.13±0.11 *vs* 1.96±0.28, $P<0.05$).

结论: 益气养阴化瘀通络中药可通过提高抗氧化能力, 抑制氧化应激及细胞凋亡而促进胃动力.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 糖尿病胃轻瘫; 氧化应激; 细胞凋亡; 中药疗法

核心提示: 糖尿病是代谢失调性疾病, 可导致不同部位的细胞凋亡, 我们采用腹腔注射链脲佐菌素(streptozotocin)的方法建立糖尿病胃轻瘫大鼠模型, 探讨氧化应激及其诱导的细胞凋亡在糖尿病胃轻瘫发病中的作用以及益气养阴化瘀通络中药对糖尿病胃轻瘫大鼠的治疗作用和可能机制.

王飞, 郭沛然, 韩菲, 孙玉凤, 何莉莉, 朱雅娜. 益气养阴化瘀通络中药对糖尿病胃轻瘫大鼠平滑肌细胞凋亡的影响. 世界华人消化杂志 2014; 22(13): 1848-1853 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1848.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1848

0 引言

糖尿病胃轻瘫(diabetic gastroparesis, DGP)是继

■研发前沿

目前, 有关糖尿病胃轻瘫的治疗多采用在控制血糖的基础上, 提倡患者少食多餐, 选择易消化、低脂、少渣食物, 服用促胃肠动力药, 如西沙比利、吗丁啉等, 还有学者采用胃电起搏以及手术治疗等, 但效果均不理想. 国内临床报道中医药运用中医整体观和辨证论治的原则治疗糖尿病胃轻瘫不仅能改善胃轻瘫症状, 又能兼顾降血糖, 起到双重治疗作用.

■相关报道
钟毅等提出观察到糖尿病胃轻瘫大鼠存在胃窦平滑肌细胞凋亡, 认为高血糖激发的一氧化氮、活性氧等通过诱导Fas死亡受体, 而引起胃平滑肌细胞的凋亡.

发于糖尿病(diabetes mellitus, DM)的慢性并发症之一, 以胃动力障碍和排空延迟为主要特征. 氧化应激是糖尿病胃轻瘫的主要发病机制之一. 研究[1,2]证明细胞凋亡与糖尿病并发症有着密切关系. 但是关于糖尿病胃轻瘫中氧化应激和细胞凋亡之间关系国内外少有报道. 临床应用中医药治疗糖尿病胃轻瘫已取得良好疗效, 实验[3-5]证实益气养阴化瘀通络中药能够明显改善DGP大鼠胃动力. 本实验通过探讨益气养阴化瘀通络中药对糖尿病胃轻瘫大鼠氧化应激水平和细胞凋亡的影响, 来进一步探讨此方对DGP的治疗作用及其可能的作用机制.

1 材料和方法

1.1 材料 健康♂SD大鼠30只(购自河北医科大学实验动物中心), 体质量201-205 g. 益气养阴化瘀通络中药(黄芪、熟地、鳖甲、积雪草、丹参、大黄、地龙、水蛭、茯苓、砂仁等)由河北省中医院提供, 经粉碎、水煎浓缩至含生药1 g/mL; HiFi-MMLV cDNA第一链合成试剂盒、UltraSYBR Mixture(With ROX)试剂盒均购自北京康为世界生物科技有限公司; STZ为Sigma公司产品; 超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)试剂盒为南京建成生物研究所产品; TUNEL试剂盒为ROCHE公司产品; 实时荧光PCR仪step one plus为美国ABI产品.

1.2 方法

1.2.1 动物分组及模型制备: 将大鼠随机分为正常对照组(NC组)、糖尿病模型组(DM组)和中药干预组(ZY组), 每组10只, 均予以普通饲料适应性喂养2 wk后, 糖尿病模型组和中药干预组大鼠空腹一次性腹腔注射1%STZ溶液50 mg/kg, 正常组大鼠则注射相同体积的柠檬酸缓冲液(pH 4.4, 0.1 mmol/L). 72 h后采用断尾取血法测定血糖, 血糖≥16.7 mmol/L确立糖尿病模型建立. 造模成功后, 中药干预组予以益气养阴消癥通络中药10.58 g/(kg·d)灌胃, 正常对照组和糖尿病模型组给予等体积生理盐水灌胃. 每日10:00给药一次, 共6 wk[6].

1.2.2 检测指标: (1)一般情况: 观察大鼠精神状态、活动情况、饮食、毛色、饮水量、尿量等; (2)体质量与血糖: 大鼠成膜后每周称量一次体质量,观察体质量变化; 检测血糖, 用Beckman cx7全自动生化分析仪测定; (3)胃排空率(gastric emptying rate, GER)的检测: 采用酚红灌胃法, 于第6周末, 禁食24 h、禁水2 h后, 予大鼠500 mg/L酚红溶液2 mL灌胃, 15 min后处死大鼠, 剖腹, 结扎贲门和幽门, 取出整个胃部, 沿胃大弯切开, 蒸馏水冲洗胃内容物, 定容为20 mL. 加入20 mL 0.5 mol/L氢氧化钠搅拌均匀, 静置1 h. 取5 mL上清液, 加入0.5 mL 20%三氯乙酸去蛋白, 3500 r/min离心10 min, 取上清液, 分光光度计于波长560 nm处测定吸光度(A)值(实测值), 另取2 mL酚红溶液加入18 mL蒸馏水、20 mL 0.5 mol/L氢氧化钠、4 mL 20%三氯乙酸, 搅拌均匀, 测定A值(标准酚红A值). 大鼠GER = (1-实测酚红A值/标准酚红A值)×100%; (4)氧化应激指标的检测: 胃组织匀浆后采用硫代巴比妥酸法检测MDA含量, 黄嘌呤氧化酶法检测SOD活性, 具体步骤分别按照试剂盒说明书操作; (5)平滑肌细胞凋亡的检测 采用TUNEL法, 按TUNEL试剂盒说明书操作. 凋亡细胞胞核有棕黄色颗粒, 普通光镜下观察显色反应, 每张玻片随机取6个高倍视野, 凋亡指数(apoptotic index, AI)[7] = 凋亡平滑肌细胞数/平滑肌细胞总数×100%; (6)*Bcl-2*、*Bax*基因表达的检测: 采用Real-time PCR法, 按HiFi-MMLV cDNA第一链合成试剂盒、UltraSYBR Mixture(With ROX)试剂盒说明书操作. 以GAPDH为内参, 引物序列及PCR产物片段大小为: *Bcl-2*上游引物序列为5'-GGGCTACGAGTGGGATACTGGAG-3', 下游引物序列为5'-CGGGCGTTCGGTTGCTCT-3', 扩增产物为101 bp; *Bax*上游引物序列为5'-GGTGGTTGCCCTTTTCTACTTTGC-3', 下游引物序列为5'-GCTCCCGGAGGAAGTCCAGTG-3', 扩增产物为113 bp; *GAPDH*上游引物序列为5'-TGGAGTCTACTGGCGTCTT-3', 下游引物序列为5'-TGTCATATTTCTCGTGGTTCA-3', 扩增产物为138 bp. 数据采用$2^{-\Delta\Delta Ct}$法进行分析.

统计学处理 应用SPSS13.0软件. 计量资料符合正态分布, 方差齐, 用mean±SD表示, 组间比较采用单因素方差分析, 差别有统计学意义的, 可进一步做两两比较, 应用SNK法, P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 各组大鼠一般情况的比较 正常对照组大鼠精神状况良好, 动作自如, 毛皮光泽, 肌肉丰满, 摄食量、饮水量及尿量正常. 其他两组被注射STZ后, 血糖显著升高, 均≥16.7 mmol/L, 且逐渐出现多饮、多食、多尿, 活动明显减少, 反应迟

表 1 各组大鼠体质量及血糖比较 (mean ± SD)

分组	n	体质量(g)	血糖(mmol/L)
NC组	10	289.85 ± 6.43	6.02 ± 1.09
DM组	8	133.29 ± 6.14[a]	22.09 ± 2.30[a]
ZY组	10	140.08 ± 4.12[a]	16.46 ± 1.95[ac]

[a]*P*<0.05 *vs* NC组; [c]*P*<0.05 *vs* DM组. NC: 对照组; DM: 模型组; ZY: 中药组.

表 2 各组大鼠胃组织丙二醛含量、超氧化物歧化酶活性的比较 (mean ± SD)

分组	n	MDA含量(nmol/mgprot)	SOD活性(U/mgprot)
NC组	10	2.12 ± 0.08	120.20 ± 1.21
DM组	8	7.55 ± 0.27[a]	48.18 ± 1.46[a]
ZY组	10	2.82 ± 0.16[ac]	73.66 ± 0.55[ac]

[a]*P*<0.05 *vs* NC组; [c]*P*<0.05 *vs* DM组. NC: 对照组; DM: 模型组; ZY: 中药组. MDA: 丙二醛; SOD: 超氧化物歧化酶.

钝, 毛色晦暗无光泽. 实验期间, DM组大鼠死亡2只.

2.2 各组大鼠体质量和血糖的比较 与NC组相比, DM组与ZY组大鼠体质量明显下降(*P*<0.05); ZY组大鼠体质量与DM组相比没有变化(*P*>0.05). 与NC组相比, DM组与ZY组大鼠血糖水平明显升高(*P*<0.05); 与DM组相比, ZY组大鼠血糖下降(*P*<0.05)(表1).

2.3 各组大鼠胃排空率的比较 与NC组相比, DM组与ZY组的胃排空率明显下降(62.64%±4.51% *vs* 18.65%±4.30%, 26.84%±2.35%, *P*<0.05); 与DM组比较, ZY组胃排空率明显提高(18.65%±4.30% *vs* 26.84%±2.35%, *P*<0.05).

2.4 各组大鼠胃组织MDA含量、SOD活性的比较 与NC组对比, DM组和ZY组大鼠胃组织MDA含量明显升高, SOD活性明显降低(*P*<0.05); 与DM组相比, 益气养阴化瘀通络中药干预后的大鼠胃组织MDA含量显著降低, SOD活性显著升高(*P*<0.05)(表2).

2.5 各组大鼠胃平滑肌细胞凋亡的比较 NC组大鼠胃平滑肌层甚少见凋亡细胞; 与NC组相比, DM组及ZY组胃平滑肌凋亡细胞数目明显增多(0.28%±0.25% *vs* 10.84%±1.18%, 1.73%±0.09%, *P*<0.05), ZY组大鼠胃平滑肌细胞凋亡数量明显较DM组明显减少(1.73%±0.09% *vs* 10.84%±1.18%, *P*<0.05)(图1).

表 3 各组之间Bcl-2、Bax mRNA表达水平的比较 (mean ± SD)

分组	n	Bcl-2	Bax
NC组	10	1.65 ± 0.28	0.87 ± 0.83
DM组	8	0.59 ± 0.09[a]	1.96 ± 0.28[a]
ZY组	10	1.10 ± 0.27[ac]	1.13 ± 0.11[ac]

[a]*P*<0.05 *vs* NC组; [c]*P*<0.05 *vs* DM组. NC: 对照组; DM: 模型组; ZY: 中药组.

2.6 各组大鼠胃组织*Bcl-2*、*Bax*基因表达影响 与NC组对比, DM组大鼠胃组织*Bcl-2*基因表达明显降低, *Bax*基因表达明显升高(*P*<0.05); 与DM组相比, ZY组大鼠胃组织*Bcl-2*基因表达明显升高, *Bax*基因表达降低(*P*<0.05)(表3).

3 讨论

DGP的概念由Kassander于1958年首先提出, DGP是继发于糖尿病的慢性并发症之一, 以胃动力障碍和排空延迟为主要特征. 据最近报道, 27%-65%的1型糖尿病患者及约30%的2型糖尿病患者中出现胃排空延迟[8], 多见于女性患者[9]. 其主要临床表现为早饱、餐后饱胀、反复呃逆、恶心、呕吐、厌食等症状.

目前医学研究认为DGP的发病主要与高血糖状态、自主神经功能失调、胃肠道激素紊乱、肠神经系统神经元减少、Cajal间质细胞(interstitial cells of Cajal, ICC)、平滑肌病变及微循环障碍等因素相关. Brownlee[10]提出高糖诱导线粒体产生过多超氧化阴离子而发生氧化应激是糖尿病各种并发症的统一发生机制. 高血糖可使体内高活性分子如活性氧自由基(reactive oxygen species, ROS)和活性氮自由基(reactive nitrogen species, RNS)产生过多, 引发氧化应激, 氧化程度超过氧化物的清除, 导致DM时细胞生理功能失调, 进而引起组织损伤等[11]. 近年来研究发现氧化应激介导细胞凋亡在糖尿病肾病、糖尿病视网膜病变、糖尿病神经病变等多种糖尿病并发症的发生、发展中都发挥了重要作用. 但关于氧化应激和细胞凋亡在DGP发病中关系的研究甚少, 因此我们采用腹腔注射STZ的方法建立DGP大鼠模型, 探讨氧化应激及其诱导的细胞凋亡在DGP发病中的作用.

生物膜上的多不饱和脂肪酸受到堆积的ROS攻击, 发生脂质过氧化反应, 形成脂质过氧

■创新盘点
本文从益气养阴化瘀通络中药拮抗氧化应激, 抑制胃平滑肌细胞凋亡作用, 联系糖尿病胃轻瘫发病机制来探讨该组方治疗胃轻瘫的可能作用机制.

■应用要点
本文从益气养阴化瘀通络中药降低氧化应激水平，抑制细胞凋亡方面，为临床应用中药治疗糖尿病胃轻瘫提供新的理论依据.

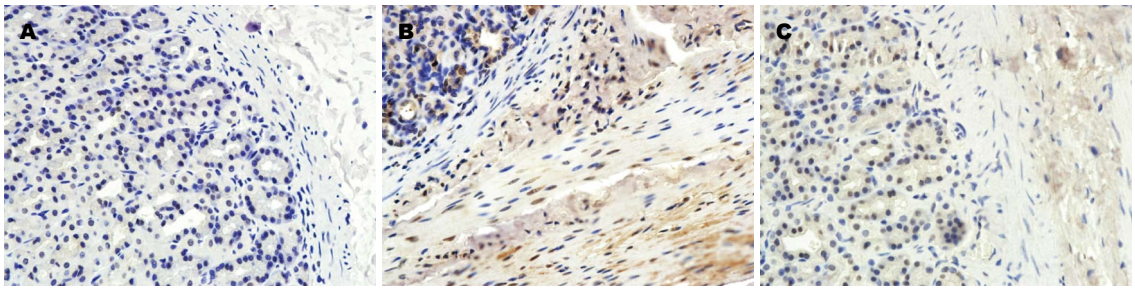


图 1 胃平滑肌细胞凋亡(TUNEL × 400). A: 对照组; B: 模型组; C: 中药组.

化物如MDA, 他可使蛋白发生交联、变性, 同时MDA含量的变化也间接地反映了ROS含量的变化. 因此MDA常用来反应组织细胞脂质过氧化程度, 间接反应氧化损伤的程度[12], 是反映氧化应激水平常用指标[13]. SOD是清除ROS的第一道防线. 超氧阴离子是激发自由基连锁反应的起始基, SOD可通过催化超氧阴离子歧化为H_2O_2, 由GSH-PX或CAT将H_2O_2转变为水, 从而清除超氧阴离子, 防止生物膜脂质过氧化反应, 减少MDA生成, 具有抗氧化应激作用. 因此, SOD是机体内抗氧化系统的重要组成部分[14]. SOD活性可反映机体抗氧化能力.

本研究显示, 与正常对照组大鼠相比, 模型组大鼠血糖水平明显高于正常对照组, 胃组织SOD活性明显降低, 而反应氧化应激水平的MDA含量明显增加, 说明在高糖诱导下DM大鼠机体内ROS的生成与被清除的动态平衡被打破, 氧化应激水平升高, 抗氧化能力下降. 同时随着氧化损伤的增加, 代表胃动力功能状态的胃排空率也随之发生改变, 模型组大鼠胃排空率较正常对照组大鼠显著降低. 这说明高糖诱导的高氧化应激水平严重影响了DM大鼠的胃动力功能状态.

糖尿病时在体内高血糖刺激下ROS大量堆积, 氧化应激水平升高, 则会通过生物膜脂质过氧化损伤、酶活性失活、蛋白质功能丧失, 影响细胞信号传导系统等不同途径, 诱导肾小管细胞[15]、心肌细胞[16]、血管内皮细胞[17]、视网膜细胞[18]等多种细胞凋亡. 本实验应用TUNEL检测模型组大鼠胃平滑肌细胞凋亡指数比正常对照组明显升高, 提示DGP大鼠胃平滑肌细胞凋亡明显增多, 这与文献研究结果一致[19]. 随着高糖诱导的氧化应激水平升高, 胃平滑肌细胞的凋亡数目增加, 正常功能的平滑肌细胞数目减少, 造成平滑肌损伤而影响胃肠动力功能正常运行, 引发胃排空延迟, 是DGP发病的重要原因之一.

Bcl-2家族是调节细胞凋亡的中心环节, 他对维持组织正常发展和细胞内稳定有着重要意义[20]. *Bcl-2*为抑制凋亡基因, 调节线粒体膜通透性, 阻断氧化应激, 阻止细胞色素C从线粒体释放, 拮抗*Bax*、*Bid*等促凋亡基因. Bax蛋白具有促进细胞凋亡作用, 他与Bcl-2有21%的同源性, 不但拮抗*Bcl-2*基因抑制凋亡的作用, 而且可直接插入到线粒体膜中, 形成线粒体跨膜通道, 改变线粒体膜通透性, 降低跨膜电位, 释放细胞色素C入胞质而触发细胞凋亡. 本研究发现模型组大鼠胃组织中*Bcl-2*基因表达量较正常对照组明显降低, *Bax*基因表达量较正常对照组明显升高, 这表明DGP平滑肌细胞凋亡为Bcl-2与Bax所调控, 细胞内抗/促凋亡基因的平衡被打破, 从而诱导细胞凋亡.由此可知, 糖尿病胃轻瘫大鼠胃组织氧化应激水平升高, 氧化应激诱导的胃平滑肌细胞凋亡增加可能是DGP发生、发展的中心环节.

中医学将糖尿病归属于中医“消渴病”范畴, 根据糖尿病胃轻瘫的主要临床表现, 将其归属于中医的“痞满”、“呕吐”、“胃痹”等范畴. 糖尿病胃轻瘫基本病机为消渴病日久, 耗气伤阴, 脾胃失于濡养, 健运失司, 脾胃虚弱不能受纳腐熟运化水谷, 饮食停滞, 久之湿邪痰浊内生, 中焦气滞, 脾气当升不升, 胃气当降不降, 则可见呃逆、呕吐、腹胀、腹泻等症. 现代中医认为消渴病程日久气阴两虚, 脾胃虚弱, 运化无力,食积、痰湿、瘀血之邪阻滞, 日久癥积内生, 阻于胃络, 胃腑通降无力, 进而引起胃轻瘫, 为虚实夹杂之证.

根据糖尿病胃轻瘫病机以气阴两虚为本, 食积、痰湿、气滞、血瘀为标, 故创立益气养阴化瘀通络法, 依法遣药组方, 临床取得良好疗效. 方中黄芪、熟地、鳖甲益气养阴, 茯苓、砂仁健脾祛湿化痰,积雪草、丹参、大黄、地龙、水

蛭活血化瘀通络. 诸药相合, 标本兼治, 共奏益气养阴化瘀通络之效. 前期实验[3]证实该方可能通过降低胃泌素及胰高血糖素改善DGP大鼠胃动力.

本实验发现, 经益气养阴化瘀通络中药治疗6 wk, 中药组大鼠血糖水平明显低于模型组大鼠, 胃组织中SOD活性明显升高, MDA含量明显下降. 随着血糖和氧化应激水平的下降, 代表胃动力功能的胃排空率也较模型组明显加快. 本实验还发现, 益气养阴化瘀通络中药治疗后DGP大鼠胃平滑肌细胞的凋亡指数明显下降, 抗凋亡基因*Bcl-2*表达明显升高, 促凋亡基因*Bax*表达明显下降. 这说明益气养阴化瘀通络中药可调节机体氧化应激水平, 抑制胃平滑肌细胞凋亡, 此可能为其治疗DGP的作用机制之一.

4 参考文献

1 Watanabe K, Thandavarayan RA, Harima M, Sari FR, Gurusamy N, Veeraveedu PT, Mito S, Arozal W, Sukumaran V, Laksmanan AP, Soetikno V, Kodama M, Aizawa Y. Role of differential signaling pathways and oxidative stress in diabetic cardiomyopathy. *Curr Cardiol Rev* 2010; 6: 280-290 [PMID: 22043204 DOI: 10.2174/157340310793566145]

2 张喆, 朱宁, 刘莉, 孙贺英, 张永强, 刘兰瑞, 冯建军. 牛磺酸对实验性DM大鼠心脏保护作用的研究. 山东医药 2012; 52: 8-10

3 孙玉凤, 陈志强, 张江华, 赵雯红, 王会青, 裴国超, 尹志炜, 王月华, 刘晓冉, 李玉梅. 益气养阴消癥通络中药对糖尿病肾病大鼠胃动力障碍的干预作用. 中草药 2010; 41: 269-271

4 李慧, 魏兰福, 沈明勤, 王志刚, 张伟, 夏军权. 养阴和胃法和益气健脾法对糖尿病胃轻瘫大鼠胃动力及Cajal间质细胞影响的比较研究. 中国中西医结合消化杂志 2013; 21: 116-119

5 张玉, 孙玉凤, 郭沛然, 何莉莉, 任荣, 朱雅娜. 活血化瘀通络中药对糖尿病胃轻瘫大鼠胃排空率及胃促生长素的影响. 河北中医 2013; 35: 590-592

6 陈俊, 赵映前, 肖万泽. 糖胃康对糖尿病胃轻瘫大鼠胃窦SCF-Kit信号途径影响的实验. 湖南中医学院学报 2010; 12: 13-15

7 Belicza M. [Evaluation of morphologically determined apoptotic index]. *Acta Med Croatica* 2009; 63 Suppl 2: 3-12 [PMID: 19999540]

8 Parkman HP, Yates K, Hasler WL, Nguyen L, Pasricha PJ, Snape WJ, Farrugia G, Koch KL, Calles J, Abell TL, McCallum RW, Lee L, Unalp-Arida A, Tonascia J, Hamilton F. Similarities and differences between diabetic and idiopathic gastroparesis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2011; 9: 1056-1064; quiz 1056-1064 [PMID: 21871247 DOI: 10.1016/j.cgh.2011.08.013]

9 Rayner CK, Samsom M, Jones KL, Horowitz M. Relationships of upper gastrointestinal motor and sensory function with glycemic control. *Diabetes Care* 2001; 24: 371-381 [PMID: 11213895 DOI: 10.2337/diacare.24.2.371]

10 Brownlee M. The pathobiology of diabetic complications: a unifying mechanism. *Diabetes* 2005; 54: 1615-1625 [PMID: 15919781 DOI: 10.2337/diabetes.54.6.1615]

11 Bonakdaran S, Hami M, Shakeri MT. Hyperuricemia and albuminuria in patients with type 2 diabetes mellitus. *Iran J Kidney Dis* 2011; 5: 21-24 [PMID: 21189429]

12 Stentz FB, Umpierrez GE, Cuervo R, Kitabchi AE. Proinflammatory cytokines, markers of cardiovascular risks, oxidative stress, and lipid peroxidation in patients with hyperglycemic crises. *Diabetes* 2004; 53: 2079-2086 [PMID: 15277389 DOI: 10.2337/diabetes.53.8.2079]

13 Nucci C, Di Pierro D, Varesi C, Ciuffoletti E, Russo R, Gentile R, Cedrone C, Pinazo Duran MD, Coletta M, Mancino R. Increased malondialdehyde concentration and reduced total antioxidant capacity in aqueous humor and blood samples from patients with glaucoma. *Mol Vis* 2013; 19: 1841-1846 [PMID: 23946639]

14 Fukai T, Ushio-Fukai M. Superoxide dismutases: role in redox signaling, vascular function, and diseases. *Antioxid Redox Signal* 2011; 15: 1583-1606 [PMID: 21473702 DOI: 10.1089/ars.2011.3999]

15 Sun L, Xiao L, Nie J, Liu FY, Ling GH, Zhu XJ, Tang WB, Chen WC, Xia YC, Zhan M, Ma MM, Peng YM, Liu H, Liu YH, Kanwar YS. p66Shc mediates high-glucose and angiotensin II-induced oxidative stress renal tubular injury via mitochondrial-dependent apoptotic pathway. *Am J Physiol Renal Physiol* 2010; 299: F1014-F1025 [PMID: 20739391 DOI: 10.1152/ajprenal.00414.2010]

16 Rajesh M, Mukhopadhyay P, Bátkai S, Patel V, Saito K, Matsumoto S, Kashiwaya Y, Horváth B, Mukhopadhyay B, Becker L, Haskó G, Liaudet L, Wink DA, Veves A, Mechoulam R, Pacher P. Cannabidiol attenuates cardiac dysfunction, oxidative stress, fibrosis, and inflammatory and cell death signaling pathways in diabetic cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 2010; 56: 2115-2125 [PMID: 21144973 DOI: 10.1016/j.jacc.2010.07.033]

17 Szabo C. Role of nitrosative stress in the pathogenesis of diabetic vascular dysfunction. *Br J Pharmacol* 2009; 156: 713-727 [PMID: 19210748 DOI: 10.1111/j.1476-5381.2008.00086.x]

18 Al-Shabrawey M, Smith S. Prediction of diabetic retinopathy: role of oxidative stress and relevance of apoptotic biomarkers. *EPMA J* 2010; 1: 56-72 [PMID: 23199041 DOI: 10.1007/s13167-010-0002-9]

19 赵宏贤, 陈霞. 糖尿病大鼠胃平滑肌细胞凋亡与线粒体膜电位改变. 基础医学与临床 2009; 29: 1083-1086

20 Bajwa N, Liao C, Nikolovska-Coleska Z. Inhibitors of the anti-apoptotic Bcl-2 proteins: a patent review. *Expert Opin Ther Pat* 2012; 22: 37-55 [PMID: 22195752 DOI: 10.1517/13543776.2012.644274]

■同行评价
本研究有一定的临床意义, 设计合理, 统计学方法应用得当, 结论可信, 讨论全面.

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年5月8日; 22(13): 1854-1857
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

哈萨克族食管癌与ABO血型的相关性

张皓, 封婷, 唐婧, 齐海

■背景资料
食管癌是常见的消化系恶性肿瘤, 在我国新疆地区, 哈萨克族是该病的高发人群. 对于该病的研究, 多数文献报道了本病与哈萨克民族的饮食习惯、生活环境有关, 在遗传学方面报道较少.

张皓, 齐海, 新疆医科大学第二附属医院胸心外科 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830063
封婷, 新疆医科大学第一附属医院影像中心 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830011
唐婧, 新疆医科大学第一附属医院检验科 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830011
张皓, 在读硕士, 主要从事胸心疾病的基础与临床研究.
作者贡献分布: 此课题由张皓设计; 研究过程中资料收集、整理由张皓、封婷及唐婧共同完成; 数据分析由张皓与封婷共同完成, 论文写作由张皓完成; 齐海审校.
通讯作者: 齐海, 教授, 主任医师, 博士生导师, 830063, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市南湖东路北二巷38号, 新疆医科大学第二附属医院胸心外科. cxju_qh@126.com
电话: 0991-4695472
收稿日期: 2014-02-24 修回日期: 2014-03-21
接受日期: 2014-04-03 在线出版日期: 2014-05-08

Correlation between esophageal cancer and ABO blood groups in the Kazakh population

Hao Zhang, Ting Feng, Jing Tang, Hai Qi

Hao Zhang, Hai Qi, Department of Cardiothoracic Surgery, Second Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830063, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China
Ting Feng, Imaging Center, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China
Jing Tang, Laboratory Medicine, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China
Correspondence to: Hai Qi, Professor, Chief Physician, Department of Cardiothoracic Surgery, the Second Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, 38 Beierxiang, Nanhu East Road, Urumqi 830063, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. cxju_qh@126.com
Received: 2014-02-24 Revised: 2014-03-21
Accepted: 2014-04-03 Published online: 2014-05-08

Abstract

AIM: To investigate whether there is a correlation between esophageal cancer and ABO blood groups in the Kazakh population, and to discuss the risk factors for this malignancy.

METHODS: Five hundred and one Kazakh patients treated at the First Affiliated Hospital and the Second Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, and 1088 healthy controls were included in this study. The blood group distribution of the two groups was compared using the chi square test, and correlations between esophageal cancer and blood group antigens/antibodies were investigated by relative risk analysis.

RESULTS: In the case group, the blood group distribution was: A > O > B > AB; in the control group, the distribution was: O > A > B > AB. There was no statistical difference in blood group distribution between the two groups ($P > 0.05$). Susceptibility to esophageal cancer was correlated with blood type A (RR = 1.336, 95%CI: 1.031-1.732, $P < 0.05$), but not with the other three types ($P > 0.05$ for all). The presence of anti-A antibody (groups B and O) had a significant correlation with susceptibility to esophageal cancer ($P < 0.05$), but after excluding the confounding factors, the difference was not statistically significant ($P > 0.05$).

CONCLUSION: Esophageal cancer risk is associated with blood type A, and the risk of esophageal cancer in persons with blood type A is 1.336 times that in those with other blood types. The presence of anti-A antibody may reduce the risk of esophageal cancer, but this finding needs to be further confirmed.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Esophageal; ABO blood group; Kazakh; Correlation

Zhang H, Feng T, Tang J, Qi H. Correlation between esophageal cancer and ABO blood groups in the Kazakh population. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(13): 1854-1857 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1854.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1854

摘要

目的: 研究哈萨克族食管癌与ABO血型是否具有相关性, 进而在遗传学方面对该病的危险因素进行初步的探讨.

方法: 收集新疆医科大学第一附属医院、第

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

二附属医院501例哈萨克族食管癌的血型资料, 与对照组1088例进行比较, 用卡方检验分析两组血型分布的差异性, 用相对危险度分析两组血型抗原、抗体的相关性.

结果: 病例组501例患者血型构成比为: A>O>B>AB; 对照组1088例血型构成比为: O>A>B>AB, 经过卡方检验, 病例组与对照组的血型分布无统计学差异(P>0.05). 哈萨克族食管癌患者的易感性与A型血具有相关性(RR = 1.336, 95%CI: 1.031-1.732, P<0.05), 其余三型均无相关性(P>0.05). 血浆内含有抗A抗体的血型(B型和O型)有统计学意义(P<0.05), 但排除混杂因素后, 均无统计学差异(P>0.05).

结论: 哈萨克族食管癌的发病风险与A型血具有相关性, A型血患食管癌的风险是其他血型的1.336倍. 体内含有抗A抗体可能降低患食管癌的风险, 但血型抗体与肿瘤的关系有待于进一步研究分析.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 食管癌; ABO血型; 哈萨克族; 相关性

核心提示: 在我国新疆地区, 哈萨克族是食管癌的高发人群. 本研究发现, 哈萨克族食管癌与A型血具有相关性, 体内含有Anti-A抗体可能降低患食管癌的风险, 但需进一步证实. 研究哈萨克族血型与食管癌的关系可以为今后预判食管癌的发生提供一定的帮助.

张皓, 封婷, 唐婧, 齐海. 哈萨克族食管癌与ABO血型的相关性. 世界华人消化杂志 2014; 22(13): 1854-1857 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1854.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1854

0 引言

血型是一种遗传标志物, 具有稳定的遗传特征. 临床上最常用且有意义的是ABO血型系统. 目前认为, 肿瘤的发生发展是一些编码细胞增殖、分化、凋亡调控信号以及DNA损伤修复蛋白的基因发生改变, 导致细胞增殖调控失衡的结果[1]. 这些基因的改变有的来自于遗传, 有的是基因与环境相互作用所致[1]. 多数研究报道, ABO血型与恶性肿瘤的发生有一定的相关性, 但无确切结论. 在我国新疆地区, 哈萨克族是食管癌的高发人群, 目前关于该病与哈萨克族血型分布及相关性的研究报道甚少. 为了了解其特征, 本文收集了501例哈萨克族食管癌血型资料, 进行统计学分析, 现报道如下.

■研发前沿
哈萨克族食管癌与ABO血型的相关性需要进一步增加更大的样本量, 进行多方面的研究、探索.

1 材料和方法

1.1 材料 病例组选择2008-01/2013-12新疆医科大学第一附属医院、第二附属医院经影像学检查及手术后病理诊断为食管癌的哈萨克族住院患者501例, 其中男性313例, 女性188例, 年龄为42-74岁, 病变位于食管中段298例, 下段203例, 病理类型鳞癌478例, 腺癌23例. 对照组选用文献杜文阁等[2]报道的新疆地区哈萨克族ABO血型分布资料, 研究对象为无偿献血、年龄在20-50岁及体检合格的人员共1088名, 具有很好的代表性.

1.2 方法 回顾性分析经影像学诊断符合食管癌且经胃镜或手术后病理证实的哈萨克族患者的血型资料. 排除标准: 有手术禁忌症的患者、行手术治疗但术后病理资料缺失的患者以及临床上考虑食管癌但无病理资料的患者. 统一采用全自动血型配血分析系统进行血型检测, 如血型无法确定, 则采用玻片法测定.

统计学处理 运用SPSS17.0软件对该资料进行统计学处理. 病例组与对照组的血型分布情况用χ^2检验分析其构成比的差异性. ABO血型抗原、血型抗体与食管癌的相关性用相对危险度(relative risk, RR)表示. 检验水准为α = 0.05. P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 哈萨克族食管癌与正常人群血型分布 病例组中, A型血183例, 占36.53%; B型血126例, 占25.15%; AB型血34例, 占6.79%; O型血158例, 占31.54%; 血型构成比为: A>O>B>AB; 对照组中, A型血325例, 占29.87%; B型血300例, 占27.57%; AB型血88例, 占8.09%; O型血375例, 占34.47%; 血型构成比为: O>A>B>AB. 经过卡方检验, 食管癌血型分布(501例)与正常人群血型分布(1088例)无统计学差异(P>0.05)(表1), 表明病例组与对照组来自于同一总体.

2.2 ABO血型抗原与食管癌的相关性 血型中含有A抗原的为A和AB型; 含有B抗原的为: B和AB型; O型血既不含A抗原, 也不含B抗原. 经过统计分析, 我们发现A抗原与食管癌的相关性具有统计学意义(P<0.05)(表2); 说明血型中含有A抗原的人群患食管癌的风险是血型中不含A抗原的1.249倍. 由于AB型血既含有A抗原, 又含有B抗原, 而B抗原与食管癌的相关性无统计学意义(P>0.05)(表

■相关报道
目前暂无哈萨克族食管癌与血型的相关报道.

■创新盘点
目前多数研究报道哈萨克族食管癌发病的危险因素主要集中在生活习惯及环境影响方面, 通过本次研究, 我们对哈萨克族食管癌发病的危险因素在遗传方面进行了初步的探讨.

表 1 病例组与对照组的血型分布

血型	病例组		对照组		χ^2	*P*值
	n	构成比(%)	*n*	构成比(%)		
A	183	36.53	325	29.87	3.538	0.060
B	126	25.15	300	27.57	0.597	0.440
AB	34	6.79	88	8.09	0.706	0.401
O	158	31.54	375	34.47	0.663	0.416
合计	501	100.00	1088	100.00	7.140	0.068

表 2 血型抗原与食管癌的相关性 (A)

血型	抗原	RR	95%CI	χ^2	*P*值
A	A	1.249	1.007–1.548	4.109	0.043
B	B	0.847	0.676–1.060	2.107	0.147
AB	A和B	0.876	0.699–1.098	1.321	0.250
O	无	0.827	0.549–1.248	0.820	0.365

表 3 血型抗原与食管癌的相关性 (B)

血型	RR	95%CI	χ^2	*P*值
A/O	1.336	1.031–1.732	4.807	0.028
B/O	0.997	0.754–1.318	0.000	0.982
AB/O	0.917	0.592–1.420	0.151	0.698

2), 我们排除AB型血的混杂因素后发现: A型血与食管癌的相关性有统计学意义($P<0.05$)(表3), 表明A型血的人群患食管癌的风险是其他血型的1.336倍. 综合分析我们认为, 哈萨克族食管癌患者的易感性与A型血具有相关性.

2.3 ABO血型抗体与食管癌的相关性 血浆中含有Anti-A抗体的是: B型血和O型血, 含有Anti-B抗体的是: A型血和O型血, 既不含Anti-A抗体, 也不含Anti-B抗体的是AB型血. 经过卡方检验, 我们发现血浆中含有Anti-A抗体与食管癌的相关性具有统计学意义($P<0.05$)(表4), 表明血浆中含有抗A抗体的人群患食管癌的风险较低. 由于O型血的血浆中既含有Anti-A抗体, 也含有Anti-B抗体, 而血浆中含有Anti-B抗体与食管癌的相关性无统计学意义($P>0.05$)(表4), 我们排除O型血的混杂因素后发现, 无论血浆中含有Anti-A抗体还是Anti-B抗体, 均无统计学意义($P>0.05$)(表5). 表明B型血和O型血血浆中含有的抗体可能具有协同作用, 必须结合起来才能降低患食管癌的风险, 这可能提示我们, 这两种血型的血浆中可能含有其他针对ABO血型的抗体. 综合分析, 我们

■应用要点
研究哈萨克族血型与食管癌的关系可以为今后预判食管癌的发生提供一定的帮助.

表 4 血型抗体与食管癌的相关性 (A)

血型	抗体	RR	95%CI	χ^2	*P*值
A	Anti–B	1.181	0.943–1.480	2.107	0.147
B	Anti–A	0.801	0.646–0.993	4.109	0.043
AB	无	0.827	0.549–1.248	0.820	0.365
O	Anti–AB	0.876	0.699–1.098	1.321	0.250

表 5 血型抗体与食管癌的相关性 (B)

血型	RR	95%CI	χ^2	*P*值
A/AB	1.457	0.943–2.252	2.897	0.089
B/AB	1.087	0.695–1.700	0.134	0.714
O/AB	1.091	0.704–1.689	0.151	0.698

认为: 血浆中含有抗A抗体可能具有降低患食管癌的风险, 但有待于进一步研究.

3 讨论

食管癌是我国常见的恶性肿瘤, 其发生与性别、年龄、种族有关. 大多数食管癌患者年龄在55-59岁, 较少在35岁以下的青年人中发生, 70岁以后发病率逐渐降低, 男性患者多于女性患者[3]. 降低食管癌发病率、死亡率的有效途径就是加强预防, 提高风险预报[4]. ABO血型是临床以及生物学、遗传学和人类学等多个学科领域应用最为广泛的血型系统, 在人类的遗传学领域中起着重要的作用[5,6]. 1953年第1次有报道血型抗原A与胃癌发病相关, 1960年已有ABO血型与几种恶性肿瘤相关性的文献报道. 20世纪90年代以来, ABO血型与疾病关系的探讨日益成为研究的热点[7]. Joh等[8]发现在妇女中, 非O型血比O型血患肾癌的风险高. 李大鹏等[9]研究认为: 直肠癌的患病风险与B型血有显著相关性.

探讨ABO血型分布与食管癌发生的关系, 可为进一步研究遗传因素在食管癌的发生发展中所起的作用提供依据[5]. 对于ABO血型与某些特殊疾病关系的机制还不清楚. 许多文献报道肿瘤组织中血型抗原的表达与肿瘤的转移[10,11]和预后有关. 刘忠等[12]研究认为: 河南食管癌高发区患者以B型血多见. 哈萨克族食管癌是多因素的复杂性疾病, 是生活习惯、生活水平、地理因素、经济卫生及遗传因素等多方面的影响造成的[13]. 目前暂未有国内外对哈萨克族食管癌与血型相关性的文献报道. 本文参考了关于ABO血型与其他恶性肿瘤的相关文献, 对该民

族食管癌与血型的关系进行了初步的探讨, 发现: 哈萨克族食管癌与A型血具有相关性(P = 0.028), 血浆中含有抗A抗体可能具有降低患食管癌的风险(P = 0.043), 但结论的准确性有待进一步证实, 应该进一步增加更大的样本量, 进行多方面的研究、探索. 由于对研究哈萨克族食管癌在遗传方面的文献甚少, 所以也导致了文章参考文献的局限性. 本文对此进行了初步的探索, 为以后进一步研究打下一定的基础. 目前相关学者认为血型与肿瘤存在一定关系, 原因可能为: 血型抗原的存在或丢失可能提高细胞的运动性, 或者使肿瘤细胞之间易于发生相互作用而种植到远处的器官[14]. ABO血型基因定位于9号染色体长臂, 该基因在许多肿瘤中都有改变[15-17]. 因此ABO血型抗原的表达可能受肿瘤基因的改变所影响[12].

现在遗传因素与食管癌的关系已被众多学者所关注. 目前多数研究报道哈萨克族食管癌发病的危险因素主要集中在生活习惯及环境影响方面[18]. 通过本次研究, 我们对哈萨克族食管癌发病的危险因素在遗传方面进行了初步的探讨. 我们认为: 哈萨克族食管癌的发病风险与A型血具有相关性, A型血患食管癌的风险是非A型血的1.336倍. 体内含有抗A抗体可能可以降低患食管癌的风险, 但有待于进一步研究探讨.

4 参考文献

1 药立波, 冯作化, 周春燕. 医学分子生物学. 北京: 人民卫生出版社, 2001: 140-140
2 杜文阁, 韩文权. 新疆伊犁地区不同民族无偿献血者ABO血型分布回顾性分析. 临床血液学杂志 2010; 23: 232-233
3 陈志峰, 丁镇伟, 张俊会, 李绍森, 乔翠云, 王继信. 食管癌高危人群年龄界定探讨. 河南肿瘤学杂志 2003; 16: 88-89
4 Yuen HF, Chan YP, Law S, Srivastava G, El-Tanani M, Mak TW, Chan KW. DJ-1 could predict worse prognosis in esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2008; 17: 3593-3602 [PMID: 19064576 DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-08-0214]
5 宋昕, 王立东, 常志伟, 王苒, 刘忠, 李学民, 樊宇靖. 太行山食管癌高发区10561例食管/贲门癌患者ABO血型分布特征及体重指数. 河南医学研究 2008; 17: 97-101
6 李丽. 人类ABO血型探秘. 临床和实验医学杂志 2008; 7: 171-172
7 徐华, 张建耕, 邢荷, 檀英, 章扬培. ABO血型与疾病的研究进展. 中国输血杂志 2008; 21: 220-222
8 Joh HK, Cho E, Choueiri TK. ABO blood group and risk of renal cell cancer. *Cancer Epidemiol* 2012; 36: 528-532 [PMID: 22841339 DOI: 10.1016/j.canep.2012.07.001]
9 李大鹏, 赵立军, 吕春雷, 任红, 康俊升, 邱静梅, 李静. 直肠恶性肿瘤发生与ABO血型的相关性调查. 实用医药杂志 2013; 30: 629-630
10 Lissowska J, Groves FD, Sobin LH, Fraumeni JF, Nasierowska-Guttmejer A, Radziszewski J, Regula J, Hsing AW, Zatonski W, Blot WJ, Chow WH. Family history and risk of stomach cancer in Warsaw, Poland. *Eur J Cancer Prev* 1999; 8: 223-227 [PMID: 10443951]
11 Spell DW, Jones DV, Harper WF, David Bessman J. The value of a complete blood count in predicting cancer of the colon. *Cancer Detect Prev* 2004; 28: 37-42 [PMID: 15041076]
12 刘忠, 何欣, 张彦霞, 李苹娟, 李琮宇, 郭涛, 王立东. 河南食管癌高发区ABO血型及血细胞分类记数与食管和贲门癌关系研究. 河南医学研究 2005; 14: 1-4
13 郭辉, 丁剑冰, 孙伟, 张彤. 新疆哈萨克族食管癌相关基因研究新进展. 基础医学与临床 2010; 30: 428-430
14 Nakagoe T, Nanashima A, Sawai T, Tuji T, Ohbatake M, Jibiki M, Yamaguchi H, Yasutake T, Ayabe H, Matuo T, Tagawa Y. Expression of blood group antigens A, B and H in carcinoma tissue correlates with a poor prognosis for colorectal cancer patients. *J Cancer Res Clin Oncol* 2000; 126: 375-382 [PMID: 10929759]
15 Le Pendu J, Marionneau S, Cailleau-Thomas A, Rocher J, Le Moullac-Vaidye B, Clément M. ABH and Lewis histo-blood group antigens in cancer. *APMIS* 2001; 109: 9-31 [PMID: 11297197]
16 Hu N, Roth MJ, Polymeropolous M, Tang ZZ, Emmert-Buck MR, Wang QH, Goldstein AM, Feng SS, Dawsey SM, Ding T, Zhuang ZP, Han XY, Ried T, Giffen C, Taylor PR. Identification of novel regions of allelic loss from a genomewide scan of esophageal squamous-cell carcinoma in a high-risk Chinese population. *Genes Chromosomes Cancer* 2000; 27: 217-228 [PMID: 10679910]
17 Pack SD, Karkera JD, Zhuang Z, Pak ED, Balan KV, Hwu P, Park WS, Pham T, Ault DO, Glaser M, Liotta L, Detera-Wadleigh SD, Wadleigh RG. Molecular cytogenetic fingerprinting of esophageal squamous cell carcinoma by comparative genomic hybridization reveals a consistent pattern of chromosomal alterations. *Genes Chromosomes Cancer* 1999; 25: 160-168 [PMID: 10338000]
18 张慧霞, 陈艳, 尹东, 邓彦超, 马彦清, 居来提. 新疆哈萨克族食管癌危险因素的探讨. 现代预防医学 2009; 36: 1804-1806

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

■同行评价

该论文主要研究了哈萨克族食管癌与ABO血型之间的相关性, 初步结论为哈萨克族食管癌的发病风险与A型血具有相关性, 该论文有一定的科学意义及学术价值, 结论尚有待进一步的确定.

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com
世界华人消化杂志 2014年5月8日; 22(13): 1858-1862
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

经皮经肝穿刺肝内门体分流术联合胃冠状静脉栓塞治疗食管胃底静脉曲张

邓小军, 张宏文, 彭秀达, 孙鑫国, 段诗姣, 谢卫华, 刘 琼

■背景资料
经颈静脉肝内门体分流术(transhepatic intrahepatic portosystemic shunt, TIPS)联合胃冠状静脉栓塞作为治疗门静脉高压及其并发症的重要方法已在临床广泛应用. 然而, 在一些特殊情况下, 经颈静脉入路的常规TIPS常难以完成或导致手术失败. 而经皮经肝穿刺至肝内门静脉后, 再经门静脉逆向穿刺肝静脉或下腔静脉是否切实可行需要进一步探讨.

邓小军, 张宏文, 彭秀达, 孙鑫国, 段诗姣, 谢卫华, 刘琼, 南华大学附属南华医院介入科 湖南省衡阳市 421002
彭秀达, 南华大学附属南华医院普外科 湖南省衡阳市 421002
邓小军, 主治医师, 主要从事肝硬化门脉高压介入微创治疗研究.
作者贡献分布: 邓小军与张宏文对此文所作贡献均等; 此课题由邓小军、张宏文及彭秀达设计; 研究过程由邓小军、张宏文及孙鑫国操作完成; 研究一般资料由段诗姣、谢卫华及刘琼收集整理; 数据分析由邓小军与孙鑫国完成; 本论文写作由邓小军、张宏文及彭秀达完成.
通讯作者: 邓小军, 主治医师, 421002, 湖南省衡阳市珠晖区东风南路336号, 南华大学附属南华医院介入科.
dxj0310@163.com
电话: 0734-8399041
收稿日期: 2014-01-29 修回日期: 2014-03-18
接受日期: 2014-03-31 在线出版日期: 2014-05-08

Percutaneous transhepatic intrahepatic portosystemic shunt plus embolotherapy for treatment of gastroesophageal varices

Xiao-Jun Deng, Hong-Wen Zhang, Xiu-Da Peng, Xin-Guo Sun, Shi-Jiao Duan, Wei-Hua Xie, Qiong Liu

Xiao-Jun Deng, Hong-Wen Zhang, Xiu-Da Peng, Xin-Guo Sun, Shi-Jiao Duan, Wei-Hua Xie, Qiong Liu, Department of Vascular Intervention, Affiliated Nanhua Hospital of Nanhua University, Hengyang 421002, Hunan Province, China
Xiu-Da Peng, Department of General Surgery, Affiliated Nanhua Hospital of Nanhua University, Hengyang 421002, Hunan Province, China
Correspondence to: Xiao-Jun Deng, Attending Physician, Department of Vascular Intervention, Affiliated Nanhua Hospital of Nanhua University, 336 Dongfeng South Road, Zhuhui District, Hengyang 421002, Hunan Province, China. dxj0310@163.com
Received: 2014-01-29 Revised: 2014-03-18
Accepted: 2014-03-31 Published online: 2014-05-08

Abstract

AIM: To evaluate the efficacy of percutaneous transjugular intrahepatic portosystemic shunt (PTIPS) plus embolotherapy in the treatment of gastroesophageal varices.

METHODS: A total of 15 patients with gastroesophageal varices underwent PTIPS plus embolotherapy from May 2009 to May 2012 at the Affiliated Nanhua Hospital of Nanhua University.

RESULTS: The technical success rate of PTIPS plus embolotherapy was 100%. The portal vein pressures declined from 40.25 cmH_2O ± 4.86 cmH_2O (1 cmH_2O = 0.098 kPa) preoperatively to 24.79 cmH_2O ± 5.21 cmH_2O, t = 20.324, P < 0.01) postoperatively. Angiography showed that gastroesophageal varices disappeared in all patients. Both liver function and gastroesophageal varices were markedly improved. During the follow-up period of 6-12 mo, 3 cases developed hepatic encephalopathy, 1 case developed stent restenosis and 1 case developed intercostal artery bleeding. Most cases recorded after treatment. No rebleeding occurred during the follow-up period.

CONCLUSION: PTIPS plus embolotherapy can effectively lower portal vein pressure and cure gastroesophageal variceal bleeding. PTIPS plus embolotherapy is safe and effective in the treatment of portal hypertension with exceptionally challenging anatomy.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Portasystemic shunt; Embolism; Gastroesophageal varices; Interventional

Deng XJ, Zhang HW, Peng XD, Sun XG, Duan SJ, Xie WH, Liu Q. Percutaneous transhepatic intrahepatic portosystemic shunt plus embolotherapy for treatment of gastroesophageal varices. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(13): 1858-1862 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1858.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1858

摘要

目的: 评估经皮经肝穿刺肝内门体分流术(percutaneous transhepatic intrahepatic portosystemic shunt, PTIPS)联合胃冠状静脉栓塞术治疗食管胃底静脉曲张的疗效.

■同行评议者
何松, 教授, 重庆医科大学附属第二医院消化内科

方法: 对我院2009-05/2012-5 15例肝硬化食管胃底静脉曲张患者行PTIPS联合胃冠状静脉α-氰基丙烯酸(TH胶)栓塞术治疗.

结果: PTIPS联合胃冠状静脉栓塞术的技术成功率为100%, 术前门静脉压力40.25 cmH_2O±4.86 cmH_2O(l cmH_2O = 0.098 kPa)降至24.79 cmH_2O±5.21 cmH_2O, (t = 20.324, P<0.01). 造影见食管胃底曲张静脉消失, 术后患者肝功明显改善, 食管胃底静脉曲张程度明显减轻. 随访6-12 mo, 其中3例患者术后出现肝性脑病, 经对症治疗后缓解, 1例患者术后出现分流道狭窄, 再次置入支架后狭窄再通, 1例出现肋间动脉损伤出血, 经栓塞后好转. 随访期内无再次食管胃底静脉曲张破裂出血发生.

结论: PTIPS联合胃冠状静脉栓塞术能有效降低门静脉压, 控制并预防食管胃底静脉曲张破裂出血, 是常规经颈静脉肝内门体分流术的有效补充, 为门脉高压症患者的肝内门体分流提供了是一种安全、有效的治疗方法, 具有重要的临床应用价值.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 门体分流术; 栓塞; 食管和胃静脉曲张; 介入性

核心提示: 经皮经肝穿刺肝内门体分流术(percutaneous transhepatic intrahepatic portosystemic shunt)联合胃冠状静脉栓塞术能有效降低门静脉压, 控制并预防食管胃底静脉曲张破裂出血, 是常规经颈静脉肝内门体分流术的有效补充, 为门脉高压症患者的肝内门体分流提供了是一种安全、有效的治疗方法, 具有重要的临床应用价值, 近期疗效比较满意.

邓小军, 张宏文, 彭秀达, 孙鑫国, 段诗姣, 谢卫华, 刘琼. 经皮经肝穿刺肝内门体分流术联合胃冠状静脉栓塞治疗食管胃底静脉曲张. 世界华人消化杂志 2014; 22(13): 1858-1862 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1858.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1858

0 引言

经颈静脉肝内门体分流术(transhepatic intrahepatic portosystemic shunt, TIPS)联合胃冠状静脉栓塞作为治疗门静脉高压及其并发症的重要方法已在临床广泛应用, 并且疗效确切[1-4]. 然而, 在一些特殊情况下, 如严重肝硬化导致肝脏明显变形、各种原因导致门静脉海绵样变等, 经颈静脉入路的常规TIPS常难以完成或导致手术失败. 而经皮经肝穿刺至肝内门静脉后, 经门静脉逆向穿刺肝静脉或下腔静脉切实可行[5-9]. 我院2009-05/2012-05对15例肝硬化食管胃底静脉曲张患者行经皮经肝穿刺肝内门体分流术(percutaneous transhepatic intrahepatic portosystemic shunt, PTIPS)联合胃冠状静脉α-氰基丙烯酸(TH胶)栓塞术治疗, 取得成功及良好的效果, 现报道如下.

■研发前沿
TIPS能缓解肝硬化所致的门脉高压症, 胃冠状静脉栓塞能栓塞异常的分流通道, 是目前肝硬化门脉高压研究的热点, 两者的结合势必有利于晚期门脉高压性消化系出血的治疗.

1 材料和方法

1.1 材料 2009-05/2012-05, 南华大学附属南华医院15例门脉高压症患者采用PTIPS治疗, 男10例、女5例, 年龄36-71岁, 中位年龄53岁. 14例经临床诊断为乙型肝炎肝硬化门静脉高压症, 其中10例临床表现为反复曲张静脉出血, 4例为难治性腹水; 1例临床诊断为酒精性肝硬化门静脉高压症, 反复曲张静脉出血. 15例门脉高压症患者中10例合并门静脉血栓, 5例合并门静脉海绵状变性, 所有患者术前常规行上腹部CT增强扫描.

1.2 方法

1.2.1 手术: 术前根据患者上腹部CT资料确定门静脉穿刺路线及分流道穿刺路线. 15例患者均选择右侧腋中线第8-10肋间隙进针, 穿刺门静脉右支. 手术步骤: (1)穿刺门静脉. 采用22 G Chiba穿刺针经皮经肝穿刺门静脉右支(图1A), 成功后置入5 F鞘管, 导丝引导下使导管经门静脉主干进入肠系膜上静脉或脾静脉行直接门静脉造影(图1B), 了解胃冠状静脉情况, 并测量术前门静脉压力, 门静脉海绵状变性的病例先开通门静脉; (2)胃冠状静脉栓塞. 使用5 F导管行胃冠状静脉超选择插管, 注入TH胶行铸型栓塞(图1C), 栓塞后5 min测量门静脉压力; (3)送入安全导丝. 经导管引入0.018 inch导丝于肠系膜上静脉或脾静脉内(图1E), 保留导丝防止鞘管脱出门静脉内; (4)穿刺肝静脉或下腔静脉. 经5 F鞘管注入造影剂, 选定门静脉穿刺点, 然后选用塑型(前端弯曲30-40度)的20G、长20 cm的Chiba穿刺针, 在导丝辅助下沿鞘管送入门脉右支, 根据术前影像资料, 调整穿刺针方向, 从肝内门静脉向肝段下腔静脉(或肝静脉)穿刺(图1D) , 成功后经穿刺针引入0.018 inch导丝至上腔静脉; (5)建立工作导丝. 穿刺右侧颈内静脉, 成功后置入9 F长鞘管, 并将0.018 inch导丝经右颈静脉鞘管用抓捕器引出体外作为分流通道工作导丝(图1E); (6)球囊

■相关报道
据国内外文献报道, 经皮肝穿刺门体分流术对改善门脉高压效果良好, 特别适合一些合并门静脉血栓或海绵状变性的患者, 在提高手术成功率及安全性等方面表现突出.

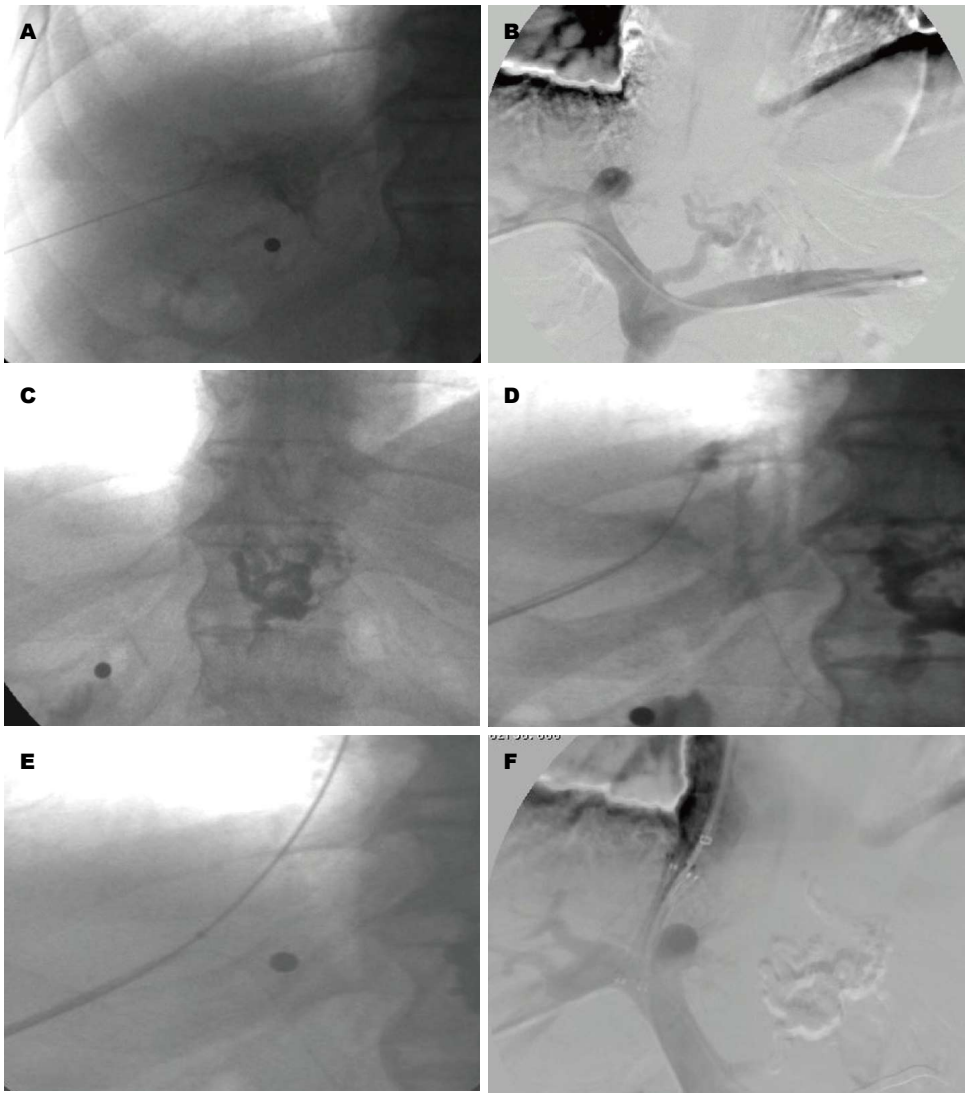


图 1 经颈静脉肝内门体分流术联合胃冠状静脉栓塞手术过程. A: 穿刺门静脉右支; B: 行直接门静脉造影, 显示曲张的胃冠状静脉; C: TH胶铸型栓塞胃冠状静脉; D: 经门静脉直接穿刺肝静脉; E: 建立安全导丝及工作导丝; F: 支架植入后造影显示分流道通畅.

扩张. 沿第分流通道导丝以直径3、6、8 mm球囊扩张肝实质分流道, 并测量分流道长度; (7)支架置入. 沿分流通道工作导丝通过导管导丝交换技术交换成0.035 inch长硬导丝, 并经导丝置入直径为6-8 mm自膨胀式覆膜支架(BARD, 德国)(图1F), 再次行门静脉造影并测量术后门静脉压力; (8)穿刺通道处理, 为预防穿刺道出血, 以明胶海绵栓塞穿刺道.

1.2.2 *术后处理及随访*: 为了防止支架内血栓形成, 术后常规抗凝治疗. 术后前3 d给予低分子量肝素钙5000 U/Q 12 h皮下注射, 后改为长期服用华法林钠片至少6 mo, 华法林钠片剂量根据凝血功能结果调整, 控制国际标准比2.0左右. 多参数监护仪监测生命体征24 h, 口服乳果糖通便, 预防肝性脑病. 术后每隔1-3 mo进行彩超或CT检查了解分流道通畅情况.

统计学处理 使用SPSS17.0软件包, 数据采用mean±SD表示, 对术前、术后门脉压力的改变采用配对*t*检验, $P<0.05$为差异具有统计学意义.

2 结果

15例患者PTIPS均获得成功. 肝内分流道建立于门静脉右支与肝段下腔静脉之间5例, 门静脉右支与肝静脉之间10例, 术中共置入自膨式支架17枚(覆膜支架15枚, 裸支架2枚), 术后门静脉压力由术前40.25 cmH_2O±4.86 cmH_2O降至24.79 cmH_2O±5.21 cmH_2O, 差异有统计学意义(t = 20.324, $P<0.01$). 胃冠状静脉栓塞后即刻门静脉造影可见食管胃底曲张静脉消失. 1 mo复查胃镜示静脉曲张缓解13例, 缓解率为86.7%, 静脉曲

张消失者2例, 消失率为13.3%. 1例肋间动脉损伤患者, 经肋间动脉栓塞后好转. 3例出院后第3-35天出现肝性脑病(Ⅰ-Ⅱ期), 经精氨酸等对症治疗后恢复. 4例难治性腹水患者, 3腹水症状消失, 1例术后腹水减少, 1 mo后患者腹胀症状加重, 复查上腹部CT提示支架肝静脉端闭塞, 再次置入直径8 mm, 长40 mm裸支架(BARD, 德国)1枚后患者腹水消失. 所有患者随访期内无再次食管胃底静脉曲张破裂出血发生.

3 讨论

肝硬化门脉高压患者, 部分因严重肝硬化导致肝脏明显变形、各种原因导致门静脉海绵样变等特殊情况, 常规TIPS难度大. 近年来, 国内外学者发明了不同方式的改良TIPS[10-15], 本研究的PTIPS既可适用于普通门脉高压症患者, 也同样适用于严重肝硬化、门静脉血栓形成闭塞等复杂门脉高压患者. PTIPS技术两个关键点为经皮穿刺门静脉以及经门静脉穿刺肝静脉或下腔静脉. 在具体操作中我们的体会是: (1)术前完整的影像学资料. 了解门静脉、肝静脉及下腔静脉是否通畅、位置以及相互间的关系; (2)穿刺针的塑形. 穿刺针头端弯曲角度由门静脉与下腔静脉(肝静脉)的空间关系确定, 可根据术前CT三维重建测量角度塑形, 一般的角度35-40度比较合适; (3)穿刺靶血管的选择. 如果下腔静脉肝后段位于门静脉右支主干前方, 则优先选择穿刺下腔静脉肝后段, 如果下腔静脉肝后段位于门静脉右支主干后方, 则优先选择穿刺肝静脉; (4)放入定位标志. 穿刺下腔静脉或肝静脉之前在肝静脉或下腔静脉肝后段放置导管定位, 有助于调高穿刺成功率, 降低穿刺次数; (5)对于门静脉海绵样变、主干血栓形成的患者, 可使用裸支架; (6)穿刺通道的处理. 术后肝内穿刺通道使用明胶海绵条充填栓塞, 颈静脉穿刺伤口可局部缝合, 均有利于降低术后腹腔及颈部的出血. 本方法的优点在于适用常规TIPS无法完成的复杂患者且穿刺针细, 且穿刺过程均在肝实质内完成, 手术所致腹腔出血等风险明显减低, 且治疗的疗效及治疗的费用与传统的TIPS无明显的差别.

本组结果显示PTIPS联合胃冠状静脉栓塞术能有效降低门静脉压, 控制并预防食管胃底静脉曲张破裂出血, 是常规经颈静脉肝内门体分流术的有效补充, 为门脉高压症患者的肝内门体分流提供了是一种安全、有效的治疗方法, 具有重要的临床应用价值, 近期疗效比较满意, 由于本研究病例较少, 且随访时间较短, 有待于进一步扩大病例数进行深入研究, 远期疗效有待进一步随访观察.

■创新盘点

PTIPS联合胃冠状静脉栓塞术治疗肝硬化食管胃底静脉曲张, 能有效降低门静脉压, 控制并预防食管胃底静脉曲张破裂出血, 特别适合一些合并门静脉血栓或海绵状变性的患者, 在提高手术成功率及安全性等方面具有很好的创意.

4 参考文献

1 徐克, 腾皋军. Abrams介入放射学. 北京: 人民卫生出版社, 2010: 512-523
2 褚建国, 孙晓丽, 朴龙松, 黄鹤, 吕春燕, 徐家兴, 孙晓丽. 门静脉左支分流降低术后肝性脑病的临床研究. 中华肝脏病杂志 2002; 10: 437-440
3 张宏文, 阳学凤, 刘旭云, 邓小军, 邓梨平, 谢卫华, 段诗姣. 经皮经肝食管胃底曲张静脉栓塞术联合部分脾栓塞术治疗食管胃底静脉曲张出血. 中华肝脏病杂志 2010; 8: 626-627
4 黄茂涛, 曹亚玲, 冯早明, 季代金, 张文华, 史小英, 王平, 汤敏, 谭瓒, 谢永祥, 赵睿婷. TIPS联合自体骨髓干细胞移植治疗失代偿期肝硬化. 世界华人消化杂志 2013; 21: 3275-3280
5 Corbett C, Murphy N, Olliff S, Mangat KS, Tripathi D. A case-control study of transjugular intrahepatic portosystemic stent shunts for patients admitted to intensive care following variceal bleeding. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2013; 25: 344-351 [PMID: 23354162 DOI: 10.1097/MEG.0b013e32835aa414]
6 褚建国, 孙晓丽, 徐晓明, 陈学忠, 黄鹤, 朴龙松, 吕春燕, 杨淑惠. 经皮经肝门腔静脉分流术. 介入放射学杂志 2005; 14: 367-371
7 李常青, 许东海, 徐道振, 李洪璐, 褚建国, 李新民, 马轶, 井庆红. 门静脉穿刺造影改良经颈内静脉肝内门体分流术治疗门静脉高压上消化道出血. 中华肝脏病杂志 2005; 13: 403-406
8 方主亭, 颜志平, 罗剑钧, 张雯, 吴林霖, 刘清欣, 瞿旭东, 王建华, 王小林, 刘凌晓. 门静脉海绵样变(CTPV)的介入治疗. 复旦学报(医学版) 2012; 39: 489-495
9 徐新保, 褚建国, 黄鹤, 张宏义, 刘承利, 肖梅, 张辉, 冯志强, 赵刚. 经颈内静脉肝内门体分流术与断流术治疗门脉高压食管胃底静脉破裂出血的效果比较. 中华医学杂志 2012; 92: 2542-2545
10 Jourabchi N, McWilliams JP, Lee EW, Sauk S, Kee ST. TIPS Placement via Combined Transjugular and Transhepatic Approach for Cavernous Portal Vein Occlusion: Targeted Approach. *Case Rep Radiol* 2013; 2013: 635391 [PMID: 23401834]
11 李名安, 姜在波, 周斌, 钱结胜, 黄明声, 张有用, 邵硕, 单鸿. 经皮经肝穿刺肝内门体分流术的临床研究. 中华医学杂志 2012; 92: 2913-2917
12 韩国宏, 孟祥杰, 殷占新, 王建宏, 何创业, 梁洁, 郭学刚, 刘杰, 丁杰, 吴开春, 樊代明. 经颈内静脉肝内门腔分流术及联合经皮肝/脾穿刺途径治疗门静脉血栓和(或)海绵样变性. 中华医学杂志 2009; 89: 1549-1552
13 吴性江, 曹建民, 韩建明, 黎介寿. 经颈内静脉肝内门体分流术治疗肝静脉广泛闭塞型布加综合征. 中华外科杂志 2006; 44: 1029-1032
14 Hoppe H, Wang SL, Petersen BD. Intravascular US-guided direct intrahepatic portocaval shunt with an expanded polytetrafluoroethylene-covered stent-graft. *Radiology* 2008; 246: 306-314 [PMID: 18096542 DOI: 10.1148/radiol.2461062191]
15 张洪义, 冯志强, 李利, 吴迪, 朴龙松, 李志杰, 何晓

■同行评价
肝硬化门脉高压性消化系出血属临床难治性、急重症疾病, 作者应用PTIPS联合胃冠状静脉栓塞的方法治疗, 很有创新性, 而且有效, 值得报道.

军, 张辉, 徐新保, 肖梅, 张宏义. 经皮肝穿刺门静脉造影改良经颈内静脉肝内门体分流术治疗门静脉高压急性上消化道出血23例. 中华临床医师杂志 2012; 6: 35-38

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

• 消息 •

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

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

世界华人消化杂志 2014年5月8日; 22(13): 1863-1866
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

降钙素原在胃癌根治术患者术后院内细菌感染中的早期诊断价值

陆辉志, 徐 亮

陆辉志, 徐亮, 武汉市三医院重症医学科 湖北省武汉市 430060
陆辉志, 住院医师, 主要从事重症患者感染和营养支持的研究.
作者贡献分布: 陆辉志负责论文撰写, 数据分析和文献审核; 徐亮负责论文的审阅和修改.
通讯作者: 徐亮, 副教授, 副主任医师, 430060, 湖北省武汉市武昌区彭刘杨路241号, 武汉市三医院重症医学科.
jimmy.xu@163.com
收稿日期: 2014-02-20 修回日期: 2014-03-21
接受日期: 2014-03-28 在线出版日期: 2014-05-08

Value of procalcitonin in early diagnosis of bacterial infection in patients after radical resection for gastric cancer

Hui-Zhi Lu, Liang Xu

Hui-Zhi Lu, Liang Xu, Department of Critical Care Medicine, the Third Hospital of Wuhan, Wuhan 430060, Hubei Province, China
Correspondence to: Liang Xu, Associate Professor, Associate Chief Physician, Department of Critical Care Medicine, the Third Hospital of Wuhan, 241 Pengliuyang Road, Wuchang District, Wuhan 430060, Hubei Province, China. jimmy.xu@163.com
Received: 2014-02-20 Revised: 2014-03-21
Accepted: 2014-03-28 Published online: 2014-05-08

Abstract

AIM: To determine the value of procalcitonin (PCT) in early diagnosis of bacterial infection in patients after radical resection for gastric cancer.

METHODS: A total of 86 consecutive patients with resectable gastric cancer were included from June 2007 to June 2012 in our intensive care unit. They were divided into either a non-infection group or an infection group according to microculture results. Plasma levels of PCT and C-reactive protein (CRP) were measured and compared between the two groups.

RESULTS: Postoperative values of PCT, CRP, white blood cell (WBC) count and neutrophilic granulocyte percentage were significantly higher in the infection group than in the non-infection group. When PCT > 0.5 ng/L was used as the diagnostic basis for postoperative infection in gastric cancer, the sensitivity and specificity of PCT were superior to those of CRP and WBC count.

CONCLUSION: PCT is a good marker for identifying early bacterial infection in patients after radical resection for gastric cancer.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Procalcitonin; C-reactive protein; Gastric carcinoma; Surgical infection

Lu HZ, Xu L. Value of procalcitonin in early diagnosis of bacterial infection in patients after radical resection for gastric cancer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(13): 1863-1866
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1863.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1863

摘要

目的: 探讨降钙素原在胃癌根治术患者术后院内细菌感染早期诊断中的应用.

方法: 分析2007-06/2012-06重症监护病房收住的胃癌根治术患者86例, 根据微生物培养结果分为感染者和非感染者, 检测术后血清降钙素原(procalcitonin, PCT)和C反应蛋白(C reactive protein, CRP).

结果: 在伴有感染时, 胃癌根治术患者血清PCT、CRP、白细胞计数、中性粒细胞百分比测定值具有明显升高. PCT>0.5 ng/L作为院内感染的诊断依据时, 其敏感度和特异度均优于CRP和白细胞计数.

结论: PCT是一个较好的外科感染的诊断指标, 能有效地发现早期细菌感染, 有助于早期发现院内感染高危患者.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 降钙素原; C反应蛋白; 胃癌; 外科感染

■背景资料
降钙素原(procalcitonin, PCT)作为降钙素(calciton, CT)的前体物, 在健康人群血清中几乎检测不到, 但当患者发生细菌感染时, PCT水平即明显升高, 目前作为临床一个细菌感染性疾病的诊断和鉴别诊断指标, 与细菌感染的传统诊断指标如白细胞计数、血沉、C反应蛋白、细菌培养等相比较, PCT检测具备较高的灵敏度和特异性. PCT尤其在细菌感染特别是脓毒症方面的诊断的特异性明显优于传统诊断指标.

■同行评议者
李君文, 研究员, 军事医学科学院卫生学环境医学研究所

■研发前沿
作为诊断感染的指标, WBC及分类计数是临床诊断和鉴别细菌感染的最常用指标, 其总数的升高和降低均可提示细菌感染, 但WBC总数易受精神、疾病等多种因素的影响, 对细菌感染的诊断, 其敏感度和特异性远不及PCT, 对于早发的院内感染特异性不高. 本文监测PCT浓度变化以评价其在胃癌根治术患者术后院内细菌感染中的早期诊断价值.

核心提示: 本文研究表明, 胃癌根治术患者在伴有感染时, 患者血清降钙素原(procalcitonin, PCT)、C反应蛋白(C reactive protein, CRP)、白细胞计数、中性粒细胞百分比测定值具有明显升高. 但出现院内感染的患者术后第1天即出现PCT>0.5 ng/L, 并且PCT值的升高均较出现呼吸机相关性肺炎和切口感染出现的时间早, 而与发热出现的时间基本接近, PCT>0.5 ng/L作为院内感染的诊断依据时, 其敏感度和特异度均优于CRP和白细胞计数.

陆辉志, 徐亮. 降钙素原在胃癌根治术患者术后院内细菌感染中的早期诊断价值. 世界华人消化杂志 2014; 22(13): 1863-1866
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1863.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1863

0 引言

院内感染是外科手术患者术后的棘手问题, 感染早期临床症状不典型, 但一旦加重, 则进展迅速, 常常带来负面效应, 因此早期发现显得尤为重要. 降钙素原(procalcitonin, PCT)作为降钙素(calciton, CT)的前体物, 在健康人群血清中几乎检测不到, 但当患者发生细菌感染时, PCT水平即明显升高, 目前作为临床一个细菌感染性疾病的诊断和鉴别诊断指标. 为探讨PCT在胃癌手术患者术后院内感染早期诊断中的作用, 我们分析2007-2012年收治的胃癌手术患者86例, 进行PCT数据分析.

1 材料和方法

1.1 材料 选择2007-06/2012-06在重症监护病房收住的胃癌根治术患者86例, 男51例、女35例, 年龄57.13岁±12.21岁, 术后对每个患者测定并记录其体温、伤口情况, 进行胸部X光检查, 并抽血做PCT、C反应蛋白(C reactive protein, CRP)和白细胞(white blood cell, WBC)测定. 院内感染[1]定义为术后48 h 出现发热, 出现呼吸机相关性肺炎, 手术I 类伤口感染, 且所有阳性患者均有微生物学培养阳性. 排除甲状旁腺功能亢进、肾功能不全者.

1.2 方法 患者术后第1天、出现发热、呼吸机相关性肺炎以及切口感染时采集静脉血3-5 mL, 常温3200 r/min离心5 min, 留取血清置-20 ℃保存待测. PCT检测采用免疫化学发光法[2], 利用Lumino发光仪. CRP检测采用免疫散射比浊法, 利用BN ProSpec全自动蛋白分析仪. 以术后3 d炎症指标最高值统计数字. PCT>0.5 ng/L为血清PCT阳性; 以CRP>10 mg/L为阳性; WBC>10×10^9/L为阳性.

统计学处理 采用SPSS15.0统计软件进行统计分析, 计量资料以mean±SD表示, 组间比较采用t检验; 计数资料率的比较采用χ^2检验, P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

86例胃癌根治术患者中, 感染组与非感染组的血清PCT、CRP、白细胞计数、中性粒细胞百分比测定值具有明显差异, 并有统计学意义(P<0.05)(表1).

47例胃癌根治术术后判断感染患者中PCT>0.5 ng/L者38例, 阳性率为80.85%, 诊断符合率为89.53%; CRP>10 mg/L者32例, 阳性率为68.08%, 诊断符合率为48.36%(表2).

PCT、CRP、白细胞计数在预测胃癌术后患者院内感染的敏感度分别为80.85%、68.08%和42.55%; PCT、CRP、白细胞计数的特异度分别为100%、74.3%、84.61%. 和PCT比较, CRP、白细胞计数的敏感度和特异度明显降低(P<0.05)(表3).

PCT和CRP的曲线分析(图1)ROC曲线越靠近左上角, 则是错误最少的最佳阈值, 表明其诊断价值越大. PCT的曲线下面积是0.972, CRP的曲线下面积是0.67.

感染组中出现发热、呼吸机相关性肺炎及切口感染时的PCT值均大于术后第1天, 且PCT>0.5出现时间均比发生院内感染的时间较早(表4).

3 讨论

降钙素原来自于定位在第11号染色体上(11p, 4)的单拷贝基因, 转录后在甲状腺滤泡旁细胞粗面内质网翻译成前体降钙素原(preprocalcitonin)[3]. 降钙素原是一种无激素活性的糖蛋白, 是降钙素前肽物质. 在正常人的血清中含量甚微, 但在细菌感染急性期其含量可成百倍的增加, 所以临床上将测定PCT值的高低作为判断细菌感染程度及疗效的主要指标之一[4]. PCT在全身细菌感染患者血浆中浓度升高出现要比CRP及其他 炎性因子较早, PCT在受到内毒素的刺激后4 h内就开始产生[5], 而CRP却需要4-6 h[6], 因此PCT能较早反应细菌感染, 且PCT在血浆中的半衰期短, 但不易被降解, 体内外稳定性好, 利

表 1 感染组与非感染组血清PCT、CRP、白细胞、中性粒细胞百分比测定值 (mean ± SD)

分组	*n*	PCT(ng/L)	CRP(mg/L)	白细胞($\times 10^9$/L)	中性粒细胞百分比(%)
感染组					
术后第1天	47	0.61 ± 0.34	43.67 ± 7.38	10.40 ± 4.81	83.2 ± 14.11
VAP	17	2.68 ± 0.49[a]	84.02 ± 9.25	11.45 ± 5.24	92.45 ± 15.24
发热	20	1.65 ± 0.48[a]	56.23 ± 5.89	14.57 ± 6.24	93.57 ± 14.28
切口感染	12	0.78 ± 0.29[a]	42.51 ± 4.28	10.59 ± 4.25	81.59 ± 12.56
非感染组					
术后第1天	39	0.15 ± 0.17[a]	8.93 ± 2.27[a]	5.23 ± 1.52[a]	55.47 ± 10.63[a]

[a]*P*<0.05 *vs* 感染组. VAP: 呼吸机相关性肺炎; PCT: 血清降钙素原; CRP: C反应蛋白.

表 2 血清PCT、CRP在感染患者中检测阳性率比较

CRP	PCT		总计
	+	–	
+	29	3	32
–	9	6	15
总计	38	9	47

PCT: 血清降钙素原; CRP: C反应蛋白.

表 3 血清PCT、CRP、白细胞计数在胃癌院内感染患者检测敏感度和特异度比较(%)

阳性界值	PCT	CRP	白细胞
	>0.5 ng/L	>10 mg/L	>10 × 10^9/L
敏感度	80.85	68.08[a]	42.55[a]
特异度	100	74.30[a]	84.61[a]

[a]*P*<0.05 *vs* PCT. PCT: 血清降钙素原; CRP: C反应蛋白.

表 4 感染组病人PCT>0.5 ng/L和出现院内感染时间比较

	PCT >0.5 ng/L	发热	呼吸机相关性肺炎	切口感染
出现时间(d)	1.26 ± 0.46	1.67 ± 0.78	3.45 ± 2.56[a]	5.63 ± 3.32[a]

[a]*P*<0.05 *vs* PCT>0.5 ng/L.

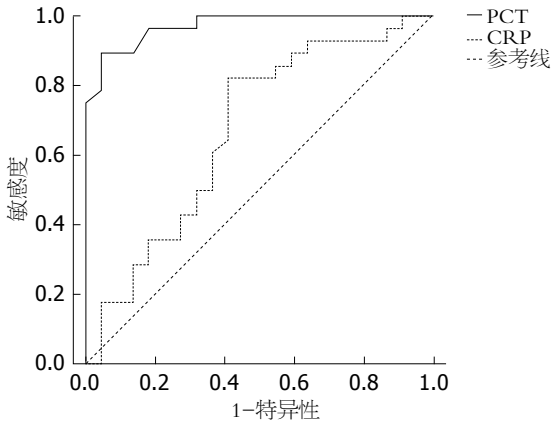


图 1 PCT和CRP的ROC曲线. PCT: 血清降钙素原; CRP: C反应蛋白.

于检测.

CRP主要由肝脏合成, 是人血清中常见的非抗体性蛋白质, 具有激活补体系统和促进粒细胞及巨噬细胞的吞噬作用, 参与T淋巴细胞介导的免疫反应. 正常人血清中CRP含量非常低, 一般<10 mg/L, 当机体遭受细菌感染时, CRP的合成迅速增加, 因此, CRP是细菌感染的诊断参考指标[4].

作为诊断感染的指标, WBC及分类计数是临床诊断和鉴别细菌感染的最常用指标, 总数的升高和降低均可提示细菌感染, 但在感染后其总数也可能处于正常范围内, 也有可能仅中性白细胞百分比的升高. 因此, 对收集的WBC数据进行统计学分析, 误差大, 准确性低, 所得的数据可靠性差, 提示细菌感染的作用弱. 又因WBC总数易受精神、疾病等多种因素的影响, 对细菌感染的诊断, 其敏感度和特异性远不及PCT[7].

PCT作为外科患者术后细菌感染的诊断指标已经有所研究, 但作为腹部手术后院内感染的诊断指标, 研究尚少, 本研究的结果表明, 胃癌根治术术后感染组患者PCT、CRP、WBC及分类计数值明显高于非感染组, 和文献报道一致[8], 而在早期诊断细菌感染方面, PCT的敏感性和特异性分别为80.85%、100%, 分别优于CRP, WBC的68.08%、74.3%和42.55%、84.61%, 通

■相关报道

有文献报道, PCT在细菌感染特别是脓毒血症和革兰阴性杆菌所引起的全身炎症反应时常有明显增高, 且其增高的幅度与感染的严重程度呈正相关. 外科手术后, 细菌、病毒感染所引起的局部感染, 能导致PCT、CRP、细胞因子等增高, 但当继发全身感染时, PCT呈明显增高, 而CRP、细胞因子等反而下降, 故CRP、细胞因子水平的变化与感染严重程度并不一致. 因此, 对于全身性的感染, PCT是一个更具特异性的指标, 结合CRP和PCT测定可使细菌感染的敏感性提高.

■同行评价
本文具有一定临床指导意义.

过ROC曲线来比较PCT与CRP在胃癌术后感染上的诊断效果, 结果显示PCT的曲线下面积为0.972, 明显大于CRP的曲线下面积0.67, 根据ROC曲线下面积在0.5以下, 实验没有诊断价值; 面积0.5-0.7, 有较低的准确性; 面积0.7-0.9, 有一定准确性; 面积>0.9则有较高的准确性, 则提示PCT对胃癌术后感染的辅助诊断具有较高的灵敏度和特异性. 以上结果验证了相关文献报道[9-11], 文献报道血清PCT可以指导抗生素的使用疗程, 监测PCT水平有助于减少抗生素使用的时间而合理使用抗生素[12,13], 本研究还发现在出现院内感染的患者术后第1天就出现PCT>0.5 ng/L, 说明细菌感染后刺激甲状腺滤泡细胞、肝脏细胞[5]及单核细胞[14,15]分泌降钙素原进入血液循环, 并且PCT值的升高均较出现呼吸机相关性肺炎和切口感染出现的时间早, 而与发热出现的时间基本接近, 因此作者认为PCT可以作为胃癌手术患者术后院内感染的早期诊断指标, 且当PCT>0.5 ng/L的, 需要加强PCT监测, 如PCT持续升高, 则根据病情酌情选用抗生素, 并积极观察手术切口, 关注腹腔引流液的颜色和气味, 既可避免PCT水平暂时升高而滥用抗生素, 也可避免因延迟应用抗生素导致病情的加重.

总之, PCT可以用于胃癌手术患者术后院内细菌感染的早期诊断, 因此, 建议对PCT>0.5 ng/L的胃癌根治手术患者进行PCT动态监测, 有助于早期发现院内感染高危患者, 以提高患者的治愈率.

4 参考文献

1 中华人民共和国卫生部. 医院感染诊断标准(试行). 中华医学杂志 2001; 81: 314-320
2 张逸, 陈景连, 叶宇钊. 降钙素原在感染性疾病中的临床研究进展. 临床和实验医学杂志 2012; 1: 635-636
3 Whicher J, Bienvenu J, Monneret G Procalcitonin as an acute phase marker. *Ann Clin Biochem* 2001; 38: 483-493 [DOI: 10.1177/000456320103800505]
4 侯喜琴, 戴淑惠, 黄朝阳, 黄宇. 降钙素原及CRP在外科感染早期诊断中的应用. 中国实用医药 2010; 5: 35-36
5 Nijsten MW, Olinga P, The TH, de Vries EG, Koops HS, Groothuis GM, Limburg PC, ten Duis HJ, Moshage H, Hoekstra HJ, Bijzet J, Zwaveling JH. Procalcitonin behaves as a fast responding acute phase protein in vivo and in vitro. *Crit Care Med* 2000; 28: 458-461 [PMID: 10708183]
6 Enguix A, Rey C, Concha A, Medina A, Coto D, Diéguez MA. Comparison of procalcitonin with C-reactive protein and serum amyloid for the early diagnosis of bacterial sepsis in critically ill neonates and children. *Intensive Care Med* 2001; 27: 211-215 [PMID: 11280637]
7 何艳. 降钙素原与细菌感染相关性分析. 世界感染杂志 2010; 10: 293-295
8 沈华, 马明洲, 秦海东, 张铮. 血清降钙素原对ICU危重患者感染早期诊断的临床价值. 医学研究生学报 2008; 21: 1118-1121
9 邢豫宾, 戴路明. 血清降钙素原在早期诊断和监控脓毒症中的临床应用评价. 国际呼吸杂志 2008; 28: 914-917
10 刘雪燕, 徐勇, 周知远, 陈怀生. 血清降钙素原预测危重患者院内感染的临床价值. 现代中西医结合杂志 2010; 19: 1443-1445
11 王玉梅, 孙丽娟, 王善菊. 血清PCT和CRP对社区获得性肺炎的诊断价值. 放射免疫学杂志 2011; 24: 447-449
12 Kristoffersen KB, Søgaard OS, Wejse C, Black FT, Greve T, Tarp B, Storgaard M, Sodemann M. Antibiotic treatment interruption of suspected lower respiratory tract infections based on a single procalcitonin measurement at hospital admission--a randomized trial. *Clin Microbiol Infect* 2009; 15: 481-487 [PMID: 19416298]
13 Kopterides P, Siempos II, Tsangaris I, Tsantes A, Armaganidis A. Procalcitonin-guided algorithms of antibiotic therapy in the intensive care unit: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Crit Care Med* 2010; 38: 2229-2241 [PMID: 20729729]
14 Oberhoffer M, Stonans I, Russwurm S, Stonane E, Vogelsang H, Junker U, Jäger L, Reinhart K. Procalcitonin expression in human peripheral blood mononuclear cells and its modulation by lipopolysaccharides and sepsis-related cytokines in vitro. *J Lab Clin Med* 1999; 134: 49-55 [PMID: 10402059]
15 Ridker PM. Clinical application of C-reactive protein for cardiovascular disease detection and prevention. *Circulation* 2003; 107: 363-369 [PMID: 12551853]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年5月8日; 22(13): 1867-1870
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

幽门螺杆菌感染与胃癌化疗疗效的关系

王建馗, 张福林

王建馗, 张福林, 延安市人民医院 陕西省延安市 716000
王建馗, 主治医师, 主要从事消化系疾病的诊治.
作者贡献分布: 王建馗负责研究的具体实施和数据的整理、分析; 张福林负责研究的总体安排和结果的审核.
通讯作者: 王建馗, 主治医师, 716000, 陕西省延安市七里铺, 延安市人民医院消化内科. wangjiankui001@126.com
收稿日期: 2014-01-06 修回日期: 2014-02-06
接受日期: 2014-03-28 在线出版日期: 2014-05-08

Helicobacter pylori infection and chemotherapy sensitivity in gastric cancer

Jian-Kui Wang, Fu-Lin Zhang

Jian-Kui Wang, Fu-Lin Zhang, Yan'an People's Hospital Yanan City, Yanan 716000, Shaanxi Province, China
Correspondence to: Jian-Kui Wang, Attending Physician, Yan'an People's Hospital Yanan City, Qilipu, Yanan 716000, Shaanxi Province, China. wangjiankui001@126.com
Received: 2014-01-06 Revised: 2014-02-06
Accepted: 2014-03-28 Published online: 2014-05-08

Abstract

AIM: To investigate the relationship between *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) infection and chemotherapy sensitivity in gastric cancer to provide a theoretical basis for *H. pylori* eradication therapy in gastric cancer patients undergoing chemotherapy.

METHODS: Two hundred and forty *H. pylori* positive patients with gastric cancer who did not undergo surgery for various reasons but received chemotherapy in recent five years at our hospital were included in this study. Based on whether to receive *H. pylori* eradication therapy, they were divided into an observation group and a control group. After two cycles of chemotherapy, they were evaluated to analyze the relationship between *H. pylori* infection and chemotherapy sensitivity.

RESULTS: The curative effect was significantly better in the observation group than in the control group. In the observation group, the curative effect was significantly better in the eradicated group than in the non-eradicated group. The curative effect was better in the non-eradicated group than in the control group, but the difference was not statistically significant.

CONCLUSION: The eradication of *H. pylori* can improve chemotherapy sensitivity in patients with gastric cancer.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Gastric cancer; *Helicobacter pylori*; Chemotherapy; Curative effect

Wang JK, Zhang FL. *Helicobacter pylori* infection and chemotherapy sensitivity in gastric cancer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(13): 1867-1870 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1867.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1867

摘要

目的: 探讨幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)与胃癌化疗敏感性的关系, 为胃癌化疗患者是否要进行根除*H. pylori*治疗提供理论依据.

方法: 选取近5年我科被确诊为胃癌且由于各种原因未行手术治疗而选择化疗的*H. pylori*阳性患者240例, 根据是否给予根除*H. pylori*治疗将其分为观察组和对照组, 两个疗程之后对化疗疗效进行评定, 分析*H. pylori*与胃癌化疗敏感性的关系, 寻找其内在规律.

结果: 观察组疗效优于对照组, 差别有统计学意义; 观察组中虽经根除*H. pylori*治疗, 根除组与未被根除组比较, 疗效前者优于后者, 差别有统计学意义; 未被根除组与未给予根除组比较, 疗效后者优于前者, 但差别无统计学意义.

结论: 根除*H. pylori*可提高胃癌化疗的敏感性.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 胃癌; 幽门螺杆菌; 化疗; 疗效

■背景资料
胃癌对化疗的敏感性直接关系到患者的预后. 诸多研究表明幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)与胃癌的发生密切相关且与其不良预后有关, 但*H. pylori*与胃癌化疗敏感性的关系国内外的文献报道很少, 故研究根除*H. pylori*与胃癌化疗敏感性的关系有一定的理论和实践意义.

■同行评议者
张小晋, 主任医师, 北京积水潭医院

■研发前沿
对*H. pylori*阳性的患者进行根除*H. pylori*治疗可以提高其化疗疗效, 与前述理论指导相吻合, 故认为根除*H. pylori*可提高胃癌化疗的敏感性.

核心提示: 幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)可以通过复杂的机制影响胃癌化疗的疗效, 为本研究提供了理论依据. 本研究表明对*H. pylori*阳性的患者进行根除*H. pylori*治疗可以提高其化疗疗效, 与前述理论指导相吻合, 故认为根除*H. pylori*可提高胃癌化疗的敏感性. 但由于本研究样本量小, 加之影响胃癌化疗敏感性的因素多、机制复杂, 还需要更多、更深入的研究使本研究更具有说服力, 进一步指导临床工作.

王建旭, 张福林. 幽门螺杆菌感染与胃癌化疗疗效的关系. 世界华人消化杂志 2014; 22(13): 1867-1870 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1867.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1867

0 引言

胃癌约占胃恶性肿瘤的95%以上, 其发生、发展是一个多步骤、多因素进行性发展的过程. 在正常情况下胃黏膜的增殖和凋亡之间保持着动态平衡. 这种平衡的维持有赖于癌基因、抑癌基因及一些生长因子的共同调控. 这种平衡一旦破坏, 使胃上皮细胞过度增殖又不能启动凋亡信号, 则可能逐渐发展为胃癌[1]. 化疗是胃癌综合治疗中不可缺少的重要组成部分, 对于无法手术的晚期患者或者手术后的患者, 辅助化疗均可在不同程度上延缓或者预防复发转移, 延长患者的生存时间, 已被广大的临床工作者和患者所接受[2,3], 故胃癌对化疗的敏感性直接关系到患者的预后. 自1982年BarryJ. Marshall和J.Robin Warren发现幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)以来[4], 诸多研究表明*H. pylori*与胃癌的发生密切相关且与其不良预后有关, 但*H. pylori*与胃癌化疗敏感性的关系国内外的文献报道很少, 故研究根除*H. pylori*与胃癌化疗敏感性的关系有一定的理论和实践意义.

1 材料和方法

1.1 材料 选取本院近5年被确诊为胃癌且由于各种原因未行手术治疗而选择化疗的*H. pylori*阳性患者240例, 随机分为两组, 每组120例, 均给予化疗, 在此基础上观察组给予根除*H. pylori*治疗, 两个疗程后对疗效和*H. pylori*是否被根除进行复查, 年龄40-87岁(平均63岁), 以上病例均行胃镜检查并取活检, 经两名有经验的病理医生确诊, 同时行全腹部增强CT检查以明确病变分期. 所有入选病例在就诊前无胃手术史, 并除外其他上消化道器质性病变及其他器官严重病变者. 各组在性别、年龄、肿瘤组织学类型、分化程度及分期构成上差异无统计学意义(P>0.05)(表1).

表 1 两组临床病理特征之间的比较

临床病理特征	观察组	对照组	χ^2	P值
性别			0.154	0.794
男	68	71		
女	52	49		
年龄(岁)			0.500	0.572
≥65	82	87		
<65	38	33		
组织学类型			0.729	0.570
腺癌	112	115		
其他	8	5		
分期			0.203	1.000
早期	3	2		
进展期	117	118		
分化程度			0.472	0.583
高、中分化	78	83		
低分化	42	37		

1.2 方法

1.2.1 化疗方案选: 多西他赛75 mg/m^2, ivd, 第1天, 氟脲嘧啶750 mg/m^2, ivd, 第1-5天, 顺铂20 mg/m^2, ivd, 第1-3天, 并于静点氟脲嘧啶前给予亚叶酸钙200 mg静点以提高前者的疗效, 以上方案情况3-4 wk重复1次.

1.2.2 *H. pylori*感染的判定: 用^{13}C呼气试验和快速尿素酶试验两种方法进行, 均阳性才视为阳性, 复查时仅用^{13}C呼气试验进行.

1.2.3 根除*H. pylori*: 雷贝拉唑肠溶胶囊+胶体果胶铋颗粒+阿莫西林胶囊+克拉霉素分散片, 对青霉素过敏者将阿莫西林胶囊改为左氧氟沙星胶囊, 以上药物剂量均按专家共识推荐剂量使用[5], 疗程10 d.

1.2.4 疗效判定: 疗效评价根据体格检查、CT检查、肿瘤标志物(包括: 癌胚抗原、铁蛋白、CA19-9)等相关检查结果判断, 有效包括部分缓解(partial remission, PR)和完全缓解(complete remission, CR). 无效包括病变进展(disease progression, DP)和稳定(stable disease, SD). 完全缓解、部分缓解、进展、稳定的定义和判断标准均依据WHO实体瘤疗效评定标准[6]. PR: 所有可见病变完全消失并至少维持4 wk以上; PR: 肿瘤病灶的最大横径及其最大垂直径的乘积减少50%以上, 维持4 wk以上; MR: 肿瘤病灶的两径乘积缩小25%以上, 但<50%, 无新病灶出现; SD:

表 2 进行过根除且成功根除组与未进行根除组化疗疗效比较

*H. pylori*根除情况	化疗疗效		合计	χ^2	*P*值
	有效	无效			
进行过根除且成功根除组	75	25	100		
未进行根除组	67	53	120	8.756	0.003
合计	142	78	220		

H. pylori: 幽门螺杆菌.

表 3 进行过根除且成功根除组与进行过根除但未成功根除组化疗疗效比较

*H. pylori*根除情况	化疗疗效		合计	χ^2	*P*值
	有效	无效			
进行过根除且成功根除组	75	25	100		
进行过根除但未成功根除组	10	10	20	3.905	0.048
合计	85	35	120		

H. pylori: 幽门螺杆菌.

表 4 未进行根除组与进行过根除但未成功根除组化疗疗效比较

*H. pylori*根除情况	化疗疗效		合计	χ^2	*P*值
	有效	无效			
未进行根除组	67	53	120		
进行过根除但未成功根除组	10	10	20	0.808	0.0159
合计	77	63	140		

H. pylori: 幽门螺杆菌.

肿瘤病灶两径乘积缩小<25%, 或增大<25%, 无新病灶出现; PD: 肿瘤病灶两径乘积增大>25%, 或出现新病灶. 有效例数 = CR例数+PR例数; 无效例数 = SD例数+PD例数.

统计学处理 应用SPSS19.0统计学软件进行卡方检验(对于样本量小于40或至少有一个格子的理论频数<5的情形进行卡方检验的连续性校正, 对于样本量<40而且有一个格子的理论频数小于5或者样本量<20的情形进行Fisher确切概率检验), *P*<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

进行过根除且成功根除组化疗有效率为75.00%, 未进行根除组化疗有效率为55.83%, 组间比较有效率前者高于后者, *P*<0.05, 差别有统计学意义(表2).

进行过根除且成功根除组化疗有效率为75.00%, 进行过根除但未成功根除组化疗有效率为50.00%, 组间比较有效率前者高于后者, 差别有统计学意义(*P*<0.05)(表3).

未进行根除组化疗有效率为55.83%, 进行过根除但未成功根除组化疗有效率为50.00%, 组间比较有效率前者高于后者. 差别无统计学意义(表4).

3 讨论

胃癌是常见的恶性肿瘤之一, 其死亡率在我国居恶性肿瘤之首, 治疗方法有: 手术治疗、内镜下治疗、化学治疗、其他治疗, 化疗既可以用于辅助手术治疗, 在术前、术中、术后应用以抑制癌细胞扩散和杀灭残存的癌细胞, 又可以用于不适合手术的胃癌患者. 近年来由于化疗方案的改进使不少患者获益, 从而得到广泛的应用, 但胃癌化疗的疗效直接关系到患者的

■相关报道

Christina等发现, Shp2可以在胰岛素样生长因子(insulin-like growth factor, IGF)的作用下调控mTOR/S6K信号转导通路进而调控细胞生长. 又有研究表明IGF-Ⅰ受体表达的胃癌患者对FOLFOX4化疗不敏感. 5-FU能诱导细胞凋亡蛋白酶3的活化, 而IGF-Ⅰ作为IGF-Ⅰ受体的主要配体, 能与IGF-Ⅰ受体结合阻断5-FU诱导的细胞凋亡蛋白酶3的活化, 从而抑制肿瘤细胞的凋亡, 其血浆水平能有效反映以5-FU为基础的化疗效果.

■同行评价
本文研究了*H. pylori*感染与胃癌化疗疗效的关系, 立题有意义. 资料与方法基本合理. 结论有一定临床参考意义.

生存期和生活质量. 胃癌的确切病因尚未完全阐明, 1994年WHO属下的国际癌肿研究机构将*H. pylori*列为引起胃癌的第Ⅰ类致癌原[7]. 之后国内外的许多学者研究认为*H. pylori*在胃癌的发生、发展过程中都起着重要作用, 且与其不良预后有关. 细胞毒素相关基因A(cytotoxin-associated gene A)蛋白被认为是*H. pylori*的主要致病因子[8-10], Higashi等[11]发现, 作为一种非穿膜型蛋白酪氨酸磷酸酶Shp2可以特异性地结合酪氨酸磷酸化的CagA, 进而活化RAS等信号通路和启动细胞外信号转导通路, 故Shp2介导的磷酸化效应被认为是CagA阳性的*H. pylori*促进胃癌发生的机制之一. Zito等[12]发现, Shp2可以在胰岛素样生长因子(insulin-like growth factor, IGF) 的作用下调控mTOR/S6K信号转导通路进而调控细胞生长. 又有研究表明IGF-Ⅰ受体表达的胃癌患者对FOLFOX4化疗不敏感[13]. 5-氟尿嘧啶(fluorouracil, 5-FU)能诱导细胞凋亡蛋白酶3的活化, 而IGF-Ⅰ作为IGF-Ⅰ受体的主要配体, 能与IGF-Ⅰ受体结合阻断5-FU诱导的细胞凋亡蛋白酶3的活化, 从而抑制肿瘤细胞的凋亡[14], 其血浆水平能有效反映以5-FU为基础的化疗效果. Schwarze等[15]研究表明可以利用胃癌患者 IGF-1R和 MRP-1共同表达的水平来预测化疗的疗效和预后情况.

总之, *H. pylori*可以通过复杂的机制影响胃癌化疗的疗效, 为本研究提供了理论依据. 本研究表明对*H. pylori*阳性的患者进行根除*H. pylori*治疗可以提高其化疗疗效, 与前述理论指导相吻合, 故认为根除*H. pylori*可提高胃癌化疗的敏感性. 但由于本研究样本量小, 加之影响胃癌化疗敏感性的因素多、机制复杂, 还需要更多、更深入的研究使本研究更具有说服力, 进一步指导临床工作.

4 参考文献

1 陆再英, 钟南山. 内科学. 第7版. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 396-401
2 李小平, 郑磊贞. 含替吉奥联合化疗方案用于进展期胃癌的研究进展. 临床肿瘤学杂志 2009; 14: 1048-1051
3 Kobayashi Y, Sugitani S, Oseki K, Iiri T. [A case of meningeal carcinomatosis due to gastric cancer treated with intrathecal chemotherapy]. *Nihon Shokakibyo Gakkai Zasshi* 2011; 108: 1696-1704 [PMID: 21971143]
4 Schistosomes, liver flukes and Helicobacter pylori. IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Lyon, 7-14 June 1994. *IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum* 1994; 61: 1-241 [PMID: 7715068]
5 成虹, 胡伏莲. “第三次全国幽门螺杆菌感染若干问题共识意见会议”纪要. 临床药物治疗杂志 2007; 5: 58-59
6 国家药典委员会. 临床用药须知(化学药和生物制品卷). 北京: 人民卫生出版社, 2005: 674-674
7 王吉耀. 内科学. 第1版. 北京; 人民卫生出版社, 2005: 431-435
8 汪强武, 王启之, 于东红, 燕善军, 周蕾, 吴炎, 田怡, 承泽农. 幽门螺杆菌及其细胞毒素相关蛋白A与胃癌形成的关系及可能机制. 中国组织化学与细胞化学杂志 2013; 22: 260-265
9 黄志刚, 段广才, 唐焕文, 胡利人, 杜进林, 潘海燕. 幽门螺杆菌cagA基因影响胃粘膜上皮细胞肿瘤相关蛋白表达. 中国公共卫生 2010; 26: 881-883
10 邢军明, 黄志刚. 癌蛋白CagA、ERK信号通路与胃癌关系的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21: 3363-3368
11 Higashi H, Nakaya A, Tsutsumi R, Yokoyama K, Fujii Y, Ishikawa S, Higuchi M, Takahashi A, Kurashima Y, Teishikata Y, Tanaka S, Azuma T, Hatakeyama M. Helicobacter pylori CagA induces Ras-independent morphogenetic response through SHP-2 recruitment and activation. *J Biol Chem* 2004; 279: 17205-17216 [PMID: 14963045]
12 Zito CI, Qin H, Blenis J, Bennett AM. SHP-2 regulates cell growth by controlling the mTOR/S6 kinase 1 pathway. *J Biol Chem* 2007; 282: 6946-6953 [PMID: 17229738]
13 Ge J, Chen Z, Wu S, Chen J, Li X, Li J, Yin J, Chen Z. Expression levels of insulin-like growth factor-1 and multidrug resistance-associated protein-1 indicate poor prognosis in patients with gastric cancer. *Digestion* 2009; 80: 148-158 [PMID: 19713703]
14 Trakul N, Rosner MR. Modulation of the MAP kinase signaling cascade by Raf kinase inhibitory protein. *Cell Res* 2005; 15: 19-23 [PMID: 15686621]
15 Schwarze CP, Neu S, Beck J, Mavridou K, Ranke MB, Binder G. Influence of IGF-I and cell density on MDR1 expression in the T-lymphoblastoid cell line CCRF-CEM. *Horm Res* 1999; 52: 192-199 [PMID: 10725785]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年5月8日; 22(13): 1871-1875
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

血清前白蛋白结合Child–Pugh分级及MELD评分对肝硬化肝脏功能的评价

韦丽娅, 翟永贞, 冯国和

韦丽娅, 翟永贞, 冯国和, 中国医科大学附属盛京医院感染科 辽宁省沈阳市 110004
韦丽娅, 主要从事慢性肝病肝纤维化和肝硬化的基础和临床的研究.
作者贡献分布: 韦丽娅与冯国和对此文所作贡献均等; 此课题由冯国和设计; 研究过程由韦丽娅与翟永贞操作完成; 数据分析由韦丽娅与翟永贞完成; 本论文写作由韦丽娅与翟永贞完成; 冯国和负责修改审校.
通讯作者: 冯国和, 教授, 主任医师, 博士生导师, 110021, 辽宁省沈阳市铁西区滑翔路39号, 中国医科大学附属盛京医院感染科. fenggh@sj-hospital.org
收稿日期: 2014-02-19 修回日期: 2014-03-23
接受日期: 2014-03-28 在线出版日期: 2014-05-08

Serum prealbumin combined with Child-Pugh classification and MELD score for evaluation of liver function in patients with liver cirrhosis

Li-Ya Wei, Yong-Zhen Zhai, Guo-He Feng

Li-Ya Wei, Yong-Zhen Zhai, Guo-He Feng, Department of Infectious Diseases, Sheng Jing Hospital of China Medical University, Shenyang 110004, Liaoning Province, China
Correspondence to: Guo-He Feng, Professor, Chief Physician, Department of Infectious Diseases, Shengjing Hospital of China Medical University, 39 Huaxiang Road, Tiexi District, Shenyang 110004, Liaoning Province, China. fenggh@sj-hospital.org
Received: 2014-02-19 Revised: 2014-03-23
Accepted: 2014-03-28 Published online: 2014-05-08

Abstract

AIM: To evaluate the clinical value of serum prealbumin (PA) in patients with liver cirrhosis.

METHODS: Three hundred and fifty-one patients diagnosed with cirrhosis at our hospital were retrospectively analyzed and followed for 1 year. Each patient's Child-Pugh classification and model for end-stage liver disease (MELD) score were calculated. Child-Pugh classification and MELD score were compared with serum PA combined with Child-Pugh classification and MELD score in evaluating liver function. Logistic regression analysis was used to evaluate survival at 1 year in patients with liver cirrhosis.

RESULTS: The patients were divided into three groups according to Child-Pugh classification: 111 patients in Child A group, 62 in Child B, and 178 in Child C. In the control group, Child A, Child B and Child C groups, serum PA levels were 261.5 ± 68.7, 152.6 ± 62.7, 70.7 ± 36.9 and 36.2 ± 13.1 mg/L, respectively, which had statistical differences among the four groups (P < 0.05 for all). Of 31 postoperative patients in the Child A group, the mean preoperative serum PA in 24 patients without peritoneal dropsy was 194.0 mg/L ± 56.1 mg/L, and the value in 7 patients with peritoneal dropsy was 123.1 mg/L ± 35.4 mg/L (P < 0.05). MELD scores were calculated in 240 patients in the Child B and Child C groups. Compared with MELD score alone, serum PA combined with MELD score was better in predicting survival at 1 year (χ_2^2-χ_1^2 = 8.229 > 3.84, P < 0.05).

CONCLUSION: Serum PA combined with Child-Pugh classification can predict peritoneal dropsy more efficiently. Serum PA combined with MELD score can predict survival results at 1 year more efficiently in patients with Child B and Child C diseases.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Serum prealbumin; Child-Pugh classification; MELD score; Survival

Wei LY, Zhai YZ, Feng GH. Serum prealbumin combined with Child-Pugh classification and MELD score for evaluation of liver function in patients with liver cirrhosis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(13): 1871-1875
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1871.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1871

摘要

目的: 明确血清前白蛋白(prealbumin, PA)评价肝硬化肝脏功能临床意义.

方法: 回顾性分析我科肝硬化患者351例并随

■背景资料
肝脏功能评价在临床实际工作中尤为重要, 为因肝脏疾病是否进行手术等相关干预措施的进行提供了有力保障. 血清前白蛋白(prealbumin, PA)主要由肝脏合成, 可反映肝脏合成及储备能力及营养状况. 由于缺乏以一种系统、关联、前瞻的临床思维方法去分析血清PA, 广大临床医生在肝病的诊治过程中还不足以重视血清PA变化特点.

■同行评议者
高润平, 教授, 吉林大学第一医院肝胆胰内科

■研发前沿
Child-Pugh分级及MELD评分等诸多指标已广泛应用于临床. 本文将血清PA与Child-Pugh分级、MELD评分结合, 探讨对肝脏功能评价作用, 旨在进一步明确血清PA评价肝硬化肝脏功能的临床意义.

访1年. 计算Child-Pugh分级与MELD评分. 将血清PA与Child-Pugh分级、MELD评分结合, 并分别与单纯Child-Pugh分级、MELD评分对肝脏功能评价作用相比较. 采用Logistic回归统计分析进行肝硬化患者1年生存率评价.

结果: 351肝硬化病例中Child-Pugh A组111例, B组62例, C组178例. 健康对照组与Child-Pugh A、B、C各组血清PA值分别为261.5 mg/L±68.7 mg/L, 152.6 mg/L±62.7 mg/L, 70.7 mg/L±36.9 mg/L, 36.2 mg/L±13.1 mg/L, 健康对照组与Child-Pugh各组血清PA值比较具有显著性差异(P<0.05), 血清PA值在Child-Pugh A、B、C各组间比较也有显著性差异(P<0.05). 血清PA结合Child-Pugh分级与单纯Child-Pugh分级相比较, Child-Pugh A组中31例手术病例, 24例术前血清PA在194.0 mg/L±56.1 mg/L水平者术后未出现腹水, 7例术前血清PA为123.1 mg/L±35.4 mg/L水平者术后出现腹水(P<0.05). 将Child-Pugh B、C组240例肝硬化患者计算MELD评分, 血清PA结合MELD评分与单纯MELD评分相比较, 在判断Child B级、Child C级肝硬化患者一年生存率方面有显著性差异(χ_2^2-χ_1^2 = 8.229>3.84, P<0.05).

结论: 血清PA结合Child-Pugh分级的使用有利于预测肝病患者术后腹水发生的可能性, 但不能提高对肝硬化患者1年生存率的判断; 血清PA结合MELD评分能提高对Child B级、Child C级肝硬化患者1年生存率的判断.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 血清PA; Child-Pugh分级; MELD评分; 1年生存率

核心提示: 血清前白蛋白(prealbumin, PA)能更敏感地反映早期肝脏损害. 将血清PA值和Child-Pugh分级、MELD评分结合用于评价肝硬化患者的肝功能及终末期肝病患者的预后具有参考意义.

韦丽娅, 翟永贞, 冯国和. 血清前白蛋白结合Child-Pugh分级及MELD评分对肝硬化肝脏功能的评价. 世界华人消化杂志 2014; 22(13): 1871-1875 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1871.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1871

0 引言

各种原因所致肝硬化、肝功失代偿以及肝功能衰竭时肝脏功能评价在临床实际工作中尤为重要, 包括血清白蛋白(serum albumin, ALB)、胆固醇(cholesterol, CHO)、胆碱酯酶(cholinesterase, CHE)、总胆汁酸(total bile acid, TBA)、凝血酶原时间(prothrombin time, PT)、Child-Pugh分级及MELD评分等诸多指标已广泛应用于临床, 为因肝脏疾病是否进行手术等相关干预措施的进行提供了有力保障. 血清前白蛋白(prealbumin, PA)主要由肝脏合成, 可反映肝脏合成及储备能力及营养状况[1]. 由于缺乏以一种系统、关联、前瞻的临床思维方法去分析血清PA, 广大临床医生在肝病的诊治过程中还不足以重视血清PA的变化特点, 本文拟对我科住院的肝硬化患者351例进行回顾性分析并随访1年. 计算Child-Pugh分级与MELD评分. 将血清PA与Child-Pugh分级、MELD评分结合, 并分别与单纯Child-Pugh分级、MELD评分相比较, 探讨对肝脏功能评价作用, 旨在进一步明确血清PA评价肝硬化肝脏功能的临床意义.

1 材料和方法

1.1 材料 收集2011-01/2012-12在中国医科大学附属盛京医院感染科临床确诊的肝硬化患者351例, 男243例, 女108例, 平均年龄50.94岁±12.37岁, 其中乙型肝炎后肝硬化241例, 丙型肝炎后肝硬化110例. 另选健康体检者100例作为对照组, 男73例, 女27例, 平均年龄48.31岁±5.14岁. 诊断标准乙型肝炎后肝硬化及丙型肝炎后肝硬化诊断标准符合2000年9月西安《病毒性肝炎防治方案》; 排除标准: 急性肝功能衰竭、原发性肾脏疾病、伴明显心肺功能不全, 长期营养不良、1 mo内补充过血制品及其他恶性肿瘤患者.

1.2 方法

1.2.1 临床资料收集与分组: 采集研究对象入院诊断时的病案信息, 按标准格式录入. 研究资料包括一般临床资料、病史、体格检查结果、实验室检查结果、肝脏影像学结果以及食道胃底胃镜结果. 根据Child-Pugh分级, 将351例肝硬化患者分为Child A组111例; B组62例, C组178例. 其中Child A组中有31例乙型肝炎后肝硬化患者同时合并原发性肝癌并于我院肝胆脾外科择期手术治疗, 术后均存活. 余肝硬化患者均接受内科治疗. 将Child-Pugh B、C组患者共240例(男170例, 女70例), 平均年龄50.22岁±12.72岁. 计算MELD评分, 以患者入院确诊时间作为观察起始点, 分析数据的最后1次随访作为观察终点. 终点事件为从确诊到1年内死亡. 经随访发现

351例肝硬化患者1年内有251例患者存活, 100例患者死亡, 死亡患者均为Child C组患者.

1.2.2 生化学指标检测: TBil、PA、ALB、肌酐(creatinine, Cr)采用日本Olympus AU 5400全自动生化分析仪检测; PT、凝血酶原标准化比值(international normalized ratio, INR)采用日本Sysmex CA-7000全自动血凝仪检测.

1.2.3 相关计算公式: Child-Pugh分级根据Child、Turcotte、Pugh等设计的计算方法, 将血清ALB、血清T-Bil、血清PT、腹水情况、肝性脑病情况5项指标按照病情的严重程度分别计为1、2、3分, 每1例患者的5项分值相加后分级. Child A级(5-6分)代表肝脏功能代偿, Child B级(7-9分)代表肝脏功能失代偿, Child C级(10-15分)代表了肝脏功能严重失代偿[2]. MELD评分根据Kamath等提出的计算方法, 公式为MELD评分 = 9.6×In[肌酐(mg/dl)] +3.8×In[胆红素(mg/dl)]+11.2×In(凝血酶原标准化比值) +6.4×病因(病因: 胆汁性或酒精性0, 其他1)[3].

统计学处理 采用SPSS21统计软件进行数据分析, 计量资料采用*t*检验分析和单因素方差分析; 应用Logistic回归分析预测术后腹水的发生, 并判断影响肝硬化患者1年生存率的危险因素, 将血清PA分别与Child-Pugh分级、MELD评分结合建立预后模型, 并比较不同模型预测肝硬化患者1年生存率的能力. P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 健康对照组与Child-Pugh各组的血清PA值的比较 健康对照组血清PA值为261.5 mg/L±68.7 mg/L, 与Child-Pugh各组血清PA值比较具有显著性差异(P<0.05); Child-Pugh A、B、C各组血清PA值分别为152.6 mg/L±62.7 mg/L、70.7 mg/L±36.9 mg/L、36.2 mg/L±13.1 mg/L, 随着Child-Pugh分级的升高, 血清PA值明显下降, Child-Pugh A、B、C各组间比较也有显著性差异(P<0.05).

2.2 血清PA结合Child-Pugh分级预测进行外科手术的肝病患者术后腹水发生 进行外科手术的31例Child A级肝硬化患者, 术后有7例患者出现大量腹水, 经治疗后均康复出院. 24例术前血清PA值194.0 mg/L±56.1 mg/L的患者术后未出现大量腹水, 7例术前血清PA值123.1 mg/L±35.4 mg/L的患者术后出现大量腹水, 较前者明显降低(P<0.05).

对进行外科手术的31例Child A级肝硬化患者进行Logistic回归分析, 我们得出, 血清PA的OR值为0.965(95%CI: 0.939-0.992), 血清PA为影响术后腹水发生的危险因素(P<0.05).

2.3 血清PA结合Child-Pugh分级与单独应用Child-Pugh分级判断肝硬化患者1年生存率的比较 对未进行外科手术治疗的320例肝硬化患者进行Logistic回归分析, Child-Pugh分级模型系数的综合检测χ_1^2 = 153.461(P<0.05); 血清PA结合Child-Pugh分级合模型系数的综合检测χ_2^2 =153.674(P<0.05); χ_2^2-χ_1^2 = 0.213<3.84(P>0.05). 血清PA结合Child-Pugh分级与单独应用Child-Pugh分级相比, 对肝硬化患者1年生存率判断无显著性差异(P>0.05).

2.4 血清PA结合MELD评分与单纯MELD评分判断Child B级、Child C级肝硬化患者1年生存率的比较 对Child B级、Child C级肝硬化患者进行Logistic回归分析, 我们得出MELD评分的OR值为1.234(95%CI: 1.159-1.313), 血清PA的OR值为0.970(95%CI: 0.948-0.992), MELD评分、血清PA为影响其1年生存率的危险因素(P<0.05).

MELD评分模型系数的综合检测χ_1^2 = 94.726(P<0.05); 血清PA结合MELD评分模型系数的综合检测χ_2^2 = 102.955(P<0.05); χ_2^2-χ_1^2 = 8.229>3.84(P<0.05), 血清PA结合MELD评分模型与单独MELD评分模型相比, 判断Child B级、Child C级肝硬化患者1年生存率有显著性差异, 具有更强的预测能力.

3 讨论

血清PA是一种急性时相反应蛋白, 主要由肝脏合成, 并存在于血液和脑脊液中[4]. 与血清ALB相比, 血清PA半衰期短, 仅1.9 d, 受蛋白质营养支持治疗等肝外因素影响小, 故其血清含量变化更能敏感地反映早期肝脏损害[5,6]. 本研究中发现健康对照组与Child-Pugh各组血清PA值比较具有显著性差异, 即证明血清PA可早期反应肝损害这一特点. 血清PA值在Child-Pugh A、B、C各组间比较也有显著性差异; 随着Child-Pugh分级的升高, 血清PA值明显下降; 提示各类慢性肝病的血清PA水平明显降低, 在肝硬化伴肝脏储备功能明显下降时血清PA降低最显著. Child-Pugh分级法是判断肝脏储备功能的一种半定量方法, 最常用于判断肝硬化患者是否适合肝脏手术等[7]. 近期研究发现Child-Pugh分级法并不能对所有的指标给予正确权重, 诸如

■相关报道

Liu等将Meld评分与血清PA相结合, 对失代偿期肝硬化患者分别进行了随访研究, 研究发现MELD评分>18结合PA<70 mg可优于单独应用MELD评分评估失代偿期肝硬化患者1年预后.

■创新盘点

本文首次应用血清PA结合Child-Pugh分级、MELD评分共同建立预测模型, 评价肝硬化患者肝脏功能以及终末期肝病患者预后.

难以对腹水与脑病做出正确的分级, 无法减少ALB、PT在实验室内部与实验室之间由于检测方法或所选试剂的不同所带来的误差, 不能避免外源性因素以及肝脏自身的营养状态所带来的影响等[8], 导致不同肝病患者即使Child分值相同但预后评估误差很大, 说明该分级法在预后评估精准性上仍存在一定局限性[9,10]. 本研究发现, 进行外科手术的31例Child A级肝硬化患者中, 血清PA为影响术后腹水发生的危险因素, 术后有7例患者出现大量腹水, 此7例患者术前血清PA值较24例术后未出现腹水患者血清PA值明显降低; 提示血清PA结合Child-Pugh分级的使用有利于预测肝病患者术后腹水发生的可能性, 也就是说当择期行肝脏手术Child-Pugh A级患者被发现血清PA明显降低时, 应考虑到先期内科综合治疗, 并慎重决定能否进行肝脏手术. 尽管如此, 通过对未进行外科手术治疗的320例肝硬化患者进行Logistic回归分析发现, 血清PA结合Child-Pugh分级与单独应用Child-Pugh分级相比, 对肝硬化患者1年生存率判断无显著性差异. 提示两者结合不能提高对肝硬化患者1年生存率的判断.

相比Child-Pugh分级系统, MELD评分系统优势在于建立在大量统计学数据基础之上, 通过对血清肌酐指标检测兼顾到了肾脏因素的影响, 尤其对于失代偿期肝硬化患者病情的严重程度可作出更细致的划分[11,12]. 为此我们集中对Child-Pugh B、C级240例患者进行MELD评分研究, 并对肝硬化患者1年生存率进行风险评估. MELD评分也存在缺陷: 诸如组织凝血活酶来源不同, 致使血清凝血酶原时间变化很大, 影响了结果的可比性; 肝硬化患者在接受利尿治疗时, 血肌酐可能会大幅度改变, 也会影响结果的准确性; 此外, 肝硬化门脉高压并发症因素没被纳入MELD评分中[13,14]. MELD评分结果对肝硬化患者死亡率的预测与真实情况仍有15%-20%的误差. Liu等[15]将Meld评分与血清PA相结合, 对252例失代偿期肝硬化患者分别进行了随访研究, 研究发现MELD评分>18结合PA<70 mg可优于单独应用MELD评分评估失代偿期肝硬化患者1年的预后. 本文通过Logistic回归分析, 我们得出MELD评分, 血清PA值为影响1年生存率的危险因素, 血清PA结合MELD评分与单纯MELD评分相比较, 在判断Child B级、Child C级肝硬化患者1年生存率方面有显著性差异, 提示血清PA结合MELD评分能提高对Child B级、Child C级肝硬化患者1年生存率的判断. 本研究将血清PA值和MELD评分共同建立预测模型, 血清PA的测定简便易操作, 结合MELD评分势必为肝硬化以及终末期肝病患者的预后评估提供更切实可行的方法.

4 参考文献

1 韦丽娅, 翟永贞, 冯国和. 血清前白蛋白对肝功能评估的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21: 1387-1393

2 Miyaki D, Aikata H, Honda Y, Naeshiro N, Nakahara T, Tanaka M, Nagaoki Y, Kawaoka T, Takaki S, Waki K, Hiramatsu A, Takahashi S, Ishikawa M, Kakizawa H, Awai K, Chayama K. Hepatic arterial infusion chemotherapy for advanced hepatocellular carcinoma according to Child-Pugh classification. *J Gastroenterol Hepatol* 2012; 27: 1850-1857 [PMID: 23020312 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2012.07276.x]

3 Lee HS, Choi GH, Joo DJ, Kim MS, Kim SI, Han KH, Ahn SH, Kim DY, Park JY, Choi JS. Prognostic value of model for end-stage liver disease scores in patients with fulminant hepatic failure. *Transplant Proc* 2013; 45: 2992-2994 [PMID: 24157020 DOI: 10.1016/j.transproceed.2013.08.036]

4 王岩, 翟永贞, 冯国和. 肝衰竭的营养代谢异常与营养支持治疗的研究进展. 世界华人消化杂志 2012; 20: 2167-2172

5 Gupta D, Lis CG. Pretreatment serum albumin as a predictor of cancer survival: a systematic review of the epidemiological literature. *Nutr J* 2010; 9: 69 [PMID: 21176210 DOI: 10.1186/1475-2891-9-69]

6 Huang L, Li J, Yan JJ, Liu CF, Wu MC, Yan YQ. Prealbumin is predictive for postoperative liver insufficiency in patients undergoing liver resection. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 7021-7025 [PMID: 23323003 DOI: 10.3748/wjg.v18.i47.7021]

7 Pressiani T, Boni C, Rimassa L, Labianca R, Fagiuoli S, Salvagni S, Ferrari D, Cortesi E, Porta C, Mucciarini C, Latini L, Carnaghi C, Banzi M, Fanello S, De Giorgio M, Lutman FR, Torzilli G, Tommasini MA, Ceriani R, Covini G, Tronconi MC, Giordano L, Locopo N, Naimo S, Santoro A. Sorafenib in patients with Child-Pugh class A and B advanced hepatocellular carcinoma: a prospective feasibility analysis. *Ann Oncol* 2013; 24: 406-411 [PMID: 23041587 DOI: 10.1093/annonc/mds343]

8 Kuroda S, Tashiro H, Kobayashi T, Oshita A, Amano H, Ohdan H. Selection criteria for hepatectomy in patients with hepatocellular carcinoma classified as Child-Pugh class B. *World J Surg* 2011; 35: 834-841 [PMID: 21190110 DOI: 10.1007/s00268-010-0929-y]

9 Farinati F, Giacomin A, Vanin V. Sorafenib for hepatocellular carcinoma according to Child-Pugh class of liver function. *Cancer Chemother Pharmacol* 2011; 68: 1639-1640; author reply 1639-1640; [PMID: 22071597 DOI: 10.1007/s00280-011-1776-8]

10 Hollebecque A, Cattan S, Romano O, Sergent G, Mourad A, Louvet A, Dharancy S, Boleslawski E, Truant S, Pruvot FR, Hebbar M, Ernst O, Mathurin P. Safety and efficacy of sorafenib in hepatocellular carcinoma: the impact of the Child-Pugh score. *Aliment Pharmacol Ther* 2011; 34: 1193-1201 [PMID: 21958438 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2011.04860.x]

11 Zhao WC, Zhang HB, Yang N, Fu Y, Qian W, Chen BD, Fan LF, Yang GS. Preoperative predictors of short-term survival after hepatectomy for multi-

nodular hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 3272-3281 [PMID: 22783052 DOI: 10.3748/wjg.v18.i25.3272]
12 Al Sibae MR, Cappell MS. Accuracy of MELD scores in predicting mortality in decompensated cirrhosis from variceal bleeding, hepatorenal syndrome, alcoholic hepatitis, or acute liver failure as well as mortality after non-transplant surgery or TIPS. *Dig Dis Sci* 2011; 56: 977-987 [PMID: 20844956 DOI: 10.1007/s10620-010-1390-3]
13 Jiang M, Liu F, Xiong WJ, Zhong L, Xu W, Xu F, Liu YB. Combined MELD and blood lipid level in evaluating the prognosis of decompensated cirrhosis. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 1397-1401 [PMID: 20238407 DOI: 10.3748/wjg.v16.i11.1397]
14 Guo Z, He X, Wu L, Ju W, Hu A, Tai Q, Wang D, Ma Y, Wang G, Zhu X, Huang J. Model for end-stage liver disease versus the Child-Pugh score in predicting the post-transplant 3-month and 1-year mortality in a cohort of Chinese recipients. *Surg Today* 2010; 40: 38-45 [PMID: 20037838 DOI: 10.1007/s00595-009-4114-6]
15 Liu F, Cai LY, Zhong L, Chen C, Xu F, Zhao ZX, Chen XM. Model for end-stage liver disease combined with serum prealbumin to predict the prognosis of patients with decompensated liver cirrhosis. *J Dig Dis* 2010; 11: 352-357 [PMID: 21091897 DOI: 10.1111/j.1751-2980.2010.00465.x]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

■同行评价
本文选题明确, 创新性可, 统计分析恰当, 论文书写较流畅, 具有一定应用价值.

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2014年5月8日; 22(13): 1876-1880
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

外周血血浆中甲胎蛋白、丙酮酸激酶M2和白蛋白mRNA检测在乙型肝炎肝硬化患者早期诊断中的价值

夏晓寒, 黄 丁

■背景资料
临床研究表明, 甲胎蛋白(alpha fetoprotein, AFP)、丙酮酸激酶M2(pyruvate kinase M2, PKM2)和白蛋白(albumin, ALB)对肝癌的诊断具有重要临床应用价值. 本研究主要针对这AFP、PKM2与ALB mRNA在乙型肝炎肝硬化患者血浆中的表达. 本研究采用实时定量PCR法对健康人群和乙型肝炎肝硬化患者血浆中的AFP mRNA、PKM2 mRNA和ALB mRNA表达进行了检测, 而与检测细胞、组织中mRNA的表达相比, 其检测无创, 灵敏度高, 快速, 简便, 并可同时检测多个样本, 具有一定的应用价值.

夏晓寒, 浙江省血液中心献血服务部 浙江省杭州市 310005
黄丁, 瑞安市人民医院急诊科 浙江省瑞安市 325200
夏晓寒, 主要从事利用血液检测肝硬化的工作.
作者贡献分布: 本文由夏晓寒撰写; 黄丁修改.
通讯作者: 夏晓寒, 主管护师, 310006, 浙江省杭州市武林路345号, 浙江省血液中心献血服务部. 81783465@qq.com
收稿日期: 2014-03-24 修回日期: 2014-04-15
接受日期: 2014-04-26 在线出版日期: 2014-05-08

Diagnostic value of alpha-fetoprotein, pyruvate kinase M2 and albumin mRNA expression in peripheral blood in hepatitis B virus-related cirrhosis

Xiao-Han Xia, Ding Huang

Xiao-Han Xia, Department of Blood Services, Blood Center of Zhejiang Province, Hangzhou 310005, Zhejiang Province, China
Ding Huang, Department of Emergency Medicine, Rui'an City People's Hospital, Rui'an 325200, Zhejiang Province, China
Correspondence to: Xiao-Han Xia, Charge Nurse, Department of Blood Services, Blood Center of Zhejiang Province, 345 Wulin Road, Hangzhou 310005, Zhejiang Province, China. 81783465@qq.com
Received: 2014-03-24 Revised: 2014-04-15
Accepted: 2014-04-26 Published online: 2014-05-08

Abstract

AIM: To assess the diagnostic value of alpha-fetoprotein (AFP), pyruvate kinase M2 (PKM2) and albumin (ALB) mRNA expression in the peripheral blood in hepatitis B virus (HBV)-related cirrhosis.

METHODS: One hundred patients with HBV-related cirrhosis who were treated at our hospital from January 2011 to December 2013 (observation group) and 102 healthy volunteers (control group) were included in this study. Real-time quantitative PCR was used to detect the mRNA expression of AFP, PKM2 and ALB in the peripheral blood of the above subjects.

RESULTS: The expression of ALB mRNA in the peripheral blood was significantly correlated with γ-glutamyltransferase and serum albumin. Joint detection of the mRNA expression of AFP, PKM2 and ALB in the peripheral blood had a significantly higher rate of detection of cirrhosis ($P < 0.05$).

CONCLUSION: The mRNA expression of AFP, PKM2 and ALB in the peripheral blood has important diagnostic value in patients with cirrhosis.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Word: Peripheral blood; Alpha-fetoprotein; Pyruvate kinase M2; Albumin; mRNA; Cirrhosis

Xia XH, Huang D. Diagnostic value of alpha-fetoprotein, pyruvate kinase M2 and albumin mRNA expression in peripheral blood in hepatitis B virus-related cirrhosis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(13): 1876-1880
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1876.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1876

摘要

目的: 探究外周血血浆中甲胎蛋白(alpha-fetoprotein, AFP)、丙酮酸激酶M2(pyruvate kinase M2, PKM2)和白蛋白(albumin, ALB) mRNA检测在乙型肝炎肝硬化患者诊断及预后中的价值分析.

方法: 选择2011-01/2013-12瑞安市人民医院收治的乙型肝炎肝硬化患者共102例作为观察组, 并选取102例体检的健康人群作为对照组, 所有受试者采用实时定量PCR方法, 对*AFP*、*PKM2*和*ALB*基因的检出率、表达差异和mRNA与临床相关性进行分析.

结果: 计算AFP mRNA、PKM2 mRNA和ALB mRNA的$2^{-\Delta\Delta Ct}$, 同时对AFP、PKM2及ALB的表达与临床生化指标的相关性, 得到ALB mRNA和γ-谷氨酰基转移酶和血清白蛋白存在相关性. 对所有患者经过联合检测后, 乙型

■同行评议者
顾国利, 副主任医师, 空军总医院普通外科

肝炎肝硬化组联合检测阳性率的最高, 较为敏感, 差异有统计学意义(P<0.05).

结论: 外周血AFP mRNA、PKM2 mRNA和ALB mRNA对乙型肝炎肝硬化患者的早期诊断具有一定的诊断价值, 值得临床参考.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 外周血甲胎蛋白; 丙酮酸激酶M2; 白蛋白; mRNA; 肝硬化

核心提示: 本次研究对乙型肝炎肝硬化患者中血浆的甲胎蛋白(alpha-fetoprotein)、丙酮酸激酶M2(pyruvate kinase M2) 和白蛋白(albumin) mRNA的表达, 为指导临床治疗提供参考.

夏晓寒, 黄丁. 外周血血浆中甲胎蛋白、丙酮酸激酶和白蛋白mRNA检测在乙型肝炎肝硬化患者早期诊断中的价值. 世界华人消化杂志 2014; 22(13): 1876-1880 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1876.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1876

0 引言

因乙型肝炎肝硬化而致肝癌是我国肝癌高发的一个重要原因[1,2], 其较高致死率的主要原因是患者早期诊断特异性差, 一旦确诊, 常已为中晚期, 治疗难度增加. 肝癌患者中, 早期患者常带有肝硬化基础病变, 若在肝硬化阶段获得重要的诊断标志, 从而对患者病情进行判断, 采取正确而有效的治疗手段, 将可能抑制或延缓肝癌的发生. 本次研究对乙型肝炎肝硬化患者外周血浆中甲胎蛋白(alpha-fetoprotein, AFP)、丙酮酸激酶M2(pyruvate kinaseM2, PKM2)和白蛋白(albumin, ALB)mRNA的表达进行检测, 为指导临床治疗提供参考.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2011-01/2013-12我院收治的乙型肝炎肝硬化患者102例, 男性62例, 女性40例. 年龄35-74岁(46.4岁±9.2岁), 其中不伴腹水患者61例, 伴腹水患者共41例. 另选取102例体检的健康人群作为对照组, 其中男性60例, 女性42例, 年龄34-72岁(47.2岁±9.9岁). 患者年龄、性别等一般资料无显著差异, 有可比性. 临床实验均经过院伦理委员会批准, 患者或家属自愿签署知情同意书. 采用Sigma公司生产的TRI试剂与焦炭酸二乙酯(DEPC); Ambion公司生产的糖原, NEB公司生产的Poly(A)加尾酶; Promega生产的ImProm-Ⅱ™逆转录酶; TaKaRa公司生产的SYBR ExTaq Mix定量PCR试剂. 本次采用Invitrogen公司合成的引物.

表 1 定时定量PCR引物和逆转录引物序列

引物名称	引物序列
ALB mRNA正向引物	5'-tggcacaatgaagtgggtaa-3'
ALB mRNA反向引物	5'-ctgagcaaaggcaatcaaca-3'
AFP mRNA正向引物	5'-tggaatagcttccatattggattc-3'
AFP mRNA反向引物	5'-aagtggcttcttgaacaaactgg-3'
PKM2 mRNA正向引物	5'-agtaccatgcggagaccatc-3'
PKM2 mRNA反向引物	5'-gcgttatccagcgtgatttt-3'
GAPDH正向引物	5'-tcagtggtggacctgacctg-3'
GAPDH反向引物	5'-tgctgtagccaaattcgttg-3'
逆转录引物	5'-ttttttttttttttttt-3'

AFP: 甲胎蛋白; PKM2: 丙酮酸激酶M2; ALB: 白蛋白.

1.2 方法

1.2.1 标本准备: 外周血单个核细胞的分离: 取健康人新鲜抗凝血, 以Ficoll分离液分离PBMC, 加150 μL TRIzol Reagent(美国Gibco BRL公司). 每100 μL TRIzol加20 μL氯仿, 充分混匀, 破碎细胞, 使之释放出RNA; 以预冷无水乙醇沉淀, 最终溶于DEPC水中. 为排除可能混有的DNA污染, 加3 U DNA seRNA se-free, 于 37 ℃水浴1 h消化DNA. 抽提的RNA 保存于-20 ℃冰箱中.

1.2.2 RNA提取: 所有患者都空腹抽取静脉血约5 mL, EDTA采血管进行收集, 收集全血静置10 min, 以1500 r/min进行离心10 min, 之后放入无RNase的Ep管, 在-80 ℃进行保存. 对血浆总RNA按照TRI试剂说明书进行提取.

1.2.3 逆转录: 将800 μL血浆分为4份, 分别加入于无RNase的离心管中, 同时每个离心管中加入TRI试剂提取液1 mL, 而在加入等量的异丙醇同时加入2 μL(5 mg/mL)的糖原使其助沉; 利用DEPC对水溶解的沉淀样品进行处理, 加入2 μL(1 μg/μL) mRNA 逆转录引物oligo dT, 使用ImProm-Ⅱ™逆转录酶使其逆转录成cDNA.

1.2.4 PCR扩增: PCR 反应体系组成如下: 三蒸水36.5 μL, 10×PCR 缓冲液5 μL, 10 mmol/L dNTP μL, 正义引物和反义引物各适量, 逆转录形成的cDNA 5 μL, TaqDNA聚合酶0.5 μL, 混匀. 加热至94 ℃ 5 min后, 完成30个如下循环: 94 ℃ 45 s, 65 ℃ 1 min; 再进行 15个下列循环: 94 ℃ 45 s, 50 ℃ 1 min, 72 ℃ 1 min, 再置72 ℃ 10 min, 然后

■研发前沿
因乙型肝炎肝硬化而致肝癌是我国肝癌高发的一个重要原因, 其较高致死率的主要原因是患者早期诊断特异性差, 一旦经诊断患有肝癌时, 常已为中晚期, 治疗难度增加.

■相关报道
循环RNA作为一个崭新的研究领域, 虽处于探索时期, 但作为一种无创性早期检测方式, 具有重要应用价值.

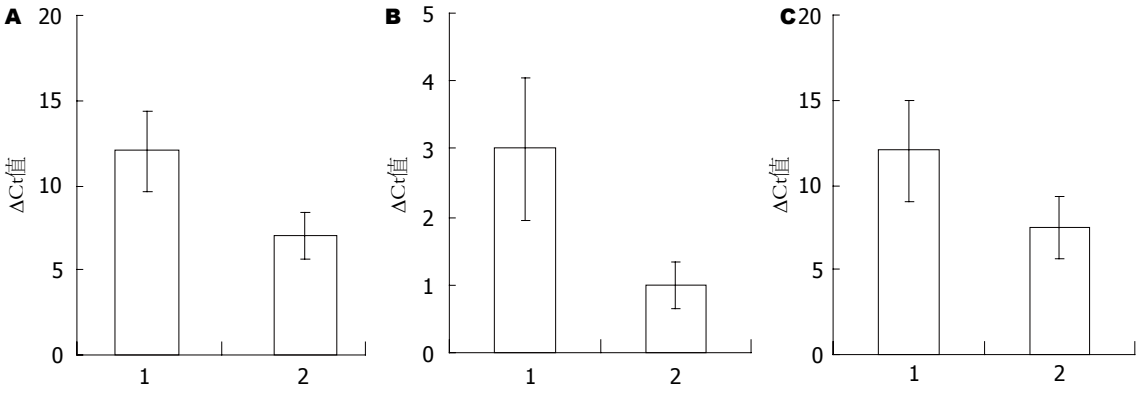


图 1 对照组受试者和乙肝肝硬化组患者ALB、AFP、PKM2 mRNA的表达. A: ALB; B: AFP; C: PKM2. 1: 乙肝肝硬化组; 2: 健康对照组. AFP: 甲胎蛋白; PKM2: 丙酮酸激酶M2; ALB: 白蛋白.

表 2 健康对照组受试者和乙型肝炎肝硬化组患者*ALB*、*AFP*、*PKM2*基因检出率 [*n* = 102, *n*(%)]

分组	*ALB*基因	*AFP*基因	*PKM2*基因
健康对照组	2(1.9)	3(2.9)	0(0)
乙型肝炎肝硬化组	31(30.3)	28(27.5)	71(69.6)
χ^2	30.40	23.77	108.90
*P*值	0.01	0.01	0.01

AFP: 甲胎蛋白; PKM2: 丙酮酸激酶M2; ALB: 白蛋白.

冷却, 常规琼脂糖凝胶电泳. 定时定量PCR引物和逆转录引物序列见表1.

统计学处理 采用SPSS17.0统计学软件分析, χ^2检验分析计数资料, 对mRNA与临床相关性进行分析, 并计算检测mRNA的$2^{-\Delta\Delta Ct}$值. $P<0.05$为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 *ALB*、*AFP*、*PKM2*基因检出率比较 健康对照组受试者ALB、AFP、PKM2基因的检出率较低, 乙型肝炎肝硬化组明显高于健康对照组, 差异有统计学差异($P<0.05$), (表2).

2.2 ALB、AFP、PKM2 mRNA表达 经过检测后, 得到乙型肝炎肝硬化组患者的ALB、AFP、PKM2 mRNA表达高于健康对照组, 差异有统计学意义($P<0.05$), (图1) .

2.3 AFP、PKM2和ALB mRNA在患者血浆存在量与临床生化指标间的相关性 计算AFP mRNA、PKM2 mRNA和ALB mRNA的$2^{-\Delta\Delta Ct}$, 其中, $\Delta\Delta Ct = \Delta Ct$(肝病样本)-$\Delta Ct$(健康样本均值). 同时对AFP、PKM2及ALB的表达与临床生化指标的相关性进行统计, 分析结果显示ALB mRNA和γ-谷氨酰基转移酶和血清白蛋白存在相关性(表3).

2.4 患者ALB、AFP和PKM2 mRNA阳性率比较 对所有患者经过联合检测后, 肝硬化组联合检测阳性率的最高, 与健康对照组相比均差异显著($P<0.05$), (表4).

3 讨论

AFP的血清学检测是肝癌患者进行诊断的重要指标, 但若仅进行AFP检测, 会造成误诊或漏诊[3,4]. 因此, 临床上对其他分子标志物进行了多方面研究. 其中, 研究最多的是AFP mRNA, 现其他相关mRNA也逐渐得到了广泛关注. 肝癌患者几乎都需经过肝硬化阶段, 故在肝硬化阶段得到相应的分子标志物可对肝癌有早期警示作用.

AFP是一种在胚胎时期肝细胞内进行合成特殊蛋白, 现已是原发性肝癌患者的常规检测指标[5,6]. 近年研究表明, AFP mRNA与肝癌的转移具有紧密联系[7]. 在本研究中, 对血浆AFP mRNA的表达进行检测, 得出其在对照组与观察组人群血浆中的表达具有统计学差异($P<0.05$), 说明AFP mRNA与肝癌的转化过程显著相关.

PKM2是一种在肿瘤细胞中特异表达的蛋白, 在人体生理代谢过程中具有重要意义, 能对肿瘤的形成过程进行控制[8-11]. 本研究中, PKM2 mRNA在2组患者之间具有统计学意义, 其表达具有差异性, 观察组患者血浆中的表达显著高于对照组, 说明PKM2在肝硬化临床诊断中具有重要作用.

ALB是一种肝脏特异性蛋白, 是反应患者肝细胞的敏感指标, 对肝脏储备功能进行评价, 并对患者病情的变化及预后的判断具有重要意义[12,13]. 本研究中, 对ALB mRNA在血浆中的表达进行了检测, 观察组中ALB mRNA的表达显著高于

■同行评价
本文具有一定指导意义.

表 3 ALB mRNA与临床生化指标的相关性分析

临床参数	正常范围(U/L)	ALB mRNA的表达*n*(%)		*P*值
		低表达($2^{-\Delta\Delta Ct}$<2)	高表达($2^{-\Delta\Delta Ct}$>2)	
γ-谷氨酰基转移酶	0-50	13(17.3)	62(82.7)	<0.05
血清ALB	30-50	15(20.0)	60(80.0)	<0.05

ALB: 白蛋白.

表 4 患者ALB, AFP和PKM2 mRNA阳性率的比较 [*n* = 102, *n*(%)]

分组	ALB	AFP	PKM2	联合检测
健康对照组	3(2.9)	3(2.9)	0(0)	6(5.8)
肝硬化组	88(86.3)[a]	77(75.5)[a]	83(81.4)[a]	93(91.2)[a]

[a]*P*<0.05 *vs* 健康对照组. AFP: 甲胎蛋白; PKM2: 丙酮酸激酶M2; ALB: 白蛋白.

对照组, 说明ALB mRNA对肝硬化患者的临床诊断及预后具有重要意义.

临床研究表明, AFP、PKM2与ALB对肝癌的诊断具有重要临床应用价值. 本研究主要针对AFP、PKM2与ALB mRNA在乙型肝炎肝硬化患者血浆中的表达. 采用实时定量PCR法对健康人群和乙型肝炎肝硬化患者血浆中的AFP mRNA、PKM2 mRNA和ALB mRNA表达进行了检测, 而与检测细胞、组织中mRNA的表达相比, 其检测无创, 灵敏度高, 快速, 简便, 并可同时检测多个样本, 具有一定的应用价值[14-16]. 对患者进行联合检测后, 肝硬化组联合检测阳性率的最高, 与健康对照组相比差异显著(*P*<0.05). 对3种mRNA指标的相关性进行分析, 得到AFP、PKM2与临床检测指标无显著相关性, 但ALB mRNA与γ-谷氨酰基转移酶和血清白蛋白具有相关性. γ-谷氨酰基转移酶是人体血清中的转移酶, 担任着重要角色, 其临床应用广泛. 肝硬化患者的γ-谷氨酰基转移酶通常会升高, 且能帮助患者判断恶性肿瘤是否转移, 有助于临床诊断. 本研究得到, 乙型肝炎肝硬化患者血浆中的ALB mRNA与γ-谷氨酰基转移酶具有相关性, 故ALB mRNA在肝病的临床治疗中具有重要意义.

循环RNA作为一个崭新的研究领域, 虽处于探索时期, 但作为一种无创性早期检测方式, 具有重要应用价值. 因此, 深入研究RNA在血浆中的表达水平, 为发现疾病特异性标志物开创前景, 对肝癌患者提供具有重要依据.

4 参考文献

1 任嫦娥, 郭惠萍. 姜黄素对肝癌HepG2和Bel-7404细胞增殖的抑制作用. 中国生化药物杂志 2012; 33: 251-253

2 武艳, 袁晓环, 张羽飞, 刘海峰, 包海花, 吴丹, 初彦辉. 原发性肝癌患者外周血中TGF-β1 mRNA表达水平的检测及其临床意义. 中国生化药物杂志 2010; 31: 327-329

3 Personeni N, Bozzarelli S, Pressiani T, Rimassa L, Tronconi MC, Sclafani F, Carnaghi C, Pedicini V, Giordano L, Santoro A. Usefulness of alpha-fetoprotein response in patients treated with sorafenib for advanced hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2012; 57: 101-107 [PMID: 22414760 DOI: 10.1016/j.jhep.2012.02.016]

4 Memon K, Kulik L, Lewandowski RJ, Wang E, Ryu RK, Riaz A, Nikolaidis P, Miller FH, Yaghmai V, Baker T, Abecassis M, Benson AB, Mulcahy MF, Omary RA, Salem R. Alpha-fetoprotein response correlates with EASL response and survival in solitary hepatocellular carcinoma treated with transarterial therapies: a subgroup analysis. *J Hepatol* 2012; 56: 1112-1120 [PMID: 22245905 DOI: 10.1016/j.jhep.2011.11.020]

5 Cui Z, Yu X, Guo L, Wei Y, Zheng S, Li W, Chen P, Zhu J, Peng J. Combined analysis of serum alpha-fetoprotein and MAGE-A3-specific cytotoxic T lymphocytes in peripheral blood for diagnosis of hepatocellular carcinoma. *Dis Markers* 2013; 35: 915-923 [PMID: 24427779 DOI: 10.1155/2013/907394]

6 Huang YK, Fan XG, Qiu F, Wang ZM. Combined detection of mRNA expression of Alpha-fetoprotein in peripheral blood and telomerase activity of monocytes in hepatocellular carcinoma patients. *Hepatogastroenterology* 2013; 60: 1-5 [PMID: 22773301]

7 周琦, 张琼, 魏来. 血清甲胎蛋白、肿瘤相关物质和癌胚抗原对原发性肝癌的鉴别诊断. 世界华人消化杂志 2010; 18: 1936-1939

8 Gupta V, Bamezai RN. Human pyruvate kinase M2: a multifunctional protein. *Protein Sci* 2010; 19: 2031-2044 [PMID: 20857498 DOI: 10.1002/pro.505]

9 Varghese B, Swaminathan G, Plotnikov A, Tzimas C, Yang N, Rui H, Fuchs SY. Prolactin inhibits activity of pyruvate kinase M2 to stimulate cell proliferation. *Mol Endocrinol* 2010; 24: 2356-2365 [PMID: 20962042 DOI: 10.1210/me.2010-0219]
10 詹成, 时雨, 王群. 丙酮酸激酶M2型应用于肿瘤诊断与治疗的研究进展. 中华肿瘤防治杂志 2013; 20: 1043-1046
11 梁钢, 肖虹, 郑绘霞, 李宁, 武丽娜, 高红变, 赵杨璐, 梁建芳. 粪便肿瘤M2型丙酮酸激酶检测对结直肠癌诊断价值的Meta分析. 中华肿瘤防治杂志 2013; 20: 1607-1611.
12 Kakazu E, Kondo Y, Kogure T, Ninomiya M, Kimura O, Iwata T, Morosawa T, Iwasaki T, Shimosegawa T. Supplementation of branched-chain amino acids maintains the serum albumin level in the course of hepatocellular carcinoma recurrence. *Tohoku J Exp Med* 2013; 230: 191-196 [PMID: 23892757]
13 Saha S, Sengupta J, Banerjee D, Khetan A, Mandal SM. Schizophyllum commune: a new organism in eye infection. *Mycopathologia* 2013; 175: 357-360 [PMID: 23385954 DOI: 10.1007/s11046-013-9625-4]
14 丁华, 何维娜, 陈望, 何玥, 许瑞娜, 杨鸿雅, 李娴. 3种检测方法在丙型肝炎诊断中的临床评价. 国际检验医学杂志 2013; 34: 3387-3388
15 唐九歌, 丁剑冰, 郭劲, 乔艳辉, 袁晓华, 何智, 郭伟鹏. 三联放大技术与荧光定量PCR检测乙型肝炎病毒的应用比较. 中国病原生物学杂志 2010; 5: 16-18
16 郭晓东, 杨美, 皋月娟, 熊璐, 周艳贤, 张红萍. 实时定量PCR检测miRNA-29a在肝癌中的变化. 现代生物医学进展 2013; 13: 1484-1485

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年5月8日; 22(13): 1881-1884
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

饱和盐水浮聚法诊断钩虫病在不明原因消化系出血中的价值

郝卫刚, 王轶佳, 易文全, 高元平

郝卫刚, 王轶佳, 易文全, 高元平, 眉山市人民医院消化内科 四川省眉山市 620010
郝卫刚, 主治医师, 主要从事消化系统疾病的临床研究.
作者贡献分布: 郝卫刚与高元平对此文所作贡献均等; 此课题由郝卫刚与高元平设计; 研究数据分析由郝卫刚、王轶佳、易文全及高元平完成; 本论文写作由郝卫刚与高元平完成.
通讯作者: 高元平, 副主任医师, 620010, 四川省眉山市东坡区文庙街1号, 眉山市人民医院消化内科.
msgaoyuanping2010@163.com
收稿日期: 2014-01-17 修回日期:2014-03-16
接受日期: 2014-03-19 在线出版日期: 2014-05-08

Saturated saline flotation method for diagnosis of hookworm disease: Implications for diagnosis of obscure gastrointestinal bleeding

Wei-Gang Hao, Yi-Jia Wang, Wen-Quan Yi, Yuan-Ping Gao

Wei-Gang Hao, Yi-Jia Wang, Wen-Quan Yi, Yuan-Ping Gao, Department of Gastroenterology, People's Hospital of Meishan City, Meishan 620010, Sichuan Province, China
Correspondence to: Yuan-Ping Gao, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, People's Hospital of Meishan City, 1 Wenmiao Street, Dongpo District, Meishan 620010, Sichuan Province, China. msgaoyuanping2010@163.com
Received: 2014-01-17 Revised: 2014-03-16
Accepted: 2014-03-19 Published online: 2014-05-08

Abstract

AIM: To investigate the value of saturated saline flotation method for diagnosis of hook-worm disease in the diagnosis of obscure gastrointestinal bleeding.

METHODS: Twenty-three patients who were diagnosed with obscure gastrointestinal bleeding and with hookworm disease by repeated endoscopy from January 2010 to December 2013 at the Meishan City People's Hospital were included in the study. Saturated saline flotation method was performed to detect the stool three consecutive times with an interval of more than one day, and the patient's clinical data were collected.

RESULTS: In the first time, 13 (56.5%) patients were found positive for hookworm eggs; 19 (82.6%) patients were positive in the first two times; and a total of 21 (91.3%) patients were positive in the three times.

CONCLUSION: Using saturated saline flotation method to detect parasite eggs especially hookworm eggs has an appreciated value in the diagnosis of obscure gastrointestinal bleeding.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Saturated saline flotation method; Hookworm disease; Obscure gastrointestinal bleeding

Hao WG, Wang YJ, Yi WQ, Gao YP. Saturated saline flotation method for diagnosis of hookworm disease: Implications for diagnosis of obscure gastrointestinal bleeding. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(13): 1881-1884 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1881.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1881

摘要

目的: 探讨饱和盐水浮聚法诊断钩虫病在不明原因消化系出血中的诊断价值.

方法: 选取2010-01/2013-12眉山市人民医院收治的初诊断为不明原因消化系出血, 其后通过反复胃镜检查诊断为钩虫病的患者23例. 连续3次, 间隔1 d以上行饱和盐水浮聚法检测大便, 并收集患者的病例资料.

结果: 初次钩虫卵阳性13例(56.5%); 再次累积阳性19例(82.6%); 3次累积阳性21例(91.3%).

结论: 在钩虫感染流行区采用饱和盐水浮聚法检测寄生虫卵特别是钩虫卵对诊断不明原因消化系出血有一定价值.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 饱和盐水浮聚法; 钩虫病; 不明原因消化系出血

■背景资料
钩虫病是分布极为广泛的寄生虫病之一, 失血性贫血是其最重要的临床特征, 由于钩虫多寄生在空肠上部, 临床表现复杂多样, 且缺乏特征性的表现, 大便常规检查钩虫卵阳性率较低, 故其导致的贫血难以诊断, 是不明原因消化系出血的原因之一.

■同行评议者
段义农, 教授, 南通大学医学院病原生物学系

■研发前沿
在常规检查的基础上, 小肠镜、胶囊内镜、血管造影等是诊断不明原因消化系出血常用的检查方法, 但目前这些检查仪器尚未完全普及, 且检查费用相对较高, 并有一定的适应症和禁忌症, 致使部分此类患者不能得到及时的诊治, 从而延误疾病的治疗. 饱和盐水浮聚法是检查钩虫感染的常用方法, 检出率高于直接涂片法.

核心提示: 钩虫病是分布极为广泛的寄生虫病之一, 其导致的贫血难以诊断, 是不明原因消化系出血的原因之一. 饱和盐水浮聚法反复检测钩虫卵具有较高的阳性率, 可以提高钩虫病的诊断水平, 在有钩虫感染的地区对诊断其所致的不明原因消化系出血有一定价值.

郝卫刚, 王轶佳, 易文全, 高元平. 饱和盐水浮聚法诊断钩虫病在不明原因消化系出血中的价值. 世界华人消化杂志 2014; 22(13): 1881-1884 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1881.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1881

0 引言

不明原因消化系出血是指常规消化内镜检查(包括检查食管至十二指肠降段的上消化道内镜与肛门直肠至回盲瓣的结肠镜)和X线小肠钡剂检查(口服钡剂或钡剂灌肠造影)或小肠CT不能明确病因的持续或反复发作的出血, 占消化系出血的3%-5%, 血管畸形、炎症、肿瘤、寄生虫感染等是可能的原因之一[1]. 回顾分析眉山市人民医院2010-01/2013-12收治的初诊断为不明原因消化系出血, 其后通过反复胃镜检查诊断为钩虫病的23例临床病例. 连续3次, 间隔1 d以上行饱和盐水浮聚法检测大便的结果表明, 在钩虫感染存在的地区采用饱和盐水浮聚法检测寄生虫卵特别是钩虫卵对诊断不明原因消化系出血有一定价值, 具体病例分析如下.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2010-01/2013-12眉山市人民医院收治的初诊断为不明原因消化系出血, 其后通过反复胃镜检查诊断为钩虫病的患者23例. 年龄49-78岁, 平均年龄63.7岁; 其中女性19例(82.6%), 男性4例(17.4%); 病程8 mo-3年, 平均1.2年; 农村居民21例(91.3%), 城镇居民2例(8.7%), 其中20例(87.0%)有田间劳作史, 同时收集相关临床资料.

1.2 方法

1.2.1 检查: 连续3次, 间隔1 d以上行饱和盐水浮聚法检测大便, 在低倍镜下, 钩虫卵呈椭圆形, 壳薄, 无色透明, 大小约为40 μm×60 μm, 卵内细胞多为2-4个, 卵壳与细胞间有明显的间隙; 以检测到钩虫卵为阳性.

1.2.2 治疗及疗效判定: 复查血常规后予阿苯达唑200 mg口服, 1次/d, 连服3 d; 治疗结束1 wk后以同样方法复查钩虫卵情况并行大便隐血检查; 1 mo后复查血常规了解血红蛋白水平.

■相关报道
钩虫病的感染率有不断下降的趋势, 但在经济欠发达地区仍有较高的感染率, 部分地区可达30%以上, 是不明原因消化系出血的原因之一, 目前文献对不明原因消化道出血报道病例中钩虫病所占的比例约为0-15.22%.

2 结果

2.1 临床表现 主要的临床表现, 本组患者中21例(91.3%)以此为主要症状就诊; 其次表现为上腹部不适、隐痛、恶心、呕吐等消化道症状有13例(56.5%); 纳差9例(39.1%); 大便外观无明显异常20例(87.0%), 肉眼黑便3例(13.0%); 体格检查发现贫血貌23例(100.0%); 上腹部压痛7例(30.4%); 下肢水肿3例(13.0%), 全身水肿1例(4.3%).

2.2 辅助检查 血常规示血红蛋白: 35-78 g/L, 平均57.3 g/L, 均为小细胞低色素性贫血, 嗜酸性粒细胞增加3例; 大便隐血阳性21例(91.3%); 血浆白蛋白17例(73.9%)低于正常, 最低至18.7 g/L, 平均27.9 g/L; 有13例(56.5%)患者因初步诊断贫血原因不明而行骨髓检查, 均提示增生性贫血改变; 腹部B超检查, 平均3.1次, X线小肠钡剂检查18人/次, 小肠CT 7人/次, 均未见明显异常; 平均行胃镜检查3.2次, 肠镜1.9次, 由末次胃镜检查于十二指肠发现钩虫吸附于肠壁黏膜, 呈蛇样盘曲或鳝鱼样蠕动, 长约1.0 cm左右, 活体呈半透明, 红色或乳白色, 肠道黏膜表面可见虫蚀状点片状糜烂面, 故而诊断钩虫病;

2.3 饱和盐水浮聚法检测 初次钩虫卵阳性13例(56.5%); 再次累积阳性19例(82.6%); 3次累积阳性21例(91.3%).

2.4 治疗 治疗结束1 wk后用饱和盐水浮聚法检测钩虫卵均转阴, 大便隐血转阴; 1 mo后复查血常规, 血红蛋白较治疗前平均升高18.7 g/L, 嗜酸性粒细胞升高的病例均恢复正常.

3 讨论

不明原因消化系出血是消化内科较常见的一组疾病, 多由各种小肠疾病所致, 在胃肠镜结合腹部影像学检查的基础上, 小肠镜、胶囊内镜、血管造影等是常用的检查方法[2], 但目前这些检查仪器尚未完全普及, 且检查费用相对较高, 并有一定的适应症和禁忌症, 致使部分此类患者不能得到及时的诊治, 从而延误疾病的治疗. 一般认为血管畸形、炎症、肿瘤是较常见的原因, 寄生虫特别是钩虫感染在部分人群亦可能是重要的原因, 钩虫病是分布极为广泛的寄生虫病之一, 在我国流行地区甚广, 尤以华南、华中、四川及海南省等地较多, 其他各省也很普

遍. 据统计, 2005年钩虫总感染率为6.12%[3], 尽管随着社会生活水平的不断提高, 钩虫病的感染率有不断下降的趋势, 但在经济欠发达地区仍有较高的感染率, 部分地区可达30%以上[4], 而失血性贫血是钩虫病最重要的临床特征, 且由于钩虫多寄生在空肠上部, 故其导致的贫血常规检查难以诊断[5-7], 目前文献对不明原因消化系出血报道病例中钩虫病所占的比例约为0-15.22%[8-10]. 钩虫病的诊断主要依靠临床症状和粪便检查, 但由于钩虫病的临床表现复杂多样, 且缺乏特征性的表现; 故一直以来从粪便中检查钩虫卵是诊断钩虫病最常用的检验方法, 一般用生理盐水涂片法, 根据虫卵大小、色泽、形态, 卵壳的厚薄、内部结构特点, 认真观察予以鉴别, 通常在低倍镜下钩虫卵呈椭圆形, 壳薄, 无色透明, 大小约为40 μm×60 μm, 卵内细胞多为2-4个, 卵壳与细胞间有明显的间隙, 据此特点可对钩虫病做出诊断. 这种方法虽简便易行, 但由于每次涂片的标本量少, 仅约数10 mg, 容易漏检; 加之近距离检查粪便, 粪臭常令检验操作者不愿主动承担此项工作, 即使显微镜检查, 也是随机抽看几个视野, 不能将整张涂片全部仔细观察一遍. 因此, 造成大便常规检查钩虫卵阳性率较低, 漏诊的情况并不少见.

近年来, 随着消化内镜特别是胃肠镜的广泛应用及其操作方法的改进, 钩虫病胃肠镜的检出率逐年增加[11,12]. 此外, 随着胶囊内镜和小肠镜的推广, 小肠钩虫病的检出率亦有逐步上升的趋势[13,14]. 但由于成虫多寄生在空肠上部, 少部分在十二指肠和回肠的上中部也可见到, 故通过常规胃肠镜诊断钩虫感染具有一定的偶然性, 阳性率亦较低, 为了排除钩虫感染, 粪便检查虫卵仍然是最可靠的方法. 在临床检验工作中, 常常只进行最简单的直接涂片检查. 为了提高检出率, 需要采用虫卵浓集的方法. 如饱和盐水浮聚法、水洗沉淀集卵法[15]. 这些检查方法具有所需设备技术简单, 价格便宜, 容易被患者接受等特点. 对来自钩虫病流行区的不明原因消化道出血患者, 首先选用饱和盐水浮聚法等粪便检查方法. 在排除钩虫感染的可能后, 再考虑进行小肠镜、胶囊内镜、血管造影等检查. 特别在尚未开展内镜检查的地区, 常规进行粪便检查钩虫卵.

在本组病例中, 患者年龄较大, 与近年来钩虫病感染的年龄分布规律一致[4], 考虑与目前农村外出务工人逐年增多. 农村老龄人替代青壮年成为从事农田劳作的主要人群, 经常下地、重复感染有关; 病程较长, 以女性患者、隐性出血为主, 无明显消瘦及肠道梗阻征象, 均有多次常规胃肠镜检查的阴性结果, 最初临床诊断为不明原因消化系出血, 其后通过胃镜检查诊断为钩虫病, 随即连续3次, 间隔1 d以上行饱和盐水浮聚法检测大便, 总阳性率为91.3%, 说明在有钩虫感染的地区采用饱和盐水浮聚法检测寄生虫卵特别是钩虫卵对诊断不明原因消化道出血有一定价值.

■创新盘点

本组病例选取初诊断为不明原因消化系出血, 其后通过反复胃镜检查诊断为钩虫病的患者, 连续3次, 间隔1 d以上行饱和盐水浮聚法检测大便, 钩虫卵总阳性率为91.3%. 在一定程度上说明饱和盐水浮聚法对诊断钩虫病所致的不明原因消化道出血有一定价值.

4 参考文献

1 中华消化杂志编辑委员会. 不明原因消化道出血诊治推荐流程. 中华消化杂志 2012; 32: 361-362

2 Bresci G. Occult and obscure gastrointestinal bleeding: Causes and diagnostic approach in 2009. *World J Gastrointest Endosc* 2009; 1: 3-6 [PMID: 21160643 DOI: 10.4253/wjge.v1.i1.3]

3 全国人体重要寄生虫病现状调查办公室. 全国人体重要寄生虫病现状调查报告. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志 2005; 23: 332-340

4 臧炜, 张雪强, 陈颖丹. 2006-2010年全国土源性线虫病监测分析. 国际医学寄生虫病杂志 2013; 40: 144-148

5 Iborra MA, Carrilero B, Segovia M. [Ancylostomiasis: a potential cause of iron deficiency anemia in patients from endemic areas]. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2009; 27: 427 [PMID: 19625111 DOI: 10.1016/j.eimc.2008.06.012]

6 Chen JM, Zhang XM, Wang LJ, Chen Y, Du Q, Cai JT. Overt gastrointestinal bleeding because of hookworm infection. *Asian Pac J Trop Med* 2012; 5: 331-332 [PMID: 22449530 DOI: 10.1016/S1995-7645(12)60051-0]

7 Barakat M, Ibrahim N, Nasr A. In vivo endoscopic imaging of ancylostomiasis-induced gastrointestinal bleeding: clinical and biological profiles. *Am J Trop Med Hyg* 2012; 87: 701-705 [PMID: 22869629 DOI: 10.4269/ajtmh.2012.12-0018]

8 钟晓琳, 万居易, 邓明明, 杨春. 胶囊内镜在不明原因消化道出血中的诊断价值. 中华消化内镜杂志 2013; 30: 109-111

9 Ghoshal UC, Lakshmi CP, Kumar S, Das K, Misra A, Rai P, Mohindra S, Saraswat VA, Kumar A, Choudhuri G. Capsule endoscopy for obscure gastrointestinal bleeding in the tropics: report from India. *Dig Endosc* 2011; 23: 17-23 [PMID: 21198912 DOI: 10.1111/j.1443-1661.2010.01035]

10 杨文伟, 陈春晓. 胶囊内镜诊断钩虫病45例分析. 中华临床感染病杂志 2012; 5: 93-94

11 邓大才. 电子胃镜诊断十二指肠钩虫病30例分析. 临床消化病杂志 2009; 6: 372-373

12 张鸣青, 王爱民, 张荔群, 杨青平. 结肠镜检查确诊盲肠钩虫病10例. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志 2005; 3: 158-158

13 Kalli T, Karamanolis G, Triantafyllou K. Hookworm infection detected by capsule endoscopy in a young man with iron deficiency. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2011; 9: e33 [PMID: 21070870 DOI: 10.1016/j.cgh.2010.10.026]

■同行评价
本文对临床上不明原因消化系出血的诊断具有一定指导意义.

14 王璞, 李荣智, 黄志寅, 唐承薇. 胶囊内镜诊断小肠钩虫感染55例报告. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志 2013; 31: 140-142

15 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 钩虫病的诊断(WS 439-2013). 国际流行病学传染病学杂志 2013; 40: 362-365

编辑 田滢 电编 鲁亚静

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊

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

世界华人消化杂志 2014年5月8日; 22(13): 1885-1889
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

粪便乳铁蛋白在大肠癌筛查诊断中的临床意义

李 刚, 杨丽莉, 李 虎

李刚, 杨丽莉, 李虎, 河北省邯郸市第四医院内六科 河北省邯郸市 056200
李刚, 主治医师, 主要从事胃肠病的基础和临床研究.
作者贡献分布: 此课题由李刚、杨丽莉及李虎共同设计; 研究过程由李刚、杨丽莉及李虎操作完成; 研究所用试剂及实验工具由李虎提供; 数据分析由李刚与杨丽莉完成; 本论文写作由李刚与杨丽莉完成.
通讯作者: 李刚, 主治医师, 056200, 河北省邯郸市峰峰矿区通安路5号, 河北省邯郸市第四医院内六科. gghbmyyjs@163.com
电话: 0310-5187795
收稿日期: 2014-02-28 修回日期: 2014-03-15
接受日期: 2014-03-28 在线出版日期: 2014-05-08

Clinical significance of fecal lactoferrin in screening of colorectal carcinoma

Gang Li, Li-Li Yang, Hu Li

Gang Li, Li-Li Yang, Hu Li, the Fourth Hospital of Handan, Handan 056200, Hebei Province, China
Correspondence to: Gang Li, Attending Physician, the Fourth Hospital of Handan, 5 Tongan Road, Handan 056200, Hebei Province, China. gghbmyyjs@163.com
Received: 2014-02-28 Revised: 2014-03-15
Accepted: 2014-03-28 Published online: 2014-05-08

Abstract

AIM: To investigate the clinical significance of fecal lactoferrin in the screening of colorectal carcinoma (CRC).

METHODS: Thirty-five healthy people as controls, 63 patients with CRC, 59 patients with intestinal polyps, and 50 patients with functional gastroenteropathy were recruited. All of the patients were asked to collect 5-10 g fecal sample during three days after colonoscopy. Enzyme-linked immunosorbent assay was used to determine fecal lactoferrin level.

RESULTS: The median fecal lactoferrin levels in CRC patients, healthy people, patients with intestinal polyps and those with functional gastroenteropathy were 59.30, 2.94, 17.63 and 3.22 μg/g, respectively; there was no significant difference in fecal lactoferrin levels between patients with functional gastroenteropathy and healthy people ($P > 0.05$), but statistical significances were observed between patients with functional gastroenteropathy and those with CRC or intestinal polyps ($P < 0.01$), between healthy people and patients with CRC or intestinal polyps ($P < 0.01$), and between patients with CRC and those with intestinal polyps ($P < 0.01$). The sensitivity, specificity, accuracy, Youden index, positive likelihood ratio and negative likelihood ratio of fecal lactoferrin for screening of CRC were 88.9%, 85.7%, 87.8%, 0.75, 6.22 and 0.13, respectively.

CONCLUSION: Fecal lactoferrin detection is a simple, non-invasive method for screening CRC, with a high sensitivity and specificity.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Lactoferrin; Enzyme-linked immunosorbent assay; Colorectal carcinoma

Li G, Yang LL, Li H. Clinical significance of fecal lactoferrin in screening of colorectal carcinoma. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(13): 1885-1889 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1885.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1885

摘要

目的: 探讨粪便乳铁蛋白(lactoferrin, LF)在大肠癌(colorectal carcinoma, CRC)筛查诊断中的临床意义.

方法: 选择大肠癌患者63例, 健康对照组35例结直肠息肉59例, 功能性胃肠病50例; 留取肠镜检查3 d内的粪便样本5-10 g, 应用酶联免疫吸附测定(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)方法进行粪便乳铁蛋白检测.

结果: 大肠癌组粪便乳铁蛋白水平中位数为59.30 μg/g, 健康对照组为2.94 μg/g, 结直肠息肉组为17.63 μg/g, 功能性胃肠病组为3.22 μg/g; 功能性胃肠病组和对照组之间比较, 差异无统计学意义($P>0.05$); 功能性胃肠病组和对照组分别与大肠癌组、结直肠息肉组比较, 差异均有统计学意义($P<0.01$); 大肠癌组与结直肠息肉组比较, 差异有统计学意义($P<0.01$).

■背景资料
大肠癌早期由于缺乏特异性症状, 多在中、晚期才被发现, 故其严重危害人体健康. 目前常用的肿瘤筛查指标敏感度及特异度较低, 而肠镜检查的依从性又不高. 因此临床迫切需要一种较理想的大肠癌筛查诊断指标.

■同行评议者
白雪, 副主任医师, 中国人民解放军北京军区总医院普通外科

■研发前沿
虽然大多数关于粪便生物标志物乳铁蛋白的研究重点是针对炎症性肠病, 但国外有研究显示他也可用于胃、肠道肿瘤的早期临床筛查, 被认为有很好的临床应用前景.

粪便乳铁蛋白筛查诊断大肠癌的敏感度为88.9%、特异度为85.7%、准确度为87.8%、约登指数为0.75、阳性似然比为6.22及阴性似然比为0.13, 明显优于临床其他检测指标.

结论: 粪便乳铁蛋白可做为一种大肠癌的筛查诊断指标, 其检测方法简单、无创伤性、敏感度及特异度较高, 有临床应用价值.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 乳铁蛋白; 酶联免疫吸附测定; 结直肠肿瘤

核心提示: 粪便生物标志物乳铁蛋白(lactoferrin)在大肠癌患者粪便中是明显升高的, 显著高于健康对照组; 其检测方法简单、无创伤性、依从性好、敏感度及特异度较高, 做为大肠癌的临床筛查诊断指标较为理想, 有一定的临床应用价值.

李刚, 杨丽莉, 李虎. 粪便乳铁蛋白在大肠癌筛查诊断中的临床意义. 世界华人消化杂志 2014; 22(13): 1885-1889 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1885.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1885

0 引言

大肠癌(包括结肠癌和直肠癌)是临床常见的消化系恶性肿瘤. 有统计资料表明, 我国大肠癌的发病率和死亡率位居恶性肿瘤的第3、4位. 目前大肠癌的临床确诊方法主要是依靠肠镜检查及肠黏膜活检, 但由于大肠癌的早期往往缺乏特异性症状, 又多在中、晚期才能够被发现, 故其治疗效果较差, 严重危害人体健康, 因此对于大肠癌的早期筛查诊断就显得尤为重要. 如今临床用于大肠癌的筛查诊断方法主要是便潜血试验(fecal occult blood test, FOBT)、血沉(erythrocyte sedimentation rate, ESR)、血清癌胚抗原(carcinoembryonic antigen, CEA)、肠癌相关抗原(colorectal carcinoma antigen, CCA)及肠镜检查等[1]. 上述临床检验指标易受机体及外界多种因素的干扰, 检验结果不稳定, 有时需多次复查, 且出现假阳性及假阴性的概率很大, 故其敏感度、特异度较低, 临床应用价值有限. 而肠镜检查属于有创操作, 要求技术高, 禁忌症较多, 有一定的风险, 故患者一般不愿首先接受, 尤其是对于那些没有临床症状而仅仅是接受大肠癌早期筛查的人群来说其依从性就更差. 近年来国外有研究显示, 人体肠道分泌的蛋白做为粪便生物标志物已经开始应用于肠道炎症的检测[2,3], 虽然大多数关于粪便生物标记物的研究重点是针对炎症性肠病, 但他们也可用于胃、肠道肿瘤的早期临床筛查[4]. 本研究通过检测入选者的粪便乳铁蛋白水平, 并与临床检验指标FOBT、ESR、CEA及CCA比较, 目的在于评价其在大肠癌筛查诊断中的临床意义.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2012-01/2013-10于我院住院及门诊就诊的患者207例. 其中大肠癌患者63例, 男33例, 女30例, 平均年龄49岁(41-70岁); 健康对照组35例, 男18例, 女17例, 平均年龄38岁(23-64岁); 结直肠息肉59例, 男36例, 女23例, 平均年龄44岁(19-69岁); 功能性胃肠病50例, 男23例, 女27例, 平均年龄40岁(32-58岁). 要求所有入选者近期未服用过特殊药物. 留取入选者肠镜检查3 d内的粪便, 约1 h送达医院化验室, 待密封后冷冻保存. 于肠镜检查当日入选者行ESR、CEA、CCA化验及FOBT. 人乳铁蛋白ELISA试剂盒由Netherlands HBT公司提供, 酶标仪为USA Bio-Tek ELX800型. 粪便萃取液严格按照试剂盒说明书来进行配置.

1.2 方法 将人粪便标本解冻后, 用取样环取约100 mg, 放入试管中一并称其质量, 计算出粪便的净含量, 按照质量/容积(kg/L) = 1∶100的比例加入萃取液, 旋转并充分过滤样本以除去其中较粗糙的颗粒(>0.6 mm), 充分摇晃滤液20 min, 最后混匀后取1 mL离心(10000 *g*, 20 min), 取上清夜0.5-1.0 mL留存备用, 也可冷冻保存. 严格按照ELISA试剂盒说明书来进行程序操作. 将提取液在室温解冻后, 首先以1∶10的比例稀释, 标准品包括8个质量浓度(100、50、25、12.5、6.25、3.13、1.56、 0 μg/L), 最高浓度标准液的光密度值为2.37, 以1∶10比例稀释的标本若超出标准曲线范围而没有被测出, 则需进一步扩大稀释比例直至测出为止, 将酶标仪设置在450 nm.

统计学处理 应用SPSS13.0统计软件进行分析. 所有数据用mean±SD、中位数及全距来表示, 组间比较采用非参数检验Mann-Whitney *U* 检验或方差分析. $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 各组粪便乳铁蛋白水平的比较 功能性胃肠病组和健康对照组之间比较, 差异无统计学意义($P>0.05$); 功能性胃肠病组和健康对照组分别与大肠癌组、结直肠息肉组比较, 差异均有统

表 1 各组粪便乳铁蛋白水平的比较(μg/g)

分组	*n*	中位数	范围
健康对照	35	2.94	(0.09, 7.42)
功能性胃肠病	50	3.22	(0.32, 8.05)
结直肠息肉	59	17.63[bd]	(5.72, 39.33)
大肠癌	63	59.30[bdf]	(6.90, 106.45)

[b]*P*<0.01 *vs* 健康对照; [d]*P*<0.01 *vs* 功能性胃肠病; [f]*P*<0.01 *vs* 结直肠息肉.

计学意义(*P*<0.01); 大肠癌组与结直肠息肉组比较, 差异有统计学意义(*P*<0.01)(表1).

2.2 粪便乳铁蛋白、FOBT、ESR、CEA及CCA筛查诊断大肠癌的性能指标比较 粪便乳铁蛋白的临床参考界定值, 按照试剂盒说明书给予的推荐值, 认定为7.30 μg/g; ESR的正常参考值为男0-15 mm/h、女0-20 mm/h; CEA的正常参考值为<5 μg/L; FOBT和CCA结果阳性设定为阳性临界值. 分别计算上述各项的敏感度、特异度、约登指数、准确度、阳性似然比及阴性似然比. 结果显示: 粪便乳铁蛋白的敏感度为88.9%、特异度为85.7%、约登指数为0.75、准确度为87.8%、阳性似然比为6.22及阴性似然比为0.13, 明显优于其他检验指标. 而FOBT的各项性能指标低于粪便乳铁蛋白, ESR的各项性能指标为最低(表2).

3 讨论

乳铁蛋白被认为是一种存在于中性粒细胞颗粒中具有杀菌活性的单体糖蛋白, 其生物学活性和功能较为广泛. 他最初由Sorensen于1939年在动物乳中发现, 并由Groves首先从牛乳中分离获得, 因与铁结合形成的复合物呈红色, 故又称之为“红蛋白”. 有研究学者[5]将从人乳中分离获得的此种蛋白正式命名为乳铁蛋白. 当机体的肠道黏膜发生炎性病变时, 中性粒细胞浸润增加, 从而使粪便乳铁蛋白水平升高, 由于其在外界具有较高的稳定性, 故可作为一种炎性标志物. 大肠癌病变组织周围一般都有较多的炎性细胞浸润, 故可引起较高浓度的乳铁蛋白表达, 而该蛋白又能从肠道炎症部位跟随炎性细胞持续不断地漏至肠腔内, 因此他在大肠癌患者的粪便中可被轻易地检测到[6]. 目前国外有研究表明, 大肠癌患者粪便中的乳铁蛋白水平是明显升高的, 其还能作为一种较理想的粪便肿瘤标志物[7].

当前粪便生物标志物越来越受到国内外诸多学者的关注, 被认为具有较高的临床应用价值, 而国内有关粪便乳铁蛋白的研究尚不太多. 本研究结果显示, 粪便乳铁蛋白水平在功能性胃肠病组和对照组之间比较, 差异无统计学意义; 功能性胃肠病组和对照组分别与大肠癌组、结直肠息肉组比较, 差异均有统计学意义; 大肠癌组与结直肠息肉组比较, 差异有统计学意义, 因此我们认为大肠癌组粪便中的乳铁蛋白水平是明显高于其他组的, 这与国外研究结果基本相同[8]. 此外, 粪便乳铁蛋白筛查诊断大肠癌的敏感度88.9%、特异度85.7%、约登指数0.75、准确度87.8%、阳性似然比6.22是最高的, 而阴性似然比0.13为最低, 明显优于其他肿瘤筛查指标. 虽然粪便乳铁蛋白检测并不复杂, 但有几点值得注意: 仔细阅读试剂盒说明书, 严格遵守ELISA操作流程; 采集粪便标本时必须考虑到实验对标本收集及保存的特殊要求; 粪便预处理最关键, 其萃取液配置和加入比例要准确, 因其直接影响蛋白提取液质量; 避免内源性及外源性因素干扰如室温、仪器精准度及操作手法等. 目前常用的肿瘤筛查指标之所以敏感度、特异度及准确度不能令人满意, 分析其原因主要认为, 易受到机体病变组织及外界环境等诸多因素的影响, 假阳性率及假阴性率较高. 肠道肿瘤病变组织的出血情况有很大的不确定性, 一般很少表现为持续出血, 尤其是癌肿早期, 很可能由于没有肠道出血而引起FOBT阴性, 而只有当病情进展恶化、肿瘤组织出血量增多时, FOBT的阳性率才会增高, 这就使得FOBT在大肠癌早期筛查诊断中的价值有所降低, 很容易造成漏诊[9,10]. CEA和CCA是目前临床较为常用的而被普遍认可的肿瘤标志物, 但他们并非结、直肠癌所特有, 临床上有很多种疾病均可引起其不同程度的升高, 故其筛查诊断大肠癌的作用有限, 不过有研究认为多次检查后观察其动态变化, 对大肠癌的预后估计及监测术后复发有一定的临床意义[11,12]. ESR是一种非特异性的指标, 在许多生理、病理情况下均可出现增快, 其中就包括恶性肿瘤病变, 他是多种因素互相作用的结果[13], 本研究表明其对大肠癌的筛查诊断价值最小. 我们还发现粪便乳铁蛋白在大肠癌组中的敏感度、特异度与机体肿瘤组织的生长部位、大小及其病理分型、分期均没有

■相关报道
国外有研究表明, 大肠癌患者粪便中的乳铁蛋白水平是明显升高的, 并且肿瘤的生长部位、大小及病理分型、分期对其表达影响很小, 认为是一种较理想的粪便肿瘤标志物.

■创新盘点

本研究通过检测入选者的粪便乳铁蛋白水平，并与临床检验指标便潜血试验、血沉、血清癌胚抗原及肠癌相关抗原进行比较，充分评价了其在大肠癌筛查诊断中的临床意义.

表 2 粪便乳铁蛋白、FOBT、ESR、CEA及CCA筛查诊断大肠癌的性能指标比较

筛查指标	敏感度(%)	特异度(%)	约登指数	准确度(%)	阳性似然比	阴性似然比
粪便乳铁蛋白	88.9	85.7	0.75	87.8	6.22	0.13
FOBT	80.9	77.1	0.58	79.5	3.53	0.25
ESR	49.2	68.5	0.18	56.1	1.56	0.74
CEA	54.0	82.9	0.37	64.3	3.16	0.55
CCA	55.6	74.3	0.30	62.2	2.17	0.60

FOBT: 便潜血试验; ESR: 血沉; CEA: 血清癌胚抗原; CCA: 肠癌相关抗原.

明显关联，不受上述情况的影响，这正是当前常用的肿瘤筛查指标所无法比拟的，由此我们推断，粪便乳铁蛋白作为肿瘤标志物在大肠癌筛查诊断中的价值很大. 当怀疑肠道有病变时，粪便检查无疑是首选，而在大肠癌的高危人群筛查当中，一旦发现粪便乳铁蛋白水平异常升高，则提示患者需进一步行肠镜检查，以求早期确诊. 当然，粪便乳铁蛋白是一种炎性标志物，在肠道发生急、慢性炎性病变时也是明显升高的，这在很多研究中可以得到证实[14,15]，这也是其在筛查大肠癌时容易出现误差而引起假阳性的最主要原因. 患者由于粪便乳铁蛋白水平升高而进行了肠镜检查，可能有部分患者仅被诊断为炎性或良性病变而非恶性病变，但这对患者来说也具有临床诊治意义. 为了降低临床误诊及漏诊率，我们建议必要时可采取个体化的筛查手段，也就是应用包括粪便乳铁蛋白在内的多个肿瘤标志物联合进行大肠癌的筛查诊断，虽然各个标志物之间没有明显关联性，但他 们却存在很大的互补性，故可最大程度地提高敏感度及特异度[16].

随着近年来国内生活水平的不断提高及人们饮食习惯的改变，大肠癌的发病率逐年升高，且与年龄、性别、家族史及不同地域等因素有关. 临床上如何做到早期筛查诊断并使患者得到及时治疗就显得尤为重要. 目前常用的大肠癌筛查指标普遍敏感度、特异度较低，很容易出现漏诊及误诊，已经不能满足临床的需求. 而诊断价值较高的内镜检查，由于其具有创伤性，风险大，费用较高等诸多不利因素，患者一般不愿将其作为首选检查，故临床目前迫切需要一种较为理想的大肠癌筛查诊断指标. 通过本研究可看出，粪便乳铁蛋白应该是一个较好的选择，由于其检测方法简单，成本较低，没有创伤性，重复检测的依从性很好，敏感度及特异度较高，故完全可应用在大肠癌的筛查诊断当中，同时也可利用其来对大肠癌的高危人群进行临床跟踪和随访.

4 参考文献

1 张会涛，刘晓珺，沈滨，杜雅菊. 大肠癌外周血肿瘤标志物的研究进展. 世界华人消化杂志 2011; 19: 991-995

2 Sipponen T. Diagnostics and prognostics of inflammatory bowel disease with fecal neutrophil-derived biomarkers calprotectin and lactoferrin. *Dig Dis* 2013; 31: 336-344 [PMID: 24246984 DOI: 10.1159/000354689]

3 Langhorst J, Boone J. Fecal lactoferrin as a non-invasive biomarker in inflammatory bowel diseases. *Drugs Today* (Barc) 2012; 48: 149-161 [PMID: 22384454 DOI: 10.1358/dot.2012.48.2.1732555]

4 Hirata I, Hoshimoto M, Saito O, Kayazawa M, Nishikawa T, Murano M, Toshina K, Wang FY, Matsuse R. Usefulness of fecal lactoferrin and hemoglobin in diagnosis of colorectal diseases. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 1569-1574 [PMID: 17461450]

5 Rousseau E, Michel PP, Hirsch EC. The iron-binding protein lactoferrin protects vulnerable dopamine neurons from degeneration by preserving mitochondrial calcium homeostasis. *Mol Pharmacol* 2013; 84: 888-898 [PMID: 24077968 DOI: 10.1124/mol.113.087965]

6 Ayling RM. New faecal tests in gastroenterology. *Ann Clin Biochem* 2012; 49: 44-54 [PMID: 22113956 DOI: 10.1258/acb.2011.011150]

7 Hirata I. [Topics of colorectal-cancer screening and surveillance]. *Nihon Shokakibyo Gakkai Zasshi* 2007; 104: 987-993 [PMID: 17611374]

8 Sherwood RA. Faecal markers of gastrointestinal inflammation. *J Clin Pathol* 2012; 65: 981-985 [PMID: 22813730 DOI: 10.1136/jclinpath-2012-200901]

9 Steele RJ, McClements P, Watling C, Libby G, Weller D, Brewster DH, Black R, Carey FA, Fraser CG. Interval cancers in a FOBT-based colorectal cancer population screening programme: implications for stage, gender and tumour site. *Gut* 2012; 61: 576-581 [PMID: 21930729 DOI: 10.1136/gutjnl-2011-300535]

10 Chauvin P, Josselin JM, Heresbach D. Incremental net benefit and acceptability of alternative health policies: a case study of mass screening for colorectal cancer. *Eur J Health Econ* 2012; 13: 237-250 [PMID: 21305335 DOI: 10.1007/s10198-011-0300-8]

11 Laubert T, Bente V, Freitag-Wolf S, Voulgaris H, Oberländer M, Schillo K, Kleemann M, Bürk C, Bruch HP, Roblick UJ, Habermann JK. Aneuploidy

and elevated CEA indicate an increased risk for metachronous metastasis in colorectal cancer. *Int J Colorectal Dis* 2013; 28: 767-775 [PMID: 23296402 DOI: 10.1007/s00384-012-1625-1]

12 Selcukbiricik F, Bilici A, Tural D, Erdamar S, Soyluk O, Buyukunal E, Demirelli F, Serdengecti S. Are high initial CEA and CA 19-9 levels associated with the presence of K-ras mutation in patients with metastatic colorectal cancer? *Tumour Biol* 2013; 34: 2233-2239 [PMID: 23625655 DOI: 10.1007/s13277-013-0763-6]

13 Keramidaris D, Koronakis N, Lagoudianakis EE, Pappas A, Koukoutsis I, Chrysikos I, Karavitis G, Toutouzas K, Manouras A. Procalcitonin in patients with colorectal cancer. *J BUON* 2013; 18: 623-628 [PMID: 24065474]

14 Abraham BP, Kane S. Fecal markers: calprotectin and lactoferrin. *Gastroenterol Clin North Am* 2012; 41: 483-495 [PMID: 22500530 DOI: 10.1016/j.gtc.2012.01.007]

15 Sidhu R, Wilson P, Wright A, Yau CW, D'Cruz FA, Foye L, Morley S, Lobo AJ, McAlindon ME, Sanders DS. Faecal lactoferrin--a novel test to differentiate between the irritable and inflamed bowel? *Aliment Pharmacol Ther* 2010; 31: 1365-1370 [PMID: 20331581 DOI: 10.1111/j.1365-2036]

16 珠珠, 黄鉴, 李文亮, 洪敏, 殷亮, 杨军, 陈明清, 董坚. 血清CEA、CA199、CA125、CA242联合检测在大肠癌诊断中的意义. 世界华人消化杂志 2013; 21: 2601-2605

编辑 田滢 电编 鲁亚静

■同行评价

该文设计合理, 结论可靠, 能够紧密联系临床, 具有较好的学术价值.

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com
世界华人消化杂志 2014年5月8日; 22(13): 1890-1896
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

不同中医治则对结直肠癌术后复发转移的影响

侯风刚, 石 齐, 王伟炳, 陈 旻, 余青青, 任建琳, 李 文, 殷佩浩, 李 琦, 花宝金

■背景资料
结直肠癌是全球最常见的恶性肿瘤之一, 术后的高复发转移率是当前治疗一个瓶颈. 传统中医药在预防结直肠癌术后复发转移上有较好疗效, 其作用越来越受到关注.

侯风刚, 石齐, 陈旻, 余青青, 任建琳, 李文, 上海中医药大学附属市中医医院肿瘤科 上海市 200071
王伟炳, 复旦大学医学院公共卫生学院流行病学教研室 上海市 310000
殷佩浩, 上海中医药大学附属普陀医院肿瘤科 上海市 200062
李琦, 上海中医药大学附属曙光医院肿瘤科 上海市 200021
花宝金, 中国中医科学院广安门医院肿瘤科 北京市 100053
侯风刚, 博士, 副主任医师, 硕士研究生导师, 主要从事胃肠道肿瘤的中医药防治研究.
上海市卫生局科研基金资助项目, No. 20134117
上海市卫生局重点项目基金资助项目, No. 20124024
作者贡献分布: 方案设计由花宝金、侯风刚及王伟炳完成; 资料收集、随访由侯风刚、石齐、陈旻、余青青、任建琳、李文、殷佩浩及李琦共同完成; 统计分析由王伟炳与侯风刚完成; 文章撰写由侯风刚完成; 数据审核由石齐与李文完成; 文章修改由花宝金完成.
通讯作者: 花宝金, 教授, 主任医师, 医学博士, 博士后, 博士研究生导师, 100053, 北京市西城区北线阁5号, 中国中医科学院广安门医院肿瘤科. fghou555@hotmail.com
电话: 010-85976699
收稿日期: 2013-12-26 修回日期: 2014-03-23
接受日期: 2014-04-03 在线出版日期: 2014-05-08

Effects of different Chinese medicine treatments on postoperative relapse and metastasis of colorectal cancer: A non-interventional clinical study

Feng-Gang Hou, Qi Shi, Wei-Bing Wang, Min Chen, Qing-Qing Yu, Jian-Lin Ren, Wen Li, Pei-Hao Yin, Qi Li, Bao-Jin Hua

Feng-Gang Hou, Qi Shi, Min Chen, Qing-Qing Yu, Jian-Lin Ren, Wen Li, Oncology Department of Municipal Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200071, China
Wei-Bing Wang, Department of Epidemiology, Public Health School of Fudan University, Shanghai 310000, China
Pei-Hao Yin, Oncology Department of Putuo Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200062, China
Qi Li, Oncology Department of Shuguang Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200021, China
Bao-Jin Hua, Oncology Department of Guanganmen Hospital, China Academy of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100053, China
Supported by: Foundation of Shanghai Municipal Health Bureau, No. 20134117; and Key Foundation of Shanghai Municipal Health Bureau, No. 20124024
Correspondence to: Bao-Jin Hua, Professor, Chief Physician, Oncology Department of Guanganmen Hospital, China Academy of Traditional Chinese Medicine, 5 North Line Court, Xicheng District, Beijing 100053, China. fghou555@hotmail.com
Received: 2013-12-26 Revised: 2014-03-23
Accepted: 2014-04-03 Published online: 2014-05-08

Abstract

AIM: To analyze the effects of three different Chinese medicine treatments, Fuzheng, Quxie and Fuzhengquxie, on postoperative relapse and metastasis of colorectal cancer (CRC).

METHODS: The data were collected on the basis of non-interventional clinical research. Life-table, Wilcoxon (Gehan) test and Cox proportional hazard model (multivariate analysis) were used to reveal the effect of Chinese medicine treatments on relapse and metastasis of postoperative CRC.

RESULTS: The results of life-table analysis and Wilcoxon (Gehan) test showed that there were significant correlations between DFS and TNM stage (P = 0.000), age (P = 0.045), histopathologic differentiation (P = 0.000), radiotherapy (P = 0.000) and Chinese medicine treatment (P = 0.001). The differences between Fuzheng *vs* control, Quxie *vs* control and Fuzhengquxie *vs* control were all statistically significant (P = 0.000, 0.005, 0.019, respectively). Cox multivariate analysis showed that TNM stage, age, histopathologic differentiation, radiotherapy and Chinese medicine treatment were all independent influencing factors, among which Chinese medicine treatment was a protective one. Pairwise comparisons of Fuzheng, Quxie and Fuzhengquxie revealed that there were no statistical differences (P > 0.05 for all) in the 3- and 5-year accumulative survival rates (YDFSR), however, the 10-YDFSR and median DFS were longer in the Quxie group than in the other two groups (47.00% *vs* 33.00%, 32.00%; 91.28 mo *vs* 44.84 mo, 52.45 mo; P < 0.05 for all).

CONCLUSION: The Chinese medicine treatments directed by therapeutic guidance of Fuzheng, Quxie and Fuzhengquxie can all inhibit postoperative relapse and metastasis of CRC. In the prevention of postoperative relapse and me-

■同行评议者
徐列明, 教授, 上海中医药大学附属曙光医院(东部)肝二科; 魏睦新, 教授, 南京医科大学第一附属医院

tastasis of CRC with Chinese medicine therapy, we do not have to limit to any of the three Chinese medicine treatments, but should focus on treatment based on syndrome differentiation. After patients achieve 5-year DFS, the appropriate application of Fuzheng therapy on the basis of syndrome differentiation and treatment may contribute to better long-term DFS.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Colorectal cancer; Postoperative relapse and metastasis; Fuzheng treatment; Quxie treatment; Fuzhengquxie treatment

Hou FG, Shi Q, Wang WB, Chen M, Yu QQ, Ren JL, Li W, Yin PH, Li Q, Hua BJ. Effects of different Chinese medicine treatments on postoperative relapse and metastasis of colorectal cancer: A non-interventional clinical study. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(13): 1890-1896 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1890.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1890

摘要

目的: 评价并比较扶正、祛邪、扶正祛邪治则(通过这3种治则指导的中医治疗来反映, 即扶正治疗、祛邪治疗、扶正祛邪治疗)对结直肠癌术后复发转移的影响.

方法: 基于采用非干预性临床研究的方法收集数据; 采用寿命表法、Wilcoxon(Gehan)检验、Cox比例风险模型等统计学方法分析并比较扶正、祛邪、扶正祛邪三种不同中医治疗对结直肠癌术后复发转移的影响.

结果: 寿命表法和Wilcoxon(Gehan)检验的结果显示, TNM分期(P = 0.000)、年龄(P = 0.045)、组织分化程度(P = 0.000)、放疗(P = 0.000)、中药治疗(P = 0.001)在累积无病生存率上的差异有统计学意义. 不同中药治疗按扶正、祛邪、扶正祛邪区别并分别与对照组比较, 差异均有统计学意义(P = 0.000, P = 0.005, P = 0.019). Cox比例风险模型的多因素分析显示, TNM分期、年龄、组织分化程度、放疗、中药治疗是结直肠癌术后复发转移的独立影响因素, 其中中药治疗是保护性因素. Wilcoxon(Gehan)检验对扶正、祛邪、扶正祛邪治疗进行两两比较, 三者在术后无病生存上的差异均无统计学意义(P>0.05). 扶正治疗在3年、5年的年累计无病生存率(year accumulative disease free survival rate, YDFSR)上与祛邪、扶正祛邪治疗无明显差别, 但在10年YDFSR上明显高于后两者(47.00%、33.00%、32.00%), 在中位无病生存期方面, 也明显长于后两者(91.28 mo、44.84 mo、52.45 mo).

结论: 扶正、祛邪、扶正祛邪治则指导的中医治疗均能有效抑制结直肠癌术后复发转移; 在预防结直肠癌术后复发转移的中医药治疗上, 不必过于囿于扶正、祛邪、扶正祛邪治疗的任何一种, 具体治则和治法仍应突出辨证论治的重要性; 患者在获得5年无病生存后, 其治疗在辨证论治的基础上, 适当考虑扶正中药的应用, 可能能获得更好的远期无病生存率.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 结直肠癌; 术后复发转移; 扶正; 祛邪; 扶正祛邪

核心提示: 在预防结直肠癌术后复发转移的中医药治疗上, 扶正、祛邪、扶正祛邪治则指导下的中医药治疗均有显著疗效; 具体治疗仍需重视辨证论治; 在获得5年无病生存后, 适当应用扶正中药, 可能能获得更好的远期无病生存率.

侯风刚, 石齐, 王伟炳, 陈旻, 余青青, 任建琳, 李文, 殷佩浩, 李琦, 花宝金. 不同中医治则对结直肠癌术后复发转移的影响. 世界华人消化杂志 2014; 22(13): 1890-1896 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1890.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1890

■研发前沿
扶正、祛邪、扶正祛邪治疗是中医扶正祛邪治则的临床具体运用原则. 在预防结直肠癌术后复发转移上, 有关三种治疗之间的优劣一直存在较大争议, 给临床具体治疗带来困惑.

0 引言

术后复发转移是结直肠癌相关死亡的重要原因, 降低术后复发转移是结直肠癌术后治疗最需要关注的问题. 有研究表明, 中医药能有效地减少结直肠癌术后的复发和转移[1]. 扶正治疗(扶正中药为主)、祛邪治疗(祛邪中药为主)、扶正祛邪治疗(扶正中药与祛邪中药并重)是扶正祛邪治则的临床具体运用原则. 结直肠癌中医治疗非常复杂, 在扶正祛邪原则的临床具体应用上存在较大争议, 尽管一些研究提示扶正治疗[2,3]或扶正祛邪治疗[4,5]可能会存在一定优势, 但尚无直接的循证依据. 本研究尝试评价并比较上述3种治则对结直肠癌术后复发转移的影响.

1 材料和方法

1.1 材料 病例来自上海市中医医院、普陀医院、曙光医院3家医院于2005-01/2012-08收治的结直肠癌患者, 并符合以下各种要求者. 诊断标准: 参照《新编常见恶性肿瘤诊治规范(大肠

■相关报道
一些研究提示扶正治疗或扶正祛邪治疗可能会存在一定优势, 但尚无直接循证依据.

表 1 变量赋值表

因素	赋值
性别	男: 1; 女: 2
年龄	<60岁: 1; ≥60岁: 2
肿瘤部位	结肠: 1; 直肠: 2
分化程度	低分化:1; 中分化: 2; 高分化: 3
分期	Ⅰ期: 1; Ⅱ期: 2; Ⅲ期: 3
放疗	无: 0; 有: 1
化疗	无: 0; 有: 1
合并症	无: 0; 有: 1
中药类别	扶正组: 1; 祛邪组: 2; 扶正祛邪组: 3; 对照组(未服用): 4
复发转移时间	月
研究结局	删失: 0; 复发转移: 1

癌分册)》的大肠癌诊断标准, 依据手术病理组织学诊断明确; 依据国际抗癌联盟(Union for International Cancer Control, UICC)结直肠癌TNM分期系统(第六版)进行临床病理分期. 纳入标准: (1)有明确手术病理组织学诊断者; (2)TNM分期为I-Ⅲ期的患者; (3)年龄≥18岁; (4)知情同意并接受随访者; (5)临床相关病历资料(包括中药方)完整. 排除标准: (1)不符合上述诊断标准; (2)孕妇、有精神疾病患者; (3)二重癌或多重癌患者; (4)因意外死亡的患者. 有上述任何一项者均不能入选. 删失标准: (1)观察期满仍未复发; (2)生存但中途失访; (3)死于其他疾病.

1.2 方法

1.2.1 病例收集: 采用非干预性临床研究的方法收集数据. 具体方法: 通过3家医院的电子病历管理系统进行检索, 按患者信息查找病例原始资料, 对符合要求的患者进行信息登记, 并通过随访获取并完善患者的各项资料信息, 然后对其相关资料进行整理.

1.2.2 随访: 从患者首次入选开始随访, 时间截止到2013-08-30, 病例信息、门诊记录、电话问询为随访的主要方式, 至患者出现复发或转移、死亡、失访或最后一次随访时间为终点, 研究结局为患者复发或转移, 每6 mo随访一次.

1.2.3 中药治疗的相关规定: 中成药规定: 连续服用中成药6 mo及以上时间者为系统服用中药, 否则为“无”. 根据服用的中成药将患者接受的中药治疗按扶正、祛邪、扶正祛邪分为三类: (1)扶正治疗(贞芪扶正胶囊、十一味参芪胶囊、金水宝、百令胶囊等扶正中成药, 服用其中的一种或多种); (2)祛邪治疗(康赛迪胶囊、平消胶囊、肿节风片、金龙胶囊等祛邪中成药, 服用其中一种或多种); (3)扶正祛邪治疗(扶正药和祛邪药同用). 中药煎剂规定: 连续服用中药煎剂6 mo及以上时间者为系统服用中药, 否则为“无”. 中药分为3类: (1)扶正方药, 处方中扶正中药味数、剂量≥全方3/5的为“扶正”方药; (2)祛邪方药, 处方以清热解毒、活血化瘀、化痰散结、理气消滞等祛邪药物为主, 规定为处方中祛邪中药味数、剂量≥全方3/5的为“祛邪”方药; (3)扶正祛邪方药, 处方中扶正中药和祛邪中药在味数、剂量上大体相当. 中药类别判定: 由3名中医肿瘤专业的副主任医师及以上职称的医师以“背靠背”方式对每1个患者服用的中药(含中成药)进行综合分析, 判别其所属类别; 对于有明显疑议的处方, 由另外3名中医肿瘤专家共同讨论后决定. 根据中药治疗将患者分为扶正组、祛邪组、扶正祛邪组、对照组(未系统服用中成药或中药煎剂的归为对照组).

1.2.4 观察指标: 性别、年龄、肿瘤部位、分化程度、TNM分期、合并症(糖尿病、心脑血管疾病、慢性阻塞性肺疾病)、放疗、化疗、中药应用. 无病生存(disease-free survival, DFS)期: 从手术后开始至疾病复发转移或各种原因导致患者死亡的时间. 累积无病生存率(cumulative proportion of DFS): 患者经过t个单位时间后仍无病存活的概率.

1.2.5 数据收集及转换: 根据病例报告表(case report form, CRF)的项目采用Microsoft Excel管理软件建立病例资料数据库, 符合标准病例的相关信息录入数据库, 并对其编码赋值(表1).

统计学处理 应用SPSS16.0统计软件. 单因素分析采用寿命表法和Wilcoxon(Gehan)检验, 寿命表法计算累积无病生存率并绘制无病生存曲线, Wilcoxon(Gehan)对组间无病生存分布差异进行显著性检验. 多因素分析采用Cox比例风险模型. 所有统计分析的显著性标准为$\alpha = 0.05$, 以$P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 一般性资料 共有569例Ⅰ-Ⅲ期的结直肠癌术后患者入组并进行了随访, 其中复发转移282例, 未复发转移287例, 删失数据比50.44%. 所有病例中, 失访18例, 与结直肠癌无关死亡43例.

2.2 结直肠癌术后复发转移可能影响因素的单因素分析 我们对年龄、性别、肿瘤部位、中

表 2 影响结直肠癌术后复发转移的单因素分析

影响因素	*n*	*P*值
性别		0.105
男	294	
女	275	
年龄(岁)		0.045
<60	348	
≥60	221	
肿瘤部位		0.110
结肠癌	351	
直肠癌	218	
组织分化程度		0.000
低分化	83	
中分化	404	
高分化	82	
放疗		0.000
无	521	
有	48	
化疗		0.479
无	108	
有	461	
合并症		0.145
无	306	
有	263	
TNM分期		0.000
Ⅰ期	93	
Ⅱ期	226	
Ⅲ期	250	
中医治疗		0.001
扶正	158	0.000
祛邪	65	0.005
扶正祛邪	95	0.019
对照	251	

*P*值根据Wilcoxon(Gehan)检验得出.

药治疗等9个可能影响患者术后复发转移的临床、病理特征用单因素分析方法进行了分析, 表2概括了分析的结果. 性别(P = 0.105)、肿瘤部位(P = 0.110)、化疗(P = 0.479)、合并症(P = 0.145)在无病生存上均无统计学差异. 差异有统计学意义的是TNM分期(P = 0.000)、年龄(P = 0.045)、组织分化程度(P = 0.000)、放疗(P = 0.000)、中药治疗(P = 0.001). 进一步将不同中药治疗分别按扶正、祛邪、扶正祛邪与对照组比较, 均有统计学意义(P = 0.000, P = 0.005, P = 0.019). 图1, 2分别显示了中药治疗与对照组、不同中药治疗与对照组在无病生存上的差异.

2.3 结直肠癌术后复发转移影响因素的多因素分析 将中药治疗、组织分化程度、TNM分

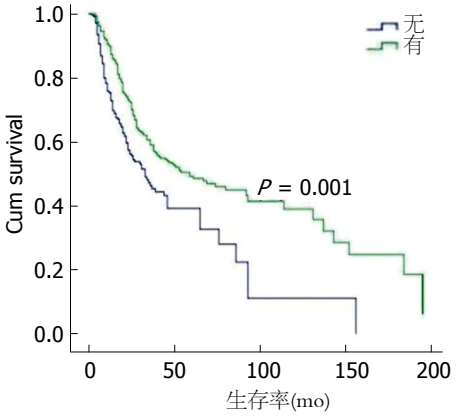


图 1 中药治疗与对照组在无病生存上的差异.

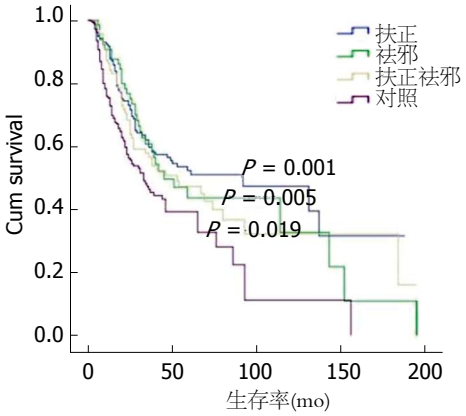


图 2 不同中药治疗与对照组在无病生存上的差异.

期、放疗、年龄因素纳入Cox比例风险模型进行多因素分析, 表3显示了变量筛选过程中每一步似然函数值的变化. 表3给出了逐步回归法(Forward LR)经过5步筛选, 第5步似然函数值的差值为13.683, P = 0.000,说明第5步的模型最佳. 分析的最终结果显示: 放疗(P = 0.000)、中药治疗(P = 0.000)、年龄(P = 0.000)、分化程度(P = 0.000)、TNM分期(P = 0.000)在无病生存上的差异均有统计学意义, 说明这五个因素是结直肠癌术后复发转移的独立影响因素. 表4概括了Cox比例风险模型分析的结果.

多因素分析(表4)显示, 与对照组相比较, 中药治疗的差异有统计学意义(P = 0.000), 其中, 扶正治疗(P = 0.000)、祛邪治疗(P = 0.008)、扶正祛邪治疗(P = 0.001)也均有统计学意义. 扶正治疗、祛邪治疗、扶正祛邪治疗的相对危险度RR分别为0.509(95%CI: 0.378-0.687)、0.596(95%CI: 0.406-0.875)、0.544(95%CI: 0.386-0.768), 说明在接受扶正治疗、祛邪治疗、扶正祛邪治疗的结直肠癌术后复发转移的风险分别是对照组(不接受中药治疗)的0.509

■创新盘点

运用循证医学的理念和研究方法评价并比较三种治疗的效果, 以期为此3种治疗在临床的合理运用提供循证依据.

■应用要点
该研究的结果通过评价并比较3种治疗的优劣, 有助于解决当前中医临床治疗的困惑.

表 3 模型系数的综合检验

步骤	(-2)倍的对数似然函数的值	Overall (score)			Change from previous step			Change from previous block		
		χ^2	df	Sig.	χ^2	df	Sig.	χ^2	df	Sig.
1	3137.034	75.688	2	0.000	79.537	2	0.000	79.537	2	0.000
2	3117.917	104.040	3	0.000	19.117	1	0.000	98.654	3	0.000
3	3092.396	129.517	6	0.000	25.521	3	0.000	124.176	6	0.000
4	3073.556	148.485	8	0.000	18.839	2	0.000	143.015	8	0.000
5	3059.873	160.894	9	0.000	13.683	1	0.000	156.698	9	0.000

表 4 中药治疗等结直肠癌术后复发转移影响因素的多因素分析 (Cox比例风险模型)

影响因素	*P*值	RR	95.0%CI
放疗	0.000	2.691	1.921-3.769
中药治疗	0.000		
扶正 *vs* 对照	0.000	0.509	0.378-0.687
祛邪 *vs* 对照	0.008	0.596	0.406-0.875
扶正祛邪 *vs* 对照	0.001	0.544	0.386-0.768
年龄	0.000	1.612	1.256-2.068
分化程度	0.000		
低 *vs* 高	0.000	2.777	1.729-4.459
中 *vs* 高	0.010	1.749	1.143-2.677
TNM分期	0.000		
Ⅰ *vs* Ⅲ	0.000	0.187	0.116-0.301
Ⅱ *vs* Ⅲ	0.000	0.480	0.370-0.622

倍、0.596倍、0.544倍, 也即说明接受三者治疗均比不接受中药治疗要好.

2.4 不同中药治疗对结直肠癌术后复发转移影响的比较分析 对中药治疗的单因素和多因素分析的结果是一致的, 与对照组相比较, 其差异均有统计学意义. 因此, 我们进一步比较分析了不同中药治疗对结直肠癌术后复发转移的影响. 应用寿命表法计算不同中药治法的3年、5年累积生存率和中位无病生存期, 并应用Wilcoxon(Gehan)检验对不同中药治疗进行两两比较(表5). 结果显示, 与对照组相比较, 扶正治疗、祛邪治疗、扶正祛邪治疗在结直肠癌术后无病生存上的差异均有统计学意义(P<0.05), 这与单因素和多因素分析的结果是一致的. 3种不同治法之间的两两比较显示, 其差异均无统计学意义(P>0.05). 在累计无病生存率(year accumulative disease free survival rate, YDFSR)方面, 三种治法的3年YDFSR分别为60.00%、61.00%、57.00%, 5年YDFSR分别为51.00%、46.00%、47.00%, 10年YDFSR分别为47.00%、33.00%、32.00%, 均显著高于对照组; 扶正治疗、祛邪治疗、扶正祛邪治疗的3年YDFSR、5年YDFSR差别不大, 但扶正治疗的10年YDFSR明显比后两者高. 在中位无病生存期方面, 三种治法分别为91.28、44.84、52.45 mo, 均比对照组的32.63 mo延长, 其中扶正治疗延长最为显著.

3 讨论

结直肠癌是全球最常见的恶性肿瘤之一, 其发病率在男性和女性中均居第3位[6], 也是肿瘤相关性死亡的第2大常见原因[7,8]. 近年来, 随着手术、放化疗方案的改进及肿瘤血管抑制剂的应用, 结直肠癌的5年生存率提高到60%-75%[9], 但术后的复发转移仍居高不下, 成为结直肠癌死亡的主要原因. 结直肠癌术后的有效防治成为降低结直肠癌术后复发转移风险的关键.

放化疗是当前最重要的结直肠癌辅助治疗手段, 抗肿瘤血管治疗也是近年来开发的辅助治疗药物. 除放疗肯定能在一定程度上降低结直肠癌术后复发转移率外, 化疗的作用和抗肿瘤血管治疗对结直肠癌术后的作用仍存在争议[10-12], 迄今为止, 仍有超过1/4的病例会在术后出现复发转移[13,14]. 近些年来, 包括中医药在内的补充替代医学对于结直肠癌术后复发转移的预防作用逐步引起人们的重视. 在亚洲, 主要是在中国, 中医药治疗已成为包括手术在内的结直肠癌综合治疗中的重要组成部分[1,15-17], 越来越多的研究表明, 中药能有效地降低结直肠癌术后复发转移的风险[18-20].

本研究中, 单因素和多因素分析的结果显示, 除年龄[21]、放疗[22,23]、分化程度[24-26]、TNM分期[27,28]外, 中药治疗也是结直肠癌术后复发转移的独立影响因素, 而且中药治疗中的扶正治疗、祛邪治疗、扶正祛邪治疗与对照组比较也均有统计学意义(P<0.05). 多因素分析的结果还显示, 接受这3种中药治疗的结直肠癌术后复发转移的风险分别是对照组(不接受中药治疗)的

表 5 不同中医治疗对结直肠癌术后复发转移的影响

中医治疗	n	3YDFSR(%)	5YDFSR(%)	10YDFSR(%)	Medians(mo)	P值			
						扶正	祛邪	扶正祛邪	对照
扶正	158	60.00	51.00	47.00	91.28	–	0.936	0.359	0.000
祛邪	65	61.00	46.00	33.00	44.84	0.936	–	0.427	0.005
扶正祛邪	95	57.00	47.00	32.00	52.45	0.359	0.427	–	0.019
对照	251	45.00	39.00	11.00	32.63	0.000	0.005	0.019	–

寿命表法计算累积无病生存率(YDFSR). Wilcoxon(Gehan)检验比较不同中药治疗的影响(两两比较). Medians: 中位无病生存期.

0.509倍、0.596倍、0.544倍, 说明这三种治疗是保护性的影响因素, 均能有效降低结直肠癌的术后复发转移.

扶正治疗、扶正祛邪治疗在结直肠癌的中医药治疗中颇受重视, 近年来多项研究也显示了益气补肾[29]、气血双补[3,30]等扶正治疗在预防结直肠癌术后复发转移中所起的重要作用, 而扶正祛邪治疗也有多项类似报道[4,31]. 祛邪治疗能在一定程度上能延长结直肠癌患者生存期, 提高其生存质量, 减少致死率[32,33], 但是否能有效降低术后复发转移率, 目前尚存在争议[34]. 本项研究的结果表明, 祛邪治疗也能有效抑制结直肠癌术后复发转移. 在此基础上, 我们对扶正治疗、祛邪治疗、扶正祛邪治疗进行了两两比较, 所有比较均无统计学意义(P>0.05), 说明在预防结直肠癌术后复发转移方面, 这三种治疗总体上并无较大差异.

本研究采用非干预性的临床研究方法, 分析数据来源于临床医师辨证论治的病例资料. 结合以上研究结果, 我们认为, 采用扶正、扶正祛邪还是祛邪治疗, 总体上应当根据患者的具体临床表现, 而不必过于拘于扶正、祛邪或是扶正祛邪观点的限制, 中医药治疗在预防结直肠癌术后复发转移上仍应突出辨证论治的思维.

尽管扶正、祛邪、扶正祛邪治疗三者之间在总体无病生存上的差异并无统计学意义, 三者在3年、5年YDFSR上的差异并不明显, 但在10年YDFSR上, 扶正治疗明显高于祛邪治疗和扶正祛邪治疗(47.00%、33.00%、32.00%); 而且扶正治疗的中位生存期也显著长于后两者(91.28、44.84、52.45 mo), 提示其在结直肠癌术后复发转移的远期预防上可能存在一定优势. 因此, 在获得5年无病生存后, 在辨证论治基础上, 适当考虑扶正中药的应用, 有可能能获得更好地远期无病生存率.

4 参考文献

1 Zhong LL, Chen HY, Cho WC, Meng XM, Tong Y. The efficacy of Chinese herbal medicine as an adjunctive therapy for colorectal cancer: a systematic review and meta-analysis. *Complement Ther Med* 2012; 20: 240-252 [PMID: 22579437 DOI: 10.1016/j.ctim.2012.02.004]

2 Lin J, Dong HF, Oppenheim JJ, Howard OM. Effects of astragali radix on the growth of different cancer cell lines. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 670-673 [PMID: 12679907]

3 黎治平, 曾纪权, 胡爱民. 气血双补法联合化疗对结直肠癌术后复发、转移预防的临床研究. 实用癌症杂志 2010; 25: 618-620

4 雒琳, 杨宇飞, 李培红, 吴煜, 张建伟, 吴显文, 高书棣, 刘端祺. 中药扶正胶囊和祛邪胶囊减少II、III期大肠癌术后复发转移的队列研究. 中国中西医结合杂志 2006; 26: 677-680

5 刘静, 王维平, 周奕阳, 方震宇, 侯凤刚. 健脾活血中药联合化疗治疗大肠癌术后患者的疗效观察. 中国中西医结合杂志 2005; 25: 207-209.

6 Siegel R, DeSantis C, Virgo K, Stein K, Mariotto A, Smith T, Cooper D, Gansler T, Lerro C, Fedewa S, Lin C, Leach C, Cannady RS, Cho H, Scoppa S, Hachey M, Kirch R, Jemal A, Ward E. Cancer treatment and survivorship statistics, 2012. *CA Cancer J Clin* 2012; 62: 220-241 [PMID: 22700443 DOI: 10.3322/caac.21149]

7 Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2013. *CA Cancer J Clin* 2013; 63: 11-30 [PMID: 23335087 DOI: 10.3322/caac.21166]

8 Strimpakos AS, Cunningham D, Mikropoulos C, Petkar I, Barbachano Y, Chau I. The impact of carcinoembryonic antigen flare in patients with advanced colorectal cancer receiving first-line chemotherapy. *Ann Oncol* 2010; 21: 1013-1019 [PMID: 19861580 DOI: 10.1093/annonc/mdp449]

9 André T, Boni C, Mounedji-Boudiaf L, Navarro M, Tabernero J, Hickish T, Topham C, Zaninelli M, Clingan P, Bridgewater J, Tabah-Fisch I, de Gramont A. Oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin as adjuvant treatment for colon cancer. *N Engl J Med* 2004; 350: 2343-2351 [PMID: 15175436]

10 Marshall JL, Haller DG, de Gramont A, Hochster HS, Lenz HJ, Ajani JA, Goldberg RM. Adjuvant Therapy for Stage II and III Colon Cancer: Consensus Report of the International Society of Gastrointestinal Oncology. *Gastrointest Cancer Res* 2007; 1: 146-154 [PMID: 19262703]

11 Young A, Rea D. ABC of colorectal cancer: treatment of advanced disease. *BMJ* 2000; 321: 1278-1281

■同行评价

该文尝试评价和比较不同中医治则对结直肠癌术后复发转移的影响, 有重要的临床意义和一定的学术价值. 由于研究内容非常复杂, 目前没有成熟的研究方法, 难度很大, 正因为此, 作者在考虑复杂因素影响的基础上, 运用循证医学的理念和研究方法进行大胆尝试在一定程度上值得肯定.

[PMID: 11082094]
12 Xu Y, Li Q, Li XY, Yang QY, Xu WW, Liu GL. Short-term anti-vascular endothelial growth factor treatment elicits vasculogenic mimicry formation of tumors to accelerate metastasis. *J Exp Clin Cancer Res* 2012; 31: 16 [PMID: 22357313 DOI: 10.1186/1756-9966-31-16]
13 万德森. 结直肠癌流行病学与预防. 中国中西医结合外科杂志 2011; 17: 3-7
14 Meyerhardt JA, Mayer RJ. Systemic therapy for colorectal cancer. *N Engl J Med* 2005; 352: 476-487 [PMID: 15689586]
15 Li X, Yang G, Li X, Zhang Y, Yang J, Chang J, Sun X, Zhou X, Guo Y, Xu Y, Liu J, Bensoussan A. Traditional Chinese medicine in cancer care: a review of controlled clinical studies published in chinese. *PLoS One* 2013; 8: e60338 [PMID: 23560092 DOI: 10.1371/journal.pone.0060338]
16 Tan KY, Liu CB, Chen AH, Ding YJ, Jin HY, Seow-Choen F. The role of traditional Chinese medicine in colorectal cancer treatment. *Tech Coloproctol* 2008; 12: 1-6; discussion 6 [PMID: 18512006 DOI: 10.1007/s10151-008-0392-z]
17 Guo Z, Jia X, Liu JP, Liao J, Yang Y. Herbal medicines for advanced colorectal cancer. *Cochrane Database Syst Rev* 2012; 5: CD004653 [PMID: 22592697 DOI: 10.1002/14651858]
18 Yang YF, Ge JZ, Wu Y, Xu Y, Liang BY, Luo L, Wu XW, Liu DQ, Zhang X, Song FX, Geng ZY. Cohort study on the effect of a combined treatment of traditional Chinese medicine and Western medicine on the relapse and metastasis of 222 patients with stage II and III colorectal cancer after radical operation. *Chin J Integr Med* 2008; 14: 251-256 [PMID: 19082795 DOI: 10.1007/s11655-008-0251-9]
19 Tao L, Zhu YJ, Lu XM, Gu Y, Zhao AG, Zheng J, Fu CG, Yang JK. [Clinical study on survival benefit for elderly patients with resected stage II or III colorectal cancer based on traditional Chinese medicine syndrome differentiation and treatment]. *Zhongxiyi Jiehe Xuebao* 2010; 8: 1159-1164 [PMID: 21144459]
20 张亮, 刘德稳. 中医药干预结直肠癌术后复发转移的临床研究进展. 中医临床研究 2012; 4: 121-122
21 Yuan Y, Li MD, Hu HG, Dong CX, Chen JQ, Li XF, Li JJ, Shen H. Prognostic and survival analysis of 837 Chinese colorectal cancer patients. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 2650-2659 [PMID: 23674872 DOI: 10.3748/wjg.v19.i17.2650]
22 Sajid MS, Farag S, Leung P, Sains P, Miles WF, Baig MK. Systematic review and meta-analysis of published trials comparing the effectiveness of transanal endoscopic microsurgery and radical resection in the management of early rectal cancer. *Colorectal Dis* 2014; 16: 2-14 [PMID: 24330432 DOI: 10.1111/codi.12474]
23 Maas HA, Lemmens VE, Nijhuis PH, de Hingh IH, Koning CC, Janssen-Heijnen ML. Benefits and drawbacks of short-course preoperative radiotherapy in rectal cancer patients aged 75 years and older. *Eur J Surg Oncol* 2013; 39: 1087-1093 [PMID: 23958151 DOI: 10.1016/j.ejso.2013.07.094]
24 Nan KJ, Qin HX, Yang G. Prognostic factors in 165 elderly colorectal cancer patients. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 2207-2210 [PMID: 14562379]
25 Tsutsumi S, Watanabe R, Tabe Y, Fujii T, Morita H, Kigure W, Kato T, Yamauchi H, Sakai M, Asao T, Kuwano H. Extranodal metastasis predicts poor survival in advanced colorectal cancer. *Hepatogastroenterology* 2012; 59: 372-374 [PMID: 22353501 DOI: 10.5754/hge10139]
26 Elzagheid A, Emaetig F, Buhmeida A, Laato M, El-Faitori O, Syrjänen K, Collan Y, Pyrhönen S. Loss of MUC2 expression predicts disease recurrence and poor outcome in colorectal carcinoma. *Tumour Biol* 2013; 34: 621-628 [PMID: 23179399 DOI: 10.1007/s13277-012-0588-8]
27 Jen J, Kim H, Piantadosi S, Liu ZF, Levitt RC, Sistonen P, Kinzler KW, Vogelstein B, Hamilton SR. Allelic loss of chromosome 18q and prognosis in colorectal cancer. *N Engl J Med* 1994; 331: 213-221 [PMID: 8015568]
28 Yang Z, Kang L, Wang L, Xiang J, Cai G, Cui J, Peng J, Lan P, Wang J. Characteristics and long-term survival of colorectal cancer patients aged 44 years and younger. *Clin Transl Oncol* 2012; 14: 896-904 [PMID: 22855164 DOI: 10.1007/s12094-012-0876-1]
29 刘云霞, 蒋沈君, 匡唐洪, 姚勇伟, 杨洁文. 益气补肾口服液抗大肠癌术后转移复发的临床观察. 中华中医药学刊 2007; 25: 1072-1073
30 Saiki I, Yamaura T, Ohnishi Y, Hayakawa Y, Komatsu Y, Nunome S. HPLC analysis of juzen-taiho-to and its variant formulations and their antimetastatic efficacies. *Chem Pharm Bull* (Tokyo) 1999; 47: 1170-1174 [PMID: 10478473]
31 蒋益兰, 潘敏求, 蔡美. 健脾消癌饮配合化疗拮抗大肠癌术后复发转移62例总结. 湖南中医杂志 2007; 23: 1-3
32 杨宇飞, 陈崭新, 许云, 吴煜, 吴显文, 朱尧武, 李培红, 高书棣. 祛邪胶囊对晚期结直肠癌患者生存期和生活质量的随机对照研究. 中国中西医结合杂志 2008; 28: 111-114
33 Kummar S, Copur MS, Rose M, Wadler S, Stephenson J, O'Rourke M, Brenckman W, Tilton R, Liu SH, Jiang Z, Su T, Cheng YC, Chu E. A phase I study of the chinese herbal medicine PHY906 as a modulator of irinotecan-based chemotherapy in patients with advanced colorectal cancer. *Clin Colorectal Cancer* 2011; 10: 85-96 [PMID: 21859559 DOI: 10.1016/j.clcc.2011.03.003]
34 杨宇飞, 许云, 吴煜, 王兰萍, 李贞, 张灵智, 朱尧武, 郭中宁, 郭全, 阎小平. 祛邪胶囊减少大肠癌术后复发转移的临床随机双盲对照研究. 中国中西医结合杂志 2007; 27: 879-882

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年5月8日; 22(13): 1897-1901
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

幽门螺杆菌与功能性消化不良的相关性

刘红丹, 仝甲钊, 曲 波, 金世柱, 王蓓蓓, 祝 芳, 连丽莹, 白 冰

刘红丹, 齐齐哈尔医学院附属第三医院消化一科 黑龙江省 齐齐哈尔市 161000
仝甲钊, 曲波, 金世柱, 王蓓蓓, 祝芳, 连丽莹, 白冰, 哈尔滨医科大学附属第二医院消化内科 黑龙江省哈尔滨市 150086
刘红丹, 哈尔滨医科大学附属第二医院在读硕士研究生, 主要从事幽门螺杆菌与功能性消化不良相关性的研究.
作者贡献分布: 此课题由曲波与仝甲钊设计; 研究过程由曲波、金世柱、仝甲钊、刘红丹、王蓓蓓、祝芳、连丽莹及白冰完成; 本论文写作由刘红丹与仝甲钊完成.
通讯作者: 曲波, 副教授, 150086, 黑龙江省哈尔滨市南岗区保健路, 哈尔滨医科大学附属第二医院消化内科.
qubo_1970@hotmail.com
电话: 0451-86605143
收稿日期: 2014-03-03 修回日期: 2014-03-20
接受日期: 2014-03-28 在线出版日期: 2014-05-08

Relationship between functional dyspepsia and *Helicobacter pylori* infection

Hong-Dan Liu, Jia-Zhao Tong, Bo Qu, Shi-Zhu Jin, Bei-Bei Wang, Fang Zhu, Li-Ying Lian, Bing Bai

Hong-Dan Liu, Department of Gastroenterology, the Third Affiliated Hospital of Qiqihar Medical College, Qiqihar 161000, Heilongjiang Province, China
Jia-Zhao Tong, Bo Qu, Shi-Zhu Jin, Bei-Bei Wang, Fang Zhu, Li-Ying Lian, Bing Bai, Department of Gastroenterology and Hepatology, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China
Correspondence to: Bo Qu, Associate Professor, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Baojian Road, Nangang District, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China. qubo_1970@hotmail.com
Received: 2014-03-03 Revised: 2014-03-20
Accepted: 2014-03-28 Published online: 2014-05-08

Abstract

AIM: To investigate the correlation between functional dyspepsia (FD) and *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) infection.

METHODS: A total of 1570 FD patients with *H. pylori* infection were recruited. Four hundred FD patients with *H. pylori* infection who did not have abnormal social psychological factors were divided randomly into either a treatment group or a control group. The treatment group was further divided into an eradication success group or an eradication failure group by *H. pylori* eradication status one month after the eradication therapy. Twelve months after treatment, improvement of symptoms and the average cost of rescue medication were analyzed and compared between groups.

RESULTS: In the *H. pylori* eradication success group, the symptoms improved more significantly compared with the *H. pylori* eradication failure group and control group one month after treatment, and the proportion of patients with symptomatic improvement ≥ 50% in the *H. pylori* eradication success group was significantly higher than those in the other two groups 12 mo after treatment. The average cost of rescue medication in the *H. pylori* eradication success group was significantly less than that in the control group and the *H. pylori* eradication failure group one month before the end of follow-up.

CONCLUSION: *H. pylori* has a certain relevance to FD. *H. pylori* eradication in *H. pylori* positive FD patients who are not associated with abnormal social psychological factors can achieve good treatment effects.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: *Helicobacter pylori*; Functional dyspepsia; Social psychology

Liu HD, Tong JZ, Qu B, Jin SZ, Wang BB, Zhu F, Lian LY, Bai B. Relationship between functional dyspepsia and *Helicobacter pylori* infection. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(13): 1897-1901 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1897.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1897

摘要

目的: 功能性消化不良(functional dyspepsia, FD)目前是消化科临床中最为常见的一种疾病, 且发病机制复杂多样, 其中包括异常社会心理学因素、幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染等. 而既往研究显示极大比例的FD患者具有异常社会心理学因素, 因此我们通过排除具有异常社会心理学因素的FD患

■背景资料
功能性消化不良(functional dyspepsia, FD)是临床上最常见的一种功能性胃肠病, 目前认为FD疾病的影响因素复杂多样, 主要包括社会心理学因素、幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)、遗传、环境、饮食和生活方式. 其中, *H. pylori*与FD之间的关系多年来已经得到了广泛的研究, 但对于*H. pylori*阳性FD患者是否应当进行根除*H. pylori*仍然没有明确的结论, 并且目前临床上的治疗也存在明显的分歧, 大多医院消化科医生对*H. pylori*阳性FD患者并不行根除*H. pylori*治疗. 在FD的众多影响因素中, 精神异常在FD患者中高达80%, 而先前几乎所有的FD与*H. pylori*相关性的研究仅通过两个基本的、非常广泛的标准(罗马标准和*H. pylori*阳性)来招募患者, 都没有对引起FD症状的其他影响因素进行必要的控制, 这必然使结果可信度低, 甚至得出不一致的结论.

■同行评议者
李勇, 副教授, 上海中医药大学附属市中医医院消化科

■研发前沿
由于FD影响因素中精神异常因素占据较重要的地位，因此我们的研究旨在排除*H. pylori*阳性FD患者中伴随异常社会心理学因素的患者，从而形成相对均一的单纯*H. pylori*阳性FD患者，进而探讨*H. pylori*与FD的相关性，具有非常强的独创性.

者，进一步研究FD与*H. pylori*的相关性.

方法：1570例*H. pylori*阳性FD患者参加本次研究，从中选出无伴随异常社会心理学因素的400例*H. pylori*阳性FD患者，后随机分为治疗组和对照组，其中治疗组在治疗后1 mo时根据*H. pylori*根除情况分为*H. pylori*根除成功组、*H. pylori*根除失败组，在治疗后12 mo时对各组患者症状改善情况及随访结束前1 mo内各组患者服用急救药品的平均费用作一统计分析.

结果：治疗后1 mo时，*H. pylori*成功根除组症状与未能根除者及对照组相比具有明显好转，且在治疗后第12 wk随访时，成功根除*H. pylori*组症状缓解分数达50%以上患者比例明显高于其他2组；随访结束前1 mo内，成功根除*H. pylori*组所服用急救药品平均费用明显少于对照组及*H. pylori*根除失败组.

结论：*H. pylori*与FD发病具有一定相关性，对无伴随异常社会心理学因素的*H. pylori*阳性FD患者进行根除*H. pylori*能够达到较好的治疗效果.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词：幽门螺杆菌；功能性消化不良；社会心理学

核心提示：过去的研究主要集中在根除幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)治疗的消化不良症状消失率与使用安慰剂效果的对比上，而对功能性消化不良(functional dyspepsia, FD)的其他潜在影响因素并没有进行必要的控制，我们的实验研究对伴有*H. pylori*感染的FD患者进行社会心理学评估，排除具有异常社会心理学因素的患者，以形成相对均一的单纯*H. pylori*阳性FD患者进行研究，从而排除研究过程中异常社会心理学因素造成的干扰，进一步更加准确地研究*H. pylori*与FD的相关性.

刘红丹，仝甲钊，曲波，金世柱，王蓓蓓，祝芳，连丽莹，白冰. 幽门螺杆菌与功能性消化不良的相关性. 世界华人消化杂志 2014; 22(13): 1897-1901 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1897.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1897

0 引言

功能性消化不良(functional dyspepsia, FD)是临床上最常见的一种功能性胃肠病，目前认为FD疾病的影响因素复杂多样，主要包括社会心理学因素、幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)、遗传、环境、饮食和生活方式[1]. 其中，*H. pylori*与FD之间的关系多年来已经得到了广泛的研究，但对于*H. pylori*阳性FD患者是否应当进行根除*H. pylori*仍然没有明确的结论，并且临床上的治疗也存在分歧，大多数医院消化科医生并不对*H. pylori*阳性FD患者行根除*H. pylori*治疗. 在FD的众多影响因素中，精神异常在FD患者中高达80%[2]，且长期的社会心理学异常可能导致FD的发生，而先前几乎所有的FD与*H. pylori*相关性的研究仅通过两个基本的、非常广泛的标准(罗马标准和*H. pylori*阳性)来招募患者，都没有对引起FD症状的其他影响因素进行必要的控制，这必然使结果可信度低，甚至得出不一致的结论[3]. 因此我们的研究旨在排除*H. pylori*阳性FD患者中伴随异常社会心理学因素的患者，从而形成相对均一的单纯*H. pylori*阳性FD患者，进而探讨*H. pylori*与FD的相关性.

1 材料和方法

1.1 材料 我们的实验研究由哈尔滨医科大学附属第二医院审核批准. 选取2012-06/2012-08自哈尔滨医科大学附属第二医院、齐齐哈尔医学院附属第三医院消化内科门诊以消化不良症状就诊并诊断为*H. pylori*阳性FD的1570例大于18周岁的患者，调查其中无伴随异常社会心理学因素的400例*H. pylori*阳性FD患者，其中随机选取200例为根除*H. pylori*组，另200例做为对照组并被给予一般性治疗，随访至2013-08. FD的诊断基于罗马III标准：有上腹痛、上腹烧灼感、餐后饱胀和早饱症状之一种或多种，呈持续或反复发作的慢性过程，病程超过半年，近3 mo来症状持续；上述症状排便后不能缓解；经腹部彩超排除肝胆胰脾疾病，胃镜检查排除消化性溃疡、肿瘤等器质性疾病. 剔除标准为：以胃灼热和肠易激综合征为主；具有报警症状(45岁以上，近期出现消化不良症状；有消瘦、贫血、呕血、黑粪、吞咽困难、腹部肿块、黄疸等；消化不良症状进行性加重)；消化性溃疡病史；上消化道外伤史；胆绞痛；根除*H. pylori*治疗史；对研究药物过敏；严重的并存疾病(严重的心、肺、肾疾病等)；酒精或药物滥用史；登记前4 wk内应用过抗生素或铋剂，2 wk内使用过质子泵抑制剂，1 wk内使用过H2受体阻滞剂也需排除在外；具有分娩可能性的妇女；不能回答研究问卷的患者；不乐意或不能够提供情况的患者[4].

表 1 各组患者短期(1 mo)和长期(12 mo)随访时症状改善情况

分组	随访时间(mo)	*n*	症状改善≥50%例数(*n*)	症状改善≥50%比例(%)
*H. pylori*根除成功组	1	142	117	82.4
*H. pylori*根除失败组	1	39	5[b]	12.8[b]
对照组	1	179	32[b]	17.9[b]
对照组	12	160	26[d]	16.3[d]
*H. pylori*根除失败组	12	33	4[d]	12.1[d]
*H. pylori*根除成功组	12	120	96	80.0

[b]*P*<0.01 *vs* 1 mo *H. pylori*根除成功组; [d]*P*<0.01 *vs* 12 mo *H. pylori*根除成功组. *H. pylori*: 幽门螺杆菌.

■相关报道
上海交通大学医学院附属仁济医院刘文忠教授认为过去的研究主要集中在根除*H. pylori*治疗的消化不良症状消失率与使用安慰剂效果的对比上, 而对FD的其他潜在影响因素并没有进行严格的控制, 这样得出的结果或许可信度较低.

1.2 方法

1.2.1 治疗: 所有入选患者胃镜诊断均由2名具有丰富经验的消化内镜医师进行, 内镜发现根据悉尼系统进行评估[5], 以排除消化性溃疡、肿瘤等器质性疾病. *H. pylori*检测通过^{14}C-尿素呼气试验(^{14}C-UBT)检查(敏感性98.7%, 特异性92.1%)和*H. pylori* IgG血清学检查(敏感性97.4%, 特异性71.1%), 两者均阳性判断为*H. pylori*感染. 对以上诊断为*H. pylori*阳性的FD患者通过医院焦虑与抑郁量表(Hospital Anxiety and Depression Scale, HADS)[6]进行社会心理学评估(总分≥8分者为异常), 排除具有异常社会心理学因素的*H. pylori*阳性FD患者.

我们与400例纳入研究的患者于实验前签订实验协议, 告知患者实验治疗情况及目的, 取得其同意, 后对所有患者随机分配并进行编号, 除分组编号人员外, 患者及调查人员在实验过程中对患者分组情况均不知情, 后按SAS6.12随机表随机分为2组: 治疗组200例, 对照组200例. 治疗组患者接受*H. pylori*三联根除治疗(奥美拉唑20 mg, 克拉霉素250 mg, 甲硝唑400 mg, 2次/d); 对照组接受奥美拉唑20 mg及安慰剂, 2次/d治疗, 疗程均为7 d. 治疗结束后1和12 mo通过^{14}C-UBT检测*H. pylori*根除结果, 对1 mo时根除*H. pylori*失败的治疗组患者分为根除*H. pylori*治疗失败组.

1.2.2 患者症状缓解情况的统计及评价目标: 实验过程中, 在实验前分别对400例纳入研究的相对单纯*H. pylori*阳性FD患者填写阿雷格里港消化不良症状调查表[7], 包括调查前30 d内上腹部疼痛、恶心、呕吐、上腹胀、早饱5项症状, 总分值从0分(无症状)到44分(严重症状). 治疗1及12 mo后, 分别再次对在访人员进行消化不良症状调查评分并统计.

由于FD疾病发病因素复杂及症状较多, 因此我们参照以往研究[4,8,9], 选择治疗1、12 mo后与起始消化不良症状情况相比缓解分数大于50%的患者比例做为主要目标进行统计分析; 同时, 研究期间根据需要可按餐后不适和上腹部疼痛症状分别服用急救药品: 莫沙必利片(5 mg/片)、复方胃蛋白酶颗粒(10 g/袋)和奥美拉唑镁片(40 mg/片)(药品价格按市场普通价格换算), 并记录随访结束前1 mo的药物服用量, 于实验结束时进行费用统计分析.

统计学处理 采用SPSS17.00统计软件, 相关资料采用卡方检验、方差分析, *P*<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 患者*H. pylori*根除情况 治疗后1 mo, 治疗组200例中181例完成研究, *H. pylori*根除率为78.5%(142/181); 对照组200例中179例完成研究, 无1例*H. pylori*得到根除. 治疗后12 mo, 根除*H. pylori*的142例中120例完成研究, 且仍为*H. pylori*阴性; 39例*H. pylori*根除失败者中33例完成研究, 均仍为*H. pylori*阳性. 对照组中, 160例完成研究, 仍为*H. pylori*阳性.

2.2 根除*H. pylori*治疗后FD患者症状及生活质量改善情况

2.2.1 根除*H. pylori*治疗后FD患者症状改善情况: 治疗后1 mo随访, 治疗组*H. pylori*成功根除者与未能根除者及对照组症状改善率差异较大, *H. pylori*根除组症状与未能根除者及对照组相比具有明显好转(*P*<0.05), 且在12 mo随访时, 成功根除*H. pylori*组症状缓解分数达50%以上者比例明显高于其他2组(*P*<0.01)(表1).

2.2.2 根除*H. pylori*组与对照组FD患者服用急救药品费用的比较: 随访结束前1 mo内, 根除*H. pylori*组与对照组服用急救药品数量差异较大, 根除*H. pylori*组所服用急救药品平均费用明显

■应用要点

我们认为社会心理学因素在FD的发病因素亦起着重要的作用, 因此对*H. pylori*阳性的FD患者直接进行根除*H. pylori*治疗或许并不能起到良好的治疗效果, 而对无异常社会心理学因素的*H. pylori*阳性FD患者进行根除*H. pylori*治疗则能够起到良好的治疗作用. 同时, 我们还间接证明了社会心理学因素与FD的相关性, 为临床上治疗FD疾病提供借鉴.

表 2 随访结束前1 mo内各组患者服用急救药品情况

分组	*n*	服用药物时间(mo)	服用药物总价格(元)	服用药物费用平均价格(元)
*H. pylori*根除成功组	120	1	4740	39.5
*H. pylori*根除失败组	33	1	7110[b]	215.5[b]
对照组	160	1	37920[b]	237.0[b]

[b]*P*<0.01 *vs H. pylori*根除成功组. *H. pylori*: 幽门螺杆菌.

少于对照组及*H. pylori*根除失败组(*P*<0.05)(表2).

3 讨论

FD的发病机制目前尚未完全清楚, 且其具有慢性、复发性和难以缓解性[10], 因而不仅明显的影响患者的生活质量, 而且也造成了相当高的医疗费用支出. 目前认为*H. pylori*可能是FD的致病因素之一, 然而对其可能存在的潜在病理生理机制以及根除*H. pylori*的确切疗效方面, 仍然存在较多的争议[3], 且目前临床治疗也具有较大的分歧. 过去的研究[11]主要集中在根除*H. pylori*治疗的消化不良症状消失率与使用安慰剂效果的对比上, 而对FD的其他潜在影响因素并没有进行必要的控制, 这样得出的结果或许可信度较低.

在FD的众多影响因素中, 精神异常在FD患者中高达80%[2], 其被认为能够通过脑-肠轴、自主神经系统影响FD的发病[12]. 在我们的研究中, 无伴随异常社会心理学因素的*H. pylori*阳性FD患者仅占所有研究人群的25.5%, 这也说明在*H. pylori*感染FD患者的发病中, 异常精神心理因素仍然起着较重要的作用. 因此, 在我们进行*H. pylori*与FD相关性的研究时, 如果对精神心理因素不加必要限制的话, 将会对实验结果产生不小的影响.

我们的实验研究从最初研究样本的选取中做出区分, 对伴有*H. pylori*感染的FD患者进行社会心理学评估, 排除具有异常社会心理学因素的患者, 以形成相对均一的单纯*H. pylori*阳性FD患者进行研究, 从而排除研究过程中异常社会心理学因素造成的干扰, 进一步更加准确地研究*H. pylori*与FD的相关性[13].

目前认为*H. pylori*感染参与FD发病的主要机制可能是增加了胃泌素释放和胃酸分泌, 进而影响胃排空功能, 并使胃局部神经功能和形态学发生改变[14], 从而引起上腹疼痛、不适等表现. 因此, 成功根除*H. pylori*后, 随着这些病理生理机制的改善, FD患者的不适症状可能随之消失. 据此, 我们的研究从患者消化不良症状的改善及根除*H. pylori*的费效比层面上进行对比研究. 本研究中, 相对单纯*H. pylori*感染FD患者进行根除*H. pylori*治疗效果非常明显, 在成功根除*H. pylori*治疗后1及12 mo随访时具有50%症状改善程度的患者数量比例分别为82.4%和80.0%, 远远大于对照组(17.9%和16.3%)及根除*H. pylori*失败组(12.8%和12.1%), 并且与Mazzoleni[4]的*H. pylori*与FD相关性研究得出的结果(49%)也具有较大的差异, 我们的研究得出对单纯*H. pylori*阳性FD进行根除*H. pylori*治疗的效果率明显优于以往研究的实验组, 这可能与我们选取的研究样本有关, 而这更为FD与*H. pylori*具有一定的相关性提供了依据, 同时我们认为因为FD疾病影响因素复杂多样, 并不是在所有*H. pylori*感染FD患者中都是*H. pylori*在起主要作用, 因此并不能简单地仅仅对*H. pylori*感染FD患者进行根除*H. pylori*治疗. 并且, 我们还间接证明了异常社会心理学因素与FD的相关性.

我们的研究也对随访结束前1 mo内各组患者服用FD急救药品的数量进行统计分析, 得出根除对相对*H. pylori*阳性FD患者进行根除*H. pylori*治疗能明显减少患者的日常服药量, 并极大地减少了医疗费用支出, 具有良好的费效比.

据此, 我们认为FD的发病因素复杂多样, 其中社会心理学因素亦起着重要的作用, 因此对*H. pylori*阳性的FD患者直接进行根除*H. pylori*治疗或许并不能起到良好的治疗效果, 而对无异常社会心理学因素的*H. pylori*阳性FD患者进行根除*H. pylori*治疗则能够起到良好的治疗作用, 这可能是由于这些FD患者的消化不良症状主要是由于*H. pylori*感染造成的, 因此在根除*H. pylori*治疗后胃黏膜组织病理学能够得到较好的控制, 从而能够较好地消除消化不良症状. 此外, 目前也有学者[15]对目前FD疾病的诊断及治疗提出质疑, 对*H. pylori*感染引起的消化不良, 他们认为

是由于*H. pylori*感染引起的器质性病变所引起, 且这种病变能够通过内镜, 尤其是放大内镜所观察到, 而这与我们的研究具有相似的结果, 或许正是由于*H. pylori*感染造成胃黏膜组织学早期的病理性改变才导致了消化不良症状的发生. 但为什么并不是所有*H. pylori*感染的FD患者对根除*H. pylori*治疗显效, 且为什么多数*H. pylori*感染的人群并没有消化不良症状, 这或许才是值得我们研究的重点, 才是我们彻底解决FD疾病的突破口.

4 参考文献

1 Miwa H, Watari J, Fukui H, Oshima T, Tomita T, Sakurai J, Kondo T, Matsumoto T. Current understanding of pathogenesis of functional dyspepsia. *J Gastroenterol Hepatol* 2011; 26 Suppl 3: 53-60 [PMID: 21443711 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2011.06633.x]

2 Barry S, Dinan TG. Functional dyspepsia: are psychosocial factors of relevance? *World J Gastroenterol* 2006; 12: 2701-2707 [PMID: 16718756 DOI: 10.3748/wjg.v12.i17.2701]

3 仝甲钊, 曲波, 王蓓蓓, 姜海燕. 功能性消化不良与幽门螺杆菌感染的关系. 世界华人消化杂志 2013; 21: 679-684

4 Mazzoleni LE, Sander GB, Francesconi CF, Mazzoleni F, Uchoa DM, De Bona LR, Milbradt TC, Von Reisswitz PS, Berwanger O, Bressel M, Edelweiss MI, Marini SS, Molina CG, Folador L, Lunkes RP, Heck R, Birkhan OA, Spindler BM, Katz N, Colombo Bda S, Guerrieri PP, Renck LB, Grando E, Hocevar de Moura B, Dahmer FD, Rauber J, Prolla JC. Helicobacter pylori eradication in functional dyspepsia: HEROES trial. *Arch Intern Med* 2011; 171: 1929-1936 [PMID: 22123802 DOI: 10.1001/archinternmed.2011.533]

5 Tytgat GN. The Sydney System: endoscopic division. Endoscopic appearances in gastritis/duodenitis. *J Gastroenterol Hepatol* 1991; 6: 223-234 [PMID: 1912432 DOI: 10.1111/j.1440-1746.1991.tb01469.x]

6 van Kerkhoven LA, Laheij RJ, Aparicio N, De Boer WA, Van den Hazel S, Tan AC, Witteman BJ, Jansen JB. Effect of the antidepressant venlafaxine in functional dyspepsia: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2008; 6: 746-752; quiz 718 [PMID: 18424191]

7 Sander GB, Mazzoleni LE, Francesconi CF, Wortmann AC, Ott EA, Theil A, Da Cruz PV, Da Silva AC, Oliveira L, Beheregaray S, Matioti S, Somm G, Goldim JR. Development and validation of a cross-cultural questionnaire to evaluate nonulcer dyspepsia: the Porto Alegre Dyspeptic Symptoms Questionnaire (PADYQ). *Dig Dis Sci* 2004; 49: 1822-1829 [PMID: 15628711 DOI: 10.1007/s10620-004-9578-z]

8 Ruiz García A, Gordillo López FJ, Hermosa Hernán JC, Arranz Martínez E, Villares Rodríguez JE. [Effect of the Helicobacter pylori eradication in patients with functional dyspepsia: randomised placebo-controlled trial]. *Med Clin* (Barc) 2005; 124: 401-405 [PMID: 15799844]

9 Gisbert JP, Cruzado AI, Garcia-Gravalos R, Pajares JM. Lack of benefit of treating Helicobacter pylori infection in patients with functional dyspepsia. Randomized one-year follow-up study. *Hepatogastroenterology* 2004; 51: 303-308 [PMID: 15011890]

10 Ford AC. Eradicating Helicobacter pylori in functional dyspepsia. *Gastroenterology* 2012; 142: 1613-1614 [PMID: 22537648]

11 刘文忠. 幽门螺杆菌感染与非溃疡性消化不良. 现代消化及介入诊疗 2010; 15: 91-97

12 Wu JC. Community-based study on psychological comorbidity in functional gastrointestinal disorder. *J Gastroenterol Hepatol* 2011; 26 Suppl 3: 23-26 [PMID: 21443703 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2011.06642.x]

13 仝甲钊, 曲波, 王蓓蓓, 白梅. 功能性消化不良的发病机制. 世界华人消化杂志 2013; 21: 785-790

14 Delgado-Aros S, Cremonini F, Talley NJ. Treatment of Functional Dyspepsia. *Curr Treat Options Gastroenterol* 2004; 7: 121-131 [PMID: 15010026 DOI: 10.1007/s11938-004-0033-1]

15 Anagnostopoulos GK, Yao K, Kaye P, Fogden E, Fortun P, Shonde A, Foley S, Sunil S, Atherton JJ, Hawkey C, Ragunath K. High-resolution magnification endoscopy can reliably identify normal gastric mucosa, Helicobacter pylori-associated gastritis, and gastric atrophy. *Endoscopy* 2007; 39: 202-207 [PMID: 17273960]

■同行评价

本文样本量较大, 具有一定临床指导意义.

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年5月8日; 22(13): 1902-1906
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

糖尿病患者合并非糖尿病肾损害的临床病理分析及评价

刘 剑, 景照峰, 胡 蓉, 晏家华, 罗 敏

■背景资料
糖尿病肾病是糖尿病患者由于病情进展而累及肾脏微血管引发肾脏损害, 由于糖尿病临床发病率较高, 导致糖尿病肾病发生率也较高. 典型糖尿病肾病患者临床诊断较为容易, 但近几年国内大量研究对非糖尿病肾损害(non-diabetic renal diseases, NDRD)进行了报道, 指出糖尿病患者临床表现为肾脏损害也可能是NDRD. 目前对于糖尿病合并NDRD的临床诊断及病理类型研究已经逐渐受到专家重视.

刘剑, 景照峰, 胡蓉, 晏家华, 罗敏, 贵州省六盘水市人民医院肾内科 贵州省六盘水市 553001
刘剑, 副主任医师, 主要从事糖尿病患者合并非糖尿病肾损害的研究.
作者贡献分布: 此课题由于刘剑设计; 研究过程由刘剑与景照峰完成; 数据分析由胡蓉、晏家华及罗敏完成; 写作由于刘剑、景照峰、胡蓉、晏家华及罗敏共同完成.
通讯作者: 刘剑, 副主任医师, 553001, 贵州省六盘水市钟山西路56号, 六盘水市人民医院肾内科. 4962482@qq.com
收稿日期: 2014-02-08 修回日期: 2014-03-15
接受日期: 2014-03-19 在线出版日期: 2014-05-08

Clinicopathological features of diabetes mellitus patients complicated with non-diabetic renal diseases

Jian Liu, Zhao-Feng Jing, Rong Hu, Jia-Hua Yan, Min Luo

Jian Liu, Zhao-Feng Jing, Rong Hu, Jia-Hua Yan, Min Luo, Department of Urology, Liupanshui People's Hospital, Liupanshui 553001, Guizhou Province, China
Correspondence to: Jian Liu, Associate Chief Physician, Department of Urology, Liupanshui People's Hospital, 56 Zhongshan West Road, Liupanshui 553001, Guizhou Province, China. 4962482@qq.com
Received: 2014-02-08 Revised: 2014-03-15
Accepted: 2014-03-19 Published online: 2014-05-08

Abstract
AIM: To explore the clinicopathological features of diabetes mellitus (DM) patients complicated with non-diabetic renal diseases (NDRD).

METHODS: One hundred and sixty-five DM patients complicated with NDRD were randomly divided into three age groups: < 35 years (27 cases), 35-39 years (110 cases) and ≥ 60 years. The general conditions, clinical manifestations and clinicopathological types were analyzed retrospectively.

RESULTS: The average age and mean duration of disease differed significantly between the three groups (28.82 ± 4.53 *vs* 48.57 ± 6.76 *vs* 66.77 ± 5.05, 1.06 ± 1.79 *vs* 3.02 ± 3.57 *vs* 4.64 ± 4.89, $P < 0.05$ or < 0.01). There were no significant differences in FBG and DR (8.02 mmol/L ± 4.70 mmol/L *vs* 7.10 mmol/L ± 2.43 mmol/L *vs* 6.82 mmol/L ± 2.16mmol/L, 18.52% *vs* 13.64% *vs* 7.14%, $P > 0.05$ for all) or the rate of different clinical manifestations for the three groups (40.74% *vs* 35.45% *vs* 17.86%, 22.22% *vs* 27.27% *vs* 32.14%, 18.52% *vs* 14.55% *vs* 10.71%, 11.11% *vs* 5.45% *vs* 14.29%, 7.41% *vs* 17.27% *vs* 25.00%, $P > 0.05$ for all). The rate of IgA in the ≥ 60 age group was lower than those in the other two age groups (3.57% *vs* 37.04%, 3.57% *vs* 42.73%, $P < 0.01$ for both). The rate of HRL in the ≥ 60 age group was higher than that in the 35-59 age group (10.71% *vs* 1.82%, $P < 0.01$).

CONCLUSION: In young DM patients complicated with NDRD, CNS is the main clinical manifestation; in middle-aged patients, clinical manifestations vary greatly; in elderly patients, NS and CRF are main clinical manifestations. The clinicopathological type is mainly IgAN in young patients and MN in elderly patients.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Diabetes mellitus; Non-diabetic renal diseases; Clinicopathological features

Liu J, Jing ZF, Hu R, Yan JH, Luo M. Clinicopathological features of diabetes mellitus patients complicated with non-diabetic renal diseases. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(13): 1902-1906 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1902.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1902

摘要
目的: 分析糖尿病患者合并非糖尿病肾损害(non-diabetic renal diseases, NDRD)的临床病理特点.

方法: 按照年龄将我院收治的165例糖尿病合并NDRD患者分为<35岁组27例、35-59组110例和≥60岁组28例, 回顾性分析3组患者一般情况、临床表现和肾脏病理类型的分布特点.

结果: 3组患者之间平均年龄和平均病程相互比较(28.82岁±4.53岁 *vs* 48.57岁±6.76岁 *vs* 66.77岁±5.05岁)、(1.06年±1.79年 *vs* 3.02年

■同行评议者
洪天配, 教授, 北京大学第三医院内分泌科

±3.57年 *vs* 4.64年±4.89年), 差异具有统计学意义(*P*<0.05或*P*<0.01); 3组患者之间空腹血糖(fasting blood-glucose, FBG)水平和糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)发生率比较(8.02 mmol/L±4.70 mmol/L *vs* 7.10 mmol/L±2.43 mmol/L *vs* 6.82 mmol/L±2.16mmol/L)、(18.52% *vs* 13.64% *vs* 7.14%), 差异无统计学意义(*P*>0.05); 3组患者间各临床表现所占比例比较(40.74% *vs* 35.45% *vs* 17.86%)、(22.22% *vs* 27.27% *vs* 32.14%)、(18.52% *vs* 14.55% *vs* 10.71%)、(11.11% *vs* 5.45% *vs* 14.29%)、(7.41% *vs* 17.27% vs 25.00%), 差异无统计学意义(*P*>0.05); ≥60岁组患者IgA肾病(IgA nephropathy, IgAN)发生率明显低于<35岁组和35-59组, (3.57% *vs* 37.04%)、(3.57% *vs* 42.73%), 差异具有统计学意义(*P*<0.01); ≥60岁组患者高血压性肾损害(hypertensive renal impairment, HRL)发生率明显高于35-59组(10.71% *vs* 1.82%), 差异具有统计学意义(*P*<0.01).

结论: 糖尿病合并NDRD患者中青年患者多为CNS, 中年患者临床表现多样, 老年患者多为NS和CRF, 青中年患者病理类型多为IgAN, 老年患者多为膜性肾病.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 糖尿病; 非糖尿病肾损害; 病理特点

核心提示: 本研究按照年龄将我院收治的165例糖尿病合并非糖尿病肾损害(non-diabetic renal diseases, NDRD)患者分为<35岁组27例、35-59组110例和≥60岁组28例, 回顾性分析3组患者一般情况、临床表现和肾脏病理类型的分布特点. 3组患者之间空腹血糖水平和糖尿病视网膜病变发生率比较, 差异无统计学意义(*P*>0.05); 3组患者间各临床表现所占比例比较, 差异无统计学意义(*P*>0.05); ≥60岁组患者IgA肾病发生率明显低于<35岁组和35-59组, 差异具有统计学意义(*P*<0.01); ≥60岁组患者高血压性肾损害发生率明显高于35-59组, 差异具有统计学意义(*P*<0.01). 糖尿病合并NDRD患者中青年患者多为慢性肾炎综合征, 中年患者临床表现多样, 老年患者多为肾病综合征和慢性肾衰竭, 青中年患者病理类型多为IgAN, 老年患者多为膜性肾病.

刘剑, 景照峰, 胡蓉, 晏家华, 罗敏. 糖尿病患者合并非糖尿病肾损害的临床病理分析及评价. 世界华人消化杂志 2014; 22(13): 1902-1906 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1902.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1902

0 引言

糖尿病肾病是糖尿病患者由于病情进展而累及肾脏微血管引发肾脏损害, 由于糖尿病临床发病率较高, 导致糖尿病肾病发生率也较高[1]. 典型糖尿病肾病患者临床诊断较为容易, 但近几年国内大量研究对非糖尿病肾损害(non-diabetic renal diseases, NDRD)进行了报道, 指出糖尿病患者临床表现为肾脏损害也可能是NDRD[2]. 目前对于糖尿病合并NDRD的临床诊断及病理类型研究已经逐渐受到专家重视, 现回顾性分析我院收治的165例糖尿病合并NDRD患者的临床病理特点, 为临床诊治提供参考, 报道如下.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2010-10/2013-10我院收治的糖尿病合并NDRD患者165例作为研究对象. 所有患者均符合糖尿病相关诊断标准[3]和肾活检病理诊断标准[4]. 按照患者年龄将165例患者分为<35岁组27例、35-59组110例和≥60岁组28例, 患者一般资料如表1.

1.2 方法 回顾性分析3组患者一般情况, 包括性别、年龄、病程、空腹血糖(fasting blood-glucose, FBG)、合并高血压、糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)、临床表现、肾脏病理类型分布特点.

患者临床表现为肾病综合征(nephrotic syndrome, NS)、慢性肾炎综合征(chronic nephritic syndrome, CNS)、隐匿性肾炎、急性肾衰竭(acute renal failure, ARF)、慢性肾衰竭(chronic renal failure, CRF)等[5].

患者肾脏病理类型为微小病变肾病(minimal change disease, MCD)、局灶增生型肾小球肾炎、局灶节段性肾小球硬化症(focal segmental glomerulosclerosis, FSGS)、膜性肾病(membranous nephropathy, MN)、膜增生性肾小球肾炎(membrano-proliferative glomerulonephritis, MPGN)、系膜增生性肾小球肾炎(mesangial proliferative glomerulonephritis, MsPGN)、毛细血管内增生性肾小球肾炎(endocapillary glomerulonephritis, EnPGN)、新月体性肾小球肾炎(crescentic glomerulonephritis, CREGN)、IgAN、薄基底膜肾病(thin basement membrane nephropathy, TBMN)、淀粉样变性肾损害、肥胖相关性肾小球损害、肾小管间质损伤(tubulointerstitial lesion, TIL)、HRL、合并HRL、合并糖尿病肾

■研发前沿
本研究入选病例仍然较少, 需要进一步增加研究基数, 以进一步提高研究准确性.

■相关报道
内肾活检肾脏病理类型临床研究表明, IgAN约占所有病理类型的40%, 患者主要集中于青年和中年人, 这与本研究结果具有一致性.

表 1 3组患者一般情况比较

项目	<35岁组	35-59组	≥60岁组
n	27	110	28
性别*n*(%)			
男性	17(62.96)	61(55.45)	18(64.29)
女性	10(37.04)	49(44.55)	10(35.71)
平均年龄(岁)	28.82 ± 4.53	48.57 ± 6.76[b]	66.77 ± 5.05[ab]
平均病程(年)	1.06 ± 1.79	3.02 ± 3.57[b]	4.64 ± 4.89[ab]
FBG(mmol/L)	8.02 ± 4.70	7.10 ± 2.43	6.82 ± 2.16
合并高血压*n*(%)			
Ⅰ级	4(14.81)	15(13.64)	3(10.71)
Ⅱ级	5(18.52)	28(25.45)	10(35.71)
Ⅲ级	5(18.52)	27(24.55)	6(21.43)
DR *n*(%)	5(18.52)	15(13.64)	2(7.14)

[a]*P*<0.05 *vs* <35岁组; [b]*P*<0.01 *vs* 35-59组. DR: 糖尿病视网膜病变.

表 2 3组患者临床表现比较 *n*(%)

临床表现	<35岁组	35-59组	≥60岁组
n	27	110	28
慢性肾炎综合征	11(40.74)	39(35.45)	5(17.86)
肾病综合征	6(22.22)	30(27.27)	9(32.14)
隐匿性肾炎	5(18.52)	16(14.55)	3(10.71)
急性肾衰竭	3(11.11)	6(5.45)	4(14.29)
慢性肾衰竭	2(7.41)	19(17.27)	7(25.00)

病等[6].

统计学处理 本研究数据均采用SPSS18.0进行统计学处理, 计量资料采用mean±SD表示, 差异性比较使用*t*检验, 记数资料比较使用χ^2检验, *P*<0.05为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 3组患者一般情况比较 3组患者之间平均年龄和平均病程相互比较, 差异具有统计学意义(*P*<0.05或*P*<0.01); <35岁组患者空腹血糖水平和糖尿病视网膜病变发生率最高, 35-59岁组次之, ≥60岁组最低, 但3组之间比较, 差异无统计学意义(*P*>0.05); 3组患者之间男女比例和合并高血压情况比较, 差异无统计学意义(*P*>0.05)(表1).

2.2 3组患者临床表现比较 3组患者临床表现分布情况存在差异, <35岁组患者临床表现主要为CNS、其次为NS和隐匿性肾炎; 35-59组患者临床表现主要为CNS、其次为NS和CRF; ≥60岁组患者临床表现主要为NS, 其次为CRF和CNS. 但3组患者间各临床表现所占比例比较, 差异无统计学意义(*P*>0.05)(表2).

2.3 3组患者肾脏病理类型比较 3组患者病理类型分布情况存在差异, <35岁组患者主要病理类型为IgAN, 其次为合并HRL、肥胖相关性肾小球损害和合并DN; 35-59组患者主要病理类型为IgAN, 其次为MN、合并HRL; ≥60岁组患者主要病理类型为MN, 其次为合并HRL、TIL; ≥60岁组患者IgAN发生率明显低于<35岁组和35-59组, 差异具有统计学意义(*P*<0.01); ≥60岁组患者HRL发生率明显高于35-59组, 差异具有统计学意义(*P*<0.01)(表3).

3 讨论

临床研究表明, 糖尿病肾病和NDRD均为糖尿病患者病情进展引发的肾脏损害[7]. 其中糖尿病肾病病情进展缓慢, 临床诊断较为简单, 一般实验室检查白蛋白水平超过200 μg/min, 同时合并DR且排除其他肾脏疾病或尿路疾病即可确诊[8]. 但NDRD确诊通常需要采取肾活检, NDRD患者一般糖尿病病程<5年, 合并DR发生率低且可见尿液中红细胞异常增多或肉眼血尿等[9].

本研究通过将糖尿病合并NDRD患者分为3个不同年龄段, 对3组患者临床表现及肾病病理特征进行比较分析. 患者平均糖尿病病程均低于5年, DR发生率较低, 与Haddiya等[10]的报道相符. 研究结果显示, 3组患者之间平均病程相互比较, 差异具有统计学意义. 但需要注意的是该时间为患者临床确诊为糖尿病至今的时间, 与患者实际患病时间存在一定误差[11]. 因此, 本研究中3组患者病程之间的比较可能受到影响. 患

表 3 3组患者肾脏病理类型比较 *n*(%)

病理类型	<35岁组	35–59组	≥60岁组
n	27	110	28
微小病变肾病	0(0.00)	2(1.82)	1(3.57)
局灶增生性肾小球肾炎	0(0.00)	6(5.45)	2(7.14)
局灶节段性肾小球硬化症	2(7.41)	2(1.82)	1(3.57)
膜性肾病	1(3.70)	19(17.27)	11(32.14)
膜增生性肾小球肾炎	0(0.00)	2(1.82)	0(0.00)
系膜增生性肾小球肾炎	2(7.41)	7(6.36)	5(14.29)
毛细血管内增生性肾小球肾炎	2(7.41)	1(0.91)	0(0.00)
新月体性肾小球肾炎	2(7.41)	2(1.82)	4(10.71)
IgA肾病	10(37.04)	47(42.73)	1(3.57)[bd]
薄基底膜肾病	0(0.00)	1(0.91)	0(0.00)
淀粉样变性肾损害	0(0.00)	2(1.82)	2(7.14)
肥胖相关性肾小球损害	3(11.11)	7(6.36)	1(3.57)
肾小管间质损伤	1(3.70)	10(9.09)	7(21.43)
高血压性肾损害	2(7.41)	2(1.82)	4(10.71)[b]
合并高血压性肾损害	6(22.22)	15(13.64)	8(25.00)
合并DN	3(11.11)	14(12.73)	2(7.14)

[b]*P*<0.01 *vs* 35–59组; [d]*P*<0.01 *vs* <35岁组. DR: 糖尿病视网膜病变.

■创新盘点
NDRD确诊通常需要采取肾活检, NDRD患者一般糖尿病病程＜5年, 合并糖尿病视网膜病变发生率低且可见尿液中红细胞异常增多或肉眼血尿等.

者糖尿病病程的长短直接影响到DR发生率以及患者肾脏病理损害的严重程度[12]. 3组患者合并高血压比例均较高, 3组之间比较, 差异无统计学意义. 表明年龄大小并不会影响患者合并高血压, 而糖尿病患者出现高血压时可怀疑合并NDRD.

3组患者临床表现分布情况存在差异, <35岁组患者临床表现主要为CNS, 35-59组患者临床表现主要为CNS、NS和CRF; ≥60岁组患者临床表现主要为NS, 与Watanabe等[13]的研究报道相似. 而3组患者间各临床表现所占比例比较, 差异无统计学意义, 表明不同年龄段患者临床表现分布无明显差异. 在病理类型分布上<35岁组和35-59组患者主要病理类型为IgAN, ≥60岁组患者主要病理类型为MN. 表明不同年龄段患者病理类型具有一定特异性, 与国外相关文献报道相似[14]. 3组患者病理类型均多而复杂, 这与肾脏疾病的病理类型多样化是一致的. 另外, 国内肾活检肾脏病理类型临床研究表明, IgAN约占所有病理类型的40%[15], 患者主要集中于青年和中年人, 这与本研究结果具有一致性.

总之, 糖尿病合并NDRD临床表现和病理类型具有一定年龄特征, 中青年患者多为CNS, 中年患者临床表现多样, 老年患者多为NS和CRF, 青中年患者病理类型多为IgAN, 老年患者多为MN. 临床诊断仍旧需要依靠肾活检检查, 可结合部分典型临床表现和病理类型辅助诊断. 另外, 本研究入选病例仍然较少, 需要进一步增加研究基数, 以进一步提高研究准确性.

4 参考文献

1 冉秀荣. 糖尿病患者并发非糖尿病性肾脏病变的特点分析及临床表现. 中国医药指南 2013; 11: 446-447
2 中华医学会糖尿病学分会. 中国2型糖尿病防治指南(2010年版). 中国医学前沿杂志(电子版) 2011; 03: 54-107
3 齐丽艳. 关于糖尿病的新诊断标准与分型. 求医问药(下半月) 2013; 11: 195
4 邹万忠. 肾活检病理诊断标准指导意见. 中华肾脏病杂志 2001; 17: 270-275
5 McGill JB. Improving microvascular outcomes in patients with diabetes through management of hypertension. *Postgrad Med* 2009; 121: 89-101 [PMID: 19332966 DOI: 10.3810/pgm.2009.03.1980]
6 金光善. 糖尿病患者并发非糖尿病性肾脏病变的病理特点及临床表现. 中国医药指南 2013; 11: 491-492
7 金文香. 2型糖尿病并发非糖尿病肾损害病理探讨. 中外医疗 2011; (30): 84
8 林杏娟. 2型糖尿病合并早期糖尿病肾病的相关危险因素分析. 当代医学 2013; 19: 05-06
9 曹李娜, 尚邦娟, 王娟, 陈剑辉, 张亚莉. 2型糖尿病并发非糖尿病肾损害26例临床与病理分析. 陕西医学杂志 2010; 39: 615-617
10 Haddiya I, Hamzaoui H, Al Hamany Z, Radoui A, Rhou H, Benamar L, Bayahia R, Ouzeddoun N. Isolated non diabetic renal disease in diabetic patients: a Moroccan report. *Saudi J Kidney Dis Transpl* 2010; 21: 555-558 [PMID: 20427893]
11 解立怡, 薛武军, 谭峰, 吕晶, 尹爱萍, 冯学亮. 2型糖尿病合并肾脏损害136例肾活检分析. 陕西医学杂志 2008; 37: 1346-1348
12 杜勇, 杨念生, 李幼姬, 姜宗培, 姜傥, 余学清. 2型糖尿病患者合并非糖尿病肾损害的临床病理分析. 中华糖

■同行评价
本研究分析临床病理, 有一定的学术价值.

尿病杂志 2004; 12: 409-412
13 Watanabe Y, Fujii H, Aoki K, Kanazawa Y, Miyakawa T. A cross-sectional survey of chronic kidney disease and diabetic kidney disease in Japanese type 2 diabetic patients at four urban diabetes clinics. *Intern Med* 2009; 48: 411-414 [PMID: 19293538]
14 Lin YL, Peng SJ, Ferng SH, Tzen CY, Yang CS. Clinical indicators which necessitate renal biopsy in type 2 diabetes mellitus patients with renal disease. *Int J Clin Pract* 2009; 63: 1167-1176 [PMID: 18422591 DOI: 10.1111/j.1742-1241.2008.01753.x]
15 刘岩, 肖笑, 钟小仕, 余学清, 吉村吾志夫, 出浦照国. 糖尿病患者合并肾脏损害的肾活检病理与临床研究. 中华肾脏病杂志 2006; 22: 19-23

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费

本刊讯 为了方便作者来稿, 保证稿件尽快公平、公正的处理, 《世界华人消化杂志》编辑部研究决定, 从2011年开始对所有来稿不再收取审稿费. 审稿周期及发表周期不变. (《世界华人消化杂志》编辑部)

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com
世界华人消化杂志 2014年5月8日; 22(13): 1907-1910
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

脂联素及受体变化在妊娠期糖尿病发病中的意义和相关因素

张美贞, 叶泉忠

张美贞, 衢州市人民医院体检中心 浙江省衢州市 324000
叶泉忠, 衢州市人民医院消化内科 浙江省衢州市 324000
张美贞, 主治医师, 主要从事妊娠期相关疾病的研究.
作者贡献分布: 本研究由张美贞与叶泉忠共同完成.
通讯作者: 张美贞, 主治医师, 324000, 浙江省衢州市钟楼底2号, 衢州市人民医院体检中心. zhangmeizhen1122@163.com
电话: 0570-3023071
收稿日期: 2014-02-24 修回日期: 2014-03-13
接受日期: 2014-04-14 在线出版日期: 2014-05-08

Significance of adiponectin and its receptors in pathogenesis of gestational diabetes mellitus

Mei-Zhen Zhang, Quan-Zhong Ye

Mei-Zhen Zhang, Department of medical examination center, Quzhou People's Hospital, Quzhou 324004, Zhejiang Province, China
Quan-Zhong Ye, Department of Gastroenterology, Quzhou People's Hospital, Quzhou 324004, Zhejiang Province, China
Correspondence to: Mei-Zhen Zhang, Physician, Quzhou People's Hospital Medical Center, 2 Zhongloudi, Quzhou 324004, Zhejiang Province, China. zhangmeizhen1122@163.com
Received: 2014-02-24 Revised: 2014-03-13
Accepted: 2014-04-14 Published online: 2014-05-08

Abstract

AIM: To analyze the significance of adiponectin (APN) and its receptors in in the pathogenesis of gestational diabetes mellitus (GDM) and the relevant factors involved.

METHODS: Fifty pregnant women with GDM treated between June 2011 and June 2013 at our hospital and 50 normal pregnant women were included into an observation group and a control group, respectively. Fasting blood glucose, insulin and other laboratory indicators were retrospectively analyzed, and their relationship with serum APN was explored.

RESULTS: In the observation group, body mass index (BMI), fasting plasma glucose (FPG), total cholesterol (TC), triacylglycerol (TG), fasting insulin (FINS), homestasis model assessment for insulin resistance (HONA-IR) and APN were 24.97 kg/m^2 ± 4.32 kg/m^2, 7.02 mmol/L ± 0.63 mmol/L, 5.39 mmol/L ± 1.29 mmol/L, 2.27 mmol/L ± 1.18 mmol/L, 19.37 mU/L ± 6.37 mU/L, 9.27 mmol/L ± 1.56 mmol/L, 2.17 mg/L ± 0.69 mg/L and 1.31 mg/L ± 0.22 mg/L, respectively; the corresponding values in the control group were 23.77 kg/m^2 ± 2.39 kg/m^2, 3.91 mmol/L ± 0.59 mmol/L, 4.21 mmol/L ± 0.68 mmol/L, 1.12 mmol/L ± 0.28 mmol/L, 13.24 mU/L ± 5.61 mU/L, 3.26 mmol/L ± 0.51 mmol/L, 3.62 mg/L ± 1.02 mg/L and 0.11 mg/L ± 0.03 mg/L. The above indexes differed significantly between the two groups (P < 0.05 for all). Serum APN levels showed a negative correlation with pre-pregnancy BMI, TG, HOMA-IR and FINS (r = -0.371, -0.459, -0.281, -0.321, P < 0.01 for all).

CONCLUSION: In GDM patients, APN and its receptors are closely related to insulin resistance, and clinical determination of APN may be helpful for the diagnosis and treatment of GDM.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Adiponectin; Adiponectin receptor; Gestational diabetes mellitus

Zhang MZ, Ye QZ. Significance of adiponectin and its receptors in pathogenesis of gestational diabetes mellitus. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(13): 1907-1910
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1907.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1907

摘要

目的: 分析脂联素(adiponectin, APN)及受体变化在妊娠期糖尿病(gestational diabetes mellitus, GDM)发病中的意义和相关因素.

方法: 随机选取2011-06/2013-06我院接收治疗的50例妊娠期糖尿病孕妇和50例正常妊娠妇女, 分成观察组和对照组, 对两组孕妇空腹血

■背景资料
妊娠期糖尿病是临床中常见的基本之一, 其具体的发病机制尚未完全明确. 研究显示, 该病与胰岛素抵抗以及胰岛功能减退具有一定的关联. 而近年临床对脂肪细胞因子和炎症因子的研究逐渐深入, 而脂联素是脂肪细胞分泌的一种细胞因子, 具有较强的抗炎和抗糖尿病以及抗动脉粥样硬化的作用. 因此, 研究重点分析脂联素及受体变化在妊娠期糖尿病的变化及作用.

■同行评议者
何继满, 教授, 南方医科大学南方医院消化研究所

糖、胰岛素等实验室指标进行对比测定, 对临床数据进行回顾性分析, 评价血脂联素与各项指标之间的关系.

结果: 观察组体质量指数(body mass index, BMI)、空腹血糖(fasting plasma glucose, FPG)、总胆固醇(total cholesterol, TC)、三酰甘油(triacylglycerol, TG)、以及空腹胰岛素(fasting insulin, FINS)、胰岛素抵抗指数(homestasis model assessment for insulin resistance, HOMA-IR)、APN为24.97 kg/m^2±4.32 kg/m^2, 7.02 mmol/L±0.63 mmol/L, 5.39 mmol/L±1.29 mmol/L, 2.27 mmol/L±1.18 mmol/L, 19.37 mU/L±6.37 mU/L, 9.27 mmol/L±1.56 mmol/L, 2.17 mg/L±0.69 mg/L, 1.31 mg/L±0.22 mg/L *vs* 对照组BMI、FPG、TC、TG、FINS、HONA-IR、APN的23.77 kg/m^2±2.39 kg/m^2, 3.91 mmol/L±0.59 mmol/L, 4.21 mmol/L±0.68 mmol/L, 1.12 mmol/L±0.28 mmol/L, 13.24 mU/L±5.61 mU/L, 3.26 mmol/L±0.51 mmol/L, 3.62 mg/L±1.02 mg/L, 0.11 mg/L±0.03 mg/L, 统计学有意义(P<0.05); 血清APN水平与孕前BMI、TG、HOMA-IR、FINS呈现明显负相关(r = -0.371, -0.459, -0.281, -0.321, P<0.01).

结论: 妊娠期糖尿病患者脂联素及受体变化与患者机体胰岛素抵抗密切相关, 临床测定妊娠期糖尿病患者脂联素积极作用于妊娠期糖尿病诊断治疗.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 脂联素; 脂联素受体; 妊娠期糖尿病

核心提示: 妊娠期糖尿病患者血清中脂联素呈现低表达, 而受体呈现高表达. 脂联素的表达与患者机体胰岛素抵抗密切相关, 并且该指标的表达与孕前体质量指数(body mass index)、三酰甘油(triacylglycerol)、胰岛素抵抗指数(homestasis model assessment for insulin resistance)、空腹胰岛素(fasting insulin)呈现明显负相关. 临床中通过检测其表达对指导妊娠期糖尿病诊治具有重要意义.

张美贞, 叶泉忠. 脂联素及受体变化在妊娠期糖尿病发病中的意义和相关因素. 世界华人消化杂志 2014; 22(13): 1907-1910 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1907.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1907

0 引言

妊娠期糖尿病(gestational diabetes mellitus, GDM), 是孕妇在妊娠期比较常见的一种内科合并症之一, 该类病症对胚胎的发育会造成很大的影响, 极易出现早产、流产、死胎、产后出血等情况, 对母子两人的生命安全都具有很大的威胁. 临床中GDM的发病机制与胰岛素抵抗(insulin resistance, IR)以及胰岛功能减退具有一定的关联. 临床研究显示, 严重胰岛素抵抗的发生提示GDM与2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)之间具有共同的发病机制. 随着近年来参与其中的脂肪细胞因子和炎症因子逐渐地成为关注的热点. 而脂联素(adiponectin, APN)是脂肪细胞分泌的一种细胞因子, 具有较强的抗炎和抗糖尿病以及抗动脉粥样硬化的作用[1,2]. 为了进一步的了解该病的发病状况, 本次研究随机选取2011-06/2013-06我院接收治疗的50例妊娠期糖尿病孕妇和50例正常妊娠妇女, 通过对其临床资料进行综合分析, 初步了解APN及受体变化在妊娠期糖尿病发病中的意义和相关因素, 旨在提高对妊娠期糖尿病的诊断能力, 现内容如下.

1 材料和方法

1.1 *材料* 研究对象为随机选取2011-06/2013-06我院接收治疗的50例妊娠期糖尿病孕妇和50例正常妊娠妇女, 分别分成观察组和对照组, 观察组孕妇年龄范围24-37岁, 平均年龄27.1岁±1.9岁, 平均孕周27.5 wk±1.1 wk; 对照组孕妇年龄范围23-36岁, 平均年龄28.2岁±1.6岁, 平均孕周26.9 wk±1.3 wk; 所有入选病例诊断标准参考《实用内科学》中诊断标准, 排除有严重心、肝等重要器官和血液病变者, 临床治疗期间不遵医行为者[3]. 所有患者年龄、孕周等资料对比差异无统计学意义(P>0.05), 具有可比性.

1.2 *方法* 初次产检时, 对观察组和对照组孕妇进行详细询问并记录孕前腰围、孕前体质量、测量身高、计算体质量指数(body mass index, BMI).

1.2.1标本采集: 分娩时对标本进行采集, 胎盘娩出后, 及时在胎盘母体面中央, 防止钙化、筋膜、机化灶等情况, 切取1.0 cm×1.0 cm胎盘全层组织, 并用生理盐水进行冲洗, 吸取血清测空腹血糖、胰岛素、C肽, 其余血清分装存-70 ℃冰箱, 待标本采集完毕后同批测定APN.

1.2.2 实验室指标测定: 采用全自动生化分析仪对实验室指标进行检测, 包括: 体质量指数(body mass index, BMI)、空腹血糖(fasting plasma glucose, FPG)、总胆固醇(total cholesterol, TC)、三

■**研发前沿**
本次研究重点从脂肪细胞因子的角度出发, 分析脂联素及其受体的变化, 也是临床中研究的重点. 多数的研究显示, 脂联素及其受体在乳腺癌中具有一定的表达, 并且在其发病中具有一定的作用. 本研究中分析妊娠期糖尿病患者血清中脂联素及其受体表达, 从分子学的角度诠释其作用机制.

■**相关报道**
临床中对于妊娠期糖尿病的发病机制研究主要是停留在客观的因素, 包括吸烟史和基础性疾病以及环境等. 随着分子学和细胞学的发展, 人们对妊娠期糖尿病发病机制研究的方向也发生了改变. 研究研究显示, 脂联素及其受体与代谢综合征之间具有一定的联系, 而妊娠期糖尿病的发生与患者的代谢功能也具有一定的联系. 本次研究从脂联素及其受体角度进行分析, 了解其在妊娠期糖尿病中的作用机制.

表 1 两组100例妊娠妇女实验室指标对比 (n = 50, mean ± SD)

分组	BMI (kg/m^2)	FPG (mmol/L)	TC (mmol/L)	TG (mmol/L)	FINS (mU/L)	HONA-IR (mmol/L)	APN (mg/L)	AdipoRI (mg/L)
观察组	24.97 ± 4.32	7.02 ± 0.63	5.39 ± 1.29	2.27 ± 1.18	19.37 ± 6.37	9.27 ± 1.56	2.17 ± 0.69	1.31 ± 0.22
对照组	23.77 ± 2.39	3.91 ± 0.59	4.21 ± 0.68	1.12 ± 0.28	13.24 ± 5.61	3.26 ± 0.51	3.62 ± 1.02	0.11 ± 0.03
F值	59.245	26.738	9.527	16.581	13.637	5.112	6.396	4.731
P值	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

BMI: 体质量指数; FPG: 空腹血糖; TC: 总胆固醇; TG: 三酰甘油; FINS: 空腹胰岛素; HONA-IR: 胰岛素抵抗指数; APN: 血清脂联素; AdipoRI: 脂联素受体1.

表 2 血清APN与实验室指标相关因素分析

实验室指标	r值	P值
BMI	−0.371	0.0004
TG	−0.459	0.0015
HOMA-IR	−0.281	0.0005
FINS	−0.321	0.0003

BMI: 体质量; TG : 三酰甘油; HOMA-IR: 胰岛素抵抗指数; FINS: 空腹胰岛素.

酰甘油(triacylglycerol, TG)、以及空腹胰岛素(fasting insulin, FINS)、胰岛素抵抗指数(homestasis model assessment for insulin resistance, HOMA-IR). 应用氧化酶法测定TC, 应用葡萄糖氧化酶法测定FPG, 应用甘油磷酸氧化酶一过氧化物酶法测定TG. 应用ELISA法进行测定APN含量. 采用免疫印迹法(Western blot)检测APN受体1(AdipoRI).

统计学处理 研究中所得到的相关数据采用SPSS12.0统计学数据处理软件进行处理分析, 各项参数以mean±SD表示, 采用t和χ^2检验, P<0.05为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 观察组和对照组实验室指标对比 观察组BMI、FPG、TC、TG、FINS、HONA-IR、APN、AdipoRI分别与对照组相比, 数据差异具有统计学意义(P<0.01)(表1).

2.2 血清APN与实验室指标相关因素 就观察组妇女血清APN与其他实验室指标相关因素展开分析, 将血清APN作为应变量, 以孕前BMI、TG、HOM A-IR、FINS为自变量进行多元回归分析, 结果表明, 血清APN水平与孕前BMI、TG、HOM A-IR、FINS呈现明显负相关, 血清APN与实验室指标相关因素分析(表2).

3 讨论

由于GDM患者对胰岛素的敏感性显著降低, 为了维持体内必要的血糖水平就必然的增加体内的血糖, 从而使胎儿出现高胰岛素症状. 患者持续高血糖、高胰岛素、高血氨基酸的症状, 会导致巨大儿的出现, 同时会造成患者微血管发生相应的变化, 影响到胎盘的循环, 从而出现胎儿窘迫以及新生儿窒息现象[4]. 现阶段医学研究结果表明, 妊娠期糖尿病受胰岛素抵抗、胰岛β细胞分泌重要影响. 伴随着孕妇妊娠期不断地推进, 孕妇机体对胰岛素的敏感程度会出现逐渐降低的现象, 出现机体胰岛素分泌量需求扩增, 从而引发胰岛素抵抗产生胰脏β细胞功能障碍[5-8]. 人类机体APN基因由apM1 mRNA编码, 处于染色体3q27上, 组成成分为2个内含子、3个外显子. APN作用于胰岛素具有抗感染、抗动脉粥样硬化、抗糖尿病以及增敏胰岛素的功效, 在胰岛素素抵抗、T2DM患者机体中, APN循环浓度均呈下降态势[9].

本次研究结果表明, 观察组BMI、FPG、TC、TG、FINS、HONA-IR、APN分别与对照组相比, 数据差异具有统计学意义(P<0.01). APN通过对组织增敏胰岛素, 积极改善机体胰岛β细胞分泌胰岛素, 缩减糖尿病血管性不良症状发生率, 在胰岛素抵抗和妊娠期糖尿病中起到至关重要的作用[10]. 血清APN水平与孕前BMI、TG、HOMA-IR以及FINS现明显负相关. 研究结果提示低脂联素与胰岛素抵抗相关联, 脂联素能够抗胰岛素抵抗, 其机制可能因为机体脂联素作用于患者骨骼肌、肝脏5-AMP活化以及蛋白激酶磷酸化活化, 促进乙酰辅酶A羧化酶磷酸化, 实现患者机体扩增对脂肪酸氧化、葡萄糖摄取[11-13]. 脂联素作用于骨骼肌脂肪酸氧化, 防止肝脏糖异化发生, 对胰岛素抵抗进行改善, 还通过降低TG量对胰岛素抵抗进行改善. 脂联素

■创新盘点
本次的临床研究显示, 脂联素作用于骨骼肌脂肪酸氧化, 防止肝脏糖异化发生, 对胰岛素抵抗进行改善, 还通过降低TG量对胰岛素抵抗进行改善. 这一结论也证实, 脂联素在妊娠期糖尿病发病中的作用. 同时, 研究还分析了影响脂联素及其受体表达的相关因素, 从而更准确的了解其作用.

■应用要点
临床中妊娠期糖尿病患者的脂联素及受体明显异于正常对象, 并且其变化与患者机体胰岛素抵抗密切相关. 同时, 临床中通过测定妊娠期糖尿病患者脂联素的变化, 对指导其诊断与治疗具有重要意义.

■同行评价
本研究重点分析了脂联素及受体变化在妊娠期糖尿病发病中的作用，可读性比较强. 但是，由于研究的例数相对较少，依然需要大型临床研究分析，从而得出更精准的结论.

水平降低与胰岛素抵抗呈平行关系，临床可采取的相应措施为扩大脂肪氧化，直接作用于胰岛素受体以及受体后水平信号的传输，防止肝脏糖异化及脂肪组织肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor α, TNF-α)信号传输[14,15].

总之，妊娠期糖尿病患者脂联素及受体变化与患者机体胰岛素抵抗密切相关，临床测定妊娠期糖尿病患者脂联素积极作用于妊娠期糖尿病诊断治疗.

4 参考文献

1 张妍, 张苏河, 李慧聪. 妊娠期糖尿病孕妇血清脂联素水平变化与胰岛素抵抗关系的研究. 实用诊断与治疗杂志 2008; 22: 355-356
2 邓拥军, 柯宗明. 血清脂联素水平胰岛素抵抗与代谢综合征的相关性. 实验与检验医学杂志 2011; 29: 49-50
3 贾忠兰, 卢新, 王雅杰, 郭艳玲, 方芳, 康熙雄. 瘦素脂联素抵抗素内肥素与妊娠糖尿病胰岛素抵抗的相关性研究. 中国免疫学杂志 2008; 24: 1133-1134
4 付艳芹, 张东铭, 辛雅萍, 张苏河. 妊娠期糖尿病患者脂肪组织脂联素mRNA表达与胰岛素抵抗的关系. 山东医药 2010; 50: 36-37
5 朱亚莉, 邓冰. 内脂素、抵抗素在妊娠期糖尿病发病中的作用. 中国优生与遗传杂志 2011; 19: 62-65
6 许晓霞, 李铁菊, 冯春宇. 妊娠期体质量血清瘦素脂联素水平与胰岛素抵抗的关系. 临床和实验医学杂志 2011; 10: 1077-1078
7 方园, 吴照芳, 黄会金, 高群英, 王小兰, 胡美霞. 妊娠期糖尿病孕妇血清visfatin与胰岛素抵抗的关系. 南昌大学学报(医学版) 2010; 50: 60
8 刘登岩, 于健, 周素娴, 周燕, 李全谋, 石修映, 林枫, 石青峰. 妊娠期糖尿病患者抵抗素水平的改变及临床意义. 大连医科大学学报 2008; 30: 334-335
9 Yokoyama H, Saito S, Daitoku K, Fukuda I, Higuma T, Hanada H, Osanai T, Okumura K. Effects of pravastatin and rosuvastatin on the generation of adiponectin in the visceral adipose tissue in patients with coronary artery disease. *Fundam Clin Pharmacol* 2011; 25: 378-387 [PMID: 20608995 DOI: 10.1111/j.1472-8206.2010.00847.x]
10 Pereira MJ, Palming J, Rizell M, Aureliano M, Carvalho E, Svensson MK, Eriksson JW. The immunosuppressive agents rapamycin, cyclosporin A and tacrolimus increase lipolysis, inhibit lipid storage and alter expression of genes involved in lipid metabolism in human adipose tissue. *Mol Cell Endocrinol* 2013; 365: 260-269 [PMID: 23160140 DOI: 10.1016/j.mce.2012.10.030]
11 Zimmermann GS, Bastos MF, Dias Gonçalves TE, Chambrone L, Duarte PM. Local and circulating levels of adipocytokines in obese and normal weight individuals with chronic periodontitis. *J Periodontol* 2013; 84: 624-633 [PMID: 22839694 DOI: 10.1902/jop.2012.120254]
12 田明, 吴连方. 妊娠期糖尿病孕妇并发妊娠期高血压疾病的临床特点及血清CRP、IL-6、TNF-α的水平分析. 中国妇幼保健 2012; 27: 1318-1321
13 宫玉典, 刘文娟, 初永丽. 妊娠期糖尿病患者血浆抵抗素水平与胰岛素抵抗的关系. 山东医药 2008; 48: 61-62
14 郑璐, 张涵, 杜鹃. 脂联素和抵抗素与妊娠期糖尿病的相关性研究. 中国医科大学学报 2011; 40: 645-648
15 焦鑫, 谭志军, 孙浩, 张建良. 脂联素受体表达与Ⅱ、Ⅲ期结肠癌患者术后辅助化疗预后的关系. 肿瘤防治研究 2013; 40: 580-583

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年5月8日; 22(13): 1911-1914
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

病例报告 CASE REPORT

十二指肠球部溃疡浸润致假性动脉瘤破裂引发致命性上消化道大出血1例

肖 源, 杨 杰, 李亭颖, 陈 治, 杨麒臻

肖源, 杨杰, 李亭颖, 陈治, 杨麒臻, 贵阳医学院附属医院消化科 贵州省贵阳市 550004
肖源, 在读硕士, 主治医师, 主要从事消化内镜诊疗技术的研究.
贵州省科学技术基金资助项目, No. 黔科合L字[2008]2284号
作者贡献分布: 本文由肖源收集撰写; 杨杰指导修改; 陈治、李亭颖及杨麒臻协助整理完成.
通讯作者: 杨杰, 教授, 550004, 贵州省贵阳市贵医街28号, 贵阳医学院附属医院消化科. yangjielaila@163.com
收稿日期: 2014-02-18 修回日期: 2014-03-19
接受日期: 2014-03-28 在线出版日期: 2014-05-08

One case of upper gastrointestinal tract hemorrhage due to rupture of pseudoaneurysm caused by duodenal bulb ulcer

Yuan Xiao, Jie Yang, Ting-Ying Li, Zhi Chen, Qi-Zhen Yang

Yuan Xiao, Jie Yang, Ting-Ying Li, Zhi Chen, Qi-Zhen Yang, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Guiyang Medical University, Guiyang 550004, Guizhou Province, China
Supported by: Guizhou Province Science and Technology Foundation, No. [2008]2284
Correspondence to: Jie Yang, Professor, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Guiyang Medical University, 28 Guiyi Road, Guiyang 550004, Guizhou Province, China. yangjielaila@163.com
Received: 2014-02-18 Revised: 2014-03-19
Accepted: 2014-03-28 Published online: 2014-05-08

Abstract
Nonvariceal upper tract hemorrhage is a common emergency clinically, and the peptic ulcer prevails over other pathogeneses. According to the endoscopic manifestations of ulcer bleeding, the endoscopic Forrest grading is used to guide the clinical therapeutic strategy. Here we report one patient suffering from massive hemorrhage of the upper gastrointestinal tract, whose bleeding was due to pseudoaneurysm rupture caused by duodenal bulb ulcer. The patient was successfully rescued by comprehensive treatment including interventional embolization and medications such as multiple gastric mucosa protective agents. This case will promote the awareness of the Forrest grading and provide more data for improving the treatment of massive gastrointestinal bleeding.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Massive hemorrhage of the upper gastrointestinal tract; Duodenal bulb ulcer; Pseudoaneurysm

Xiao Y, Yang J, Li TY, Chen Z, Yang QZ. One case of upper gastrointestinal tract hemorrhage due to rupture of pseudoaneurysm caused by duodenal bulb ulcer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(13): 1911-1914 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1911.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1911

摘要
非静脉曲张上消化道出血是临床常见急诊. 病因以消化性溃疡占首位. 按照溃疡的胃镜下出血表现, 即Forrest分级制定诊治策略已成为国内外共识. 本文报道1例十二指肠球部溃疡浸润致假性动脉瘤破裂, 导致上消化道大出血的患者, 在行介入栓塞、及多种药物、包括多种胃黏膜保护剂的综合治疗下救治成功经验, 为临床推广Forrest分级及提高上消化道大出血救治水平积累资料.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 消化系出血; 十二指肠球部溃疡; 假性动脉瘤

核心提示: 假性动脉瘤位于十二指肠溃疡面上罕见, 手术或介入治疗等何为首选尚有争议. 本例行介入治疗后, 并经积极保守治疗后获得成功. 提示在手术治疗风险大, 积极内科治疗联合介入治疗, 有可能降低此类患者胃大部切除的风险, 对临床具有借鉴意义. 另外, 该患者第2次复查胃镜所见溃疡其上的血痂, 按Forres分级为Ⅱb, 应行内镜下止血治疗. 内镜下处理能否降低此类患者的再出血率, 尚待积累更多经验.

肖源, 杨杰, 李亭颖, 陈治, 杨麒臻. 十二指肠球部溃疡浸润

■背景资料
假性动脉瘤(pseudoaneurysm, PSA)指动脉管壁被撕裂或穿破, 血液自此破口流出而被动脉邻近的组织包裹而形成血肿. 发病原因可能与胰头区炎症、动脉粥样硬化、感染、创伤等有关多. 他与真性动脉瘤的区别在于, 他不像真性动脉瘤那样具有动脉血管的外膜、中层弹力纤维和内膜三层结构. 其位于溃疡面上的假性动脉瘤临床罕见.

■同行评议者
戈之铮, 教授, 上海交通大学医学院附属仁济医院消化科

■研发前沿
假性动脉瘤自愈者很少，传统的治疗方法是手术. 本例病例联合介入栓塞及多种胃黏膜保护剂促进溃疡面愈合等综合内科治疗获得成功，对临床具有一定借鉴意义.

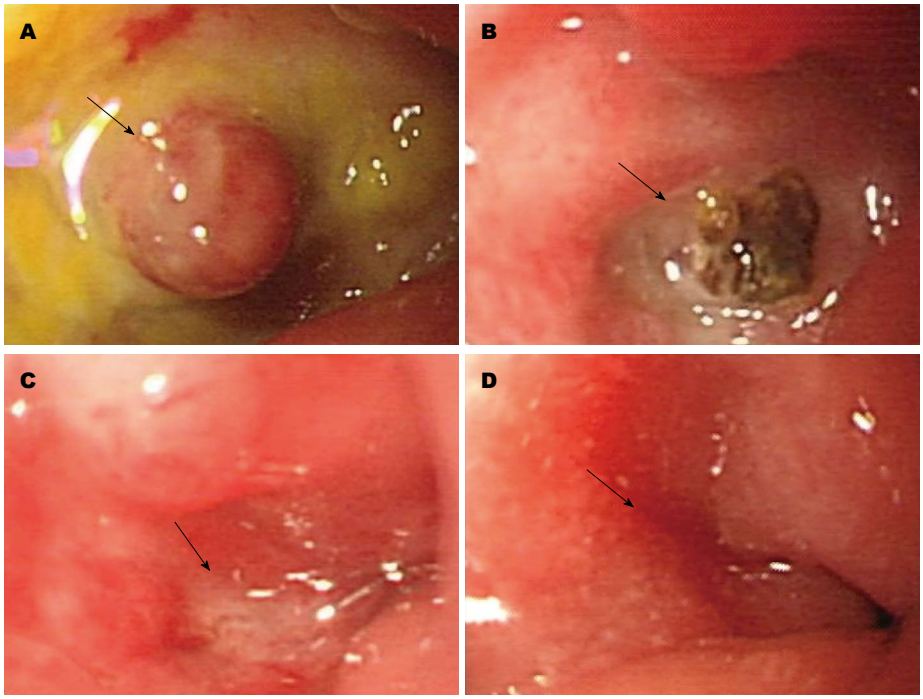


图 1 内镜. A: 十二指肠球部溃疡白苔中央存在柱状隆起病变; B: 十二指肠球部溃疡白苔中央暗紫色血痂; C: 十二指肠球部溃疡白苔中央血痂消失, 溃疡较前缩小; D: 十二指肠球部溃疡并球腔变形.

致假性动脉瘤破裂引发致命性上消化道大出血1例. 世界华人消化杂志 2014; 22(13): 1911-1914 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1911.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i13.1911

0 引言

假性动脉瘤位于溃疡面之上罕见, 临床病情凶险, 现将我院1例十二指肠球部溃疡浸润致假性动脉瘤破裂引发致命性上消化道大出血1例报道如下.

1 病例报告

患者, 男性, 40岁, 因“上腹痛2 mo, 呕血、黑便2 d”入院, 2 d前出现呕血, 量约100 mL, 为暗红色血液伴有胃内容物. 黑便3次, 量约500 mL, 为柏油样大便, 伴头昏、乏力, 晕倒1次, 就诊于我院急诊科, 予输注悬浮红细胞2 U后转入我科继续治疗. 入院时查体: 血压98 mmHg/70 mmHg, 贫血貌, 心肺阴性, 腹平软, 上腹部深压痛, 肝脾肋下未扪及, 余无特殊. 血常规示: RBC: 2.19 T/L、HGB: 71 g/L.大便隐血阳性, 肝功能正常. 胃镜: (1)十二指肠球部溃疡(A2期), 白苔中央柱状隆起性质? Forrest ⅡC级; (2)慢性非萎缩性胃炎伴胆汁反流(重度); (3)十二指肠炎(图1A). 予埃索美拉唑40 mg静滴*tid*、生长抑素3 mg泵入250 μg/h等止血和补液治疗, 患者腹痛减轻、无呕血、未排大便. 血常规复查见红细胞及血红蛋白上升: RBC: 2.66 T/L、HGB: 85 g/L. 临床考虑出血停止, 继续原有治疗.

入院第3天突然再次呕血, 出血量约2000 mL, 血压低至41/21 mmHg, 伴意识淡漠、烦躁不安. 急查血常规见HGB下降至52 g/L. 诊断为消化系溃疡再发出血伴失血性休克. 在积极输血及抗休克同时, 急请介入科及胃肠外科等会诊. 介入科在DSA下行“腹腔干、胃十二指肠动脉造影+胃十二指肠动脉栓塞术”. 发现再出血原因为胃十二指肠动脉假性动脉瘤破裂出血(图2A), 经介入福爱乐医用胶栓塞治疗后未见造影剂溢出, 无出血征象(图2B), 安返病房, 当日无呕血、排便, 血红蛋白未见继续下降, 血压正常, 考虑休克纠正, 消化系出血停止.

次日患者再次呕血、黑便, 出血量约500 mL. 再次请介入科及胃肠外科急会诊. 介入科不建议再次介入治疗. 胃肠外科考虑出血量相对减少, 手术风险大, 建议暂时予内科保守治疗, 做好开腹手术准备. 继续予埃索美拉唑、生长抑素和补液等治疗同时, 加用多种胃黏膜保护剂胃管内注入, 以瑞巴派特、蒙脱石散、果胶铋混悬液等促进溃疡修复, 经上述处理后患者未见活动性出血.

入院后总输血量悬浮红细胞16 U约3200

■相关报道
尽管手术治疗是治疗内脏假性动脉瘤的金标准, 但因病例数少, 手术或介入治疗等何为首选尚有争议. 有研究者认为对于胃十二指肠假性动脉瘤而言, 以血管内介入治疗更为适宜.



图 2 造影. A: 胃十二指肠动脉造影后对比剂溢出并椭圆形阴影; B: 经栓塞后胃十二指肠动脉未见造影剂溢出.

■创新盘点

假性动脉瘤位于十二指肠球部溃疡面上较罕见, 联合介入栓塞及多种胃黏膜保护剂促进溃疡面愈合等综合内科治疗成功, 对临床有一定的借鉴价值, 减少患者痛苦, 在使用多种胃黏膜保护剂对溃疡愈合速度的影响积累经验.

mL, 血浆16 U约3200 mL、冷沉淀3个治疗量约1500 mL. 在大便转黄、无呕血7 d后, 复查胃镜见: 十二指肠球部溃疡(H1)、白苔中央暗紫色血痂, Forrest Ⅱb. 慢性非萎缩性胃炎(图1B). 继续禁食, 以及同等力度药物治疗, 未进行内镜下治疗. 6 d后在患者要求下, 再次胃镜示: 十二指肠球部溃疡(H1期)(图1C). 考虑假性动脉瘤消失, 溃疡逐渐愈合缩小, 且HGB上升至98 g/L, 同意患者出院观察. 出院后第19天复查胃镜示: 十二指肠球部溃疡(S2期)并球腔变形、狭窄(图1D), 患者一般情况好, 无消化不良症状及消化系出血临床表现, 已上班工作.

2 讨论

上消化道出血为临床常见急诊之一, 发病急骤, 及时救治能够挽回患者生命. 本例患者首次胃镜检查Forrest分级为Ⅱc级, 再出血风险及死亡率低, 可不进行内镜下止血治疗[1,2]. 但患者在出血短暂停止后, 又再次出现活动性大出血以至于休克, 病情危殆. 考虑内科治疗困难, 行介入手术栓塞治疗, 拟介入治疗失败行外科手术, 无意中发现十二指肠球部假性动脉瘤.

胃十二指肠动脉瘤无论真性或假性均罕见. B超及钡餐的诊断价值有限, 确诊有赖于血管造影或CT[3]. CT无创简便但漏诊率高, 如同本例患者CT也未发现异常, 而是通过肠系膜上动脉造影而发现. 假性动脉瘤在动脉血管造影上表现为对比剂外溢, 管腔显现一囊腔, 显影持续至静脉晚期[4]. 尽管手术治疗是治疗内脏假性动脉瘤的金标准[5], 但因病例数少, 手术或介入治疗等何为首选尚有争议. 有研究者认为对于胃十二指肠假性动脉瘤而言, 以血管内介入治疗更为适宜[6,7]. 本例行介入治疗后, 一度出血停止1天之后再发出血, 但再次出血量较前减少, 积极保守治疗后出血停止. 提示在手术治疗风险大, 积极内科治疗联合介入治疗, 有可能降低此类患者胃大部切除的风险.

一般而言, 胃十二指肠动脉瘤多由手术、胰腺炎所致[8], 本例假性动脉瘤位于溃疡面之上, 极为罕见. Pubmedline或cnki、维普等以“动脉瘤”为关键词检索到的文献中均未见. 且动脉瘤管壁厚, 非如静脉瘤可呈现蓝色调, 普通胃镜下常难以判断动脉瘤形成的隆起性病变性质. 本例因消化道出血而行急诊胃镜, 患者一般情况差, 未继续行超声内镜判断该隆起性病变性质. 如能明确为血管瘤, 立即行介入血管栓塞治疗, 或许能够避免该患者的再次出血[9].

另外, 对于该患者第2次复查胃镜所见溃疡其上的血痂, 按Forrest分级为Ⅱb, 应行内镜下止血治疗. 但对于溃疡面上的血痂, 是否需要摘除之后行APC治疗尚有争议. 鉴于该血痂为假性动脉瘤形成, 内镜下处理风险大, 未行内镜下处理. 尽管如此, 内镜下处理能否降低此类患者的再出血率, 尚待积累更多经验.

在本例中, 在行血管栓塞术后的第2天仍有活动性出血表现, 在埃索美拉唑、生长抑素持续泵入等原有方案基础上, 联合多种胃黏膜保护剂而成功止血. 是否多种胃黏膜保护剂能够促进病损愈合, 降低上消化道大出血患者的死亡风险.

3 参考文献

1 Sung JJ, Chan FK, Chen M, Ching JY, Ho KY, Kachintorn U, Kim N, Lau JY, Menon J, Rani AA, Reddy N, Sollano J, Sugano K, Tsoi KK, Wu CY, Yeomans N, Vakil N, Goh KL. Asia-Pacific Working Group consensus on non-variceal upper gastrointestinal bleeding. *Gut* 2011; 60: 1170-1177 [PMID: 21471571 DOI: org/10.1136/gut.2010.230292]

2 苏燕波, 唐建光, 刘晓敏, 廖日斌. 急诊内镜对消化性溃疡出血进行Forrest分级的临床应用. 中国内镜杂志 2011; (3): 247-250 254

3 Habib N, Hassan S, Abdou R, Torbey E, Alkaied H, Maniatis T, Azab B, Chalhoub M, Harris K. Gas-

■同行评价
本病例临床罕见, 经积极内科治疗联合介入治疗获得成功, 对临床具有一定借鉴意义.

troduodenal artery aneurysm, diagnosis, clinical presentation and management: a concise review. *Ann Surg Innov Res* 2013; 7: 4 [PMID: 23587203 DOI: org/10.1186/1750-1164-7-4]
4 段旭华, 梁惠民, 冯敢生, 郑传胜, 熊斌. 胃十二指肠动脉假性动脉瘤血管造影诊断及栓塞治疗. 临床放射学杂志 2010; (2): 242-245
5 Marone EM, Mascia D, Kahlberg A, Brioschi C, Tshomba Y, Chiesa R. Is open repair still the gold standard in visceral artery aneurysm management? *Ann Vasc Surg* 2011; 25: 936-946 [PMID: 21620671 DOI: org/10.1016/j.avsg.2011.03.006]
6 肖乐, 崔建峰, 陈涛. 胃十二指肠假性动脉瘤一例. 中国全科医学 2010; (11): 1245
7 卢武胜, 赵纪春, 马玉奎, 黄小亚. 经导管凝血酶栓塞治疗十二指肠巨大假性动脉瘤一例. 介入放射学杂志 2006; 15: 640
8 Klauß M, Heye T, Stampfl U, Grenacher L, Radeleff B. Successful arterial embolization of a giant pseudoaneurysm of the gastroduodenal artery secondary to chronic pancreatitis with literature review. *J Radiol Case Rep* 2012; 6: 9-16 [PMID: 22690281 DOI: org/10.3941/jrcr.v6i2.919]
9 Sadek M, Rockman CB, Berland TL, Maldonado TS, Jacobowitz GR, Adelman MA, Mussa FF. Coil embolization of a gastroduodenal artery pseudoaneurysm secondary to cholangitis: technical aspects and review of the literature. *Vasc Endovascular Surg* 2012; 46: 550-554 [PMID: 22903332 DOI: 10.1177/1538574412457082]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年5月8日; 22(13): Ⅰ-Ⅴ
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

《世界华人消化杂志》投稿须知

《世界华人消化杂志》为保证期刊的学术质量, 对所有来稿均进行同行评议, 是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊2012年版)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》收录的学术期刊.

1 投稿总则

1.1 性质 《世界华人消化杂志(*World Chinese Journal of Digestology*, *WCJD*, ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569)》是一份同行评议和开放获取期刊(Open Access Journal, OAJ), 创始于1993-01-15, 旬刊, 每月8、18和28号出版. 《世界华人消化杂志》编辑委员会成员, 由483位专家组成, 分布在30个省市、自治区和特别行政区.

《世界华人消化杂志》的首要任务是出版胃肠病学, 肝病学, 消化系内镜学, 消化系外科学, 消化系肿瘤学, 消化系影像学, 消化系介入治疗, 消化系病理学, 消化系感染学, 消化系药理学, 消化系病理生理学, 消化系病理学, 消化系循证医学, 消化系管理学, 胰腺病学, 消化系检验医学, 消化系分子生物学, 消化系免疫学, 消化系微生物学, 消化系遗传学, 消化系转化医学, 消化系诊断学, 消化系治疗学和糖尿病等领域的原始创新性文章, 综述文章和评论性的文章. 最终目的是出版高质量的文章, 提高期刊的学术质量, 使之成为指导本领域胃肠病学和肝病学实践的重要学术性期刊, 提高消化系疾病的诊断和治疗水平.

《世界华人消化杂志》由百世登出版集团有限公司(Baishideng Publishing Group, BPG)主办和出版的一份印刷版, 电子版和网络版三种版本的学术类核心期刊, 由北京百世登生物医学科技有限公司生产制作, 所刊载的全部文章存储在《世界华人消化杂志》网站上. OAJ最大的优点是出版快捷, 一次性缴纳出版费, 不受版面和彩色图片限制, 作者文章在更大的空间内得到传播, 全球读者免费获取全文PDF版本, 网络版本和电子期刊. 论文出版后, 作者可获得高质量PDF, 包括封面、编委会成员名单、目次、正文和封底, 作为稿酬, 样刊两本. BPG拥有专业的编辑团队, 涵盖科学编辑、语言编辑和电子编辑.目前编辑和出版42种临床医学OAJ期刊, 其中英文版41种, 具备国际一流的编辑与出版水平.

《世界华人消化杂志》被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊 2012年版)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》, 《Chemical Abstracts》, 《EMBASE/Excerpta Medica》, 《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录. 《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号. 《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学研究领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊.

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

2 撰稿要求

2.1 总体标准 文稿撰写应遵照国家标准GB7713科学技术报告、学位论文和学术论文的编写格式, GB6447文摘编写规则, GB7714文后参考文献著录规则, GB/T 3179科学技术期刊编排格式等要求; 同时遵照国际医学期刊编辑委员会(International Committee of Medical Journal Editors)制定的《生物医学期刊投稿的统一要求(第5版)》(Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals). 见: *Ann Intern Med* 1997; 126: 36-47.

2.2 名词术语 应标准化, 前后统一, 如原词过长且多次出现者, 可于首次出现时写出全称加括号内注简称, 以后直接用简称. 医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准, 药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准, 国家食品药品监督管理局批准的新药, 采用批准的药名; 创新性新药, 请参照我国药典委员会的“命名原则”, 新译名词应附外文. 公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称), 如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD50, HBsAg, HCV

《世界华人消化杂志》英文摘要被《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录.

RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等. 为减少排印错误, 外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上. 中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者, 直接采用原有英语词, 如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词, 如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者, 宜用汉语拼音, 如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤). 通常应小写.

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

2.4 计量单位 采用国际单位制并遵照有关国家标准, GB3100-3102-93量和单位. 原来的“分子量”应改为物质的相对分子质量. 如 30 kD改为M_r 30 000或30 kDa(M大写斜体, r小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即A_r(A大写斜体, r小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u(小写正体). 计量单位在+、－及-后列出. 在±前后均要列出, 如37.6 ℃±1.2 ℃, 45.6岁±24岁, 56.4 d±0.5 d. 3.56±0.27 pg/ml应为3.56 ng/L±0.27 ng/L. BP用kPa(mmHg), RBC数用1×10^{12}/L, WBC数用1×10^{9}/L, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L. M_r明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示. 1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸. 长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm×6 cm×4 cm. 生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO_2结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L. 年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁. 例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把1×10^{-3} g与5×10^{-7} g之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm. 国际代号不用于无数字的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d. 在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg•d), 且在整篇文章内应统一. 单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs. 半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L乙醇; 5% CO_2, 50 mL/L CO_2; 1∶1 000肾上腺素, 1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg, 改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm = 45×10^{-6}; 离心的旋转频率(原称转速)用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示.

2.5 统计学符号 (1)*t*检验用小写*t*; (2)*F*检验用英文大写*F*; (3)卡方检验用希文小写χ^2; (4)样本的

相关系数用英文小写r; (5)自由度用希文小写υ; (6)样本数用英文小写n; (7)概率用英文斜体大写P. 在统计学处理中在文字叙述时平均数±标准差表示为mean±SD, 平均数±标准误为mean±SE. 统计学显著性用$^{a}P<0.05$, $^{b}P<0.01$($P>0.05$不注). 如同一表中另有一套P值, 则$^{c}P<0.05$, $^{d}P<0.01$; 第三套为$^{e}P<0.05$, $^{f}P<0.01$等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字, 如1 000-1 500 kg, 3.5 mmol/L±0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6 347意指6 000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的mean±SD应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3 614.5 g±420.8 g, SD的1/3达一百多g, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6 kg±0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm±0.27 cm, 其SD/3 = 0.09 cm, 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位. 有效位数以后的数字是无效的, 应该舍. 末尾数字, 小于5则舍, 大于5则进, 如恰等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 末尾时只可1次完成, 不得多次完成. 例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该23.48→23.5→24. 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写. 如1985年4月12日, 可写作1985-04-12; 1985年4月, 写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止, 写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止, 写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30. 百分数的有效位数根据分母来定: 分母≤100, 百分数到个位; 101≤分母≤1 000, 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1 486 800.475 65. 完整的阿拉伯数字不移行!

2.7 标点符号 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律用逗号分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末. 标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU. 外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体.

3 稿件格式

3.1 题名 简明确切地反映论文的特定内容, 鲜明而有特色, 阿拉伯数字不宜开头, 不用副题名, 一般20个字. 避免用“的研究”或“的观察”等非特定词.

3.2 作者 论文作者的署名，按照国际医学杂志编辑委员会(ICMJE, International Committee of Medical Journal Editors)作者资格标准执行. 作者标准为: (1)对研究的理念和设计、数据的获得、分析和解读做出重大贡献; (2)起草文章, 并对文章的重要的知识内容进行批评性修改; (3)接受对准备发表文章的最后一稿. 作者应符合条件1, 2, 3, 对研究工作有贡献的其他人可放入志谢中. 作者署名的次序按贡献大小排列, 多作者时姓名间用逗号, 如是单名, 则在姓与名之间空1格(正文和参考文献中不空格). 《世界华人消化杂志》要求所有署名人写清楚自己对文章的贡献. 世界华人消化杂志不设置共同第一作者和共同通信作者.

3.3 单位 作者后写单位的全称空1格后再写省市及邮政编码. 格式如: 张旭晨, 梅立新, 承德医学院病理教研室 河北省承德市 067000

3.4 第一作者简介 格式如: 张旭晨, 1994年北京中医药大学硕士, 讲师. 主要从事消化系统疾病的病理研究.

3.5 作者贡献分布 格式如: 陈湘川与庞丽娟对此文所作贡献两均等; 此课题由陈湘川、庞丽娟、陈玲、杨兰、张金芳、齐妍及李洪安设计; 研究过程由陈玲、杨兰、张金芳、蒋金芳、杨磊、李锋及曹秀峰操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由曹秀峰提供; 数据分析由陈湘川、杨兰及庞丽娟完成; 本论文写作由陈湘川、庞丽娟及李洪安完成.

3.6 同行评议者 为了确保刊出文章的质量, 本刊即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名, 职称, 机构的名称与文章一同在脚注出版. 格式如: 房静远, 教授, 上海交通大学医学院附属医院仁济医院, 上海市消化疾病研究所.

《世界华人消化杂志》编辑部, 100025, 北京市朝阳区, 东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893, Email: wcjd@wjgnet.com; http://www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》自2006-01-01起改为旬刊发行, 每月8、18、28日出版.

3.7 基金资助项目 格式如: 国家自然科学基金资助项目, No. 30224801

3.8 通讯作者 格式如: 通讯作者: 黄缘, 教授, 330006, 江西省南昌市民德路1号, 南昌大学第二附属医院消化内科, 江西省分子医学重点实验室. huang9815@yahoo.com

电话: 0351-4078656 传真: 0351-4086337

收稿日期: 修回日期:

3.9 英文摘要

题名 文章的题名应言简意赅, 方便检索, 英文题名以不超过10个实词为宜, 应与中文题名一致.

作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名, 后姓; 首字母大写, 双名之间用半字线“-”分开, 多作者时姓名间加逗号. 格式如: “潘伯荣”的汉语拼写法为“Bo-Rong Pan”.

单位 先写作者, 后写单位的全称及省市邮政编码. 例如: Xu-Chen Zhang, Li-Xin Mei, Department of Pathology, Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China

基金资助项目 格式如: Supported by National Natural Science Foundation of China, No.30224801

通讯作者 格式如: Correspondence to: Dr. Lian-Sheng Ma, Taiyuan Research and Treatment Center for Digestive Diseases, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China. wcjd@wjgnet.com

收稿及修回日期 格式如: Received: Revised:

摘要 包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致.

3.10 中文摘要 必须在300字左右, 内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的), 方法(必须包括材料或对象. 应描述课题的基本设计, 双盲、单盲还是开放性, 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度. 研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征. 如研究对象是患者, 应阐明其临床表现, 诊断标准. 如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不良反应而中途停止研究), 结果(应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确、具体, 所列数据经用何种统计学方法处理; 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值; 概率写*P*, 后应写出相应显著性检验值), 结论(全文总结, 准确无误的观点及价值).

3.11 正文标题层次 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献. 序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文. 正文内序号连排用(1), (2), (3). 以下逐条陈述.

0 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系.

1 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验. 对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可.

2 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论.

3 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾.

图表的数量要精选. 表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容. 表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出. 图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出. 同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述. 如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化. A: …; B: …; C: …; D: …; E: …; F: …; G: …. 曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号. 统计学显著性用: $^{a}P<0.05$, $^{b}P<0.01$($P>0.05$不注). 如同一表中另有一套*P*值, 则$^{c}P<0.05$, $^{d}P<0.01$; 第3套为$^{e}P<0.05$, $^{f}P<0.01$. *P*值后注明何种检验及其具体数字, 如$P<0.01$, $t = 4.56$ *vs* 对照组等, 注在表的左下方. 表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐. “空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等. 表图勿与正文内容重复. 表图的标目尽量用*t*/min, *c*/(mol/L), *p*/kPa, *V*/mL, *t*/℃表达.

志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐.

4 参考文献 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序. 提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码. 文中如列作者姓名, 则需在“Pang等”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在该论述的句末右上

角注码号. 如马连生[1]报告……, 潘伯荣等[2-5]认为……; PCR方法敏感性高[6-7]. 文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]. 所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed,《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献. 期刊: 序号, 作者(列出全体作者). 文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID和DOI编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部),书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页.

5 网络版的发表前链接 本刊即将开始实行网络版的每篇文章上都有该文发表前纪录的链接, 包括首次提交的稿件, 同行评议人报告, 作者给审稿人回信和作者修回稿, 以PDF格式上传. 读者可以针对论文、审稿意见和作者的修改情况发表意见, 指出问题与不足; 作者也可以随时修改完善自己发表的论文, 使文章的发表成为一个编者、同行评议者、读者、作者互动的动态过程.

4 写作格式实例

4.1 述评写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/sp.asp

4.2 研究原著写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjyz.asp

4.3 焦点论坛写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/jdlt.asp

4.4 文献综述写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/wxzs.asp

4.5 研究快报写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjkb.asp

4.6 临床经验写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/lcjy.asp

4.7 病例报告写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/blbg.asp

5 投稿方式

接受在线投稿, 不接受其他方式的投稿, 如E-mail、打印稿. 在线投稿网址: http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx. 无法在线提交的通过submission@wjgnet.com, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893寻求帮助. 投稿须知下载网址http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.pdf. 审稿过程平均时间需要14-28天. 所有的来稿均经2-3位同行专家严格评审, 2位或以上通过为录用, 否则将退稿或修改后再审.

6 修回稿须知

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

6.2 稿件修改 来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删节时, 本刊编辑部将把退修稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改, 而作者必须于15天内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期寄回, 所造成的问题由作者承担责任.

6.3 版权 本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负. 作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期): 起止页码. 如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有.

《世界华人消化杂志》编辑部

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号

远洋国际中心D座903室

电话: 010-5908-0035

传真: 010-8538-1893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

http: //www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》坚持开放获取(open access, OA)的出版模式, 编辑出版高质量文章, 努力实现编委、作者和读者利益的最大化, 努力推进本学科的繁荣和发展, 向专业化、特色化和品牌化方向迈进.

世界华人消化杂志 2014年5月8日; 22(13): I
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

2014年国内国际会议预告

2014-03-12/15
2014年亚太肝病研究协会肝病周(APASL)
会议地点: 澳大利亚
联系方式: http://apasl2014.com/

2014-04-05/09
2014年美国癌症研究协会大会(AACR)
会议地点: 美国
联系方式: http://www.aacr.org/home/scientists/meetings--workshops/meetings--workshops-calendar.aspx

2014-04-09/13
2014年第49届欧洲肝病研究协年会(EASL)
会议地点: 英国
联系方式: http://www.easl.eu/_the-international-liver-congress/general-information

2014-04-18/05-20
2014中国超声医学学术大会
会议地点: 北京市
联系方式: http://www.cuda.org.cn/new/meeting

2014-04-26/27
中华医学会临床药学分会2014年全国学术会议
会议地点: 成都市
联系方式: http://www.cncscp.org/

2014-05-04/06
2014年美国消化疾病周(DDW)
会议地点: 美国
联系方式: http://www.ddw.org/attendees/faqs

2014-05-16/18
2014第七届世界癌症大会
会议地点: 南京市
联系方式: http://www.bitlifesciences.com/cancer2014/cn/meeting.asp

2014-05-23/24
第六届药源性疾病与安全用药中国论坛-消化系统与肝病药物专题研讨会
会议地点: 北京市
联系方式: adrhuiyi@126.com

2014-05-30/06-03
2014年美国临床肿瘤协会年会(ASCO)
会议地点: 美国
联系方式: http://www.asco.org/meetings/calendar-events

2014-06-04/07
2014年第20届国际肝移植协会年会(ILTS)
会议地点: 英国
联系方式: http://www.ilts.org/meetings/

2014-06-09/12
2014年第47届欧洲儿科胃肠病, 肝病和营养学协会大会(ESPGHAN)
会议地点: 以色列
联系方式: http://www.espghan2014.org/

2014-06-18/21
2014年欧洲胃肠与腹部放射学协会肝部成像研讨会(ESGAR)
会议地点: 奥地利
联系方式: http://www.esgar.org/files/File/ESGAR14

2014-06-25/28
2014年世界胃肠癌大会(WGIC)
会议地点: 西班牙
联系方式: http://worldgicancer.com/WCGI

2014-06-25/28
2014年第14届欧洲内窥镜手术协会国际大会(EAES)
会议地点: 法国
联系方式: hdimcs@163.com

2014-06-27/28
2014中华医学会肝病与代谢学术研讨会
会议地点: 上海市
联系方式: lilyjia@163.com

2014-07-26/31
2014年世界移植大会
会议地点: 美国
联系方式: http://www.wtc2014.org/

2014-07-28/30
第3届国际肠胃病学与泌尿学大会
会议地点: 美国
联系方式: http://www.omicsgroup.com/gastroenterology-urology-conference-2014/registration.php

2014-09-05/07
2014年第8届国际肝癌协会大会(ILCA)
会议地点: 日本
联系方式: http://www.ilca2014.org/

2014-09-26/30
2014年欧洲临床肿瘤协会年会(ESMO)
会议地点: 西班牙
联系方式: http://www.esmo.org/

2014-10-18/22
2014年第22届欧洲联合胃肠病学周(UEG)
会议地点: 奥地利
联系方式: http://www.ueg.eu/week/past-future/future-ueg-week/

世界华人消化杂志 2014年5月8日; 22(13): I
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

志谢世界华人消化杂志编委

本期文章审稿中(包括退稿), 我刊编委付出了宝贵的时间和大量的精力, 提高了《世界华人消化杂志》的学术质量, 在此表示衷心感谢!

陈国忠 主任医师
广西中医学院第一附属医院消化内科

陈卫昌 教授
苏州大学附属第一医院消化内科

戴朝六 教授
中国医科大学第二临床学院(盛京医院)肝胆外科

杜奕奇 副教授
中国人民解放军第二军医大学长海医院

樊晓明 教授
复旦大学附属金山医院消化科

傅华群 教授
南昌大学第二附属医院

何敏 教授
广西医科大学医学科学实验中心

黄文林 教授
中山大学附属肿瘤医院

黄颖秋 教授
本溪钢铁(集团)总医院消化内科

李刚 教授
北京大学医学部生物化学与分子生物学系

李康 教授
广东药学院药科学院药物分析教研室

李瑜元 教授
广州市第一人民医院内科

李正荣 副教授
南昌大学附属第一医院胃肠外科(普六病区)

李宗芳 教授
西安交通大学医学院第二附属医院

刘宝瑞 教授
南京大学医学院附属鼓楼医院肿瘤中心

刘正稳 教授
西安交通大学医学院第一附属医院

龙学颖 副主任医师
中南大学湘雅医院

禄韶英 副教授
西安交通大学医学院第一附属医院普外科

吕凌 副教授
江苏省人民医院肝脏外科

潘秀珍 教授
福建省立医院消化科

汤华 研究员
重庆医科大学感染性疾病分子生物学重点实验室

王道荣 主任医师
江苏省苏北人民医院胃肠外科

王德盛 副主任医师
中国人民解放军第四军医大学西京医院肝胆外科

王小众 教授
福建医科大学附属协和医院消化内科

魏睦新 教授
南京医科大学第一附属医院

吴道澄 教授
西安交通大学生命学院

杨柏霖 副主任医师
南京中医药大学附属医院

杨江华 副教授
皖南医学院弋矶山医院感染科

于珮 主任医师
天津医科大学代谢病医院

张宗明 教授
清华大学第一附属医院消化医学中心

赵铁建 教授
广西中医药大学基础医学院生理学教研室

周翔宇 副主任医师
泸州医学院附属医院血管甲状腺外科

世界华人消化杂志
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

《中文核心期刊要目总览》收录证书

《中文核心期刊要目总览》入编通知

尊敬的主编先生/女士：

我们谨此郑重通知：依据文献计量学的原理和方法，经研究人员对相关文献的检索、统计和分析，以及学科专家评审，贵刊《**世界华人消化杂志**》入编《中文核心期刊要目总览》2011 年版（即第六版）之 **临床医学/特种医学类** 的核心期刊。该书由北京大学出版社出版。书中按《中国图书馆分类法》的学科体系，列出了 73 个学科的核心期刊表，并逐一对核心期刊进行了著录。著录项目包括：题名、并列题名、主办单位、创刊时间、出版周期、学科分类号、ISSN 号、CN 号、邮发代号、编辑部地址、邮政编码、电话、网址、电子邮箱、内容简介等。

评选核心期刊的工作，是运用科学方法对各种刊物在一定时期内所刊载论文的学术水平和学术影响力进行综合评价的一种科研活动，研究工作量浩大。北京地区十几所高校图书馆、中国科学院国家科学图书馆、中国社会科学院文献信息中心、中国人民大学书报资料中心、中国学术期刊（光盘版）电子杂志社、中国科学技术信息研究所、北京万方数据股份有限公司、国家图书馆等相关单位的百余名专家和期刊工作者参加了研究。

课题组对核心期刊的评价理论、评价方法等问题进行了深入研究，进一步改进了核心期刊评价方法，使之更趋科学合理，力求使评价结果符合客观实际。对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被索量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web 下载量等 9 个评价指标，选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到 60 余种，统计到的文献数量共计 221177 余万篇次，涉及期刊 14400 余种。参加核心期刊评审的学科专家达 8200 多位。经过定量筛选和专家定性评审，从我国正在出版的中文期刊中评选出 1982 种核心期刊。

需要特别指出的是，该研究成果只是一种参考工具书，主要是为图书情报界、出版界等需要对期刊进行评价的用户提供参考，例如为各图书情报部门的中文期刊采购和读者导读服务提供参考帮助等，不应作为评价标准。谨此说明。

顺颂
撰安

《中文核心期刊要目总览》2011 年版编委会
代章：
2012 年 1 月



百世登

Baishideng®

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



ISSN 1009-3079



© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

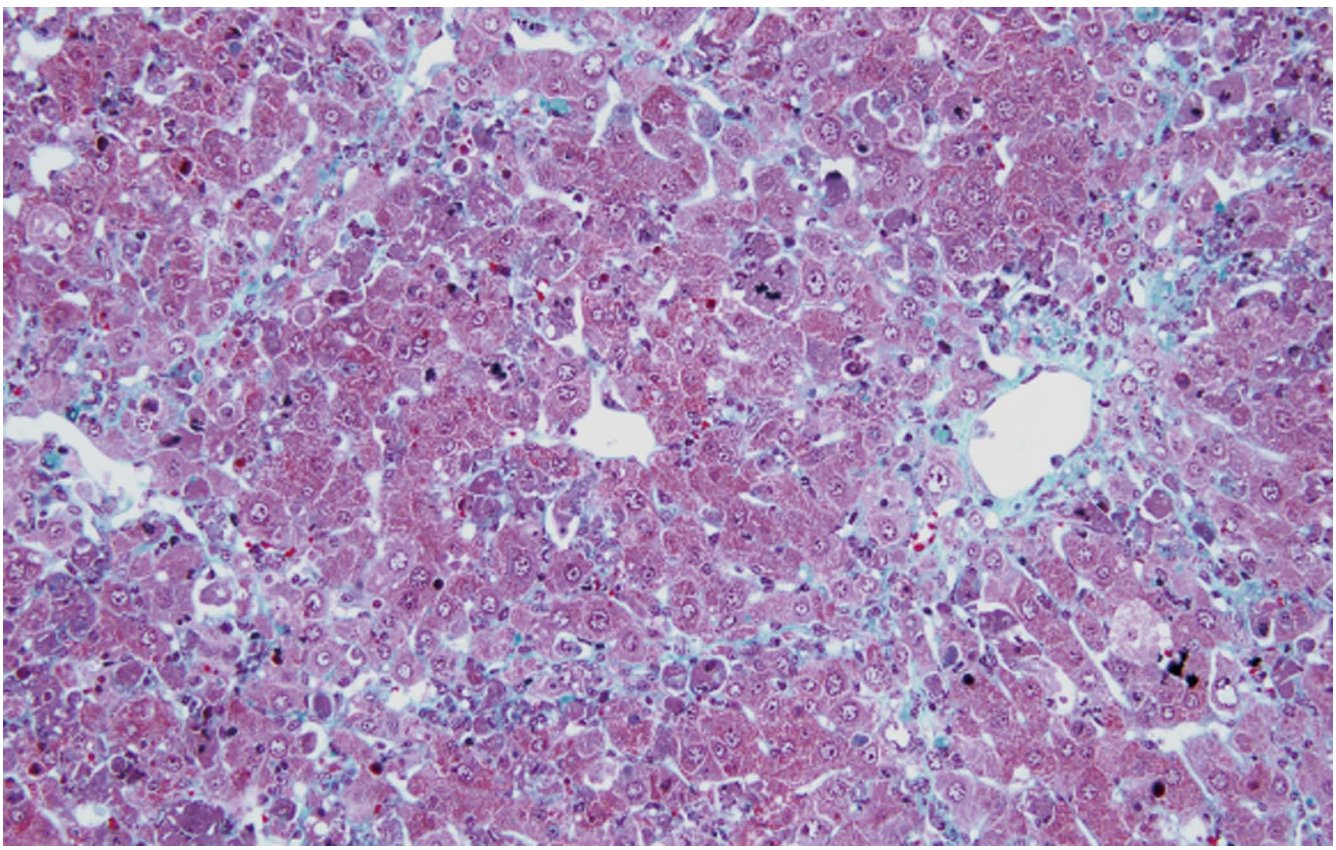
ISSN 1009-3079 (print)
ISSN 2219-2859 (online)

世界华人消化杂志®

WORLD CHINESE JOURNAL OF DIGESTOLOGY

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2014 年 5 月 18 日　　第 22 卷　　第 14 期　(Volume 22 Number 14)



14/2014

《世界华人消化杂志》是一份同行评议性的旬刊，是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊 2012年版)》和《中文核心期刊要目总览(2011年版)》收录的学术类期刊.《世界华人消化杂志》的英文摘要被《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录.

ISSN 1009-3079
9 771009 307056 14>

世界华人消化杂志
www.wjgnet.com
二零一四年五月十八日
第二十二卷
第十四期

世界华人消化杂志®

编辑委员会

2012-01-01/2014-12-31

wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

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

总顾问

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

名誉主编

潘伯荣教授

主编

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

编委

消化内科学

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

消化外科学

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

世界华人消化杂志®

编辑委员会

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

消化感染病学

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

消化中医药学

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

消化肿瘤学

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

消化影像学

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

消化内镜及介入治疗学

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

消化中西医结合学

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

消化基础研究

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

消化病理学

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

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目　次 ●　2014 年 5 月 18 日　第 22 卷　第 14 期　(总第454期)

基础研究

1915 汉丹肝乐对大鼠肝纤维化PI3K/Akt信号通路的影响及意义
胡晓霞, 王艳, 王晋星一

1921 蟾毒灵对人肝癌细胞增殖与侵袭的影响
盖吉钦, 秦建民, 范跃祖

1928 白藜芦醇对酒精诱导的HepG2细胞氧化损伤的保护作用及相关基因表达的变化
何培元, 高淑梅, 侯志平, 马立新, 李炳庆

1936 幽门螺杆菌菌毛蛋白FlaA IgY的制备及体外抑菌实验
彭姣, 卢超, 祁振强, 张国海

临床研究

1943 MicroRNA-34a、Notch1在肝细胞癌组织中的表达及临床意义
于泳, 李霄, 周亮, 窦科峰, 李小磊, 阮柏, 张卓超, 戴斌, 汪建林, 杨西胜, 王德盛

文献综述

1953 肝性胸水诊治的进展
胡铭洋, 彭燕

1959 肝螺杆菌感染与原发性肝癌相关性的研究进展
蒋旗, 黄衍强, 黄赞松

1966 新型钙离子通道TRPV5和TRPV6与胃肠肿瘤的研究进展
刘微, 刘模荣, 张慧

研究快报

1972 整合素a5b1对胃癌细胞黏附、转移及耐药的影响
贺宇, 齐洁敏, 谢朝辉, 张杰

1977 $CD133^{+}CXCR4^{+}$胃癌KATO-III细胞的侵袭能力
俞远林, 姜波健, 俞继卫

1984 紫草素对人共刺激细胞杀伤胃癌细胞的影响及其机制
郭雪兴, 刘军权, 陈复兴, 吕小婷, 陈永强, 陈剑群

1992 LNAzyme设计及其体外特异性抑制丙型肝炎病毒C基因的表达
邓益斌, 农乐根, 梁祚仁, 张梁, 覃羽华, 何平

1998 肝纤维化能够保护小鼠抵抗D-Gal/LPS诱导的致死性损伤
白丽, 孔明, 张晓慧, 丁美, 郑素军, 陈煜, 段钟平

2003 Genistein与5-FU通过p42/44 MAPK通路调控Bax诱导肝癌细胞凋亡
赵忠新, 迟大鹏, 王钰粟, 梅庆步, 于海涛, 岳丽玲, 王玉, 王秀华, 刘丹

2008 不同比例ω-3/ω-6多不饱和脂肪酸对DSS诱导大鼠急性结肠炎的影响
田玉玲, 王化虹, 田雨, 张维, 滕贵根, 何群

临床经验

2016 食管鳞癌患者血清Stathmin的表达及临床意义
赵楠, 韩波, 吴宗勇, 周兰萍, 刘芳, 颜露, 赵晓航, 许杨

2023 HBeAg阳性慢性乙型肝炎不同肝组织炎症与纤维化时期血清HBsAg含量的动力学特点
谭雷, 吴泽倩, 刘婷, 高志良, 柯伟民

2028 国产恩替卡韦对慢性乙型肝炎抗病毒治疗的Meta分析
郑人源, 张琴, 高勇, 卓强

2034 奥曲肽注射液联合前列地尔注射液在常规治疗肝硬化合并HES患者中的作用
刘剑, 景照峰, 晏家华, 罗敏, 胡蓉

2039 射波刀联合TACE治疗原发性肝癌108例
陈樱, 朱俊, 张火俊, 张晓青, 居小萍, 卢明智, 刘永明, 曹洋森, 于春山, 王晓艳

2045 妊娠合并急性胰腺炎的临床特点
喻研, 但自力

2049 人类真核延伸因子1A2与生长因子受体结合蛋白2在胰腺癌组织中的表达及临床病理意义
周维霞, 蒋晓红, 杨勇, 陈瑞东, 胡端敏

2055 腹腔镜辅助治疗巨大消化性溃疡穿孔53例
杨先智, 陈龙宇

2059 利多卡因联合帕瑞昔布在老年人腹腔镜结肠癌根治术中的应用
唐珩, 张培俊, 李艳华, 马庆杰

2064 胆囊结石与胆囊壁黏膜幽门螺杆菌定植的关系
王炜, 朱建华, 韩江, 吴衍, 丁佩芬
2069 小组心理干预对妊娠期糖尿病患者焦虑抑郁情绪及妊娠结局的影响
杜献, 阮淑萍, 朱剑峰

附　录
Ⅰ-Ⅴ 《世界华人消化杂志》投稿须知
Ⅰ 2014年国内国际会议预告

志　谢
Ⅰ 志谢世界华人消化杂志编委

消　息
1952 中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》影响因子0.873
2015 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版)
2027 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊
2054 《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号
2063 《世界华人消化杂志》参考文献要求

封面故事
白丽, 孔明, 张晓慧, 丁美, 郑素军, 陈煜, 段钟平. 肝纤维化能够保护小鼠抵抗D-Gal/LPS诱导的致死性损伤. 世界华人消化杂志 2014; 22(14): 1998-2002
http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1998.asp
http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i14.1998

本期责任人
编务 李香; 送审编辑 鲁亚静, 郭鹏; 组版编辑 鲁亚静; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 郭鹏; 形式规范审核 编辑部主任 田滢; 最终清样审核总编 马连生

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平　题写封面刊名
陈可冀　题写版权刊名
(旬刊)

创　刊 1993-01-15
改　刊 1998-01-25
出　版 2014-05-18
原刊名 新消化病学杂志

期刊名称
世界华人消化杂志

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

主编
程英升, 教授, 200233, 上海市, 上海交通大学附属第六人民医院放射科
党双锁, 教授, 710004, 陕西省西安市, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科
江学良, 教授, 250031, 山东省济南市, 中国人民解放军济南军区总医院消化科
刘连新, 教授, 150001, 黑龙江省哈尔滨市, 哈尔滨医科大学第一临床医学院普外科
刘占举, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院消化内科
吕宾, 教授, 310006, 浙江省杭州市, 浙江中医药大学附属医院(浙江省中医院)消化科
马大烈, 教授, 200433, 上海市, 中国人民解放军第二军医大学附属长海医院病理科
王俊平, 教授, 030001, 山西省太原市, 山西省人民医院消化科
王小众, 教授, 350001, 福建省福州市, 福建医科大学附属协和医院消化内科
姚登福, 教授, 226001, 江苏省南通市, 南通大学附属医院临床医学研究中心
张宗明, 教授, 100016, 北京市, 清华大学第一附属医院消化医学中心

编辑部
田滢, 主任
《世界华人消化杂志》编辑部
100025, 北京市朝阳区东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室
电话: 010-59080035　手机: 13901166126
传真: 010-85381893
E-mail: wcjd@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com

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

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

《世界华人消化杂志》被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊 2012年版)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》, 《Chemical Abstracts》, 《EMBASE/Excerpta Medica》, 《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录.

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

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

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

定价
每期90.67元 全年36期3264.00元

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

World Chinese Journal of Digestology

May 2014 Contents in Brief Volume 22 Number 14

BASIC RESEARCH

1915 Handan Ganle inhibits PI3K/Akt signaling pathway in liver fibrosis in rats
Hu XX, Wang Y, Wang JXY

1921 Bufalin inhibits proliferation and invasion of human liver cancer cells
Gai JQ, Qin JM, Fan YZ

1928 Resveratrol protects against alcohol-induced oxidative stress in human HepG2 cells
He PY, Gao SM, Hou ZP, Ma LX, Li BQ

1936 *In vitro* bacteriostatic activity of IgY against recombinant *Helicobacter pylori* FlaA protein
Peng J, Lu C, Qi ZQ, Zhang GH

CLINICAL RESEARCH

1943 Clinical significance of expression of microRNA-34a and Notch1 in hepatocellular carcinoma
Yu Y, Li X, Zhou L, Dou KF, Li XL, Ruan B, Zhang ZC, Dai B, Wang JL, Yang XS, Wang DS

REVIEW

1953 Progress in diagnosis and treatment of hepatic hydrothorax
Hu MY, Peng Y

1959 Relationship between *Helicobacter hepaticus* infection and hepatocellular carcinoma
Jiang Q, Huang YQ, Huang ZS

1966 Novel calcium ion channels TRPV5 and TRPV6 and gastrointestinal tumors
Liu W, Liu MR, Zhang H

RAPID COMMUNICATION

1972 Role of integrin a5b1 in adhesion, migration and extramedullary infiltration of gastric cancer cells
He Y, Qi JM, Xie ZH, Zhang J

1977 High invasive capacity of $CD133^{+}CXCR4^{+}$ gastric cancer cells
Yu YL, Jiang BJ, Yu JW

1984 Shikonin induces cytotoxicity of co-stimulated human cells to gastric cancer cell lines
Guo XX, Liu JQ, Chen FX, Lv XT, Chen YQ, Chen JQ

1992 Hepatitis C virus gene-specific locked nucleic acid enzyme significantly inhibits C gene expression *in vitro*
Deng YB, Nong LG, Liang ZR, Zhang L, Qin YH, He P

1998 Liver fibrosis protects mice against lethal injury induced by D-GalN/LPS
Bai L, Kong M, Zhang XH, Ding M, Zheng SJ, Chen Y, Duan ZP

2003 Genistein and 5-FU inhibit apoptosis of human hepatocellular cancer cells by regulating Bax *via* p42/44 MAPK pathway
Zhao ZX, Chi DP, Wang YS, Mei QB, Yu HT, Yue LL, Wang Y, Wang XH, Liu D

2008 Effects of different ratios of ω-3/ω-6 polyunsaturated fatty acids on experimental acute colitis in rats
Tian YL, Wang HH, Tian Y, Zhang W, Teng GG, He Q

CLINICAL PRACTICE

2016 Clinical significance of serum Stathmin in esophageal squamous cell carcinoma
Zhao N, Han B, Wu ZY, Zhou LP, Liu F, Yan L, Zhao XH, Xu Y

2023 Dynamic changes in serum HBsAg levels in HBeAg-positive chronic hepatitis B patients with different liver inflammation grades and fibrosis stages
Tan L, Wu ZQ, Liu T, Gao ZL, Ke WM

2028 China-made entecavir for treatment of chronic hepatitis B: A Meta-analysis
Zheng RY, Zhang Q, Gao Y, Zhuo Q

2034 Therapeutic effects of octreotide combined with alprostadil on cirrhosis with hepatorenal syndrome
Liu J, Jing ZF, Yan JH, Luo M, Hu R

2039 Short-term effects of cyberknife combined with TACE for treatment of primary liver cancer
Chen Y, Zhu J, Zhang HJ, Zhang XQ, Ju XP, Lu MZ, Liu YM, Cao YS, Yu CS, Wang XY

2045 Clinical characteristics of acute pancreatitis in pregnancy
Yu Y, Dan ZL

2049 Clinicopathologic significance of expression of EEF1A2 and GRB2 in pancreatic adenocarcinoma
Zhou WX, Jiang XH, Yang Y, Chen RD, Hu DM

2055 Laparoscopic-assisted surgery for perforated peptic ulcer: Analysis of 53 cases
Yang XZ, Chen LY

2059 Application of lidocaine combined with parecoxib in elderly patients undergoing laparoscopic radical resection for colon cancer
Tang H, Zhang PJ, Li YH, Ma QJ

2064 Relationship between gallbladder stones and *Helicobacter pylori* colonization of the gallbladder mucosa
Wang W, Zhu JH, Han J, Wu Y, Ding PF

	2069 Influence of group psychological intervention on anxiety, depression and pregnancy outcomes in primiparous women *Du X, Ruan SP, Zhu JF*
APPENDIX	I – V Instructions to authors of *World Chinese Journal of Digestology* I Meeting events calendar in 2014
ACKNOWLEDGMENT	I Acknowledgments to reviewers of *World Chinese Journal of Digestology*
COVER	*Bai L, Kong M, Zhang XH, Ding M, Zheng SJ, Chen Y, Duan ZP*. Liver fibrosis protects mice against lethal injury induced by D-GalN/LPS. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(14): 1998-2002 http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1998.asp http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i14.1998
RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE	Assistant Editor: *Xiang Li* Review Editor: *Ya-Jing Lu, Peng Guo* Electronic Page Editor: *Ya-Jing Lu* English Language Editor: *Tian-Qi Wang* Editor-in-Charge: *Peng Guo* Proof Editor: *Ying Tian* Layout Editor: *Lian-Sheng Ma*

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

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993
Renamed on January 25, 1998
Publication date May 18, 2014

NAME OF JOURNAL
World Chinese Journal of Digestology

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

EDITOR-IN-CHIEF
Ying-Sheng Cheng, Professor, Department of Radiology, Sixth People's Hospital of Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200233, China
Shuang-Suo Dang, Professor, Department of Infectious Diseases, the Second Affiliated Hospital of Medical School of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, Shaanxi Province, China
Xue-Liang Jiang, Professor, Department of Gastroenterology, General Hospital of Jinan Military Command of Chinese PLA, Jinan 250031, Shandong Province, China
Lian-Xin Liu, Professor, Department of General Surgery, the First Clinical Medical College of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China
Zhan-Ju Liu, Professor, Department of Gastroenterology, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China
Bin Lv, Professor, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hang-zhou 310006, Zhejiang Province, China
Da-Lie Ma, Professor, Department of Pathology, Changhai Hospital, the Second Military Medical University of Chinese PLA, Shanghai 200433, China
Jun-Ping Wang, Professor, Department of Gastroenterology, People's Hospital of Shanxi, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China
Xiao-Zhong Wang, Professor, Department of Gastroenterology, Union Hospital, Fujian Medical University, Fuzhou 350001, Fujian Province, China
Deng-Fu Yao, Professor, Clinical Research Center, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China
Zong-Ming Zhang, Professor, Department of General Surgery, Digestive Medical Center, the First Affiliated Hospital, School of Medicine, Tsinghua University, Beijing 100016, China

EDITORIAL OFFICE
Ying Tian, Director
World Chinese Journal of Digestology
Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China
Telephone: +86-10-59080035 13901166126
Fax: +86-10-85381893
E-mail: wcjd@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com

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

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

PRINT SUBSCRIPTION
RMB 90.67 Yuan for each issue
RMB 3264 Yuan for one year

COPYRIGHT
© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved. Articles published by this Open Access journal are distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-commercial License, which permits use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited, the use is non commercial and is otherwise in compliance with the license.

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

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

世界华人消化杂志 2014年5月18日; 22(14): 1915-1920
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

基础研究 BASIC RESEARCH

汉丹肝乐对大鼠肝纤维化PI3K/Akt信号通路的影响及意义

胡晓霞, 王 艳, 王晋星一

胡晓霞, 王艳, 王晋星一, 贵阳医学院生理学教研室 贵州省 贵阳市 550004
胡晓霞, 讲师, 主要从事肝纤维化防治的研究.
作者贡献分布: 此课题由胡晓霞设计; 实验内容由胡晓霞与王艳负责操作完成; 研究所用试剂由胡晓霞提供; 数据分析由王晋星一完成; 本论文写作由胡晓霞完成.
通讯作者: 胡晓霞, 讲师, 550004, 贵州省贵阳市北京路9号, 贵阳医学院生理学教研室. hxx2000@163.com
收稿日期: 2014-03-04 修回日期: 2014-03-20
接受日期: 2014-03-28 在线出版日期: 2014-05-18

Handan Ganle inhibits PI3K/Akt signaling pathway in liver fibrosis in rats

Xiao-Xia Hu, Yan Wang, Jin-Xing-Yi Wang

Xiao-Xia Hu, Yan Wang, Jin-Xing-Yi Wang, Department of Physiology, Guiyang Medical College, Guiyang 550004, Guizhou Province, China
Correspondence to: Xiao-Xia Hu, Lecturer, Department of Physiology, Guiyang Medical College, 9 Beijing Road, Guiyang 550004, Guizhou Province, China. hxx2000@163.com
Received: 2014-03-04 Revised: 2014-03-20
Accepted: 2014-03-28 Published online: 2014-05-18

Abstract

AIM: To observe the change of the PI3K/Akt signaling pathway in CCl_4 induced liver fibrosis and to explore the effect of Handan Ganle on this signaling pathway in hepatic fibrosis in rats.

METHODS: Thirty SD rats were randomly divided into a normal control group, a liver fibrosis group and a Handan Ganle treated group. The rats of the liver fibrosis group and Handan Ganle treated group were treated by hypodermic injection of 40% CCl_4 at 0.3 mL/100 g body weight to induce hepatic fibrosis. Then, the rats in the Handan Ganle group were treated with 1.0 g/kg Handan Ganle once daily for 8 weeks. The expression of Akt1 and phospho-Akt1 was detected by immunohistochemistry and Western blot, and the apoptosis of HSCs was determined by TUNEL assay.

RESULTS: Compared with the normal control group, the expression of Akt1 (2.73 ± 0.52 *vs* 9.60 ± 2.28, $P < 0.01$) and phospho-Akt1 (0.92 ± 0.40 *vs* 6.51 ± 1.39, $P < 0.01$) in the liver fibrosis group was increased. Handan Ganle treatment decreased the levels of Akt1 (9.60 ± 2.28 *vs* 5.36 ± 1.59, $P < 0.01$) and phospho-Akt1 (6.51 ± 1.39 *vs* 2.08 ± 0.85, $P < 0.01$) but increased the apoptosis of HSCs (1.07 ± 0.32 *vs* 4.24 ± 0.86, $P < 0.01$).

CONCLUSION: The PI3K/Akt signaling pathway may play an important role in CCl_4 induced liver fibrosis. Handan Ganle can suppress this signaling pathway and increase the apoptosis of HSCs, which might be related with its anti-hepatic fibrosis activity.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Liver fibrosis; PI3K/Akt; Hepatic stellate cells; Apoptosis

Hu XX, Wang Y, Wang JXY. Handan Ganle inhibits PI3K/Akt signaling pathway in liver fibrosis in rats. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(14): 1915-1920 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1915.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i14.1915

摘要

目的: 观察磷脂酰肌醇-3激酶/蛋白激酶(phosphatidylinositol-3 kinase/Akt, PI3K/Akt)信号通路在CCl_4诱导的肝纤维化大鼠肝组织中的变化并探讨中药汉丹肝乐对他的影响.

方法: 选取SD大鼠30只, 随机分为正常对照组、肝纤维化8 wk组及汉丹肝乐治疗组, 每组各10只. 肝纤维化组及汉丹肝乐治疗组大鼠按0.3 mL/100 g体质量的剂量皮下注射40%CCl_4花生油溶液, 每隔3 d注射1次, 造模时间为8 wk; 对照组大鼠皮下注射等量花生油溶液. 造模结束后汉丹肝乐治疗组大鼠给予1.0 g/kg的汉丹肝乐灌胃治疗, 1次/d, 治疗时间为8 wk. HE染色观察肝组织病理学改变; 采用免疫组织化学技术及Western blot检测肝组织中PI3K/Akt信号通路中关键分子Akt1、磷酸化Akt1的表达变化, 同时应用TUNEL法检测肝星状细

■背景资料
肝纤维化是各种慢性肝脏疾病所共有的病理特征, 是肝脏在病因的长期作用下, 经历持续的损伤及抗损伤修复过程, 导致细胞外基质在肝脏内大量沉积所造成的. 肝纤维化的发生、发展涉及到多种肝脏实质、间质细胞及细胞因子之间的复杂作用, 因此关于肝纤维化的发生机制及防治研究一直是肝病研究的热点内容.

■同行评议者
王蒙, 副教授, 第二军医大学附属东方肝胆外科医院肝外综合治疗一科

■研发前沿
目前临床上应用的治疗肝纤维化的西药大多只能针对其发病机制中某一环节起效，而很难做到多靶点、多层次覆盖的药效作用；而中药抗肝纤维化具有药效机制多层次、多靶点，注重整体调节的特点，且具有不良反应轻等优点，因此中药防治肝纤维化疾病受到越来越多的关注.

胞(hepatic stellate cells, HSC)凋亡情况.

结果: 与正常对照组比较，肝纤维化8 wk组大鼠肝组织中Akt1(2.73±0.52 *vs* 9.60±2.28, *P*<0.01)、磷酸化Akt1(0.92±0.40 *vs* 6.51±1.39, *P*<0.01)的表达均显著增加，差异具有显著性；经汉丹肝乐治疗后，肝组织中Akt1(9.60±2.28 *vs* 5.36±1.59, *P*<0.01)、磷酸化Akt1(6.51±1.39 *vs* 2.08±0.85, *P*<0.01)的表达均显著下降；同时，TUNEL法检测发现汉丹肝乐组大鼠肝组织中HSC凋亡率显著高于肝纤维化8 wk组(1.07±0.32 *vs* 4.24±0.86, *P*<0.01).

结论: PI3K/Akt信号通路在肝纤维化的发生发展过程中发挥重要作用，而汉丹肝乐可通过抑制该信号通路，促进HSC的凋亡来发挥抗肝纤维化的作用.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 肝纤维化; 磷脂酰肌醇-3激酶/蛋白激酶; 肝星状细胞; 细胞凋亡

核心提示: 肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSC)激活转化为肌成纤维细胞并大量分泌细胞外基质是肝纤维化发生发展的中心环节，汉丹肝乐可通过抑制PI3K/Akt信号通路的激活，促进HSC的凋亡来发挥抗肝纤维化的作用.

胡晓霞, 王艳, 王晋星一. 汉丹肝乐对大鼠肝纤维化PI3K/Akt信号通路的影响及意义. 世界华人消化杂志 2014; 22(14): 1915-1920
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1915.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i14.1915

0 引言

肝纤维化是多种慢性肝脏疾病向肝硬化发展的必经阶段，其主要的病理特征是以胶原为主的细胞外基质过度增加而在肝脏内沉积[1-3]. 目前研究认为，肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSC)激活并转变为肌成纤维细胞，同时分泌大量的细胞外基质是肝纤维化发生的中心环节[4]. PI3K/Akt信号通路是体内重要的信号转导通路之一，他不仅在细胞代谢、增殖、存活等多种生物学过程中发挥关键作用，同时也能够抑制细胞凋亡过程[5,6]. 汉丹肝乐是根据中医活血化瘀，通络软坚的理论研制而成的中药复方制剂，主要由丹参、赤芍、黄芪、银杏叶等组成，既往研究表明该药可通过抗氧化损伤、促进细胞外基质降解以及促进HSC凋亡等途径对肝纤维化发挥一定的治疗作用[7,8]，但是其具体的药物作用靶点及作用机制尚不十分清楚. 本研究拟用CCl_4复制大鼠肝纤维化动物模型，观察各组大鼠肝组织中PI3K/Akt信号通路的变化，探讨中药汉丹肝乐对该信号通路的影响及其对HSC凋亡的作用.

1 材料和方法

1.1 材料 健康清洁级SD大鼠由贵阳医学院实验动物中心提供；兔抗大鼠多克隆Akt1及p-Akt1抗体购自美国Santa Cruz公司；免疫组织化学SABC试剂盒、DAB显色剂及TUNEL检测试剂盒均购自武汉博士德公司；丙烯酰胺、三羟甲基氨基甲烷、十二烷基硫酸钠、过硫酸铵、甘氨酸均购自北京鼎国昌盛生物技术有限公司；PVDF膜及ECL化学发光试剂盒购自美国Millipore公司.

1.2 方法

1.2.1 动物分组及动物模型复制: ♂SD大鼠30只，体质量160-200 g，在恒温(25 ℃)、光照周期12-12 h环境中适应性饲养1 wk后进行实验. 将实验动物随机分为3组: 正常对照组、肝纤维化8 wk组和汉丹肝乐治疗组，每组各10只. 肝纤维化组及汉丹肝乐治疗组大鼠采用皮下注射40% CCl_4花生油溶液诱导肝纤维化模型，剂量为0.3 mL/100 g体质量，每隔3 d注射1次，造模时间为8 wk；对照组大鼠皮下注射等量花生油溶液. 造模成功后汉丹肝乐治疗组大鼠给予1.0 g/kg的汉丹肝乐灌胃治疗[9]，1次/d，治疗时间为8 wk. 大鼠处死前称体质量，3%戊巴比妥钠0.1 mL/100 g腹腔麻醉后，股动脉放血处死大鼠，留取血液及全部肝脏，每只大鼠取相同部位肝叶固定于4%中性甲醛溶液中，48 h后，转移到0.1 mol/L PBS溶液中保存，剩余肝组织保存于-80 ℃低温冰箱保存.

1.2.2 实验指标的检测: (1)肝组织病理学检查: 每只大鼠取相同部位肝叶固定于4%中性甲醛溶液中，然后肝组织经石蜡包埋，常规组织切片及HE染色后在光学显微镜下观察肝组织的病理学改变；(2)血清生化指标检测: 血清丙氨酸转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、谷草转氨酶(glutamic-oxalacetic transaminase, AST)采用日立7170A全自动生化分析仪测定；(3)肝组织免疫组织化学检测: 切片常规脱蜡水化，3%H_2O_2封闭内源性过氧化物酶，微波修复抗原，加封闭液后，滴加兔抗大鼠Akt1及p-Akt1多克隆抗体(工作浓度为1∶100)，4 ℃过夜. 次日加生物素化羊抗兔IgG，在37 ℃孵育30 min，加SABC工作液，DAB

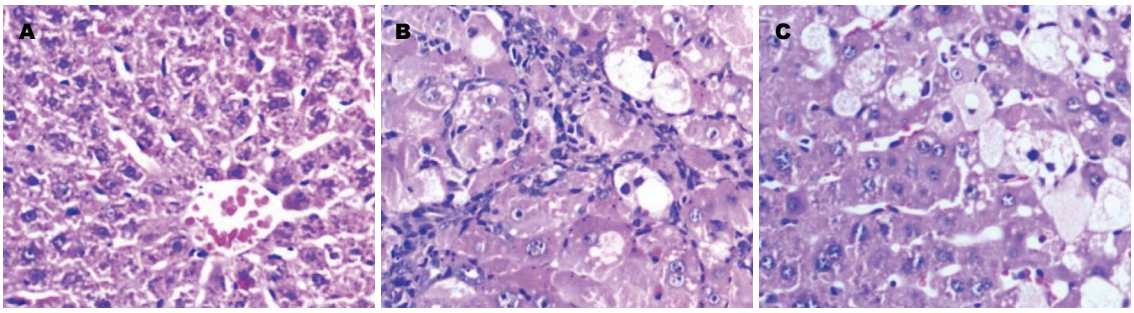


图 1 HE染色显示各组大鼠肝组织病理学变化(×400). A: 正常对照组; B: 肝纤维化8 wk组; C: 汉丹肝乐组.

表 1 各组大鼠血清ALT、AST浓度比较 (n = 10, mean ± SD, U/L)

分组	ALT	AST
正常对照组	47.3 ± 11.7	71.2 ± 22.5
肝纤维化8 wk组	329.1 ± 78.5[b]	396.0 ± 109.9[b]
汉丹肝乐组	61.9 ± 13.2[d]	107.3 ± 28.1[d]

[b]P<0.01 *vs* 正常对照组; [d]P<0.01 *vs* 肝纤维化8 wk组. ALT: 谷丙转氨酶; AST: 谷草转氨酶.

显色, 苏木素复染. 阴性对照以PBS缓冲液代替一抗. 随机抽取5个高倍镜下视野, 观察阳性表达的定位及Akt1及p-Akt1阳性表达细胞数占细胞总数的百分比; (4)Western blot检测肝组织中Akt1及p-Akt1表达情况: 提取肝组织总蛋白, 经聚丙烯酰胺凝胶电泳分离蛋白质后, 采用半干电转移将蛋白质分子转移到PVDF膜上, 电转移结束后PVDF膜置于封闭缓冲液中室温下封闭1 h. 封闭完成后洗膜缓冲液洗膜3次, 然后将PVDF膜与一抗稀释液(1∶500)4 ℃封闭过夜. 次日早上用洗膜缓冲液洗膜3次后, PVDF膜与二抗稀释液(1∶1000)在室温下孵育1 h, 洗膜缓冲液洗膜3次后加入增强化学发光试剂A、B液各0.5 mL, 室温反应1 min后暗室中将PVDF膜迅速封入保鲜膜中, Kodak X-ray film压片, 放射自显影1 min. 然后进行显影、定影, 清水冲洗晾干; (5)TUNEL法检测细胞凋亡: 严格按照试剂盒说明书操作.

统计学处理 计量资料以mean±SD表示, 用SPSS13.0统计软件进行组间方差分析, P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 各组大鼠血清ALT、AST浓度比较 从表1可知, 肝纤维化8 wk组大鼠血清中AST、ALT浓度较正常对照组大鼠明显增多; 经汉丹肝乐治疗后, 大鼠血清中AST、ALT浓度较肝纤维化组大鼠明显降低, 但仍未恢复到正常水平. 各组大鼠ALT及AST结果如表1.

2.2 肝组织病理学改变 经HE染色后光镜下可见正常对照组大鼠肝细胞以中央静脉为中心呈放射状排列, 肝组织内未见细胞外基质沉积; 肝纤维化8 wk组大鼠肝小叶结构破坏, 肝索排列紊乱, 汇管区纤维结缔组织增生, 胶原纤维向肝实质延伸, 分割正常肝组织, 形成假小叶, 纤维化程度较正常组显著增加; 汉丹肝乐治疗组大鼠肝组织结构改善明显, 结缔组织增生显著减少, 各组大鼠肝脏病理学改变如图1.

2.3 免疫组织化学检测肝组织中Akt1、磷酸化Akt1蛋白表达情况 免疫组织化学结果显示: 正常对照组大鼠肝组织中仅有少量Akt1、磷酸化Akt1阳性表达, 肝纤维化8 wk时肝组织中Akt1、磷酸化Akt1阳性表达显著增多; 而汉丹肝乐组Akt1、磷酸化Akt1阳性表达较肝纤维化8 wk组显著减少. Akt1、磷酸化Akt1阳性表达呈棕黄色, 主要表达在肝细胞及间质细胞的胞浆中. 各组大鼠肝组织中Akt1、磷酸化Akt1表达情况如表2, 图2.

2.4 Western blot检测肝组织中Akt1、磷酸化Akt1蛋白表达情况 与正常对照组比较, 肝纤维化8 wk时, 大鼠肝组织中Akt1、磷酸化Akt1蛋白表达显著增高; 而经汉丹肝乐治疗后, 大鼠肝组织中Akt1、磷酸化Akt1蛋白表达较肝纤维化8 wk组显著减少. 各组大鼠肝组织中Akt1、磷酸化Akt1蛋白表达情况如图3.

2.5 TUNEL法检测肝组织中HSC凋亡情况 TUNEL法检测HSC凋亡结果显示, 正常对照组及肝纤维化8 wk组大鼠肝组织中仅有少量细胞发生凋亡; 而汉丹肝乐组大鼠肝组织中HSC凋亡的数目明显增加, 与肝纤维化8 wk组比较有显著差异. 各组大鼠HSC凋亡情况如表2, 图4.

3 讨论

肝纤维化是肝脏对各种慢性刺激进行损伤修复

■相关报道
PI3K/Akt是体内重要的信号转导通路之一, 在维持细胞的正常生理功能, 如生长、分化、代谢等方面起关键作用。有研究人员发现在胆道闭锁所致的肝纤维化过程中, PI3K/Akt信号通路的激活可促进HSC的增殖, 从而加速肝纤维化的发生和发展.

■创新盘点

前期研究发现汉丹肝乐可通过促进HSC凋亡发挥抗肝纤维化的作用，但其具体机制尚不清楚. 本次研究发现，汉丹肝乐可抑制PI3K/Akt信号通路的激活，减少肝纤维化大鼠肝组织中Akt1及p-Akt1的表达，从而促进HSC的凋亡，达到减轻肝纤维化的目的.

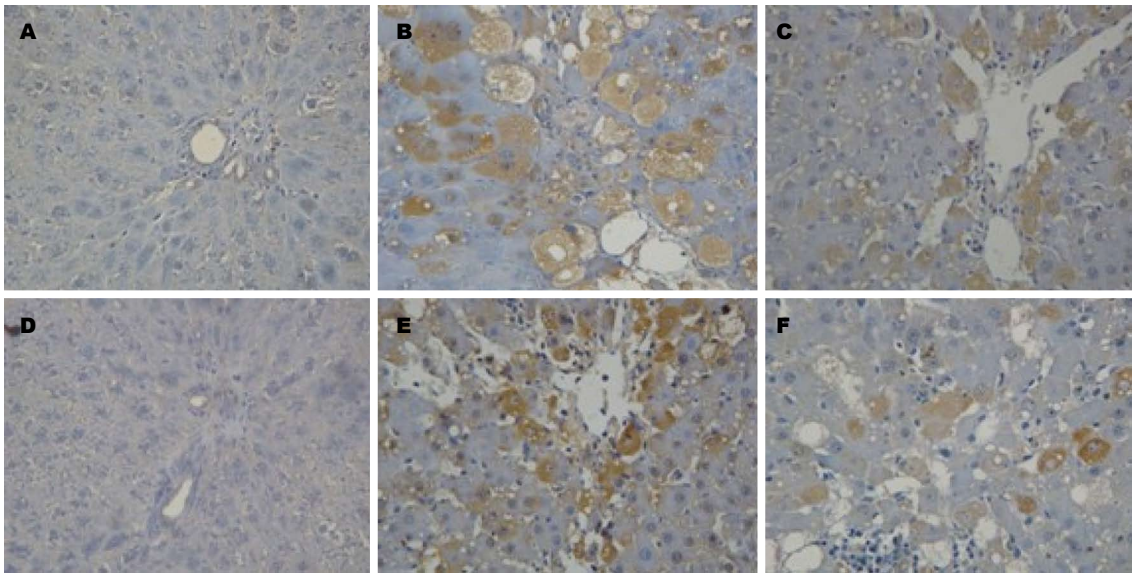


图 2 大鼠肝组织Akt1、磷酸化Akt1的表达(×400). A: 正常组大鼠肝组织Akt1; B: 肝纤维化8 wk组大鼠肝组织Akt1; C: 汉丹肝乐组大鼠肝组织Akt1; D: 正常组大鼠肝组织p-Akt1; E: 肝纤维化8 wk组大鼠肝组织p-Akt1; F: 汉丹肝乐组大鼠肝组织p-Akt1.

表 2 免疫组织化学及TUNEL法检测大鼠肝组织中Akt1、磷酸化Akt1蛋白表达和细胞凋亡情况 (mean ± SD, n = 5, %)

分组	Akt1	p-Akt1	凋亡指数
正常对照组	2.73 ± 0.52	0.92 ± 0.40	0.69 ± 0.18
肝纤维化8 wk组	9.60 ± 2.28[b]	6.51 ± 1.39[b]	1.07 ± 0.32
汉丹肝乐组	5.36 ± 1.59[d]	2.08 ± 0.85[d]	4.24 ± 0.86[bd]

[b]P<0.01 *vs* 正常对照组; [d]P<0.01 *vs* 肝纤维化8 wk组.

表 3 Western blot 检测大鼠肝组织中Akt1及p-Akt1表达情况 (mean ± SD, n = 5)

分组	Akt1/β-actin	p-Akt1/β-actin
正常对照组	0.45 ± 0.11	0.19 ± 0.08
肝纤维化8 wk组	0.99 ± 0.17[b]	0.41 ± 0.19[b]
汉丹肝乐组	0.50 ± 0.20[c]	0.27 ± 0.15[c]

[b]P<0.01 *vs* 正常对照组; [c]P<0.05 *vs* 肝纤维化8 wk组.

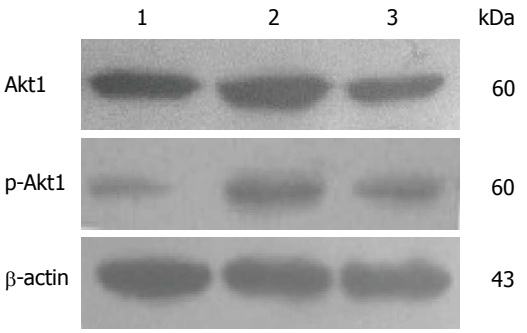


图 3 Western blot检测各组大鼠肝组织中Akt1、磷酸化Akt1的表达. 1: 正常对照组; 2: 肝纤维化8 wk组; 3: 汉丹肝乐组.

反应时，以胶原为主的细胞外基质在肝脏内大量沉积的病理过程[10]. HSC是肝纤维化的主要效应细胞，当各种慢性肝损伤因素作用于肝脏时，HSC可被激活并大量增殖，同时合成、分泌细胞外基质等多种物质，从而导致肝纤维化的发生[11-13]. PI3K/Akt是体内重要的信号转导通路之一，在维持细胞的正常生理功能，如生长、分化、代谢等方面起着关键作用[14-16]. 该信号通路中的PI3K是生长因子受体超家族信号转导过程中的重要成员，在体内可被多种细胞因子激活. Akt为PKA和PKC家族成员，是PI3K下游的直接靶蛋白，而p-Akt是Akt的活化状态，当Akt转变为p-Akt才能发挥生物学功能[17-19]. 近年来的多项研究表明，PI3K/Akt通路在HSC增殖、凋亡中扮演重要角色[20-24]. Akt激活后能够使GSK-3β磷酸化并失活，从而丧失诱导细胞凋亡的作用[25-27]；同时p-Akt还可以抑制促凋亡蛋白Bad、Bax和Caspase的形成，从而发挥抑制细胞凋亡的

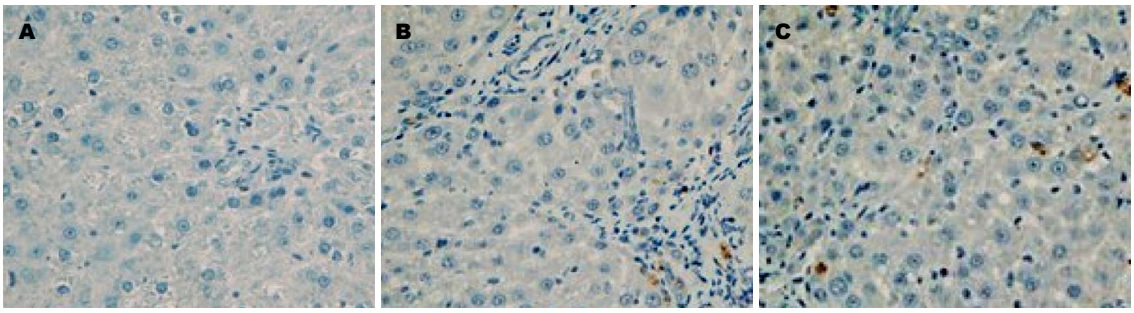


图 4 TUNEL法检测肝组织中HSC凋亡情况(×400). A: 正常对照组; B: 肝纤维化8 wk组; C: 汉丹肝乐组.

作用[28-31].

本次研究发现, 采用CCl_4复制肝纤维化模型8 wk后, 大鼠血清中ALT、AST水平较正常对照组大鼠显著增高, 说明肝细胞发生了一定程度的损伤; 此外, 病理检查结果显示肝纤维化8 wk组大鼠肝组织内有大量胶原纤维增生, 肝纤维化程度较正常组大鼠明显增加. 上述结果与杜锡潮等[32]的研究结果一致, 提示我们的肝纤维化大鼠模型复制是成功的. 同时, 免疫组织化学及Western blot结果发现, 肝纤维化8 wk组大鼠肝组织中Akt1及p-Akt1的表达较正常对照组明显增加; 由于Akt是PI3K下游的效应分子, 因此我们推测PI3K/Akt信号通路的活化可能参与了肝纤维化的发生过程. Xiao等[22]在研究胆道闭锁所引起的肝纤维化时发现, miR-200b可通过激活PI3K/Akt信号通路, 促进HSC的增殖, 从而加速肝纤维化的发生和发展. 这说明PI3K/Akt信号通路可能在肝纤维化过程中发挥了重要作用, 而抑制这一信号通路的活化有可能成为抗肝纤维化的有效途径之一. 汉丹肝乐是根据中医活血化瘀, 通络软坚的理论研制而成的中药复方制剂, 以往的研究发现他可通过促进HSC凋亡而发挥抗肝纤维化的作用[33], 但其具体的作用机制尚不清楚. 在本次研究中发现, 经汉丹肝乐治疗8 wk后, 大鼠血清中ALT、AST水平及纤维化程度均较肝纤维化8 wk组明显减少; 同时, 我们还发现, 汉丹肝乐组大鼠肝组织中Akt1及p-Akt1的表达与肝纤维化8 wk组比较明显降低, 而肝组织中HSC的凋亡则较肝纤维化8 wk组显著增加. 由于Akt1激活及p-Akt1增加可抑制细胞凋亡过程, 而相反Akt1及p-Akt1表达下调则可促进细胞凋亡, 因此我们推测, 汉丹肝乐抗肝纤维化的作用可能是通过抑制PI3K/Akt信号通路的激活, 下调肝组织中Akt1及p-Akt1的表达, 从而促进HSC的凋亡来实现的.

4 参考文献

1 王豫萍, 程明亮, 关丽, 陆爽. 蓝莓对免疫性肝纤维化大鼠HGF表达影响. 中国公共卫生 2012; 28: 1051-1054

2 Arriazu E, Ruiz de Galarreta M, Cubero FJ, Varela-Rey M, Pérez de Obanos MP, Leung TM, Lopategi A, Benedicto A, Abraham-Enachescu I, Nieto N. Extracellular Matrix and Liver Disease. *Antioxid Redox Signal* 2014 Jan 8. *[Epub ahead of print]* [PMID: 24219114 DOI: 10.1089/ars.2013.5697]

3 Wirkowska A, Paczek L. [Liver fibrosis and cirrhosis--causes. Part I]. *Przegl Lek* 2011; 68: 222-227 [PMID: 21853678]

4 Mehal W, Imaeda A. Cell death and fibrogenesis. *Semin Liver Dis* 2010; 30: 226-231 [PMID: 20665375 DOI: 10.1055/s-0030-1255352]

5 刘友平, 严冬梅, 陈川宁, 段春燕, 陈绍坤, 李洪, 代荣阳. PI3K/Akt调控内质网应激对GRP78的诱导. 中国病理生理杂志 2011; 27: 749-754

6 Zhou JD, Shen F, Ji JS, Zheng K, Huang M, Wu JC. FAM9C plays an anti-apoptotic role through activation of the PI3K/Akt pathway in human hepatocellular carcinoma. *Oncol Rep* 2013; 30: 1275-1284 [PMID: 23836295 DOI: 10.3892/or.2013.2592]

7 Geng XX, Yang Q, Xie RJ, Luo XH, Han B, Ma L, Li CX, Cheng ML. In vivo effects of Chinese herbal recipe, Danshaohuaxian, on apoptosis and proliferation of hepatic stellate cells in hepatic fibrotic rats. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 561-566 [PMID: 15641146]

8 程明亮, 付荣泉. 中药复方对猪血清免疫性肝纤维化肝中氧化及抗氧化的影响. 中华肝脏病杂志 2006; 14: 217-218

9 Li C, Luo J, Li L, Cheng M, Huang N, Liu J, Waalkes MP. The collagenolytic effects of the traditional Chinese medicine preparation, Han-Dan-Gan-Le, contribute to reversal of chemical-induced liver fibrosis in rats. *Life Sci* 2003; 72: 1563-1571 [PMID: 12551745 DOI: 10.1016/S0024-3205(02)02448-7]

10 黄成, 李俊, 马陶陶. PI3K/Akt信号通路与肝纤维化. 中国药理学通报 2011; 27: 1037-1041

11 Jiao J, Friedman SL, Aloman C. Hepatic fibrosis. *Curr Opin Gastroenterol* 2009; 25: 223-229 [PMID: 19396960 DOI: 10.1097/MOG.0b013e3283279668]

12 Ma R, He S, Liang X, Yu H, Liang Y, Cai X. Decorin prevents the development of CCl4-induced liver fibrosis in mice. *Chin Med J* (Engl) 2014; 127: 1100-1104 [PMID: 24622442]

13 Dong Y, Qu Y, Xu M, Wang X, Lu L. Catalase ameliorates hepatic fibrosis by inhibition of hepatic stellate cells activation. *Front Biosci* (Land-

■应用要点

肝纤维化是肝硬化、肝癌发展过程中一个关键的中间环节. 汉丹肝乐能够减少血清ALT、AST水平, 对肝功能具有一定的保护作用; 同时他还能促进HSC凋亡, 减少细胞外基质的沉积, 通过本次研究可为汉丹肝乐的临床应用提供理论依据.

■同行评价
本文具有一定指导意义.

mark Ed) 2014; 19: 535-541 [PMID: 24389201 DOI: 10.2741/4224]
14 严冬梅, 李敏军, 刘友平, 段春燕. 内质网应激下肝癌细胞Akt和ERK通路间的cross-talk研究. 中国现代医学杂志 2011; 21: 2361-2364
15 施凤, 朱萱. NOX介导的MAPK、PI3K/Akt信号通路与肝纤维化的研究进展. 世界华人消化杂志 2012; 20: 2685-2690
16 Gunda V, Bucur O, Varnau J, Vanden Borre P, Bernasconi MJ, Khosravi-Far R, Parangi S. Blocks to thyroid cancer cell apoptosis can be overcome by inhibition of the MAPK and PI3K/AKT pathways. *Cell Death Dis* 2014; 5: e1104 [PMID: 24603332 DOI: 10.1038/cddis.2014.78]
17 鞠莉, 贾振宇, 蒋兆强, 王晶, 陈日萍, 张幸, 周华仕. PI3K/Akt通路在大鼠矽肺纤维化中的作用研究. 中国工业医学杂志 2011; 24: 282-284
18 Song T, Wang L, Mo Z, Mao L, Ma X, Niu R, Gu K, Yan R, Ma P, Qi Y, Jiao Q. Expression of p-Akt in ovarian serous carcinoma and its association with proliferation and apoptosis. *Oncol Lett* 2014; 7: 59-64 [PMID: 24348821]
19 Liu K, Shi Y, Guo XH, Ouyang YB, Wang SS, Liu DJ, Wang AN, Li N, Chen DX. Phosphorylated AKT inhibits the apoptosis induced by DRAM-mediated mitophagy in hepatocellular carcinoma by preventing the translocation of DRAM to mitochondria. *Cell Death Dis* 2014; 5: e1078 [PMID: 24556693 DOI: 10.1038/cddis.2014.51]
20 Wang Y, Jiang XY, Liu L, Jiang HQ. Phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway regulates hepatic stellate cell apoptosis. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 5186-5191 [PMID: 18777595 DOI: 10.3748/wjg.14.5186]
21 Sancho-Bru P, Juez E, Moreno M, Khurdayan V, Morales-Ruiz M, Colmenero J, Arroyo V, Brenner DA, Ginès P, Bataller R. Hepatocarcinoma cells stimulate the growth, migration and expression of pro-angiogenic genes in human hepatic stellate cells. *Liver Int* 2010; 30: 31-41 [PMID: 19929904 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2009.02161.x]
22 Xiao Y, Wang J, Chen Y, Zhou K, Wen J, Wang Y, Zhou Y, Pan W, Cai W. Up-regulation of miR-200b in biliary atresia patients accelerates proliferation and migration of hepatic stallate cells by activating PI3K/Akt signaling. *Cell Signal* 2014; 26: 925-932 [PMID: 24412919 DOI: 10.1016/j.cellsig.2014.01.003]
23 Zhang F, Zhang Z, Kong D, Zhang X, Chen L, Zhu X, Lu Y, Zheng S. Tetramethylpyrazine reduces glucose and insulin-induced activation of hepatic stellate cells by inhibiting insulin receptor-mediated PI3K/AKT and ERK pathways. *Mol Cell Endocrinol* 2014; 382: 197-204 [PMID: 24071517 DOI: 10.1016/j.mce.2013.09.020]
24 Bai T, Lian LH, Wu YL, Wan Y, Nan JX. Thymoquinone attenuates liver fibrosis via PI3K and TLR4 signaling pathways in activated hepatic stellate cells. *Int Immunopharmacol* 2013; 15: 275-281 [PMID: 23318601 DOI: 10.1016/j.intimp.2012.12.020]
25 Wang CD, Yuan CF, Bu YQ, Wu XM, Wan JY, Zhang L, Hu N, Liu XJ, Zu Y, Liu GL, Song FZ. Fangchinoline inhibits cell proliferation via Akt/GSK-3beta/ cyclin D1 signaling and induces apoptosis in MDA-MB-231 breast cancer cells. *Asian Pac J Cancer Prev* 2014; 15: 769-773 [PMID: 24568493]
26 Xu G, Li Y, Yoshimoto K, Wu Q, Chen G, Iwata T, Mizusawa N, Wan C, Nie X. 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin stimulates proliferation of HAPI microglia by affecting the Akt/GSK-3β/cyclin D1 signaling pathway. *Toxicol Lett* 2014; 224: 362-370 [PMID: 24231000 DOI: 10.1016/j.toxlet.2013.11.003]
27 Zhang Q, Fu H, Zhang H, Xu F, Zou Z, Liu M, Wang Q, Miao M, Shi X. Hydrogen sulfide preconditioning protects rat liver against ischemia/reperfusion injury by activating Akt-GSK-3β signaling and inhibiting mitochondrial permeability transition. *PLoS One* 2013; 8: e74422 [PMID: 24058562 DOI: 10.1371/journal.pone.0074422]
28 唐莹, 刘金东. PI3K/Akt信号通路与心肌保护. 医学综述 2009; 15: 1470-1473
29 Jeon HG, Yoon CY, Yu JH, Park MJ, Lee JE, Jeong SJ, Hong SK, Byun SS, Lee SE. Induction of caspase mediated apoptosis and down-regulation of nuclear factor-κB and Akt signaling are involved in the synergistic antitumor effect of gemcitabine and the histone deacetylase inhibitor trichostatin A in human bladder cancer cells. *J Urol* 2011; 186: 2084-2093 [PMID: 21944112 DOI: 10.1016/j.juro.2011.06.053]
30 Xue X, You Y, Tao J, Ye X, Huang J, Yang S, Lin Z, Hong Z, Peng J, Chen L. Electro-acupuncture at points of Zusanli and Quchi exerts anti-apoptotic effect through the modulation of PI3K/Akt signaling pathway. *Neurosci Lett* 2014; 558: 14-19 [PMID: 24157854 DOI: 10.1016/j.neulet.2013.10.029]
31 Quan JH, Cha GH, Zhou W, Chu JQ, Nishikawa Y, Lee YH. Involvement of PI 3 kinase/Akt-dependent Bad phosphorylation in Toxoplasma gondii-mediated inhibition of host cell apoptosis. *Exp Parasitol* 2013; 133: 462-471 [PMID: 23333591 DOI: 10.1016/j.exppara.2013.01.005]
32 杜锡潮, 韩冰, 谢汝佳, 邹河, 杨勤. 肝纤维化大鼠肝脏中内质网应激相关分子CHOP和TRB3的表达变化. 中国病理生理杂志 2013; 29: 906-912
33 杨勤, 罗新华, 耿晓霞, 谢汝佳, 韩冰, 李诚秀, 程明亮. 丹芍化纤胶囊治疗大鼠肝纤维化后肝星状细胞凋亡及细胞周期的变化. 中国病理生理杂志 2005; 21: 975-979

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年5月18日; 22(14): 1921-1927
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

基础研究 BASIC RESEARCH

蟾毒灵对人肝癌细胞增殖与侵袭的影响

盖吉钦, 秦建民, 范跃祖

盖吉钦, 同济大学医学院 上海市 200065
盖吉钦, 秦建民, 上海中医药大学附属普陀医院普外科 上海市 200062
范跃祖, 同济大学附属同济医院普外科 上海市 200065
作者贡献分布: 实验操作、论文撰写由盖吉钦完成; 此课题由秦建民与范跃祖设计; 数据分析与文献检索由盖吉钦与秦建民共同完成.
通讯作者: 秦建民, 主任医师, 200062, 上海市普陀区兰溪路164号, 上海中医药大学附属普陀医院普外科. jianminqin@yahoo.com
电话: 021-22233219
收稿日期: 2014-03-03 修回日期: 2014-03-13
接受日期: 2014-03-18 在线出版日期: 2014-05-18

Bufalin inhibits proliferation and invasion of human liver cancer cells

Ji-Qin Gai, Jian-Min Qin, Yue-Zu Fan

Ji-Qin Gai, Medical School of Tongji University, Shanghai 200065, China
Ji-Qin Gai, Jian-Min Qin, Department of General Surgery, Putuo Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese, Shanghai 200062, China
Yue-Zu Fan, Department of General Surgery, Tongji Hospital, Shanghai Tongji University, Shanghai 200065, China
Correspondence to: Jian-Min Qin, Chief Physician, Department of General Surgery, Putuo Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese, 164 Lanxi Road, Putuo District, Shanghai 200062, China. jianminqin@yahoo.com
Received: 2014-03-03 **Revised:** 2014-03-13
Accepted: 2014-03-18 **Published online:** 2014-05-18

Abstract

AIM: To assess the effect of bufalin on cell proliferation, migration and invasion in human hepatocellular carcinoma cell line BEL-7402.

METHODS: BEL-7402 cells were cultured *in vitro*. The effect of bufalin on cell proliferation and cell cycle was measured by CCK-8 colorimetric method and flow cytometry. Cell migration and invasion were assessed by Transwell assay.

RESULTS: Bufalin significantly inhibited the growth and proliferation of BEL-7402 cells in a dose- and time-dependent manner. Bufalin at a dose of 0.085 μg/mL blocked the cell cycle of BEL-7402 cells in G_2/S phase [48 h (G_2: t = -6.618, P < 0.01; S: t = -5.339, P < 0.01), 72 h (G_2: t = -14.273, P < 0.01; S: t = -4.812, P < 0.01)]. Treatment with bufalin at a dose of 0.085 μg/mL for 72 h significantly inhibited the migration (t = 11.717, P < 0.01) and invasion (t = 5.437, P < 0.01) of BEL-7402 cells.

CONCLUSION: Bufalin inhibits the migration and invasion of human liver cancer cells. Besides, bufalin can inhibit the proliferation of human liver cancer cells by blocking the cell cycle in G_2/S phase. The anti-proliferative effect of bufalin is dose- and time-dependent.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Bufalin; Liver cancer cells; Proliferation; Invasion; Effect

Gai JQ, Qin JM, Fan YZ. Bufalin inhibits proliferation and invasion of human liver cancer cells. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(14): 1921-1927 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1921.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i14.1921

摘要

目的: 研究蟾毒灵(bufalin, Bu)对肝癌BEL-7402细胞生长、迁移侵袭的作用.

方法: 体外培养人肝癌BEL-7402细胞, 应用CCK-8比色法、流式细胞仪、Transwell小室迁移侵袭实验观测不同浓度和作用时间Bu对肝癌细胞增殖、迁移、侵袭的影响.

结果: Bu明显抑制肝癌BEL-7402细胞生长和增殖, 呈浓度-时间效应关系; 0.085 μg/mL Bu分别作用于肝癌BEL-7402细胞48、72 h, 肝癌细胞周期阻滞于G_2/S期[48 h(G_2: t = -6.618, P<0.01; S: t = -5.339, P<0.01), 72 h(G_2: t = -14.273, P<0.01; S: t = -4.812, P<0.01)]; 0.085 μg/mL Bu作用肝癌BEL-7402细胞72 h, 显著抑制肝癌细胞迁移(t = 11.717, P<0.01)和侵袭(t = 5.437, P<0.01).

结论: Bu能抑制肝癌细胞迁移、侵袭, 并且通过阻滞肝癌细胞周期于G_2/S期, 抑制肝癌细胞增殖, 其生长抑制作用呈时间和剂量依赖效应.

■背景资料
原发性肝癌是较常见的消化系肿瘤, 其发病率及死亡率均较高, 严重威胁人类健康, 现有的治疗方法存在一定的限制性. 蟾毒灵(bufalin, Bu)是传统抗肿瘤中药蟾酥中主要的活性成分之一, 具有明确的抗肿瘤效果. 为了进一步明确Bu抗肝癌的机制, 本研究对Bu对肝癌细胞增殖侵袭作用的影响进行了观察.

■同行评议者
姚登福, 教授, 南通大学附属医院

■研发前沿
Bu的抗肝癌作用机制比较复杂, 目前尚未完全阐明, 尤其是Bu抑制肝癌BEL-7402细胞的迁移和侵袭的机制目前尚不明确, 需要进一步深入研究.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 蟾毒灵; 肝癌细胞; 增殖; 侵袭; 作用

核心提示: 蟾毒灵影响肝癌Bel-7402细胞凋亡及迁移、侵袭转移的机制可能与影响肝癌细胞中P53、survivin、Bcl-xL、基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases)、E-钙黏蛋白(E-cadherin)等因子表达有关.

盖吉钦, 秦建民, 范跃祖. 蟾毒灵对人肝癌细胞增殖与侵袭的影响. 世界华人消化杂志 2014; 22(14): 1921-1927 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1921.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i14.1921

0 引言

原发性肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是较常见的消化系肿瘤, 其发病率在我国占第3位, 世界范围占第5位, 每年全球约有100万例以上的新增肝癌患者, 同时有60万例死于该肿瘤, 严重威胁人类健康[1,2]. 蟾毒灵(bufalin, Bu)为抗肿瘤传统中药蟾酥中抗肿瘤作用最强的毒性配基[3], 除了具有强心、升压、平喘、镇咳、兴奋呼吸中枢、利尿、抗炎、增强机体免疫力、抗辐射、抗血小板凝聚等药理作用, 还具有很强的抗肿瘤作用[4]. 本研究在观察Bu对肝癌细胞增殖及周期的作用的同时, 进一步观察了Bu对肝癌BEL-7402细胞迁移侵袭能力的影响.

1 材料和方法

1.1 材料 人肝癌BEL-7402细胞株(中国科学院上海细胞生物学研究所提供), Bu(上海博谷生物科技有限公司), 细胞培养基RPMI 1640(美国Gibco公司), 胎牛血清(杭州四季青生物公司), CCK-8试剂(上海博谷生物科技有限公司), 细胞周期即时检测试剂盒(南京凯基生物公司), 胰蛋白酶(美国Sigma公司), Matrigel胶(美国BD公司), 0.1%结晶紫染色液(江苏碧云天生物公司).

1.2 方法

1.2.1 细胞系培养: 在37 ℃, 5%CO_2和饱和湿度的培养箱中用10%胎牛血清的RPMI 1640培养基常规培养. 取单层贴壁、对数期生长的细胞进行试验.

1.2.2 CCK-8比色实验测定细胞生长抑制率: 消化收集细胞后用含10%胎牛血清的RPMI 1640培养液稀释细胞浓度, 调整细胞浓度至8×10^4/mL, 以每孔100 μL接种于96孔培养板中, 饱和湿度、5%CO_2孵箱37 ℃常规培养12 h使其贴壁生长后加药, 实验设10%胎牛血清RPMI 1640培养液阴性对照组和Bu实验组. 根据预实验的结果, Bu实验组选择低于各作用时间100%抑制率的浓度, 最终浓度设定如下: 24 h Bu: 0.7、0.8、0.9、1.0、1.1、1.2 μg/mL; 48 h Bu: 0.05、0.1、0.2、0.3、0.4 μg/mL; 72 h Bu: 0.05、0.1、0.15、0.2、0.25 μg/mL. 每个浓度组分别设置5个复孔, 置于饱和湿度、5%CO_2孵箱37 ℃常规培养24、48和72 h后吸去上清液, 每孔加无血清培养液100 μL及CCK-8 10 μL, 继续培养1.5 h后, 在自动酶标仪上检测各孔吸光度450 nm, 以空白组平均值调零. 按以下公式计算生长抑制率. 抑制率(%) = (1-实验组平均*A*值/对照组平均*A*值)×100%.

1.2.3 流式细胞仪技术检测细胞周期改变: 消化收集细胞后用含10%胎牛血清的RPMI 1640培养液稀释细胞浓度, 调整细胞浓度至5×10^4/mL, 以每孔2 mL接种于6孔培养板中, 饱和湿度、5%CO_2孵箱37 ℃常规培养12 h使其贴壁生长, 然后吸弃培养液后再加入无血清的RPMI 1640培养液2 mL于6孔培养板中, 饱和湿度、5%CO_2孵箱37 ℃常规培养12 h后加药. 实验设10%胎牛血清RPMI 1640培养液阴性对照组和Bu实验组, Bu实验组的最终浓度选取CCK-8比色实验所得到的IC_{50}浓度. 各组置于饱和湿度、5%CO_2孵箱37 ℃常规培养24、48和72 h后收集细胞, PBS清洗细胞碎片后用细胞周期即时检测试剂盒中Solution A、B、C处理细胞并染色, 1 h内行流式细胞仪检测荧光标记检测凋亡率和细胞周期分布, ModiFit软件分析细胞周期.

1.2.4 细胞迁移实验: 消化收集细胞后用含10%胎牛血清的RPMI 1640培养液稀释细胞浓度, 将细胞接种于10 cm培养皿中, 每个培养皿接种8×10^5个细胞, 饱和湿度、5%CO_2孵箱37 ℃常规培养12 h使其贴壁生长后加药. 实验设10%胎牛血清RPMI 1640培养液阴性对照组和Bu实验组, Bu实验组的最终浓度选取CCK-8比色实验所得到的IC_{50}浓度. 各组置于饱和湿度, 5%CO_2孵箱37 ℃常规培养72 h后吸弃含药培养液, 用PBS洗涤培养皿, 去除残余药物后再加入无血清的RPMI 1640培养液置于饱和湿度、5%CO_2孵箱37 ℃常规培养12 h后收集细胞, 用无血清的RPMI 1640培养液制备成1×10^6/mL的细胞悬液, 每个Transwell小室上室接种100 μL细胞悬液, 下室加入600 μL含10%胎牛血清的RPMI 1640, 每

表 1 不同浓度和作用时间蟾毒灵对肝癌BEL-7402细胞增殖的抑制率 (n = 3, mean ± SD)

浓度(μg/mL)	24 h	48 h	72 h
0.05		22.09 ± 3.63[d]	35.52 ± 4.16[f]
0.10		33.94 ± 3.34	53.17 ± 8.65
0.15			59.21 ± 8.11
0.20		47.72 ± 2.24	78.88 ± 3.93
0.25			86.86 ± 1.54[f]
0.30		68.84 ± 1.98	
0.40		82.57 ± 1.09[d]	
0.70	31.34 ± 6.73[b]		
0.80	48.05 ± 8.52		
0.90	51.62 ± 5.79		
1.00	60.38 ± 5.69		
1.10	70.97 ± 5.19		
1.20	72.98 ± 4.15[b]		

[b]F = 40.624, [b]P<0.01 *vs* 0.90 μg/mL; [d]F = 427.344, [d]P<0.01 *vs* 0.20 μg/mL; [f]F = 69.585, [f]P<0.01 *vs* 0.15 μg/mL.

■相关报道
已有报道Bu对多种肿瘤细胞的增殖、侵袭具有抑制作用, 其机制可能是Bu促进了细胞的凋亡, 同时能够抑制与侵袭转移有关的细胞通路和通路中相关因子.

组各设置3个复孔. 5%CO_2孵箱37 ℃常规培养24 h后将上室培养液吸弃清洗结晶紫染色后倒置相光学显微镜下选取上、中、下三个视野进行观察, 并拍照计数计算迁移细胞.

1.2.5 细胞侵袭实验: 消化收集细胞后用含10%胎牛血清的RPMI 1640培养液稀释细胞浓度, 将细胞接种于10 cm培养皿中, 每个培养皿接种8×10^5个细胞, 饱和湿度、5%CO_2孵箱37 ℃常规培养12 h使其贴壁生长后加药. 实验设10%胎牛血清RPMI 1640培养液阴性对照组和Bu实验组, Bu实验组的最终浓度选取CCK-8比色实验所得到的IC_{50}浓度. 各组置于饱和湿度、5%CO_2孵箱37 ℃常规培养72 h后吸弃含药培养液, 用PBS洗涤培养皿, 去除残余药物后再加入无血清的RPMI 1640培养液置于饱和湿度、5%CO_2孵箱37 ℃常规培养12 h后收集细胞, 用无血清的RPMI 1640培养液制备成1×10^6/mL的细胞悬液, Transwell小室上室铺设Matrigel胶后每个Transwell小室上室接种100 μL细胞悬液, 下室加入600 μL含10%胎牛血清的RPMI 1640, 每组各设置3个复孔. 5%CO_2孵箱37 ℃常规培养48 h后将上室培养液吸弃清洗, 结晶紫染色后倒置相光学显微镜下选取上、中、下3个视野进行观察, 并拍照计数计算侵袭细胞.

统计学处理 实验数据均以mean±SD表示, 并用SPSS19.0统计软件进行统计学处理, 首先进行方差齐性检验, 方差齐的两组间比较采用t检验, 多组间比较采用单因素方差分析数据, 组间两两比较采用LSD法; 方差不齐者两组间比较采用矫正t检验, 多组间比较将数据转换后得到齐方差数据后再采用单因素方差分析检验数据.

2 结果

2.1 Bu对肝癌BEL-7402细胞的增殖抑制 肝癌BEL-7402细胞经不同浓度Bu处理24、48、72 h, 随药物浓度逐渐提高, Bu对肝癌BEL-7402细胞抑制率逐渐提高(P<0.05), (表1). 24、48、72 h的IC_{50}分别为0.87 μg/mL±0.07 μg/mL, 0.16 μg/mL±0.02 μg/mL, 0.085 μg/mL±0.01 μg/mL, 提示其随药物作用时间延长逐渐降低(F = 429.881, 24 h *vs* 48 h, 48 h *vs* 72 h, 均P<0.01).

2.2 Bu对肝癌BEL-7402细胞周期的影响 Bu处理BEL-7402肝癌细胞24、48、72 h, 24 h后G_2和S期细胞比例与阴性对照组无差异(P>0.05); 48、72 h后, G_2期和S期细胞比例与阴性对照组相比增加, 表现出G_2期和S期阻滞(P<0.01, 表2, 图1); 但48 h与72 h的G_2期(1.17±0.28 *vs* 1.25±0.35)、S期(0.37±0.18 *vs* 1.12±0.67)增幅比较无差异(P>0.05). 表明, 同一药物浓度下Bu对肝癌BEL-7402细胞的增殖周期影响, 具有一定时间依赖性, 但超过48 h未表现时间依赖性.

2.3 Bu对肝癌BEL-7402细胞迁移的影响 Bu作用BEL-7402细胞72 h, 与阴性对照相比, 显著抑制肝癌BEL-7402细胞迁移能力(t = 11.717, P<0.01), (图2, 3).

2.4 Bu对肝癌BEL-7402细胞侵袭的影响 Bu作用

■创新盘点

我们通过观察Bu对肝癌BEL-7402细胞增殖、细胞周期、迁移、侵袭的影响, 为进一步探索其影响机制奠定了基础.

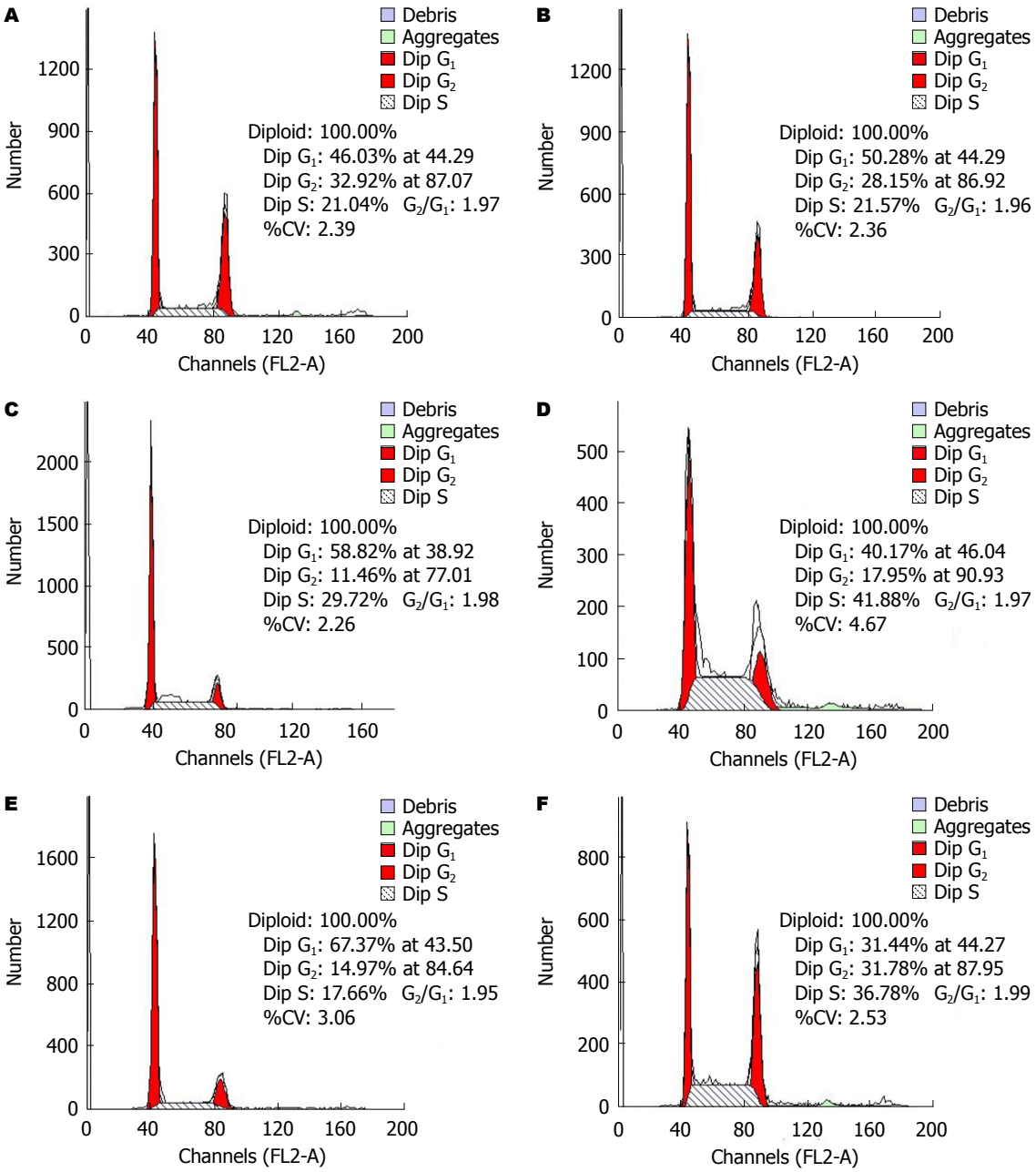


图 1 同一浓度不同作用时间蟾毒灵对肝癌BEL-7402细胞增殖周期影响. A: 24 h阴性对照; B: 24 h 0.085 μg/mL蟾毒灵; C: 48 h阴性对照; D: 48 h 0.085 μg/mL蟾毒灵; E: 72 h阴性对照; F: 72 h 0.085 μg/mL蟾毒灵.

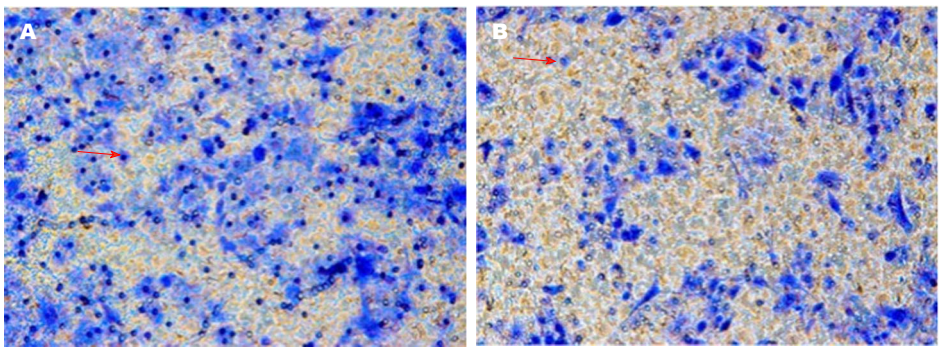


图 2 0.085 μg/mL蟾毒灵作用肝癌BEL-7402细胞72 h后对细胞迁移能力的影响(结晶紫染色×200). A: 阴性对照; B: 0.085 μg/mL蟾毒灵. 箭头处为迁移细胞.

表 2 同一浓度不同作用时间蟾毒灵对肝癌BEL-7402细胞增殖周期的影响 (n = 3, mean ± SD, %)

周期	24 h		48 h		72 h	
	阴性对照	蟾毒灵	阴性对照	蟾毒灵	阴性对照	蟾毒灵
G_1期	48.26 ± 5.09	48.34 ± 2.72	62.20 ± 3.48	41.2 ± 1.27	68.49 ± 2.48	31.98 ± 1.52
G_2期	28.98 ± 3.67	29.78 ± 2.14	9.28 ± 2.06	19.78 ± 1.82[b]	14.27 ± 1.49	31.75 ± 1.51[b]
S期	22.76 ± 3.68	21.88 ± 0.60	28.53 ± 1.49	39.02 ± 3.06[b]	17.24 ± 3.66	34.94 ± 5.22[b]

[b]P<0.01 *vs* 阴性对照[48 h(G_2: t = −6.618; S: t = −5.339), 72 h(G_2: t = −14.273; S: t = −4.812)].

■应用要点

由于Bu对多种实体及血液恶性肿瘤均表现出良好的抗肿瘤效果, 因此在中药现代化研究的背景下, 将其应用于临床治疗将为无法手术的恶性肿瘤患者治疗提供了一个新的手段.

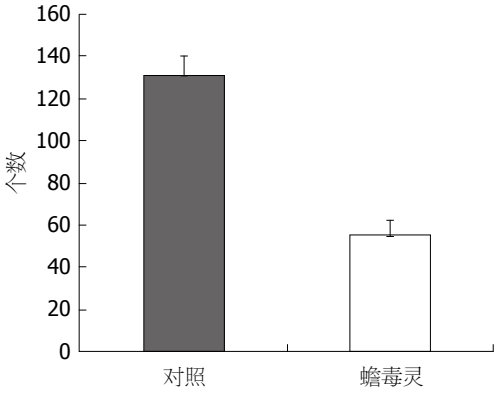


图 3 0.085 μg/mL蟾毒灵作用肝癌BEL-7402细胞72 h后迁移细胞数.

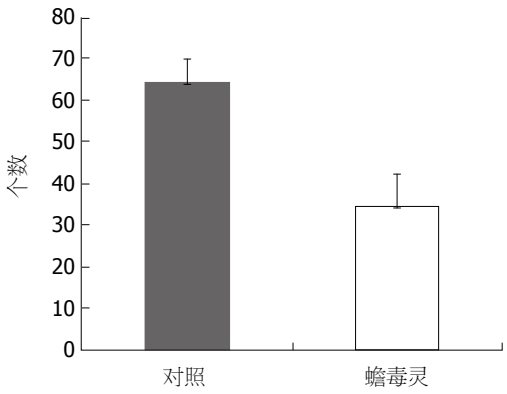


图 5 0.085 μg/mL蟾毒灵作用肝癌BEL-7402细胞72 h后侵袭细胞数.

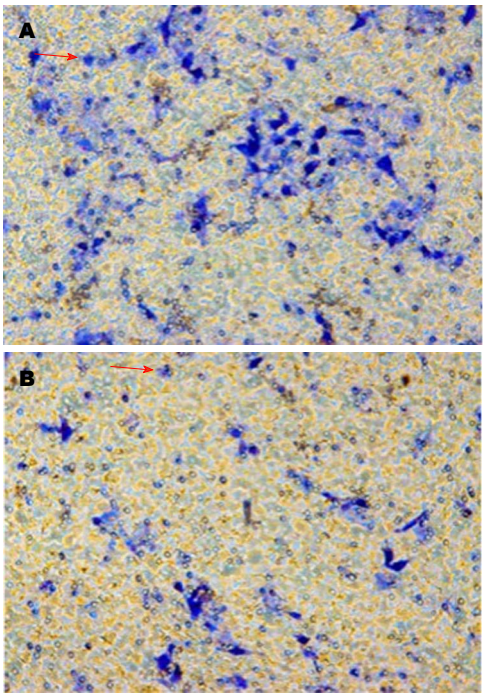


图 4 0.085 μg/mL蟾毒灵作用肝癌BEL-7402细胞72 h后对细胞侵袭能力的影响(结晶紫染色 × 200). A: 阴性对照; B: 0.085 μg/mL蟾毒灵. 箭头处为侵袭细胞.

BEL-7402细胞72 h, 与阴性对照相比, 显著抑制肝癌BEL-7402细胞侵袭能力(t = 5.437, P<0.01), (图4, 5).

3 讨论

Bu是一种多羟基的甾体化合物, 其抗肿瘤作用效果, 已受到越来越多的关注[5-8]. 苏永华等[9]通过将经Bu作用48 h的人肝癌SMMC-7721和BEL-7402细胞进行锥虫蓝染色, 发现Bu对肝癌细胞膜具有明显破坏作用, 提示Bu对肝癌细胞的毒性作用与破坏癌细胞膜、导致细胞直接死亡有关. 王旭等[10]应用Bu作用于大肠癌HCT116细胞, 结果发现Bu可使大肠癌细胞阻滞在S期, 且电镜见到细胞浆疏松、染色质边集、凋亡小体等典型细胞凋亡特征, 推断Bu可以通过使肠癌细胞周期阻滞而诱导细胞凋亡. 多项研究均证明细胞周期阻滞与细胞凋亡密切相关[11-13]. 王艳丽等[14]认为细胞周期的阻滞最终将导致细胞的凋亡. 细胞周期受到细胞周期依赖性蛋白激酶(cyclin-dependent kinases)、细胞周期蛋白(Cyclin)、Polo样聚合酶、Aurora激酶和周期抑制蛋白(cyclin-dependent-kinase inhibitor)等因素调控[15-17]. 其中Cyclin A和Cyclin B与细胞周期中的G_1/S期和G_2/M期的转换调控有关, Cyclin A参与细胞从G_1期到S期的转换过程, 而细胞由G_2期进入M期需要Cyclin B与周期依赖性蛋白激酶结合物的调控[18,19]. 研究发现, 恶性肿瘤中Cyclin A和Cyclin B较正常细胞高[20,21], Bu可降低肝癌

■同行评价
Bu能够抑制多种恶性肿瘤细胞增殖、侵袭, 但在肝癌细胞研究报道较少, 本研究通过体外培养人肝癌细胞, 详细观察了Bu对肝癌细胞生长、迁移和侵袭具有显著抑制作用, 结果可靠, 为进一步深入研究Bu抗肝细胞癌作用和机制奠定了理论基础.

HepG2细胞中Cyclin B的表达[22], 而含有Bu成分的抗肿瘤药物华蟾素具有下调肿瘤细胞Cyclin A表达能力[23]. Bu还可能通过下调P53蛋白[3]、降低survivin蛋白表达使促凋亡蛋白Smac/DIABLO从线粒体释放入胞浆[24], 抑制*Bcl-xL*基因表达和促进*Bax*基因表达[25]等途径引起癌细胞凋亡. 本实验结果发现Bu对肝癌BEL-7402细胞具有细胞毒性、增殖抑制作用, 呈时间和剂量依赖性, 肝癌BEL-7402细胞被阻滞在G_2期和S期, 表明Bu抑制肝癌Bel-7402细胞的增殖与细胞周期被阻滞在S期和G_2期密切相关. 其机制可能与Bu降低肝癌Bel-7402细胞Cyclin A和Cyclin B表达, 影响凋亡相关因子P53、survivin、Bcl-xL等表达, 从而使细胞周期发生阻断后导致了肝癌细胞的凋亡.

转移是恶性肿瘤的特征性表现, HCC极易发生转移, 术后5年复发率可达70%, 是导致肝癌患者死亡的一个主要原因[26]. 癌细胞降解基底膜和细胞外基质及迁移运动是恶性肿瘤转移的关键步骤, 其过程与E-钙黏蛋白(E-cadherin)表达降低, 基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)与金属蛋白酶组织抑制因子(tissue inhibitor of metalloproteinase, TIMP)之间平衡被打破等多种因素有关[27-29]. Hong等[30]研究发现Bu能加强细胞间紧密连接, 并通过增加细胞外信号调节激酶(extracellular regulated protein kinases)通路磷酸化从基因和蛋白层面减少MMP-7和-9, 增加TIMP-1和-2, 从而降低膀胱癌T24细胞侵袭. Chueh等[31]发现Bu可通过阻止MAPK信号抑制MMP-2生成, 降低骨肉瘤U-2细胞侵袭转移. 本实验研究结果表明Bu明显抑制肝癌细胞迁移侵袭能力, 其抑制迁移与侵袭转移可能与影响肝癌细胞MMPs和E-cadherin表达有关, 但其确切的机制尚需进一步深入研究.

4 参考文献

1 常林, 杨瑞丽. 肝癌实验室诊断研究进展. 生物技术通讯杂志 2010; 21: 136-138
2 Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 69-90 [PMID: 21296855 DOI: 10.3322/caac.20107]
3 王晋, 尹军强, 贾强, 沈靖南, 黄纲, 谢显彪, 邹昌业. 蟾毒灵诱导骨肉瘤U-2OS和U-2OS/MTX300细胞系的凋亡. 中华肿瘤杂志 2010; 32: 734-738
4 张慧卿, 殷子斐, 盛佳钰, 苏永华. 蟾毒灵抗肿瘤作用机制研究进展. 中药药理与临床 2012; 28: 130-133
5 Huang H, Cao Y, Wei W, Liu W, Lu SY, Chen YB, Wang Y, Yan H, Wu YL. Targeting poly (ADP-ribose) polymerase partially contributes to bufalin-induced cell death in multiple myeloma cells. *PLoS One* 2013; 8: e66130 [PMID: 23762475 DOI: 10.1371/journal.pone.0066130]
6 李恩泽, 刘阳阳, 王锴, 徐明昊, 哈敏文, 朱志图. 蟾蜍灵对食管癌ECA109细胞凋亡的影响及机制探讨. 军医进修学院学报 2012; 33: 393-395
7 张晔, 赵明芳, 刘云鹏, 曲秀娟, 刘静, 侯科佐, 徐玲. 蟾蜍灵诱导人胃癌SGC7901细胞自噬与凋亡的研究. 现代肿瘤医学 2013; 21: 2155-2157
8 李梅影, 李际盛, 于学军, 孙丽美, 王艾君, 刘奇迹, 王秀问. 蟾毒灵对CAPAN-2胰腺癌细胞增殖和细胞周期的影响. 山东大学学报(医学版) 2013; 51: 37-41
9 苏永华, 尹西才, 谢觉民, 高波, 凌昌全. 三种蟾毒单体对SMMC-7721和BEL-7402人肝癌细胞生长的抑制作用. 第二军医大学学报 2003; 24: 393-395
10 王旭, 陈腾, 奉典旭, 陈超, 殷佩浩, 左青松, 陈亚峰. 蟾毒灵对人大肠癌HCT116细胞增殖的影响. 时珍国医国药 2011; 22: 1513-1514
11 Chang WA, Lin ES, Tsai MJ, Huang MS, Kuo PL. Isolinderalactone inhibits proliferation of A549 human non small cell lung cancer cells by arresting the cell cycle at the G0/G1 phase and inducing a Fas receptor and soluble Fas ligand-mediated apoptotic pathway. *Mol Med Rep* 2014; 9: 1653-1659 [PMID: 24604009 DOI: 10.3892/mmr.2014.2015]
12 Chen J, Wang FL, Chen WD. Modulation of apoptosis-related cell signalling pathways by curcumin as a strategy to inhibit tumor progression. *Mol Biol Rep* 2014 Mar 7. *[Epub ahead of print]* [PMID: 24604727 DOI: 10.1007/s11033-014-3329-9]
13 Kang N, Wang MM, Wang YH, Zhang ZN, Cao HR, Lv YH, Yang Y, Fan PH, Qiu F, Gao XM. Tetrahydrocurcumin induces G2/M cell cycle arrest and apoptosis involving p38 MAPK activation in human breast cancer cells. *Food Chem Toxicol* 2014; 67: 193-200 [PMID: 24593988 DOI: 10.1016/j.fct.2014.02.024]
14 王艳丽, 朱晓琳, 段丽丽, 陈杰鹏, 牛哲峰, 曲迎春, 丛培芳, 李岭, 张美侠. 维康醇对肝癌细胞增殖抑制和诱导凋亡的作用. 中国医科大学学报 2013; 42: 999-1002
15 Diaz-Moralli S, Tarrado-Castellarnau M, Miranda A, Cascante M. Targeting cell cycle regulation in cancer therapy. *Pharmacol Ther* 2013; 138: 255-271 [PMID: 23356980 DOI: 10.1016/j.pharmthera.2013.01.011]
16 Cholewa BD, Liu X, Ahmad N. The role of polo-like kinase 1 in carcinogenesis: cause or consequence? *Cancer Res* 2013; 73: 6848-6855 [PMID: 24265276 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-13-2197]
17 Nikonova AS, Astsaturov I, Serebriiskii IG, Dunbrack RL, Golemis EA. Aurora A kinase (AURKA) in normal and pathological cell division. *Cell Mol Life Sci* 2013; 70: 661-687 [PMID: 22864622 DOI: 10.1007/s00018-012-1073-7]
18 Santala S, Talvensaari-Mattila A, Soini Y, Honkavuori-Toivola M, Santala M. High expression of cyclin A is associated with poor prognosis in endometrial endometrioid adenocarcinoma. *Tumour Biol* 2014 Feb 12. *[Epub ahead of print]* [PMID: 24519066 DOI: 10.1007/s13277-014-1703-9]
19 孙蓓, 钱钧强. JNJ-7706621对人乳腺癌细胞周期及凋亡的影响. 中国肿瘤临床 2013; 40: 828-831
20 刘馨莲, 李淑蓉, 孙静, 殷舞. 细胞周期蛋白在食管癌中的表达及意义. 中国实验诊断学 2012; 16: 1249-1252
21 刘馨莲, 殷舞, 李欣. 脑胶质瘤组织中的细胞周期分析与意义. 天津医药 2012; 40: 440-442
22 张宁, 汪晨, 顾伟, 凌昌全. 蟾毒灵对人肝癌细胞HepG2细胞周期的影响及其机制研究. 现代肿瘤医学

2010; 18: 439-442
23 孙宇, 卢辛辛, 梁鑫淼, 崔晓楠. 华蟾素注射液对人肝癌HepG-2细胞增殖及周期的影响. 中国医药指南 2011; 9: 206-208
24 Zhu Z, Li E, Liu Y, Gao Y, Sun H, Wang Y, Wang Z, Liu X, Wang Q, Liu Y. Bufalin induces the apoptosis of acute promyelocytic leukemia cells via the downregulation of survivin expression. *Acta Haematol* 2012; 128: 144-150 [PMID: 22890165 DOI: 10.1159/000339424]
25 王杰, 奉典旭, 陈超, 倪振华, 左青松, 陈亚峰, 王旭, 张勇, 陈腾. 蟾毒灵对裸鼠大肠癌原位移植瘤的抗肿瘤作用及其对凋亡相关基因Bcl-xL, Bax表达的影响. 肿瘤防治研究 2011; 38: 1121-1125
26 樊嘉, 王征. 原发性肝癌综合治疗新进展. 国际消化病杂志 2013; 33: 73-74, 92
27 Shapiro L, Weis WI. Structure and biochemistry of cadherins and catenins. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2009; 1: a003053 [PMID: 20066110 DOI: 10.1101/cshperspect.a003053]
28 周新木, 陈丽荣. GS、E-cadherin和β-catenin在肝细胞癌中的表达及其临床意义. 中国组织化学与细胞化学杂志 2013; 22: 140-144
29 Daniele A, Divella R, Quaranta M, Mattioli V, Casamassima P, Paradiso A, Garrisi VM, Gadaleta CD, Gadaleta-Caldarola G, Savino E, Maci R, Bellizzi A, Fazio V. Clinical and prognostic role of circulating MMP-2 and its inhibitor TIMP-2 in HCC patients prior to and after trans-hepatic arterial chemoembolization. *Clin Biochem* 2014; 47: 184-190 [PMID: 24355694 DOI: 10.1016/j.clinbiochem]
30 Hong SH, Kim GY, Chang YC, Moon SK, Kim WJ, Choi YH. Bufalin prevents the migration and invasion of T24 bladder carcinoma cells through the inactivation of matrix metalloproteinases and modulation of tight junctions. *Int J Oncol* 2013; 42: 277-286 [PMID: 23128598 DOI: 10.3892/ijo.2012.1683]
31 Chueh FS, Chen YY, Huang AC, Ho HC, Liao CL, Yang JS, Kuo CL, Chung JG. Bufalin-inhibited migration and invasion in human osteosarcoma U-2 OS cells is carried out by suppression of the matrix metalloproteinase-2, ERK, and JNK signaling pathways. *Environ Toxicol* 2014; 29: 21-29 [PMID: 21922632 DOI: 10.1002/tox.20769]

编辑 郭鹏 电编 都珍珍

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com
世界华人消化杂志 2014年5月18日; 22(14): 1928-1935
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

基础研究 BASIC RESEARCH

白藜芦醇对酒精诱导的HepG2细胞氧化损伤的保护作用及相关基因表达的变化

何培元, 高淑梅, 侯志平, 马立新, 李炳庆

■背景资料
我国酒精性肝病发病率逐年升高, 不久的将来可能超越病毒性肝炎成为我国肝病的第1大病因. 严重的酒精性肝病会发展成酒精性肝硬化甚至出现肝功能衰竭. 目前对酒精性肝病发病机制认识有限, 临床上缺乏特效的治疗方案及药物.

何培元, 马立新, 李炳庆, 承德医学院附属医院消化内科 河北省承德市 067000
高淑梅, 承德医学院附属医院心电室 河北省承德市 067000
侯志平, 承德医学院病理教研室 河北省承德市 067000
何培元, 主治医师, 主要从事消化系统疾病的研究.
河北省卫生厅基金资助项目, No. 20110179
作者贡献分布: 本课题设计由何培元、高淑梅、侯志平及李炳庆完成; 研究过程由何培元、 侯志平及高淑梅完成; 数据统计分析由马立新完成; 论文写作由何培元与侯志平完成; 由李炳庆完成论文的修改.
通讯作者: 李炳庆, 教授, 主任医师, 067000, 河北省承德市南营子大街6号, 承德医学院附属医院消化内科. libq@sohu.com
电话: 0314-2279514 传真: 0314-2279514
收稿日期: 2014-02-17 修回日期: 2014-03-22
接受日期: 2014-03-28 在线出版日期: 2014-05-18

Resveratrol protects against alcohol-induced oxidative stress in human HepG2 cells

Pei-Yuan He, Shu-Mei Gao, Zhi-Ping Hou, Li-Xin Ma, Bing-Qing Li

Pei-Yuan He, Li-Xin Ma, Bing-Qing Li, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China
Shu-Mei Gao, Department of Cardiac Electrophysiology, the Affiliated Hospital of Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China
Zhi-Ping Hou, Department of Pathology, Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China
Supported by: Foundation of Health Department of Hebei Province, No. 20110179
Correspondence to: Bing-Qing Li, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Chengde Medical College, 6 Nanyingzi Street, Chengde 067000, Hebei Province, China. libq@sohu.com
Received: 2014-02-17 Revised: 2014-03-22
Accepted: 2014-03-28 Published online: 2014-05-18

Abstract

AIM: To assess the effect of resveratrol as an antioxidant on alcohol-induced oxidative stress in HepG2 cells and to explore the possible mechanisms involved.

METHODS: HepG2 cells were pretreated with resveratrol for 24 h before treatment with alcohol to induce oxidative stress. MTT assay was performed to detect the viability of resveratrol-treated HepG2 cells and control cells. ELISA was used to detect the activity of superoxide dismutase (SOD) and the level of total intracellular reactive oxygen species (ROS). Finally, RT-PCR was performed to detect the expression levels of SOD1, SOD2 and catalase, which are key genes involved in anti-oxidation pathway.

RESULTS: In comparison with control cells (not treated with resveratrol), the toxicity of resveratrol (12.5, 25, 50, 100 μmol/L) towards HepG2 cells during pre-treatment was below 20%. Treatment with 300 mmol/L alcohol without pre-treatment with resveratrol resulted in the death of around 50% of cells. Resveratrol at concentrations ranging from 25 to 100 μmol/L had an antagonistic effect against cytotoxicity of 300 mmol/L alcohol to HepG2 cells. SOD activity was significantly higher in cells pre-treated with 100 mmol/L resveratrol (0.391 ± 0.011) compared to non-treated controls (0.391 ± 0.011 *vs* 0.286 ± 0.019, $P < 0.05$). After alcohol induction, non-treated cells showed a higher ROS level compared to cells treated with 25, 50, and 100 μmol/L resveratrol (29234.79 ± 2288.00 *vs* 18023.26 ± 1359.66, 13528.44 ± 1078.99, 8219.87 ± 635.99). Compared to cells induced with 300 mM alcohol, resveratrol increased the expression levels of SOD1 (0.5535 ± 0.0035, 0.586 ± 0.0113, 0.623 ± 0.0127), SOD2 (1.249 ± 0.011, 1.369 ± 0.028, 1.377 ± 0.021, 1.401 ± 0.0578) and catalase (0.1955 ± 0.004, 0.2275 ± 0.00707).

CONCLUSION: Resveratrol as an antioxidant protects against alcohol-induced oxidative stress by regulating the expression of genes involved in anti-oxidant pathways.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Resveratrol; Oxidative stress; HepG2; Anti-oxidant

He PY, Gao SM, Hou ZP, Ma LX, Li BQ. Resveratrol protects against alcohol-induced oxidative stress in human HepG2 cells. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(14): 1928-1935
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1928.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i14.1928

■同行评议者
张进祥, 副教授, 华中科技大学同济医学院附属协和医院

摘要

目的: 探讨白藜芦醇在酒精诱导的HepG2细胞氧化应激中的抗氧化作用, 揭示白藜芦醇抗酒精性肝损伤的作用机制.

方法: 白藜芦醇预处理HepG2细胞24 h后, 用酒精诱导氧化应激的产生. MTT方法检测白藜芦醇处理组与对照组HepG2细胞活力; 用ELISA试剂盒检测不同实验组的超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)和细胞内总活性氧(reactive oxygen species, ROS)含量; 采用RT-PCR方法检测抗氧化通路中关键基因*SOD1*、*SOD2*和过氧化氢酶的mRNA表达水平.

结果: MTT结果显示, 与对照组比较, 白藜芦醇(12.5、25、50、100 μmol/L)对HepG2细胞的细胞毒性均在20%以下, 300 mmol/L酒精可致近50%HepG2细胞死亡; 25-100 μmol/L白藜芦醇可有效对抗300 mmol/L酒精对HepG2引起的细胞毒性作用; SOD活性显示100 μmol/L白藜芦醇预处理组SOD含量(0.391±0.011)明显高于非处理组(0.286±0.019), 而ROS结果显示酒精诱导组(29234.79±2288)明显高于白藜芦醇25、50、100 μmol/L预处理组(18023.26±1359.66; 13528.44±1078.99; 8219.87±635.99); RT-PCR结果显示, 与300 mmol/L酒精比较, 25、50和100 μmol/L白藜芦醇可上调SOD1 mRNA表达量(0.5535±0.0035; 0.586±0.0113; 0.623±0.0127); 12.5、25、50、100 μmol/L白藜芦醇均可上调SOD2 mRNA表达量(1.249±0.011; 1.369 ±0.028; 1.377±0.021; 1.401±0.0578); 50和100 μmol/L白藜芦醇均可上调过氧化氢酶(0.1955±0.004; 0.2275±0.00707)mRNA的表达量.

结论: 本研究提示酒精可诱导氧化应激的产生, 而白藜芦醇通过调节抗氧化通路中基因的表达发挥抗氧化功能, 从而削弱酒精的细胞损伤作用.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 白藜芦醇; 氧化应激; HepG2; 抗氧化

核心提示: 本研究发现经白藜芦醇处理后, 酒精诱导的细胞内总活性氧(reactive oxygen species)含量明显下降, 氧化应激(oxidative stress)较未处理组减轻. 随后应用Real-time PCR技术对超氧化物歧化酶(superoxide dismutase)和过氧化氢酶mRNA表达水平的检测证明白藜芦醇可以通过增加抗氧化酶的表达提高抗氧化酶活性, 加快活性氧自由基代谢, 从而起到细胞保护作用.

何培元, 高淑梅, 侯志平, 马立新, 李炳庆. 白藜芦醇对酒精诱导的HepG2细胞氧化损伤的保护作用及相关基因表达的变化. 世界华人消化杂志 2014; 22(14): 1928-1935 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1928.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i14.1928

■研发前沿

氧化应激是酒精性肝病中导致肝细胞损伤的重要发病机制. 多种自由基、抗氧化酶及非酶性抗氧化物参与其中构成了一个较为复杂的网络式反应体系. 各种不同的组分在整个氧化应激体系中的地位及其相互关系成为研究的热点. 如何应用各种人工合成药物及中草药对抗氧化应激保护肝细胞是研究的重点.

0 引言

白藜芦醇属于非黄酮类多酚化合物, 主要存在于各种红葡萄果实和红葡萄酒中[1], 是一种天然的植物抗毒素, 研究证据表明白藜芦醇具有抗衰老、抗氧化、抗肿瘤、抗炎和免疫调节作用[2-5]. 目前其在肝脏疾病的治疗方面有一些研究, 其作用机制主要为消除自由基和抗氧化[6].

过量饮酒成为当今世界范围内一个重要的公共卫生问题. 嗜酒者的肝脏、神经系统疾患的发病率比一般人群高20%[7]. 酒精性肝病(alcoholic liver disease, ALD)为长期大量饮酒所致肝脏损伤性疾病. 虽然很多学者致力于酒精性肝病的研究, 但依然缺乏有效的治疗方法[8]. 之前的相关研究表明氧化应激在发病过程中发挥了重要作用[8-10]. 肝细胞癌细胞(HepG2)被广泛用于肝细胞毒性、肝脂质代谢和体外代谢研究[11], 是在细胞水平研究肝病的一种良好模型. 目前, 还没有关于白藜芦醇对抗酒精诱导的细胞毒性作用及其机制的研究. 本实验旨在研究白藜芦醇对酒精所诱导的氧化应激的抗氧化作用及其分子机制.

1 材料和方法

1.1 材料 人肝细胞癌HepG2细胞株购于美国ATCC公司; 酒精、二甲基亚砜(DMSO)购自天津化工厂; DMEM培养基、胎牛血清、MTT购自Sigma公司; 总RNA提取试剂盒、RT-PCR扩增试剂盒购自上海生工公司; 细胞培养箱(美国Thermo)、倒置显微镜为日本Olympus公司产品, 由承德医学院基础研究所提供.

1.2 方法

1.2.1 细胞培养人肝细胞癌HepG2细胞: 于DMEM(Dulbecco's modified Eagle's medium)培养液, 包含10%(V/V)小牛血清和50 μg/mL庆大霉素, 37℃、5%CO_2培养箱中培养. 细胞密度达到80%以上后种在96孔细胞培养板上, 密度为每孔1×10^5个.

1.2.2 毒性检测: 使用MTT[3-(4,5-di-methylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide]方法检测细胞活性, 方法同参考文献[14]. HepG2细胞(1×10^5)种于96孔细胞培养板中, 培养24 h后

■相关报道
从酒精在体内的生物化学代谢过程可以确定, 酒精的代谢过程中生成了大量的活性氧, 氧化应激所致的脂质过氧化是肝细胞受损的主要机制, 同时酒精代谢的中间产物也会降低抗氧化物质的活性. 国内外已有研究证实酒精性肝病患者血清SOD、过氧化氢酶及还原型谷胱甘肽等抗氧化物质活性低于健康人群. 但其活性降低的机制尚需更深入的研究.

表 1 复合扩增基因列表

基因名称	GeneBank 号	加标记(带下划线部分)的引物序列	
		上游引物	下游引物
ACTBa	NM_001101	AGGTGACACTATAGAATAGATCATTGCTCCT	GTACGACTCACTATAGGGAAAAGCCATGCC
		CCTGAGC	AATCTCATC
KanRb		AGGTGACACTATAGAATA	AGGTGACACTATAGAATA
SOD1	NM_000454	AGGTGACACTATAGAATATCATCAATTTCGA	GTACGACTCACTATAGGGA
		GCAGAAGG	TGCTTTTTCATGGACCACC
SOD2	NM_	AGGTGACACTATAGAATA	GTACGACTCACTATAGGGA
Catalase	NM_	AGGTGACACTATAGAATA	GTACGACTCACTATAGGGA

以不同浓度的白藜芦醇(0-100 μmol/L)处理24 h后测细胞活性以观察白藜芦醇的细胞毒性; 同样以不同浓度的酒精[12](0-400 mmol/L)处理细胞24 h后检测细胞活性以观察酒精的细胞毒性.

1.2.3 白藜芦醇对抗酒精毒性细胞活力检测: 以不同浓度的白藜芦醇(0-100 μmol/L)预处理HepG2细胞24 h后, 用300 mmol/L浓度的酒精诱导24 h, 之后在每孔中加入20 μL MTT, 孵育4 h, 弃去培养液, 加入100 μL DMSO, 摇床震荡15 min, 待紫色结晶完全溶解后, 酶标仪570 nm处读取吸光值.

1.2.4 SOD、ROS检测: 使用武汉华美生物工程有限公司的ELISA试剂盒检测SOD、ROS表达, 分别按照说明书严格进行操作, 用荧光酶标仪在490 nm处读取SOD吸光度值; 以激发波长480 nm, 发射波长530 nm读取ROS吸光度值.

1.2.5 RT-PCR 检测细胞内SOD1, SOD2及过氧化氢酶mRNA的表达: 使用上海生工总RNA提取试剂盒严格按照说明书提取HepG2细胞总RNA; 使用紫外分光光度计检测$A_{260/230}$和$A_{260/280}$以检测RNA纯度及计算RNA浓度. 引物设计参考文献[13,14]并在GenBank中比对, 由上海生工合成, 表1为相关基因上下游引物基本信息. 根据上海生工一步法反转录试剂盒说明书配制 RT-PCR混合物. 反转录体系为: RNA样本(50 ng/μL)1 μL, 5×RT Buffer 4 μL, 反转录引物2 μL, 反转录酶1 μL, 双蒸水12 μL, 总共20 μL. 使用PCR仪48 ℃ 1 min, 42 ℃ 60 min, 95 ℃ 5 min进行反转录. PCR复合扩增体系为: 各基因cDNA 9.3 μL, 10.7 μL PCR反应混合物, 包含5×PCR Buffer、25 μmol/L $MgCl_2$和上下游引物. 扩增条件: 95 ℃ 10 min, 94 ℃ 30 s, 55 ℃ 30 s, 72 ℃延长1 min, 34个循环, 4 ℃保存. 内参基因为*β-actin*. 应用GeXP基因分析仪分析抗氧化酶基因(*SOD1*、*SOD2*和过氧化氢酶)mRNA水平的变化.

统计学处理 采用SPSS20.1软件进行分析, 统计结果以mean±SD表示, 计量资料采用方差分析. $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 细胞毒性检测 白藜芦醇与酒精的细胞毒性结果如图1A, B. 图1A为不同浓度酒精(0-400 mmol/L)作用于HepG2细胞24 h后的细胞活力. 各不同酒精浓度组细胞活性较对照组均有所下降, 差异均有统计学意义($P>0.05$). 图1B为不同浓度的白藜芦醇(0-100 μmol/L)作用于HepG2细胞24 h后的细胞毒性. 100 μmol/L组细胞活性较对照组有所下降, 两组间差异有统计学意义($P<0.05$), 其余各组与对照组相比均无明显变化($P<0.05$).

2.2 细胞活力检测 白藜芦醇对抗酒精毒性的细胞活力检测图1C显示了不同浓度的白藜芦醇减弱300 mmol/L酒精诱导的细胞毒性作用, 12.5 μmol/L白藜芦醇组细胞活性与酒精组相比无统计学差异($P>0.05$). 25、50和100 μmol/L的白藜芦醇与酒精组比较具有统计学意义($P<0.05$). 对上述3个处理组进行组间比较, 25 μmol/L组细胞活性较50及100 μmol/L组低, 差异有统计学意义($P<0.05$), 50 μmol/L组与100 μmol/L比较无统计学差异($P>0.05$).

2.3 SOD、ROS检测 细胞内SOD、ROS含量改变如图2A所示SOD活性改变: 与对照组比较, 酒精组细胞内SOD活性明显下降, 具有统计学差异($P<0.05$); 与酒精组比较100 μmol/L白藜芦醇组细胞内SOD活性明显升高, 有统计学差异($P<0.05$), 而其他三组较低浓度白藜芦醇预处理组SOD活性略有升高与酒精组比较无统计学差异($P>0.05$). 图2B所示为ROS水平: 与对照组比较, 酒精组细胞内ROS水平明显升高. 与酒精组比较, 25、50及100 μmol/L组白藜芦醇组细胞内

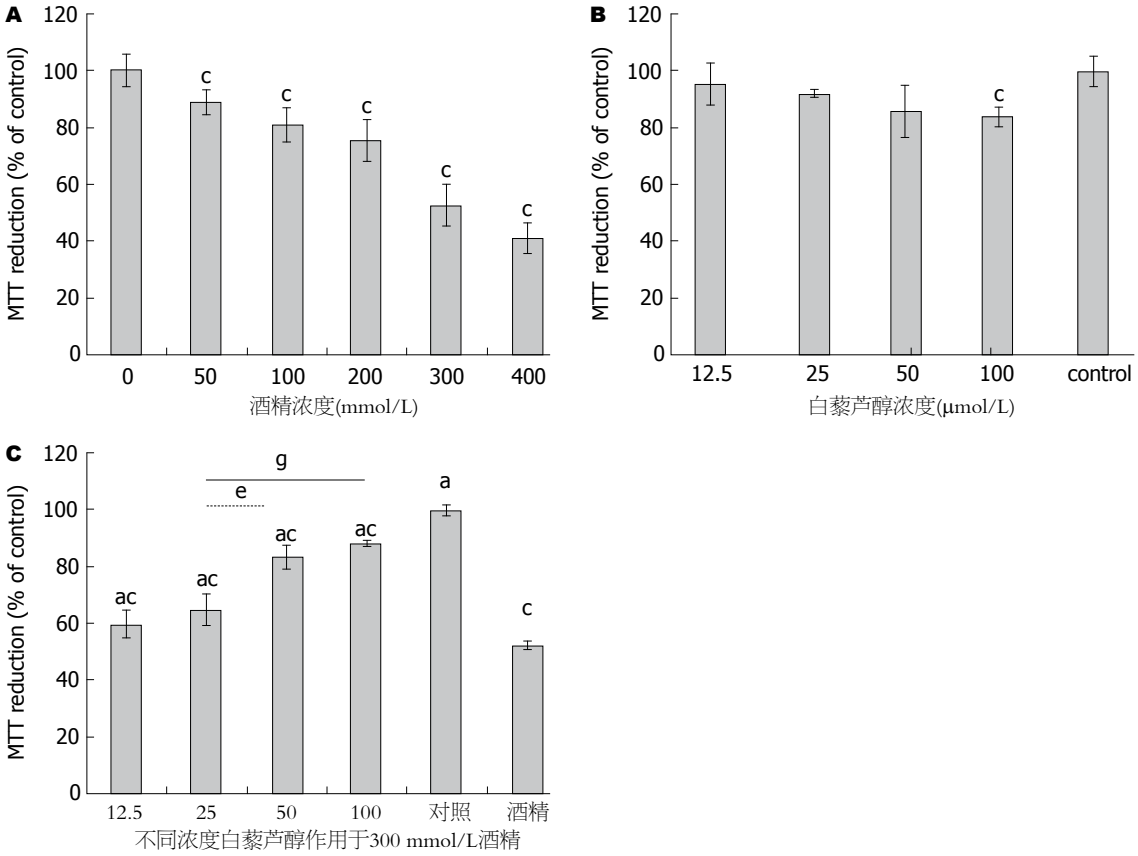


图 1 细胞活力检测. A: 不同浓度酒精作用于HepG2细胞后的细胞活性检测; B: 不同浓度白藜芦醇对HepG2细胞后的细胞活性检测; C: 不同浓度白藜芦醇作用HepG2细胞24 h后, 300 mmol/L酒精作用24 h后的细胞活力. $^{a}P<0.05$ *vs* 酒精组; $^{c}P<0.05$ *vs* 对照组; $^{e}P<0.05$ *vs* 50 μmol/L组; $^{g}P<0.05$ *vs* 100 μmol/L.

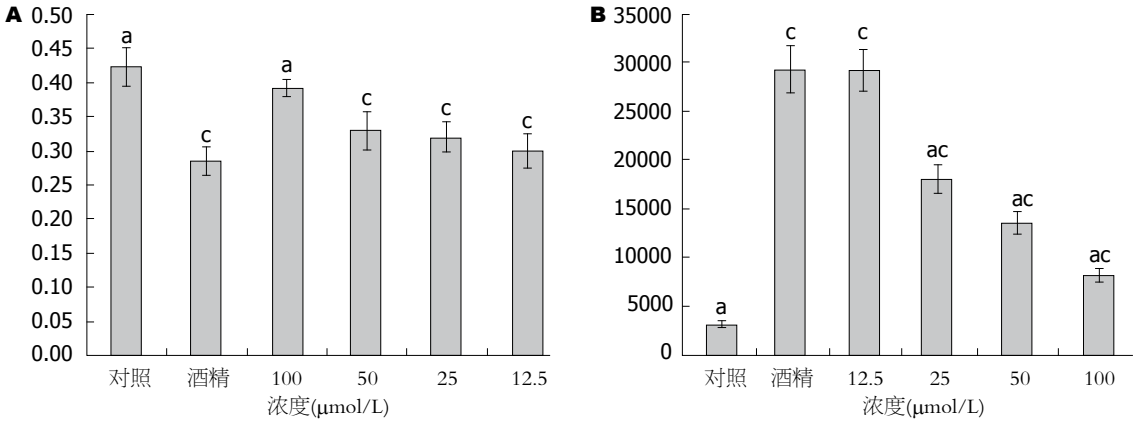


图 2 不同浓度白藜芦醇对抗300 mmol/L酒精诱导的氧化应激反应. A: SOD活性检测; B: 细胞内总ROS水平检测. $^{a}P<0.05$ *vs* 300 mmol/L酒精诱导组; $^{c}P<0.05$ *vs* 对照组.

ROS水平明显下降, 有统计学差异($P<0.05$), 而最低浓度的12.5 μmol/L组ROS水平与酒精组比较无统计学差异($P>0.05$).

2.4 细胞内SOD1、SOD2、过氧化氢酶 mRNA表达变化 图3显示经不同浓度白藜芦醇预处理再以300 mmol/L酒精诱导后HepG2细胞内SOD1、SOD2和过氧化氢酶3种基因mRNA水平. 图3A示SOD1 mRNA水平: 与未施加任何处理的对照组比较, 酒精组SOD1 mRNA水平明显下降, 差异有统计学意义($P<0.05$); 不同浓度的白藜芦醇预处理组SOD1 mRNA水平均有所升高, 其中12.5 μmol/L组升高幅度较小与酒精组比较无统计学差异($P>0.05$), 其他3个浓度组均有统计学差异($P<0.05$). 图3B示SOD2 mRNA水

■创新盘点

本文测定了肝细胞内超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性及总活性氧(reactive oxygen species, ROS)含量, 并应用Real-time PCR技术检测了SOD及过氧化氢酶mRNA水平, 从而对酒精性肝病中氧化应激发生的机制有了新的认识. 并通过毒性检测获得了用酒精和白藜芦醇处理肝细胞的浓度, 为后续的科研工作提供了有价值的参数.

■应用要点

本研究检测了经白藜芦醇处理前后细胞内ROS含量和SOD活性以及SOD和过氧化氢酶的mRNA表达水平, 证实白藜芦醇可以通过增加抗氧化酶的基因表达提高抗氧化应激能力, 对酒精诱导的氧化应激所致细胞损伤有保护作用, 提供了一种有潜在研发价值的酒精性肝病治疗药物, 并为其可能的临床应用提供理论基础.

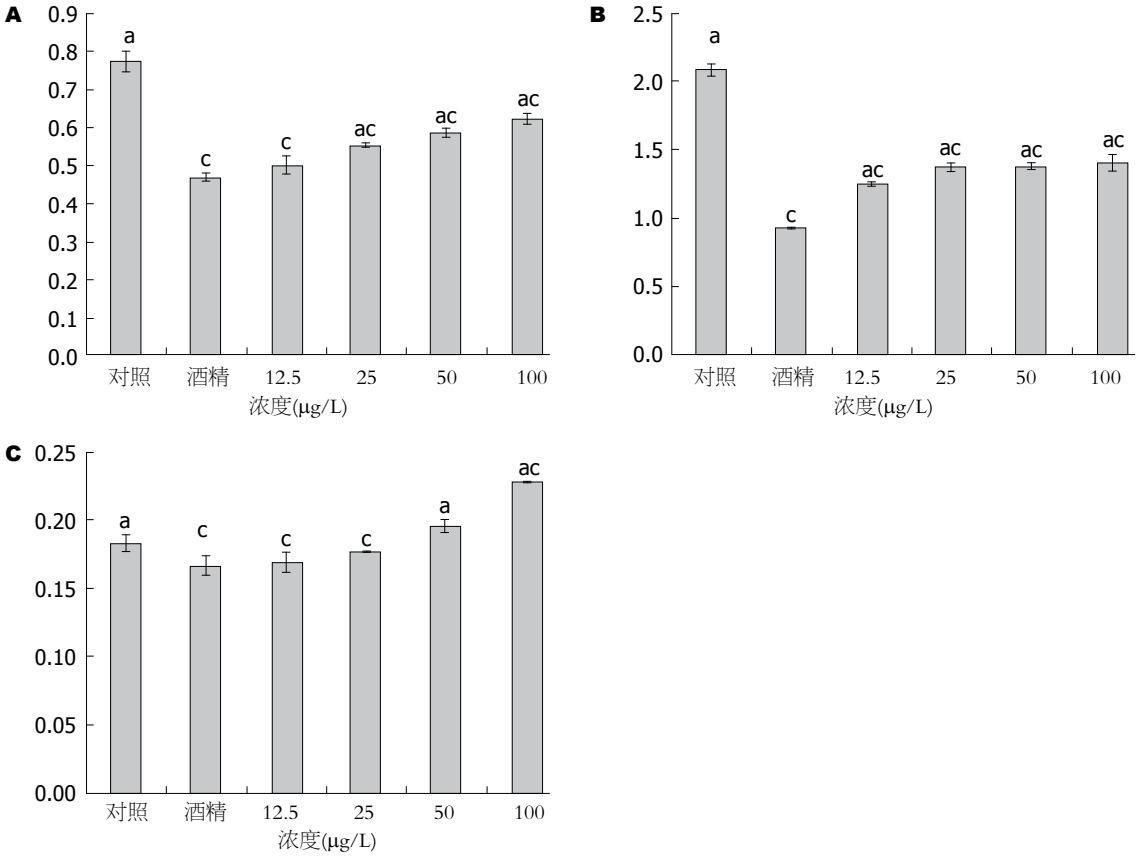


图 3 *SOD1*、*SOD2*和*Catalase*基因在HepG2细胞中mRNA水平的表达. A: *SOD1*; B: *SOD2*; C: *Catalase*基因. 柱形图代表同一个组别的平均mRNA表达量, 误差线代表标准差. $^{a}P<0.05$ *vs* 酒精组; $^{c}P<0.05$ *vs* 对照组.

平: 与对照组比较酒精组SOD2 mRNA水平明显下降; 与酒精组比较各不同浓度的白藜芦醇预处理组SOD2 mRNA水平均有所升高, 且有统计学差异($P<0.05$). 图3C示过氧化氢酶mRNA水平变化: 与对照组比较酒精组过氧化氢酶mRNA水平有所下降, 有统计学意义($P<0.05$); 与酒精组相比50和100 μmol/L两个高浓度预处理组过氧化氢酶mRNA水平明显升高有统计学差异($P<0.05$), 而两个低浓度预处理组与酒精组比较无统计学差异($P>0.05$).

3 讨论

在酒精性肝病中氧化应激已成为公认的致病机制, 应用抗氧化剂减轻氧化应激程度以改善酒精引起的肝脏损伤已成为一种治疗手段. 抗氧化药物在动物水平体内实验和细胞水平体外实验都显现出了明显的治疗效果. 以往研究表明水飞蓟素通过上调还原型谷胱甘肽等抗氧化物质对抗酒精的氧化应激, 从而起到保护肝细胞的作用[15]. 同样, 以槐皮素预处理肝细胞也可以减弱酒精诱导的肝细胞内氧化应激水平[16,17]. 利用原代培养的大鼠肝脏细胞进行的体外实验研究证实, 抗氧化剂β-胡萝卜素可以减轻酒精诱导的氧化应激[18]. 用大鼠进行的动物实验也表明口服抗氧化剂维生素C及硫胺素等抗氧化剂可以有效减轻酒精诱导的血清肝脏酶学异常[19]. 周俊英等[20]检测到酒精性肝病大鼠存在氧化应激指标的改变, 并且已有人验证酒精性肝病大鼠发病机制与氧化应激密切相关[21]. 这些研究表明, 氧化应激引起肝细胞损伤, 而抗氧化剂是阻止酒精性肝损害的有效策略.

绝大多数药物都是在一定浓度范围内发挥其治疗作用, 浓度过低对疾病起不到治疗效果, 浓度过高必将对机体产生不良反应. 为了确保本研究所采用的药物浓度处于安全并且有效的浓度范围, 实验操作中首先进行了白藜芦醇及酒精细胞毒性的检测. 实验数据显示: 从12.5-50 μmol/L浓度的白藜芦醇对细胞活性无影响, 100 μmol/L浓度白藜芦醇组细胞活性虽有所下降, 但细胞活性可达80%以上, 仍处于药物毒理实验可接受的范围内. 酒精对细胞的毒性作用非常明显, 从100-400 mmol/L不同酒精处理组细胞活性均有所下降, 最高酒精浓度组细胞活性仅约40%. 为便于后续实验中白藜芦醇效果的观察,

采用了细胞活性接近50%的300 mmol/L组作为后续实验的酒精处理浓度.

20世纪40年代发现的白藜芦醇是一种天然多酚类化合物, 以往研究表明其对多种疾病有治疗作用, 并且证实其作用与抗氧化功能相关[7]. 白藜芦醇可通过清除ROS、减弱ROS生成酶活性和增强SOD等ROS代谢酶活性[22,23]等不同途径发挥抗氧化作用. Kitada等[24]研究发现白藜芦醇可以通过恢复SOD2的正常功能减轻氧化应激以减少糖尿病肾病的发病. 郑毅等[25]研究表明白藜芦醇可以增加过氧化氢酶、血红素加氧酶及SOD1的表达对抗过氧化氢诱导的氧化应激从而起到保护晶状体上皮细胞的作用. 为明确白藜芦醇对酒精所致的肝细胞损伤有无保护作用, 对经白藜芦醇预处理及未经预处理的细胞活性分别进行了检测. 结果证实从25、50和100 μmol/L浓度白藜芦醇处理组均有细胞保护作用, 且50 μmol/L组较25 μmol/L组效果好, 50和100 μmol/L两组效果无明显差异. 该结果为今后实际应用中药物剂量的选择提供了参考数据及理论依据.

ROS是一类含氧的具有较强氧化性的自由基氧和非自由基氧的总称, 包括超氧阴离子、过氧化氢和一氧化氮等. SOD和过氧化氢酶是两个氧自由基代谢的关键酶, 细胞内不同的亚细胞结构存在不同的SOD亚型, SOD1也叫铜/锌SOD, SOD2也称锰SOD, 分别存在于细胞浆和细胞线粒体内. SOD可以催化氧化能力强的超氧化物生成H_2O_2, 过氧化氢酶可进一步催化H_2O_2生成H_2O和氧化能力更低的O_2. 为了研究白藜芦醇抗氧化损伤的作用靶点, 本课题检测了细胞内ROS水平和SOD活性, 结果表明: 酒精可致使细胞内ROS水平升高而SOD活性降低, 以白藜芦醇预处理细胞可使细胞内ROS明显减少, 同时还能提高SOD活性.

为进一步研究白藜芦醇作用的机制, 对SOD1、SOD2和过氧化氢酶3种酶的mRNA水平进行了检测, 结果表明酒精诱导后SOD1、SOD2和过氧化氢化氢酶mRNA水平均有所下降, 其中SOD1和SOD2下降幅度明显高于过氧化氢酶. 说明酒精主要是通过降低SOD活性减缓活性氧的代谢速度. 经白藜芦醇预处理后SOD1、SOD2和过氧化氢化氢酶mRNA水平均有所升高, 说明白藜芦醇通过增加上述三种基因的转录水平达到加速活性氧代谢的效果而最终起到对细胞的保护作用.

肝炎病毒一直是我国肝病的最主要病因, 酒精性肝病的发病率仅次于病毒性肝炎, 是我国肝病的第2大病因. 我国医疗条件不断改善, 1992年乙型肝炎疫苗在全国范围内列入计划免疫管理, 这必将使肝炎病毒感染人数逐渐减少. 与此同时, 人们生活水平明显提高, 各种酒精类饮料的消费量也逐年攀升, 酒精性肝病的患病率不断升高, 不难预测酒精性肝病在不久的将来会成为我国肝病的首要病因. 酒精性肝病的发病机制及治疗方案的研究意义重大. 本试验结果显示酒精可通过降低SOD和过氧化氢酶活性致使细胞内ROS升高, 从而使细胞内出现氧化应激, 细胞活性明显下降. 白藜芦醇的抗氧化应激作用已被多项在体内及体外模型上进行的研究所证实, 但其作用机制仍需进一步研究. 本试验结果表明白藜芦醇可通过增加SOD和过氧化氢酶mRNA水平提高活性氧代谢通路中关键酶的活性, 从而降低细胞内ROS含量, 减轻细胞损伤. 本研究从氧化应激的角度研究酒精导致细胞损伤的机制, 并且观察到白藜芦醇对酒精诱导的细胞氧化损伤有保护作用, 为其今后的实际应用提供了理论基础.

人体内的抗氧化系统除了上述以SOD及过氧化氢酶为代表的抗氧化酶还包括一类非酶类抗氧化物质, 如：还原型谷胱甘肽(glutathione, GSH)、维生素E、维生素C、辅酶Q等, 其中还原型谷胱甘肽是最具代表性的内源性非酶类抗氧化物, 是巯基的主要供体[26]. Gupta等[27]和Singh等[28]进行的临床研究证实酒精性肝病患者血液中还原型谷胱甘肽的浓度较正常对照组明显下降. Checa等[29]的进一步研究表明消除自由基过程中的过度消耗及酒精对还原型谷胱甘肽合成的抑制共同导致其含量明显下降. 高健等[30]曾研究还原型谷胱甘肽对酒精性肝病的治疗作用, 结果表明还原型谷胱甘肽可以有效降低酒精性肝病患者ALT、AST、γ-GT, 同时对肝纤维化的发展有抑制作用. 本试验中对白藜芦醇处理前后细胞内ROS含量、SOD和过氧化氢酶活性及酶的基因表达水平进行了检测, 由实验数据可知白藜芦醇可以通过提高抗氧化酶活性来减少ROS含量. 但ROS含量的减少是抗氧化酶及还原型谷胱甘肽等非酶类抗氧化物共同起作用的结果[31]. 白藜芦醇是否也能通过提高还原型谷胱甘肽等非酶类抗氧化物水平而起到抗氧化作用呢？这个课题值得设计相关的研究项目去进一步探索.

■同行评价
本文结果较明确, 具有一定创新性, 可读性和科学性.

4 参考文献

1 Renaud S, de Lorgeril M. Wine, alcohol, platelets, and the French paradox for coronary heart disease. *Lancet* 1992; 339: 1523-1526 [PMID: 1351198 DOI: 0140-6736(92)91277-F]

2 Singh CK, Kumar A, Lavoie HA, Dipette DJ, Singh US. Diabetic complications in pregnancy: is resveratrol a solution? *Exp Biol Med* (Maywood) 2013; 238: 482-490 [PMID: 23436883 DOI: 10.1177/1535370212473704]

3 Sinha K, Chaudhary G, Gupta YK. Protective effect of resveratrol against oxidative stress in middle cerebral artery occlusion model of stroke in rats. *Life Sci* 2002; 71: 655-665 [PMID: 12072154 DOI: S0024320502016910]

4 Polycarpou E, Meira LB, Carrington S, Tyrrell E, Modjtahedi H, Carew MA. Resveratrol 3-O-D-glucuronide and resveratrol 4'-O-D-glucuronide inhibit colon cancer cell growth: evidence for a role of A3 adenosine receptors, cyclin D1 depletion, and G1 cell cycle arrest. *Mol Nutr Food Res* 2013; 57: 1708-1717 [PMID: 23650147 DOI: 10.1002/mnfr.201200742]

5 Puca AA, Carrizzo A, Ferrario A, Villa F, Vecchione C. Endothelial nitric oxide synthase, vascular integrity and human exceptional longevity. *Immun Ageing* 2012; 9: 26 [PMID: 23153280 DOI: 10.1186/1742-4933-9-26]

6 Rivière C, Richard T, Quentin L, Krisa S, Mérillon JM, Monti JP. Inhibitory activity of stilbenes on Alzheimer's beta-amyloid fibrils in vitro. *Bioorg Med Chem* 2007; 15: 1160-1167 [PMID: 17049256 DOI: 10.1016/j.bmc.2006.09.069]

7 Carrizzo A, Forte M, Damato A, Trimarco V, Salzano F, Bartolo M, Maciag A, Puca AA, Vecchione C. Antioxidant effects of resveratrol in cardiovascular, cerebral and metabolic diseases. *Food Chem Toxicol* 2013; 61: 215-226 [PMID: 23872128 DOI: 10.1016/j.fct.2013.07.021]

8 Majano PL, Medina J, Zubía I, Sunyer L, Lara-Pezzi E, Maldonado-Rodríguez A, López-Cabrera M, Moreno-Otero R. N-Acetyl-cysteine modulates inducible nitric oxide synthase gene expression in human hepatocytes. *J Hepatol* 2004; 40: 632-637 [PMID: 15030979 DOI: 10.1016/j.jhep.2003.12.009]

9 Gutiérrez-Ruiz MC, Quiroz SC, Souza V, Bucio L, Hernández E, Olivares IP, Llorente L, Vargas-Voráckova F, Kershenobich D. Cytokines, growth factors, and oxidative stress in HepG2 cells treated with ethanol, acetaldehyde, and LPS. *Toxicology* 1999; 134: 197-207 [PMID: 10403637]

10 Nah HY, Lee WS, Joo YE, Kim HS, Choi SK, Rew JS, Kim SJ, Jung YD, Ahn BW, Park JS, Shin BA. Resveratrol protects HepG2 and Chang liver cells from oxidative stress. *Chonnam Med J* 2005; 41: 243-252

11 Knasmüller S, Mersch-Sundermann V, Kevekordes S, Darroudi F, Huber WW, Hoelzl C, Bichler J, Majer BJ. Use of human-derived liver cell lines for the detection of environmental and dietary genotoxicants; current state of knowledge. *Toxicology* 2004; 198: 315-328 [PMID: 15138058 DOI: 10.1016/j.tox.2004.02.008]

12 Senthil Kumar KJ, Liao JW, Xiao JH, Gokila Vani M, Wang SY. Hepatoprotective effect of lucidone against alcohol-induced oxidative stress in human hepatic HepG2 cells through the up-regulation of HO-1/Nrf-2 antioxidant genes. *Toxicol In Vitro* 2012; 26: 700-708 [PMID: 22484158 DOI: 10.1016/j.tiv.2012.03.012]

13 Azmi NH, Ismail N, Imam MU, Ismail M. Ethyl acetate extract of germinated brown rice attenuates hydrogen peroxide-induced oxidative stress in human SH-SY5Y neuroblastoma cells: role of anti-apoptotic, pro-survival and antioxidant genes. *BMC Complement Altern Med* 2013; 13: 177 [PMID: 23866310 DOI: 10.1186/1472-6882-13-177]

14] Ismail N, Ismail M, Fathy SF, Musa SN, Imam MU, Foo JB, Iqbal S. Neuroprotective effects of germinated brown rice against hydrogen peroxide induced cell death in human SH-SY5Y cells. *Int J Mol Sci* 2012; 13: 9692-9708. [PMID- 22949825] doi: 10.3390/ijms13089692

15 Song Z, Deaciuc I, Song M, Lee DY, Liu Y, Ji X, McClain C. Silymarin protects against acute ethanol-induced hepatotoxicity in mice. *Alcohol Clin Exp Res* 2006; 30: 407-413 [PMID: 16499481 DOI: 10.1111/j.1530-0277.2006.00063.x]

16 Liu S, Hou W, Yao P, Zhang B, Sun S, Nüssler AK, Liu L. Quercetin protects against ethanol-induced oxidative damage in rat primary hepatocytes. *Toxicol In Vitro* 2010; 24: 516-522 [PMID: 19327393 DOI: 10.1016/j.tiv.2009.03.006]

17 Oliva J, Bardag-Gorce F, Tillman B, French SW. Protective effect of quercetin, EGCG, catechin and betaine against oxidative stress induced by ethanol in vitro. *Exp Mol Pathol* 2011; 90: 295-299 [PMID: 21352821 DOI: 10.1016/j.yexmp.2011.02.006]

18 Peng HC, Chen JR, Chen YL, Yang SC, Yang SS. beta-Carotene exhibits antioxidant and anti-apoptotic properties to prevent ethanol-induced cytotoxicity in isolated rat hepatocytes. *Phytother Res* 2010; 24 Suppl 2: S183-S189 [PMID: 19957244 DOI: 10.1002/ptr.3068]

19 Ambadath V, Venu RG, Madambath I. Comparative study of the efficacy of ascorbic acid, quercetin, and thiamine for reversing ethanol-induced toxicity. *J Med Food* 2010; 13: 1485-1489 [PMID: 20946019 DOI: 10.1089/jmf.2009.1387]

20 周俊英, 赵彩彦, 甄真. 酒精性肝病发病过程中氧化应激指标的变化. 中国组织化学与细胞化学杂志 2006; (6): 644-648

21 金武还, 权修权, 孟繁平, 崔香丹, 朴海今. 大鼠酒精性肝病细胞凋亡与细胞色素P4502E1和氧化应激的关系. 世界华人消化杂志 2007; 15: 2181-2185

22 Rocha KK, Souza GA, Ebaid GX, Seiva FR, Cataneo AC, Novelli EL. Resveratrol toxicity: effects on risk factors for atherosclerosis and hepatic oxidative stress in standard and high-fat diets. *Food Chem Toxicol* 2009; 47: 1362-1367 [PMID: 19298841 DOI: 10.1016/j.fct.2009.03.010]

23 Kohnen S, Franck T, Van Antwerpen P, Boudjeltia KZ, Mouithys-Mickalad A, Deby C, Moguilevsky N, Deby-Dupont G, Lamy M, Serteyn D. Resveratrol inhibits the activity of equine neutrophil myeloperoxidase by a direct interaction with the enzyme. *J Agric Food Chem* 2007; 55: 8080-8087 [PMID: 17844991 DOI: 10.1021/jf071741n]

24 Kitada M, Kume S, Imaizumi N, Koya D. Resveratrol improves oxidative stress and protects against diabetic nephropathy through normalization of Mn-SOD dysfunction in AMPK/SIRT1-independent pathway. *Diabetes* 2011; 60: 634-643 [PMID: 21270273 DOI: 10.2337/db10-0386]

25 Zheng Y, Liu Y, Ge J, Wang X, Liu L, Bu Z, Liu P.

Resveratrol protects human lens epithelial cells against H2O2-induced oxidative stress by increasing catalase, SOD-1, and HO-1 expression. *Mol Vis* 2010; 16: 1467-1474 [PMID: 20806083]
26 Halliwell B. Antioxidant defense mechanisms: from the beginning to the end. *Free Radic Res* 1999; 31: 261-272
27 Gupta S, Pandey R, Katyal R, Aggarwal HK, Aggarwal RP, Aggarwal SK. Lipid peroxide levels and antioxidant status in alcoholic liver disease. *Indian J Clin Biochem* 2005; 20: 67-71 [PMID: 23105497 DOI: 10.1007/BF02893045]
28 Singh M, Gupta S, Singhal U, Pandey R, Aggarwal SK. Evaluation of the oxidative stress in chronic alcoholics. *J Clin Diagn Res* 2013; 7: 1568-1571 [PMID: 24086841 DOI: 10.7860/JCDR/2013/5596.3210]
29 Fernández-Checa JC, Hirano T, Tsukamoto H, Kaplowitz N. Mitochondrial glutathione depletion in alcoholic liver disease. *Alcohol* 1993; 10: 469-475 [PMID: 8123202]
30 高健, 吴显才, 李孝生, 沈鼎明. 还原型谷胱甘肽治疗酒精性肝病的研究. 世界华人消化杂志 2002; 10: 809-811
31 Cederbaum AI, Lu Y, Wu D. Role of oxidative stress in alcohol-induced liver injury. *Arch Toxicol* 2009; 83: 519-548 [PMID: 19448996 DOI: 10.1007/s00204-009-0432]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年5月18日; 22(14): 1936-1942
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

基础研究 BASIC RESEARCH

幽门螺杆菌菌毛蛋白FLaA IgY的制备及体外抑菌实验

彭 姣, 卢 超, 祁振强, 张国海

■背景资料
由于幽门螺旋杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)引发胃癌和其他一些疾病, 关于*H. pylori*的研究已受到越来越多的关注, 但针对*H. pylori*的治疗目前还是采用抗生素联合治疗等方式, 造成*H. pylori*的耐药性越来越严重, 极大地影响了*H. pylori*的治疗效果. 采用抗体类药物进行*H. pylori*的治疗得到了众多研究者的重视. 卵黄抗体是一种禽类抗体, 具有很好的生物活性, 常用于动物疾病的口服类药物的研发和治疗, 是消化系疾病传染病的有效治疗和预防药物.

彭姣, 卢超, 祁振强, 张国海, 深圳市宝舜泰生物医药股份有限公司 广东省深圳市 518057
卢超, 张国海, 广西师范大学药用资源化学与药物分子工程国家重点实验室培育基地 广西壮族自治区桂林市 541004
彭姣, 工程师, 主要从事抗体的研究.
广西自然科学基金资助项目, No. 2013GXNSFBA019159
广西医药产业人才小高地基金资助项目, No. 1312
广西科学研究与技术开发基金资助项目, No. 13349002
深圳市科创委深圳市战略性新兴产业发展专项基金资助项目, No. CXZZ20120823103224373
作者贡献分布: 此课题由张国海与祁振强设计; 实验部分由卢超与彭姣完成; 论文写作由彭姣与张国海完成.
通讯作者: 张国海, 助理研究员, 541004, 桂林市育才路15号, 广西师范大学药用资源化学与药物分子工程国家重点实验室培育基地. zgh1207@mailbox.gxun.edu.cn
电话: 0773-2120958
收稿日期: 2014-02-17 修回日期: 2014-03-23
接受日期: 2014-04-03 在线出版日期: 2014-05-18

In vitro bacteriostatic activity of IgY against recombinant *Helicobacter pylori* FlaA protein

Jiao Peng, Chao Lu, Zhen-Qiang Qi, Guo-Hai Zhang

Jiao Peng, Chao Lu, Zhen-Qiang Qi, Guo-Hai Zhang, Shenzhen Boostie Biological Pharmaceutical CO., LTD, Shenzhen 518057, Guangdong Province, China
Chao Lu, Guo-Hai Zhang, State Key Laboratory Cultivation Base for the Chemistry and Molecular Engineering of Medicinal Resources, School of Chemistry & Pharmacy, Guangxi Normal University, Guilin 541004, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China
Supported by: Natural Science Foundation of Guangxi, No. 2013GXNSFBA019159; Guangxi Pharmaceutical Industry Talent Small Highland Project, No.1312; Guangxi Scientific Research and Technology Development Project, No. 13349002; and Shenzhen Special Funds for Development of Strategic Emerging Industries, No. CXZZ20120823103224373
Correspondence to: Guo-Hai Zhang, Assistant Professor, State Key Laboratory Cultivation Base for the Chemistry and Molecular Engineering of Medicinal Resources, School of Chemistry & Pharmacy, Guangxi Normal University, 15 Yucai Road, Guilin 541004, Guangdong Province, China. zgh1207@mailbox.gxun.edu.cn
Received: 2014-02-17 Revised: 2014-03-23
Accepted: 2014-04-03 Published online: 2014-05-18

Abstract

AIM: To evaluate the *in vitro* antibacterial activity of anti-*Helicobacter pylori* (*H. pylori*) FlaA IgY.

METHODS: Recombinant *H. pylori* FlaA was prepared by prokaryotic expression and used to immunize hens. Anti-FlaA IgY was purified and IgY titer was determined by ELISA. The antibody was then tested to check if there was any cross-reaction with the common intestinal flora like *Lacticacid bacteria*, *Bifidobacterium* and *Escherichia coli*. The antibacterial activity of different concentrations of anti-*H. pylori* FlaA IgY (0.1, 1 and 5 mg/mL) was finally determined.

RESULTS: The concentration of purified FlaA protein was 2.97 mg/mL, and the titer of anti-FlaA IgY was 1:12800 three weeks after immunization. Anti-FlaA IgY did not react with the common intestinal flora, but reacted well with *H. pylori* and FlaA protein. *In vitro* results showed that there were significant differences ($P < 0.01$) in the *H. pylori* concentrations between the control group and the groups treated with 0.1, 1, or 5 mg/mL FlaA IgY, indicating that FlaA IgY of various concentrations could inhibit the growth of *H. pylori* in a certain degree. The antibacterial activity of 0.1 mg/mL FlaA IgY was mainly present between 1 and 6 h, and was mostly lost after 6 h. The growth of *H. pylori* treated with 1 mg/mL FlaA IgY was relatively slow, and the bacterial concentration of the group treated with 5 mg/mL FlaA IgY did not alter significantly between 1 and 24 h. After 10^8 CFU/mL *H. pylori* was treated with three different doses (0.1, 1, 5 mg/mL) of FlaA IgY for 24 h, a significant difference in bacterial concentration was observed between the low dose group and the other two groups ($P < 0.01$). Anti-FlaA IgY at 5 mg/mL could completely inhibit the growth of *H. pylori*.

CONCLUSION: High-titer anti-FlaA IgY can specifically react with *H. pylori*, and has no cross-reaction with the common intestinal flora. Anti-FlaA IgY at 5 mg/mL has a strong inhibitory effect on the growth of *H. pylori*.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: *Helicobacter pylori*; Flagellar protein A; IgY; Antibacterial test

Peng J, Lu C, Qi ZQ, Zhang GH. *In vitro* bacteriostatic

■同行评议者
谭周进, 教授, 湖南中医药大学

activity of IgY against recombinant *Helicobacter pylori* FlaA protein. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(14): 1936-1942 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1936.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i14.1936

摘要

目的: 制备抗幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)菌毛蛋白FlaA卵黄免疫球蛋白(yolk immunoglobulin, IgY), 并进行体外抑菌实验, 为治疗*H. pylori*口服药物的研发奠定基础.

方法: 采用原核表达制备的FlaA蛋白, 将重组FlaA菌毛蛋白免疫蛋鸡获取FlaA IgY, 采用间接ELISA的方法检测FlaA IgY的效价. 通过将其与肠道中常见菌群乳酸杆菌、双歧杆菌、大肠杆菌进行抗体抗原结合反应, 检测其是否与肠道中其他菌群存在交叉反应. 评价0.1、1、5 mg/mL低、中、高3种不同浓度的FlaA IgY的体外抑菌实验效果.

结果: 纯化后的FlaA蛋白浓度为2.97 mg/mL. 经重组FlaA IgY免疫制备IgY在第3次免疫1 wk后效价可达到1∶12800, 特异性检测结果显示, FlaA IgY不与肠道中常见菌发生交叉反应, 与*H. pylori*全菌和重组FlaA反应强烈. 体外抑菌结果显示, 0.1、1、5 mg/mL的FlaA IgY处理后的*H. pylori*菌液浓度与对照组菌液浓度相比具有显著差异(0.324±0.033, 0.078±0.012, 0.014±0.003 *vs* 0.539±0.023, $P<0.01$), 表明低、中、高3组浓度的FlaA IgY均能一定程度的抑制*H. pylori*的生长. 0.1 mg/mL IgY的抑菌作用主要表现在1-6 h之间, 6 h后抑菌作用基本丧失. 1 mg/mL FlaA IgY处理组的*H. pylori*在1-24 h之间生长较为缓慢, 5 mg/mL FlaA IgY处理组菌液浓度在1-24 h之间基本无变化. 10^8 CFU/mL *H. pylori*经3组不同浓度FlaA IgY处理24 h后, 低IgY浓度组菌液浓度与其余2组菌液浓度相比差异显著(0.078±0.012, 0.014±0.003 *vs* 0.324±0.033, $P<0.01$), 5 mg/mL FlaA IgY在24 h内能彻底抑制*H. pylori*的生长.

结论: 制备的FlaA IgY效价较高, 特异性强, 不与肠道常见菌群发生交叉反应. 5 mg/mL的FlaA IgY在体外对*H. pylori*具有很强的抑制作用.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 幽门螺杆菌; 菌毛蛋白FlaA; 卵黄抗体; 抑菌试验

核心提示: 采用重组幽门螺旋杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)菌毛蛋白FlaA为免疫抗原制备卵黄抗体, 该卵黄抗体效价高, 特异性强, 不会与肠道常见菌群发生交叉反应, 在体外能有效抑制*H. pylori*的生长.

彭姣, 卢超, 祁振强, 张国海. 幽门螺杆菌菌毛蛋白FlaA IgY的制备及体外抑菌实验. 世界华人消化杂志 2014; 22(14): 1936-1942 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1936.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i14.1936

■研发前沿

目前有大量关于*H. pylori*卵黄免疫球蛋白(yolk immunoglobulin, IgY)的文献报道, 主要集中在抗*H. pylori* IgY的制备和体内体外试验, 已证实了能有效保护和治疗鼠类模型的*H. pylori*感染.

0 引言

幽门螺旋杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)是一种革兰氏阴性菌, 被证实与慢性萎缩性胃炎、十二指肠溃疡、胃腺癌和胃黏膜相关性淋巴组织淋巴瘤的发生有关, 此外, *H. pylori*还与全身多系统疾病的发病密切相关[1], 目前成功治疗和根除*H. pylori*需要复合抗生素治疗, 如甲硝唑、阿莫西林、克拉霉素、铋剂以及质子泵抑制剂(proton pump inhibitors)等[2-4]. 虽然抗生素能够成功治疗*H. pylori*的感染, 但耐药性*H. pylori*的产生使得这类治疗方案存在着一定失败几率, 患者复发率高, *H. pylori*耐药性日趋严重, 不同国家和地区其耐药率和耐抗生素种类常存在很大差别, 由于耐药性导致的*H. pylori*复发率能高达40%[5]. 有研究表明, 对小鼠模型采用特异性抗体进行*H. pylori*的控制和治疗能取得良好的治疗效果[6,7]. 尽管*H. pylori*的致病多样性机制尚未完全清楚, *H. pylori*的毒力因子也很多, 但*H. pylori*必须首先定植于人胃黏膜才能进一步发挥作用, 鞭毛在*H. pylori*的定植和移动中起重要作用, 并存在于所有*H. pylori*中. 对豚鼠模型胃黏膜*H. pylori*定植情况的研究表明, 鞭毛不仅是*H. pylori*在胃黏膜中的定植因子, 也是毒力因子[8]. 鞭毛蛋白由FlaA和FlaB 2个亚基组成, 其中FlaA具有更为重要的致病性和免疫性[9]. 采用口服特异性抗体能够有效的抑制肠道感染和多种消化系病原体[10,11]. 卵黄免疫球蛋白(yolk immunoglobulin, IgY)是一种禽类抗体, 目前已有大量应用实例证明IgY可用于疾病的预防和治疗[12]. 口服卵黄免疫球蛋白被证实能用于肠道感染的治疗, 且效果显著[13], 此外, IgY具有提取量大、廉价易获取等优点. 本研究对以重组的*H. pylori* FlaA菌毛蛋白为抗原免疫蛋鸡获取特异性卵黄免疫球蛋白, 对获得的重组FlaA IgY的效价、免疫原性、特异性以及体外抑菌实验进行了研究.

■相关报道
近年来关于幽门螺杆菌卵黄抗体的研究已经陆续开展, Roe和Shin等报道了全菌制备的抗*H. pylori* IgY能有效减轻因*H. pylori*引发的沙鼠胃炎, 在国内, 陈翠萍等证明了全菌制备的抗*H. pylori* IgY能有效中和*H. pylori*毒素细胞毒活性以及对小鼠的保护作用. 在*H. pylori*毒力因子制备IgY方面也不断有新的研究进展, 毛小琴等研究了重组VacA卵黄抗体的体外活性, 黄进等制备了抗HpaA IgY, 邓颖等制备了抗Nap卵黄抗体, 目前还未见FlaA IgY的相关报道.

1 材料和方法

1.1 材料 *H. pylori*标准株购自北京中原公司, pET-32a-flaA由本公司分子生物学实验室构建和保存. 低分子量蛋白Marker购自北京索莱宝科技有限公司, IPTG购自上海源叶生物科技有限公司, 布氏肉汤培养基购自上海信裕生物科技有限公司, NTA亲和层析柱购自QIAGEN, 弗氏完全佐剂及弗氏不完全佐剂购自Sigma, HRP-羊抗鸡IgY购自艾美捷科技有限公司, TMB单组份显色液购自碧云天, *H. pylori*检测试剂盒(脲酶法)购自上海卒瑞生物科技有限公司. SPF来亨鸡, 4只, 105日龄, 体质量1.5-1.6 kg, 由本公司自行孵化培育.

1.2 方法

1.2.1 重组蛋白表达: 将本实验室构建并经验证的pET-32a-FlaA转化至BL21(DE3), 同时以pET-32a空质粒转化BL21(DE3)为对照, 同时用0.4 mmol/L IPTG诱导4 h. 收集菌液, 4 ℃10000 *g*离心5 min, 弃去上清, 沉淀用0.01 mol/L的PBS清洗3次后, 加入10 mL 0.01 mol/L PBS重悬后经超声波破碎, 12000 *g*离心10 min后分别取上清和沉淀, 用12%SDS-PAGE检测表达结果, 以NTA亲和层析法(BBST)按照产品说明书收集目的蛋白, 12% SDS-PAGE分析纯度, 双紫外法测定蛋白浓度, -20 ℃保存备用.

1.2.2 免疫: 选择150日龄SPF来亨蛋鸡4只, 按每只蛋鸡300 μg蛋白量接种, 将纯化的重组FlaA和等量弗氏佐剂混合乳化, 分胸肌4点注射. 首次免疫采用弗氏完全佐剂乳化抗原, 第14天进行第2次免疫, 免疫佐剂为弗氏不完全佐剂, 第30天进行第3次免疫, 免疫方式同第2次. 第3次免疫结束后1 wk收集鸡蛋, 4 ℃保存备用.

1.2.3 FlaA IgY的分离提取: 采用硫酸铵法两步法纯化提取FlaA IgY. 将卵黄无菌分离后, 以1∶9的比例加入pH 5.0的醋酸-醋酸钠缓冲液, 搅拌20 min后4 ℃静置过夜. 10000 *g*离心20 min, 上清加入饱和硫酸铵至终浓度为40%, 静置6 h后离心, 10000 *g*离心20 min, 沉淀用PBS重悬, 加入饱和硫酸铵至终浓度为40%, 静置过夜后10000 *g*离心20 min, 沉淀用0.01 mol/L的PBS重悬后透析过夜, 经0.22 μm滤膜过滤除菌, 用双紫外法测定纯化的IgY浓度, 经SDS-PAGE检测IgY纯度, -20 ℃保存.

1.2.4 ELISA检测FlaA IgY的效价: 以方阵滴定法确定ELISA的最佳抗原包被浓度为10 μg/mL, 酶标二抗工作浓度为1∶3000. 将重组FlaA用包被液稀释至为10 μg/mL, 包被96孔酶标板. 4 ℃过夜后37 ℃封闭1 h, 依次加入稀释度为1∶800, 1∶1600, 1∶3200, 1∶6400, 1∶12800, 1∶25600, 1∶51200的IgY, 每个稀释度重复一组, 37 ℃温育1 h后加入1∶3000稀释的HRP-羊抗鸡IgY, 37 ℃温育1 h后TMB显色15 min. 阴性对照为未经免疫的鸡蛋提取的IgY, 酶标仪读取A_{450}, 检测样品A_{450}值/阴性对照A_{450}(P/N)大于2.1为阳性.

1.2.5 FlaA IgY特异性检测: 采用建立的间接ELISA方法检测重组FlaA IgY的特异性, 以肠胃中常见的乳酸杆菌、双歧杆菌、大肠杆菌以及*H. pylori*经0.4%甲醛灭活后与重组FlaA分别包被酶标板, 使得各组包被蛋白浓度为10 μg/mL, 将FlaA IgY以1∶500的稀释度稀释, 同时以未经免疫的IgY为对照, 采用1.2.4中的方法进行检测.

1.2.6 FlaA IgY体外抑菌实验: 调整新培养的*H. pylori*菌液浓度至10^8 CFU/mL. 取-20 ℃保存的已除菌的重组FlaA IgY, 重新测定浓度. 用无菌布氏肉汤将FlaA IgY稀释后按等体积比例加入*H. pylori*菌液, 使得FlaA IgY的终浓度为0.1、1、5 mg/mL. 将菌液和不同浓度的FlaA IgY混合均匀后按照*H. pylori*培养条件培养, 另以不加FlaA IgY为对照, 分别于1、2、4、6、12、24 h取1 mL培养液稀释至3 mL后测定培养液的A_{490}值, 并取10 μL培养液涂布培养. 对比分析各组结果.

统计学处理 计量资料采用mean±SD表示, 采用SPSS19.0统计学软件进行统计学处理组内的比较采用单因素方差分析, 组间比较采用独立样本*t*检验, $P<0.05$为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 FlaA融合蛋白的表达 构建的pET-32a-flaA-BL21(DE3)经0.4 mmol/L IPTG诱导4 h, 诱导结果采用12%SDS-PAGE检测. 电泳检测结果显示在相对分子量66 kDa处可见明显融合蛋白条带. 表达产物主要存在于超声破碎离心后的沉淀中(图1). 用NTA亲和层析法纯化目的蛋白, 经双紫外法测定的蛋白浓度为2.97 mg/mL.

2.2 FlaA IgY的制备和效价检测 将FlaA免疫蛋鸡, 经3次免疫后收集鸡蛋, 采用硫酸铵两步沉淀法制备IgY. 经双紫外法测定的IgY浓度为: 7.92 mg/mL. 12%SDS-PAGE检测IgY纯化效果. 结果如图2所示, 在66 kDa和30 kDa左右处可见蛋白带, 且无明显杂带, 纯化效果较好. 采用间接ELISA法以重组FlaA蛋白包被酶标板检测纯化后的FlaA IgY效价, 结果显示经3次免疫1 wk

表 1 FlaA IgY特异性检测

	包被抗原	乳酸杆菌	双歧杆菌	大肠杆菌	幽门螺杆菌	重组FlaA
A_{450}	FlaA IgY	0.113	0.102	0.107	1.283	1.289
	阴性IgY	0.087	0.073	0.085	0.083	0.074

IgY: 卵黄免疫球蛋白.

表 2 不同取样时间*H. pylori*处理菌液A_{490}值

FlaA IgY浓度	不同取样时间A_{490}值					
(mg/mL)	1 h	2 h	4 h	6 h	12 h	24 h
0	0.096	0.144	0.161	0.254	0.336	0.539
0.1	0.042	0.053	0.073	0.080	0.140	0.324
1	0.020	0.035	0.051	0.078	0.075	0.077
5	0.006	0.013	0.013	0.015	0.012	0.014

H. pylori: 幽门螺杆菌; IgY: 卵黄免疫球蛋白.

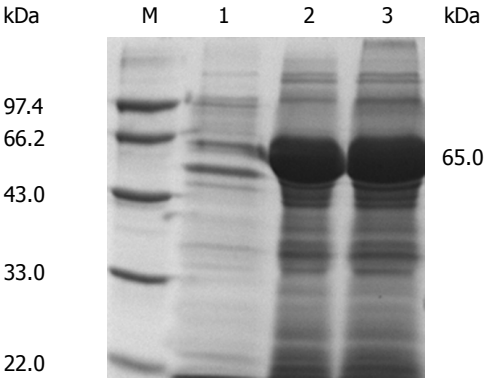


图 1 重组FlaA表达形式验证电泳图. M: 低分子量蛋白标准; 1: 表达产物超声破碎离心后上清; 2: 表达产物超声破碎离心后沉淀; 3: 未经超声破碎表达产物.

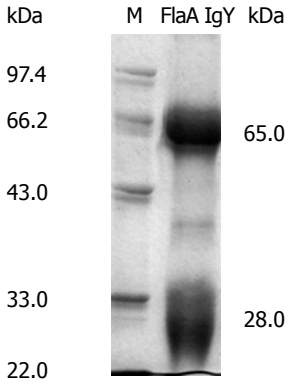


图 2 纯化FlaA IgY SDS-PAGE结果图. M: 低分子量蛋白标准; IgY: 卵黄免疫球蛋白.

后的FlaA IgY效价为1∶12800.

2.3 FlaA IgY特异性检测 以肠道中常见的细菌为检测对象, 检测FlaA IgY是否会与肠道中的其他细菌发生交叉反应, 以*H. pylori*全菌和重组的FlaA为对照, 参照建立的间接ELISA方法进行检测, 以阴性对照的A_{450}的平均值为0.080, 以P/N大于2.1计算, 当检测孔A_{450}值大于0.169时即判断为阳性. 结果显示只有*H. pylori*和重组蛋白FlaA的检测结果为阳性, 其余抗原检测结果均为阴性. 这表明FlaA IgY具有很好的特异性, 不会与肠道中的某些益生菌和中性菌发生交叉反应(表1).

2.4 FlaA IgY的体外抑菌实验 3组不同浓度FlaA IgY的抑菌结果如表2, 对抑菌结果进行分析可知, 与对照组相比, 经高、中、低3种浓度FlaA IgY 24 h处理后的*H. pylori*的菌液A_{490}值存在显著差异(0.324±0.033, 0.078±0.012, 0.014±0.003 *vs* 0.539±0.023, P<0.01), 结果表明所有浓度的FlaA IgY均能一定程度抑制*H. pylori*的生长, 且这种抑制作用随着FlaA IgY浓度的增加而加强. 对高、中、低3组不同浓度FlaA IgY处理组之间的抑菌结果进行分析显示, 1、5 mg/mL IgY抑菌效果与0.1 mg/mL IgY抑菌效果存在显著差异(0.078±0.012, 0.014±0.003 *vs* 0.324±0.033, P<0.01), 0.1 mg/mL和1 mg/mL浓度的FlaA IgY与对照相比虽然也具有一定的抑菌效果, 但不能完全抑制*H. pylori*的生长. 0.1 mg/mL IgY的抑菌作用主要表现在1-6 h之间, 此时菌液浓度变化较缓慢, 6 h后*H. pylori*菌液浓度急剧上升, 表明6 h后0.1 mg/mL IgY的抑菌作用基本丧失, 1 mg/mL的FlaA IgY处理后的*H. pylori*在6 h后生长较为缓慢, 5 mg/mL FlaA IgY组的*H. pylori*在

■创新盘点

本文制备的FlaA IgY采用的*H. pylori*毒力因子FlaA存在于所有的*H. pylori*菌株中, 且具有高度保守性, 能对所有*H. pylori*分离株型作用.

■应用要点
制备的FlaA IgY能有效的与FlaA菌毛蛋白结合, 阻止*H. pylori*在细胞表面的黏附和定植, 且对所有株型*H. pylori*均有作用, 具有良好的应用前景.

表 3 不同取样时间*H. pylori*处理液培养菌落数 (CFU/mL)

IgY浓度(mg/mL)	1 h	2 h	4 h	6 h	12 h	24 h
0	$>10^8$	$>10^8$	$>10^8$	$>10^8$	$>10^8$	$>10^8$
0.1	135	175	263	497	1897	32869
1	56	73	164	271	256	269
5	0	0	0	0	0	0

H. pylori: 幽门螺杆菌; IgY: 卵黄免疫球蛋白.

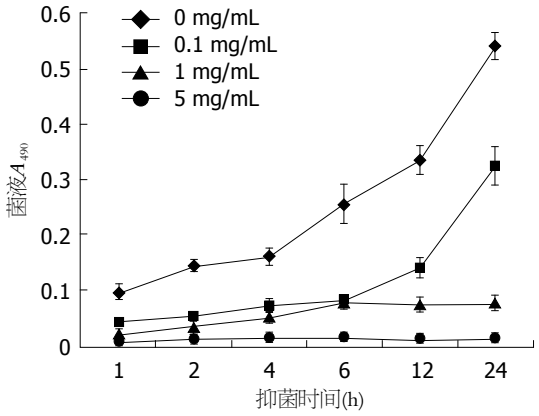


图 3 不同浓度FlaA IgY对幽门螺杆菌的抑菌结果.

1-24 h之间菌液浓度基本在较低水平不变(图3). 在各监测时间点采样进行菌落培养, 结果显示当FlaA IgY浓度达到5 mg/mL时, 能完全抑制*H. pylori*的生长, 其在各时间段的采样培养*H. pylori*菌落数为0, 对*H. pylori*的抑制作用能表现在整个实验过程中, 而其他两个浓度组各时间段培养物均有若干菌落, 这与菌液A_{490}检测结果相符(表3). FlaA IgY的抑菌实验结果表明FlaA IgY具有较高的抑菌活性, 能明显抑制*H. pylori*的生长, 其中5 mg/mL的FlaA IgY在24 h内对*H. pylori*的生长具有完全的抑制作用.

3 讨论

*H. pylori*的毒力因子主要包括细胞空泡毒素(vacuolating cytotoxin A, VacA)、细胞毒素相关蛋白(cytotoxin associated gene A, CagA)、黏附素、尿素酶、黏液酶、酯酶和凝脂酶、脂多糖、醇脱氢酶等7种[14]. 虽然所有的*H. pylori*都含有*VacA*基因, 但只有50%的菌株能分泌有活性的细胞毒素, 只有60%的*H. pylori*菌株含有*CagA*基因[15]. 尽管*H. pylori*的致病多样性机制尚未完全清楚, *H. pylori*的毒力因子也很多, 但*H. pylori*必须首先定植于人胃黏膜才能进一步发挥作用, 鞭毛在*H. pylori*的定植和移动中起重要作用, 并存在于所有*H. pylori*中, 对豚鼠模型胃黏膜*H. pylori*定植情况的研究表明, 鞭毛不仅是*H. pylori*在胃黏膜中的定植因子, 也是毒力因子, 被认为是*H. pylori*得以在胃内存在并致病的重要因素之一[16], 与*H. pylori*的定植、持续感染、诱导炎症反应有关[17,18]. *FlaA*基因序列高度保守, 与其他细菌鞭毛蛋白无抗原交叉, 具有重要的致病性和免疫性[19]. IgY与哺乳动物初乳中的抗体一样, 都是由母体产生, 通过特殊机制从血液中转运而来, 作为预防和治疗的药物, 卵黄抗体具有较高的免疫活性, 可直接与相应抗原产生快速免疫反应, 作为一种天然蛋白, IgY在发挥作用后即可被机体作为营养物质分解吸收, 不会残留有害物质, 没有不良作用[20,21]. 目前已有众多关于抗*H. pylori* IgY研究的相关报道. Yang等[22]对全菌*H. pylori*免疫蛋鸡制备的特异性IgY的体外和体内特性研究结果表明, 16 mg/mL的特异性IgY能彻底地抑制*H. pylori*的生长, 以小鼠为模型的体内试验结果表明, 采用200 mg/kg的IgY口服量可以使得*H. pylori*的根除率达到75%, 且能有效地缓解小鼠胃部炎症. Shin等[23]的研究也证明了采用全菌制备的抗*H. pylori* IgY不仅能根除沙鼠胃部*H. pylori*感染, 还能有效治疗由*H. pylori*感染导致的胃部炎症. Suzuki等[24]用抗HpU IgY对17例*H. pylori*阳性但未患病志愿者进行了口服治疗, 经4 wk治疗后, 接受治疗者的脲酶检测值显著下降, 与抗酸剂联合使用能有效地缓解因*H. pylori*感染引发的胃炎. 此外还有采用重组方法获取*H. pylori*其他细胞毒力因子如VacA、中性粒细胞激活蛋白(neutrophil activating protein, Nap)等进行蛋鸡免疫制备特异性IgY[25,26], 其中一定浓度的VacA-IgY被证明能完全中和*H. pylori*菌体蛋白的Hela细胞毒活性[25]. 此外还有将2种*H. pylori*毒力因子经过分子生物学手段进行融合表达并以此制备相应的IgY, 将其灌胃小鼠, 结果表明了该IgY对小鼠的*H. pylori*感染具有一定的预防效果[27]. 但后续的

研究表明, 全菌*H. pylori*为抗原制备的IgY除了能特异的识别*H. pylori*外, 还能与人肠道其他菌群发生交叉反应, 采用*H. pylori*特异抗原免疫蛋鸡能获得特异性更强的*H. pylori* IgY[28], 采用CagA和VacA制备的IgY虽然具备特异性更强的优点, 但其只能针对$CagA^+$和$VacA^+$型*H. pylori*. *H. pylori*具有2种鞭毛蛋白, FlaA和FlaB, 其中以FlaA在*H. pylori*的黏附与定植中发挥主要作用[29]. 相较于FlaB, FlaA具有更强的免疫原性和免疫反应性[17], 此外FlaA保守性高, 对东西方*H. pylori*不同分离株的FlaA特征差异性进行比较结果显示, 东西方菌株间无明显特征性差异[30]. Yan等[31]采用重组的FlaA检测125例*H. pylori*感染患者血清中*H. pylori*抗体, 检出率可达98.04%, 用重组FlaA制备的兔抗血清对从98例确诊为*H. pylori*感染患者体内分离培养的*H. pylori*进行检测, 检出率为100%, 这也证明了FlaA是一种广泛的*H. pylori*特异性抗原, 重组FlaA具有良好的免疫原性. 本研究以重组的菌毛蛋白FlaA为抗原免疫蛋鸡获取卵黄免疫球蛋白, 经3次免疫后产生的抗体效价为1∶12800. 该抗体能与FlaA以及*H. pylori*全菌发生免疫结合反应, 表明了FlaA融合蛋白具有较好的免疫原性, 这与Yan等的报道相符[31]. 为研究重组FlaA IgY的特异性, 检测其是否与肠道中常见菌群存在交叉反应, 本实验以肠道中常见的乳酸杆菌、双歧杆菌以及大肠杆菌为包被抗原, 采用间接ELISA检测FlaA IgY是否能与肠胃中常见菌群特别是益生菌群发生交叉反应. 检测结果显示FlaA IgY特异性好, 不会与肠道中的益生菌群以及其他常见细菌发生交叉反应, 这表明当将FlaA IgY用于口服治疗时影响肠胃菌群生态可能性小.

为验证重组FlaA IgY的体外活性, 本研究将纯化的FlaA IgY除菌后按高、中、低3种浓度梯度与*H. pylori*混匀后培养, 检测在24 h内FlaA IgY对*H. pylori*的抑菌效果. 3种不同浓度的FlaA IgY均对*H. pylori*的生长具有一定的抑制作用, 在高浓度时能完全抑制*H. pylori*的生长, 在高剂量IgY处理组培养至12 h以后出现明显的菌体沉降现象, 而其余相应处理组无此现象产生. FlaA IgY作为一种针对*H. pylori*鞭毛蛋白的特异性抗体, 其对*H. pylori*的抑制作用主要通过与*H. pylori*菌毛蛋白发生特异性结合体现, 在体内主要表现为抑制*H. pylori*的定植和转移, 但在体外同样表现出对*H. pylori*生长的抑制作用, 原因可能是FlaA IgY特异的与*H. pylori*鞭毛蛋白结合, 除了能抑制其游动和定植外, 可能还会改变*H. pylori*外周蛋白的疏水性或空间构象, 导致*H. pylori*之间发生凝集沉降从而影响*H. pylori*的生长, 具体的抑制机制需要进一步的研究.

本研究结果表明重组FlaA具有较强的免疫原性, 制备的FlaA IgY除了与重组FlaA结合反应强烈外, 还与*H. pylori*全菌特异性结合. 该FlaA IgY特异性好, 不会与肠胃中乳酸杆菌和双歧杆菌以及大肠杆菌发生交叉反应. 当*H. pylori*浓度达到5 mg/mL时能完全抑制*H. pylori*的生长, 为将来FlaA IgY应用于口服时剂量选择提供了理论依据.

■名词解释
IgY: 一种禽类抗体, 与哺乳动物IgG相似, 主要从禽蛋中分离获取, 具有良好的生物活性.

4 参考文献

1 任建丽, 刘建. 幽门螺杆菌感染及相关性疾病的研究进展. 医学综述 2013; 19: 1253-1255
2 Graham DY, Shiotani A. New concepts of resistance in the treatment of Helicobacter pylori infections. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 2008; 5: 321-331 [PMID: 18446147 DOI: 10.1038/ncpgasthep1138]
3 Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain C, Bazzoli F, El-Omar E, Graham D, Hunt R, Rokkas T, Vakil N, Kuipers EJ. Current concepts in the management of Helicobacter pylori infection: the Maastricht III Consensus Report. *Gut* 2007; 56: 772-781 [PMID: 17170018 DOI: 10.1136/gut.2006.101634]
4 Gisbert JP, Gisbert JL, Marcos S, Jimenez-Alonso I, Moreno-Otero R, Pajares JM. Empirical rescue therapy after Helicobacter pylori treatment failure: a 10-year single-centre study of 500 patients. *Aliment Pharmacol Ther* 2008; 27: 346-354 [PMID: 17999716 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2007.03573.x]
5 欧碧云, 刘代华. 我国幽门螺旋杆菌抗生素耐药现状. 中国医药指南 2013; 7: 68-69
6 Marnila P, Rokka S, Rehnberg-Laiho L, Kärkkäinen P, Kosunen TU, Rautelin H, Hänninen ML, Syväoja EL, Korhonen H. Prevention and suppression of Helicobacter felis infection in mice using colostral preparation with specific antibodies. *Helicobacter* 2003; 8: 192-201 [PMID: 12752731 DOI: 10.1046/j.1523-5378.2003.00144.x]
7 Casswall TH, Nilsson HO, Björck L, Sjöstedt S, Xu L, Nord CK, Borén T, Wadström T, Hammarström L. Bovine anti-Helicobacter pylori antibodies for oral immunotherapy. *Scand J Gastroenterol* 2002; 37: 1380-1385 [PMID: 12523586 DOI: 10.1080/00365520 2762671242]
8 Ritter G. [Health status of men aged 18--60 in West Germany]. *Lebensversicher Med* 1977; 29: 66-72 [PMID: 17044]
9 梁韶辉. 幽门螺杆菌鞭毛素基因flaA、flaB的克隆、表达和其融合蛋白免疫反应性的研究. 浙江大学, 2003
10 Carlander D, Kollberg H, Wejåker PE, Larsson A. Peroral immunotherapy with yolk antibodies for the prevention and treatment of enteric infections. *Immunol Res* 2000; 21: 1-6 [PMID: 10803878 DOI: 10.1385/IR:21:1:1]
11 Tacket CO, Losonsky G, Link H, Hoang Y, Guesry P, Hilpert H, Levine MM. Protection by milk im-

■同行评价

本文制备了抗幽门螺杆菌菌毛蛋白FlaA IgY, 通过体外抑菌实验证明了其特异性及效果, 为治疗*H. pylori*口服药物的研发打下了基础. 选题较好, 有一定的应用前景. 实验设计合理, 分析较深入.

munoglobulin concentrate against oral challenge with enterotoxigenic Escherichia coli. *N Engl J Med* 1988; 318: 1240-1243 [PMID: 3283555 DOI: 10.1056/NEJM198805123181904]

12 段琳, 赵文锋, 丁建坤, 吴梧桐, 刘景晶. 卵黄抗体开发现状及应用进展. 中国生化药物杂志 2010; 31: 212-215

13 宋维平, 徐福洲, 王金洛, 杨兵, 赖平安, 孟彦妮. 抗猪流行性腹泻病毒卵黄抗体治疗效果研究. 华北农学报 2003; 18: 114-115

14 姚永莉, 张万岱. 幽门螺杆菌致病因子研究进展. 世界华人消化杂志 2002; 10: 455-458

15 Atherton JC, Peek RM, Tham KT, Cover TL, Blaser MJ. Clinical and pathological importance of heterogeneity in vacA, the vacuolating cytotoxin gene of Helicobacter pylori. *Gastroenterology* 1997; 112: 92-99 [PMID: 8978347 DOI: 10.1016/S0016-5085(97)70223-3]

16 Ottemann KM, Lowenthal AC. Helicobacter pylori uses motility for initial colonization and to attain robust infection. *Infect Immun* 2002; 70: 1984-1990 [PMID: 11895962 DOI: 10.1128/IAI.70.4.1984-1990.2002]

17 Eaton KA, Suerbaum S, Josenhans C, Krakowka S. Colonization of gnotobiotic piglets by Helicobacter pylori deficient in two flagellin genes. *Infect Immun* 1996; 64: 2445-2448 [PMID: 8698465]

18 Ohta-Tada U, Takagi A, Koga Y, Kamiya S, Miwa T. Flagellin gene diversity among Helicobacter pylori strains and IL-8 secretion from gastric epithelial cells. *Scand J Gastroenterol* 1997; 32: 455-459 [PMID: 9175206 DOI: 10.3109/00365529709025080]

19 Ji WS, Hu JL, Qiu JW, Peng DR, Shi BL, Zhou SJ, Wu KC, Fan DM. Polymorphism of flagellin A gene in Helicobacter pylori. *World J Gastroenterol* 2001; 7: 783-787 [PMID: 11854901]

20 范刚, 杨海民, 盛东风, 汪张贵. 禽卵黄抗体的应用与开发. 上海畜牧兽医通讯 2005; (1): 4-6

21 李艳, 江晓燕. 蛋黄抗体IgY在禽病预防中的应用. 国外畜牧学: 猪与禽 2008; (2): 31-33

22 Yang YH, Park D, Yang G, Lee SH, Bae DK, Kyung J, Kim D, Choi EK, Son JC, Hwang SY, Kim YB. Anti-Helicobacter pylori effects of IgY from egg york of immunized hens. *Lab Anim Res* 2012; 28: 55-60 [PMID: 22474475 DOI: 10.5625/lar.2012.28.1.55]

23 Shin JH, Yang M, Nam SW, Kim JT, Myung NH, Bang WG, Roe IH. Use of egg yolk-derived immunoglobulin as an alternative to antibiotic treatment for control of Helicobacter pylori infection. *Clin Diagn Lab Immunol* 2002; 9: 1061-1066 [PMID: 12204960 DOI: 10.1128/CDLI.9.5.1061-1066.2002]

24 Suzuki H, Nomura S, Masaoka T, Goshima H, Kamata N, Kodama Y, Ishii H, Kitajima M, Nomoto K, Hibi T. Effect of dietary anti-Helicobacter pylori-urease immunoglobulin Y on Helicobacter pylori infection. *Aliment Pharmacol Ther* 2004; 20 Suppl 1: 185-192 [PMID: 15298626 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2004.02027.x]

25 毛小琴, 杨致邦, 张绍兰, 田一玲, 黄进. 幽门螺杆菌重组VacA蛋黄抗体的体外活性. 世界华人消化杂志 2006; 14: 789-794

26 邓颖, 杨致邦, 黄伟, 林珊珊, 黄进, 叶翠莲. 幽门螺杆菌重组中性粒细胞激活蛋白蛋黄抗体的制备. 世界华人消化杂志 2007; 15: 471-475

27 夏丽君, 杨致邦, 黄伟, 张任飞, 蒋任举, 蒋英. HpaA-VacA IgY对小鼠胃内感染幽门螺杆菌的预防作用. 中国生物制品学杂志 2011; 24: 34-40

28 Shin JH, Nam SW, Kim JT, Yoon JB, Bang WG, Roe IH. Identification of immunodominant Helicobacter pylori proteins with reactivity to H. pylori-specific egg-yolk immunoglobulin. *J Med Microbiol* 2003; 52: 217-222 [PMID: 12621086 DOI: 10.1099/jmm.0.04978-0]

29 Suerbaum S, Josenhans C, Labigne A. Cloning and genetic characterization of the Helicobacter pylori and Helicobacter mustelae flaB flagellin genes and construction of H. pylori flaA- and flaB-negative mutants by electroporation-mediated allelic exchange. *J Bacteriol* 1993; 175: 3278-3288 [PMID: 8501031]

30 季万胜, 胡家露, 仇军文, 彭道荣, 丁杰, 吴开春, 樊代明. 东西方幽门螺杆菌鞭毛素A差异分析. 现代消化及介入诊疗 2002; 7: 38-41

31 Yan J, Liang SH, Mao YF, Li LW, Li SP. Construction of expression systems for flaA and flaB genes of Helicobacter pylori and determination of immunoreactivity and antigenicity of recombinant proteins. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 2240-2250 [PMID: 14562386]

编辑 郭鹏 电编 都珍珍

世界华人消化杂志 2014年5月18日; 22(14): 1943-1952
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

MicroRNA-34a、Notch1在肝细胞癌组织中的表达及临床意义

于 泳, 李 霄, 周 亮, 窦科峰, 李小磊, 阮 柏, 张卓超, 戴 斌, 汪建林, 杨西胜, 王德盛

于泳, 李霄, 周亮, 窦科峰, 李小磊, 阮柏, 张卓超, 戴斌, 汪建林, 杨西胜, 王德盛, 中国人民解放军第四军医大学西京医院肝胆胰脾外科 陕西省西安市 710032
于泳, 主治医师, 在读硕士, 主要从事肝胆胰脾疾病的基础与临床研究.
国家自然科学基金资助项目, No. 30872480
陕西省社会发展攻关基金资助项目, No. 2012SF2-09-1
中国人民解放军第四军医大学西京医院助推计划基金资助项目, No. XJZT11Y15
作者贡献分布: 此课题于泳、李霄、周亮、窦科峰及王德盛设计; 研究过程由于泳、李霄、周亮、李小磊、阮柏、张卓超、戴斌、汪建林及杨西胜完成; 此研究所提供用试剂及经费由王德盛提供; 数据分析由于泳、李霄及周亮完成; 本论文写作由于泳、李霄及周亮完成.
通讯作者: 王德盛, 教授, 710032, 陕西省西安市长乐西路127号, 中国人民解放军第四军医大学西京医院肝胆胰脾外科.
wangdesh@163.com
电话: 029-84775260
收稿日期: 2014-02-21 修回日期: 2014-03-11
接受日期: 2014-04-14 在线出版日期: 2014-05-18

Clinical significance of expression of microRNA-34a and Notch1 in hepatocellular carcinoma

Yong Yu, Xiao Li, Liang Zhou, Ke-Feng Dou, Xiao-Lei Li, Bai Ruan, Zhuo-Chao Zhang, Bin Dai, Jian-Lin Wang, Xi-Sheng Yang, De-Sheng Wang

Yong Yu, Xiao Li, Liang Zhou, Ke-Feng Dou, Xiao-Lei Li, Bai Ruan, Zhuo-Chao Zhang, Bin Dai, Jian-Lin Wang, Xi-Sheng Yang, De-Sheng Wang, Department of Hepato-Biliary and Pancreato-Splenic Surgery, Xijing Hospital, the Fourth Military Medical University of Chinese PLA, Xi'an 710032, Shaanxi Province, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 30872480; Shaanxi Science and Technology Research and Development Projects, No. 2012SF2-09-1; and Xijing Hospital Discipline Boosting Project, the Fourth Military Medical University of Chinese PLA, No. XJZT11Y15
Correspondence to: De-Sheng Wang, Professor, Department of Hepato-Biliary and Pancreato-Splenic Surgery, Xijing Hospital, the Fourth Military Medical University of Chinese PLA, 127 Changle West Road, Xi'an 710032, Shaanxi Province, China. wangdesh@163.com
Received: 2014-02-21 **Revised:** 2014-03-11
Accepted: 2014-04-14 **Published online:** 2014-05-18

Abstract

AIM: To detect the expressions of microRNA-34a and Notch1 in hepatocellular carcinoma (HCC) and to explore their relationships with HCC occurrence and development and the clinical and pathological features of HCC.

METHODS: Real-time RT-PCR and immunohistochemistry were used to detect the expression of microRNA-34a and Notch1 protein in 132 HCC tissues, matched tumor-adjacent tissues and 49 normal liver tissues, respectively.

RESULTS: The expression of microRNA-34a in HCC tissues were significantly lower than that in tumor-adjacent tissues (P = 0.003) and normal liver tissues (P < 0.001). The expression of microRNA-34a in HCC tissues with metastasis was significantly lower than that in HCC tissues without metastasis (P = 0.014). The expression of Notch1 was significantly higher in HCC tissues than in tumor-adjacent tissues (P = 0.001) and normal liver tissues (P < 0.001). The expression of Notch1 in HCC tissues with metastasis was significantly lower than that in HCC tissues without metastasis (P = 0.008). The expression of microRNA-34a was negatively correlated with that of Notch1 in HCC and tumor-adjacent tissues (r = -0.259, P = 0.003; r = -0.274, P = 0.002). The expression of microRNA-34a and Notch1 in HCC had no correlation with patient age, gender, liver cirrhosis, tumor site, viral hepatitis, or AFP (P > 0.05 for all), but was closely correlated with tumor malignancy, tumor size, lymph node metastasis, tumor number, infiltration depth, and TNM stage (P < 0.05 for all). The 3-year survival rate in the group with low expression of microRNA-34a and high expression of Notch1 (11.3%) was significantly lower than that in the group with high expression of microRNA-34a and low expression of Notch1 (34.7%)(χ^2 = 38.163, P = 0.011).

CONCLUSION: The expression of microRNA-34a is significantly down-regulated in HCC tissues, which may reversely regulate its target protein Notch1. Detecting the expression of microRNA-34a and Notch1 in HCC had a potential

■背景资料
MicroRNAs是一类内生的、长度约为18-25个核苷酸的小RNA, 具有多种重要的调节作用. 每个miRNA可以有多个靶基因, 在生物胚胎发育和肿瘤形成等生理或病理发展过程中发挥其重要作用. Notch信号系统在多种肿瘤中异常表达, 他与肿瘤的发生、发展过程也密切相关. 在肝癌中二者的共同表达和作用情况尚无报道, 故此项研究会对肝癌相关分子机制的进一步认识产生积极影响.

■同行评议者
李孟森, 教授, 海南医学院/海南省肿瘤发生和干预重点实验室

■研发前沿
MicroRNAs和Notch信号系统的表达与多种肿瘤密切相关，其中microRNA10b、-93、-122、-224、-337等在肝癌中均呈异常表达，与恶性肿瘤的生物学特征及患者生存周期存在着非常密切的联系，直接影响着疾病的转归. MicroRNA-34a和Notch1在恶性胶质瘤、膀胱癌、乳腺癌等恶性肿瘤中均呈低表达，与肿瘤的发生、发展、侵袭、转移相关

significance for diagnosis, therapy and prognosis of HCC.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Liver neoplasms; Hepatocellular carcinoma; Pericarcinomatous tissue; MicroRNA-34a; Notch 1; Survival analysis; Immunohistochemistry

Yu Y, Li X, Zhou L, Dou KF, Li XL, Ruan B, Zhang ZC, Dai B, Wang JL, Yang XS, Wang DS. Clinical significance of expression of microRNA-34a and Notch1 in hepatocellular carcinoma. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(14): 1943-1952 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1943.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i14.1943

摘要

目的: 观察microRNA-34a、Notch1在肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)组织的表达，探讨其与HCC发生、发展、临床病理特征的关系及可能的临床意义.

方法: 在132例HCC组织及癌旁组织、49例正常肝脏组织中应用实时荧光定量PCR法检测microRNA-34a的表达和免疫组织化学染色检测Notch1表达.

结果: HCC组织中microRNA-34a表达水平明显低于癌旁组织(2.57±0.71, P = 0.003)及正常肝组织(8.65±0.21, P<0.001)，在转移性癌组织中microRNA-34a表达水平明显低于非转移性癌组织(1.34±0.13, P = 0.014)，差异均有统计学意义. Notch1的免疫组织化学染色结果: HCC组织中Notch1表达水平明显高于癌旁组织(3.12±0.67, P = 0.001)及正常肝组织(4.65±0.14, P<0.001)，转移性癌组织高于非转移性癌组织(2.14±0.37, P = 0.008)，差异有统计学意义. MicroRNA-34a与Notch1在HCC及癌旁组织中均成负相关，相关系数分别为(r = -0.259, P = 0.003)、(r = -0.274, P = 0.002)，两者在HCC组织中的表达与患者年龄、性别、肝功能、肿瘤部位、是否合并肝硬变、是否伴随肝炎病毒感染及甲胎蛋白(α-fetoprotein, αFP或AFP)含量无相关性(P>0.05)，而与肿瘤恶性程度、肿瘤个数、肿瘤体积、淋巴结转移、浸润深度、TNM分期密切相关(P<0.05). Kaplan-Meier分析显示: microRNA-34a低表达、Notch1高表达组患者术后3年生存率(11.3%)，明显低于microRNA-34a高表达、Notch1低表达组(34.7%)，差异具有统计学意义(χ^2 = 38.163, P = 0.011).

结论: MicroRNA-34a在HCC组织中较癌旁和正常肝脏组织明显减低，其通过逆向调节靶蛋白Notch1参与肿瘤肿瘤恶性行为；检测microRNA-34a及Notch1在HCC组织中的表达情况，对HCC的临床诊断、治疗及预后判断有潜在的重要意义.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 肝脏肿瘤；肝细胞癌；癌旁组织；MicroRNA-34a; Notch1; 生存分析; 免疫组织化学

核心提示: 该文应用qRT-PCR法和SP法联合检测了肝癌、癌旁及正常肝脏组织显示肝癌中microRNA-34a表达减低，Notch1表达增高；两者在各组织中均呈负相关. 因此，MicroRNA-34a与Notch1的此种表达异常可能共同参与了肝癌细胞的恶性生物学行为，对临床肝癌的诊疗具有一定的参考价值.

于泳, 李霄, 周亮, 窦科峰, 李小磊, 阮柏, 张卓超, 戴斌, 汪建林, 杨西胜, 王德盛. MicroRNA-34a、Notch1在肝细胞癌组织中的表达及临床意义. 世界华人消化杂志 2014; 22(14): 1943-1952 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1943.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i14.1943

0 引言

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)简称肝癌，恶性程度极高，是全球发病率和死亡率均很高的肝脏恶性肿瘤，病死率在恶性肿瘤中居第2位[1]. 虽然该病的治疗方法日新月异，但总体预后仍然很差[2]. 究其原因，主要与肝癌的早期诊断方法及结果敏感性的局限，肝癌细胞在发展过程中易发生侵袭转移等相关. 所以目前许多研究热点关注于肝癌的早期诊断及如何针对其侵袭转移进行治疗.

随着对肝癌发生发展分子机制的深入研究[3-5]，发现microRNAs可以引起靶基因的翻译抑制和直接降解，从转录后水平调控各种癌基因和抑癌基因的表达，在肿瘤进程中发挥着重要作用. 有研究表明microRNA-34a与多种肿瘤的发生、发展密切相关，如恶性胶质瘤[6]、成神经管细胞瘤[7]、儿童神经母细胞瘤[8]、前列腺癌[9]、膀胱癌[10]、结直肠癌[11,12]、骨肉瘤[13]、宫颈癌[14]、绒毛膜癌[14]、胰腺癌[15]、非小细胞型肺癌[16]和肝癌[17].

Notch信号通路广泛存在于多种组织细胞中，影响细胞分化、发育及凋亡，*Notch1*基因是Notch家族中4个同源体之一，与人类肿瘤的发

生、发展相关. 近几年的研究显示其与肿瘤的发生、发展过程也密切相关. 有研究[18]发现在肝癌中Notch1受体也呈现高表达, 并参与了肝癌细胞的侵袭迁移过程, 这说明Notch信号通路在肝癌的发生、发展过程中也起到了重要的作用.

研究[19,20]发现在一些肿瘤中, microRNA-34a可抑制包括*Notch1*在内的多种基因, 发挥抑癌作用. 迄今为止, 关于肝癌组织中两者之间的关系知之甚少. 本研究通过对microRNA-34a与Notch1在肝癌组织、癌旁正常组织与正常肝组织中共表达的差异进行检测, 初步探讨了两者在肝癌中的相互关系.

1 材料和方法

1.1 材料 132组HCC组织标本取自2010-01/2010-12在我院行手术切除的HCC组织及癌旁组织(规定距癌组织5 cm以上), 49例正常肝组织取自在此期间行肝脏良性肿瘤手术切除的正常活检肝组织, 所有标本均分别保存于液氮(50%体积)及40 g/L甲醛固定(50%体积), 后常规石蜡包埋, 切片保存. 肝癌患者: 男性70例, 女性62例; 中位年龄50.3岁, 所有标本均经术后病理证实, 术前均未接受抗肿瘤治疗. 试验经第四军医大学西京医院伦理委员会批准, 严格遵照《赫尔辛斯基宣言》医学伦理道德准则实施, 与所有患者或家属进行充分沟通并签署试验知情同意书. 肿瘤长径≤5.0 cm 52例, 直径>5.0 cm 80例. 肿瘤按TNM分期[2003-01-01, 美国癌症联合会(American Joint Committee on Cancer, AJCC)/国际抗癌联盟(Union for International Cancer Control, UICC), 第6版]: Ⅰ期30例, Ⅱ期19例, Ⅲ期51例, Ⅳ期32例. 低分化59例, 中分化44例, 高分化29例. 伴远处转移68例, 卫星灶69例. 抗人Notch1单克隆抗体和二抗试剂盒购自Abcam公司. SP试剂盒和浓缩型DAB试剂盒购自北京中杉金桥生物技术有限公司. U6内参引物(U6-forward 5'-CGCTTCGGCAGCACATATACTA-3', U6-reverse 5'-CGCTTCACGAATTTGCGTGTCA-3')、microRNA-34a引物由德国QIAGEN公司合成. miRNeasy Mini Kit(50)提取试剂盒、miscript Primer Assays引物试剂盒、miscript ⅡRT(50)反转录试剂盒和miscript SYBR Green PCR kit(200)定量试剂盒购自QIAGEN公司.

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学检测: 组织经4%甲醛溶液固定; 石蜡包埋后按照5 μm厚度常规切片; 切片经二甲苯脱蜡、梯度乙醇水化; 后进行抗原修复、封闭内源性过氧化物酶及正常山羊血清封闭抗原; 依据试剂说明滴加稀释后兔抗人Notch1单克隆抗体4 ℃冰箱过夜; 湿盒室温复温1 h后滴加生物素标记二抗, 37 ℃孵育30 min; PBS冲洗后DAB显色; 苏木紫衬染; 重新脱水透明; 封片; 显微镜下观察.

1.2.2 实时荧光定量PCR: MicroRNA-34a提取: 无菌层流实验室分别取液氮保存的HCC、癌旁、正常肝组织块约0.3 cm^3于研钵中加液氮充分研磨至极细粉末, 转入1.5 mL离心管, 加入700 μL QIAzollysisreagent封盖混匀, 室温匀浆5 min, 加140 μL氯仿震荡15 s后室温静置3 min, 4 ℃ 12000 *g*离心15 min, 转上清液至新1.5 mL离心管, 加525 μL 100%乙醇混匀, 取700 μL混匀液至过滤柱上管, 室温封盖≥8000 *g*离心15 s弃去滤过液并重复此步, 依次加入RWT缓冲液、RPE缓冲液室温封盖≥8000 *g*离心15 s均弃去滤过液, 加RPE缓冲液室温下封盖≥8000 *g*离心15 s弃去滤过液, 重复并离心后将过滤柱上管转移至新的收集管室温封盖≥8000 *g*离心1 min再次甩干, 将过滤柱上管转移至新的1.5 mL离心管加RNase-free water室温封盖≥8000 *g*离心洗脱3 min后保留下方滤过液并重复. 反转录: 在冰盒中依次加入各反转录试剂及指定量的HCC、癌旁、正常肝样本至各0.2 mL离心管, 完成20 μL反转录体系并实施. qRT-PCR: 在2套8联管中依次加入各试剂和引物完成25 μL体系, 室温下封盖1000 *g*离心1 min去气泡, 设定IQ5型定量PCR仪(BIA- RAD公司)程序为: 变性: 95 ℃ 15 min; 40个循环: 94 ℃ 15 s; 复性: 55 ℃ 30 s; 新链DNA合成: 70 ℃ 30 s. Notch1的检测步骤同理. 在扩增待测miRNAs的同时, 我们还扩增了U6-RNA作为内参对照.

1.2.3 结果判定标准: (1)免疫组织化学染色: 以出现淡黄-棕褐色颗粒作为阳性结果, 由2名副高级职称病理医师进行独立双盲评分. 每张病理切片随机选取5个10×40倍光学显微镜视野, 将Notch1的染色范围及染色强度依据以下标准半定量化, 结果取平均值. 标准如下: A: 染色范围: 染色阳性细胞数占总细胞数的比率按≤5%、6%-25%、26%-50%、51%-75%、≥76%分别记为0、1、2、3、4分; B染色强度: 按照未染色、淡黄色、棕色、棕褐色分别记为0、1、2、3.

■相关报道

在浸润性膀胱癌细胞系中miR-34a可与Notch1结合, 靶向抑制*Notch1*基因表达, 从而导致Notch1信号通路活化, 异常活化的Notch1信号通路可与多个信号通路相互作用, 影响浸润性膀胱癌细胞系的增殖、迁移等生物学行为.

■创新盘点
本文拟通过试验提出在肝癌的中microRNA-34a呈现低表达, Notch1呈现高表达, 他们可能在肿瘤的发生、发展过程中起到了逆向协同作用. 两者可能成为肝癌新的分子标志物.

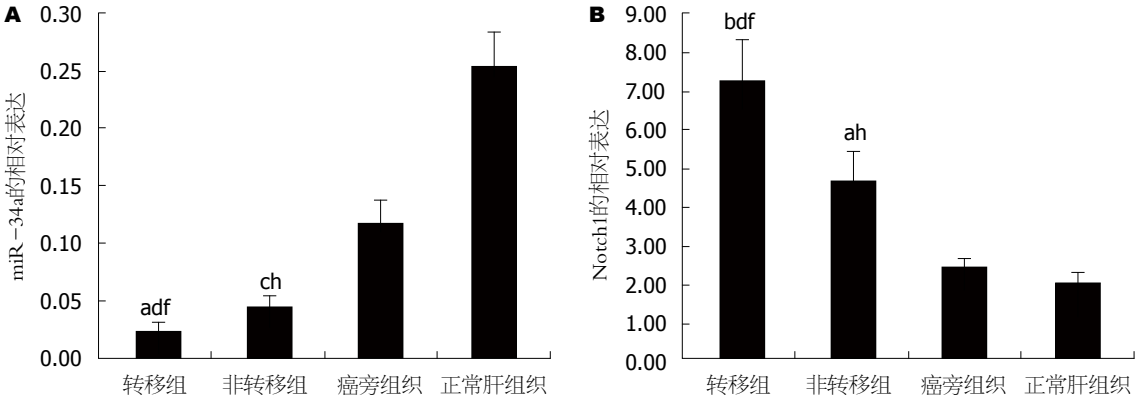


图 1 MicroRNA-34a、Notch1在肝细胞肝癌、癌旁、正常肝脏组织中的表达. A: MicroRNA-34a在各组织中的表达. $^{a}P<0.05$ *vs* 非转移组; $^{d}P<0.01$, $^{c}P<0.05$ *vs* 癌旁组织; $^{f}P<0.01$, $^{b}P<0.01$ *vs* 正常肝组织; B: Notch1在各组织中的表达. $^{b}P<0.01$ *vs* 非转移组; $^{a}P<0.05$, $^{d}P<0.01$ *vs* 癌旁组织; $^{f}P<0.01$, $^{b}P<0.01$ *vs* 正常肝组织.

将染色范围与染色强度计分相乘得出结果: 0分为阴性, 1-4分为弱阳性, 5-8分为阳性, 9-12分为强阳性. 不同Notch1表达的HCC组织分成两组: 0-4分: 低表达组, 5-12分: 高表达组; (2)实时荧光定量PCR: MicroRNA-34a与U6-RNA表达水平通过$2^{-\Delta\Delta Ct}$法确定, $\Delta\Delta Ct = (Ct_{miRNA}-Ct_{U6RNA})$待测样品$-(Ct_{miRNA}-Ct_{U6RNA})$对照组. 对照组为相应的癌旁组织, 并经病理学证实, 实时PCR反应结果为3次独立实验的校正结果.

1.2.4 随访: 所有患者术后进行3年定期随访, 开始时间为接受手术的时间, 截止日期为2013-12-31. 采用门诊随访及电话随访, 平均1次/3 mo. 规定死亡患者死亡时间为终止时间. 中途失访7例, 终止时间为最后一次随访时间, 亦纳入生存分析.

统计学处理 采用SPSS19.0 统计软件进行统计学分析, 采用Pearson χ^2检验计算microRNA-34a、Notch1的表达与不同临床病理特征的关系; 按照试验小组的原始设计及研究目的选取microRNA-34a低表达、Notch1高表达以及microRNA-34a高表达、Notch1低表达组为研究对象, Spearman's相关性分析microRNA-34a与Notch1的关系; 运用Kaplan-Meier法进行生存分析, Log-rank检验分析曲线有无统计学差异. 可信区间为95%, $P<0.05$为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 microRNA-34a表达情况

2.1.1 microRNA-34a的qRT-PCR表达: microRNA-34a与U6-RNA在反应体系中均有效扩增, 依据CT值间的比较, 通过$2^{-\Delta\Delta Ct}$法分别计算每个被检HCC组织样品中microRNA-34a相对癌旁组织及正常肝脏组织的表达变化比率. 对所得到的每一变化比率取平均值(n = 132), 用以评估microRNA-34a在HCC中的变化. 我们发现HCC组织中转移组的microRNA-34a表达水平低于非转移组(P = 0.014), 癌旁组织(P = 0.003)及正常肝组织($P<0.001$); 非转移组的microRNA-34a表达水平低于癌旁组织(P = 0.017)及正常肝组织($P<0.001$), 差异均有统计学意义(图1A).

2.1.2 microRNA-34a与临床病理指标: microRNA-34a在HCC组织中的表达与患者年龄、性别、肝功能、肿瘤部位、肿瘤体积、是否合并肝硬变及是否伴随肝炎病毒感染及AFP含量无统计学意义($P>0.05$), 而与肿瘤数量、肿瘤分化等级、转移情况、静脉侵袭、卫星状损害及TNM分期有统计学意义($P<0.05$), 并且随着HCC病理分级的增高而减低($P<0.05$)(表1).

2.2 Notch1表达情况

2.2.1 Notch1的qRT-PCR及免疫组织化学染色结果: qRT-PCR结果显示HCC组织中转移组的Notch1表达水平高于非转移组(P = 0.008), 癌旁组织(P = 0.001)及正常肝组织($P<0.001$), 非转移组的Notch1表达水平高于癌旁组织(P = 0.011)及正常肝组织(P = 0.006), 差异均有统计学意义(图1B). 免疫组织化学染色结果显示Notch1阳性染色主要存在于细胞膜中, 呈棕色、棕黄色颗粒样, 细胞浆中仅有少量表达. 在132例HCC组织中, 26例(19.70%)阴性表达(图2A), 34例(25.76%)弱阳性表达(图2B), 37例(28.02%)中等阳性表达(图2C), 35例(26.52%)强阳性表达(图2D); 染色结果低表达者60例(45.45%), 高表达者72例(54.55%). Notch1在癌旁组织及正常肝组织中, 35例(26.52%)染色显示为弱阳性, 其余均为阴性, 且染色结果均为低表达.

2.2.2 Notch1与临床病理指标: Notch1在HCC组织中的表达与患者年龄、性别、肝功能、肿

表 1 MicroRNA-34a在肝细胞癌组织表达与临床病理特征的关系 *n*(%)

临床病理因素	*n*	MicroRNA-34a		*P*值	χ^2
		低表达	高表达		
性别				0.222	1.494
男性	70	39(55.71)	31(44.29)		
女性	62	41(66.13)	21(33.87)		
年龄(岁)				0.398	0.715
≤50	60	34(56.67)	26(43.33)		
>50	72	46(63.89)	26(36.11)		
肝功能(Child-Pugh分级)				0.422	0.644
A级	73	41(56.20)	32(43.80)		
B级+C级	59	29(49.15)	30(50.85)		
合并肝硬变				0.601	0.274
是	75	44(58.67)	31(41.33)		
否	57	36(63.16)	21(36.84)		
肝炎病毒感染				0.468	0.526
是	71	41(58.57)	30(41.43)		
否	61	39(63.93)	22(36.07)		
肿瘤部位				0.517	0.420
左肝	63	40(63.49)	23(46.51)		
右肝	69	40(57.97)	29(42.03)		
肿瘤数量				0.029	0.864
单发	84	53(63.10)	31(36.90)		
多发	48	31(64.60)	17(35.40)		
肿瘤体积(cm)				0.014	6.009
≤5	52	25(48.10)	27(51.90)		
>5	80	54(67.50)	26(32.50)		
肿瘤等级(分化)				0.005	7.977
高分化	29	13(44.83)	16(55.17)		
中或低度分化	103	75(72.80)	28(27.20)		
转移				0.039	4.256
是	68	47(69.12)	21(30.88)		
否	64	33(51.56)	31(48.44)		
静脉侵袭				0.002	9.369
+	70	51(72.86)	19(27.14)		
–	62	29(46.77)	33(53.23)		
卫星灶损害				0.010	6.560
+	69	49(72.01)	20(27.99)		
–	63	31(49.21)	32(50.79)		
TNM分期				0.005	8.054
Ⅰ+Ⅱ	49	22(44.90)	27(54.10)		
Ⅲ+Ⅳ	83	58(69.88)	25(30.12)		
AFP(ng/mL)				0.944	0.005
≤400	33	21(63.64)	12(36.36)		
>400	99	68(68.69)	40(31.31)		

AFP: 甲胎蛋白.

■应用要点

应用分子生物学相关技术可靠检测肝癌中microRNA-34a和Notch1的共同表达情况, 以后有望可以成为常规的临床肿瘤检测手段, 使其成为早期诊断标志物、潜在的治疗靶点及预后预测因子.

瘤部位、肿瘤体积、是否合并肝硬变及是否伴随肝炎病毒感染及AFP含量无统计学意义(*P*>0.05), 而与肿瘤数量、肿瘤分化等级、转移情况、静脉侵袭、卫星状损害及TNM分期有统计学意义(*P*<0.05), 并且随着HCC病理分级的增高而增高(*P*<0.05)(表2).

2.3 microRNA-34a与Notch1关系 应用qRT-PCR、免疫组织化学染色方法检测HCC及癌旁

■同行评价
本文通过严格的试验设计、合理的试验方法、科学的检测手段, 联合检测了microRNA-34a和Notch1两种分子, 较之日常检测某一种肿瘤相关分子, 获得了更加丰富的试验数据, 结论分析可靠, 理论推理充分, 具有较好的基础研究特点, 对临床开展肿瘤防治工作可以产生一定的指导性意义.

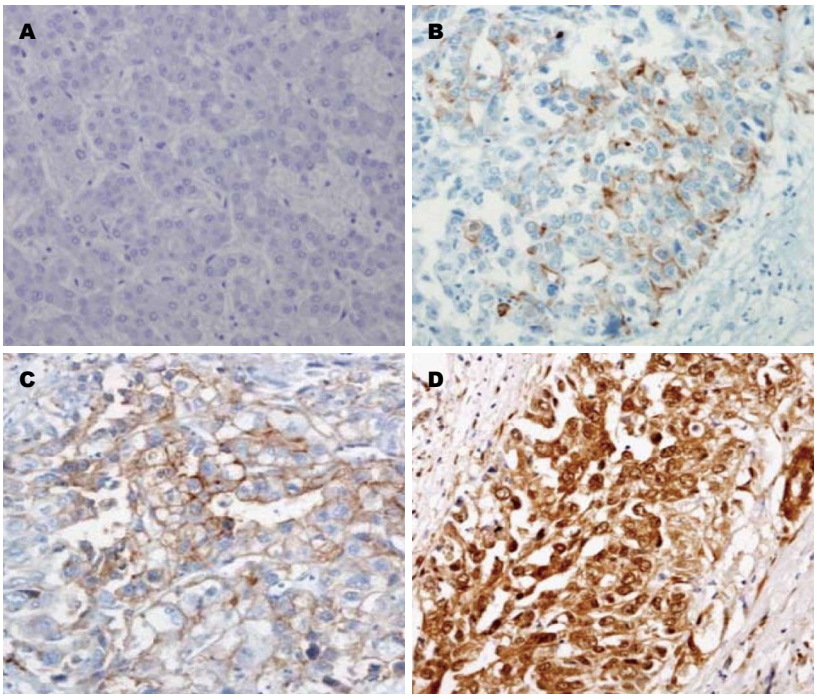


图 2 肝细胞癌组织中Notch1免疫组织化学染色(×400). A: Notch1阴性; B: Notch1弱阳性; C: Notch1阳性; D: Notch1强阳性.

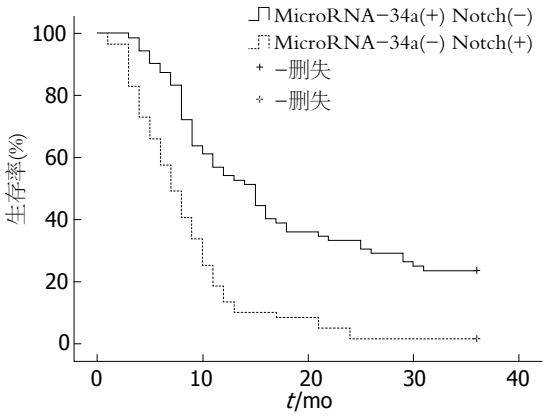


图 3 MicroRNA−34a、Notch1不同表达和生存时间t的关系(Kaplan−Meier线).

组织标本中microRNA-34a、Notch1, 如文献报道我们将Notch1评分值5作为分界值将患者分成两组, 其中Notch1值低患者26例(19.7%), 较高患者106例(80.3%). 分析发现microRNA-34a与Notch1在HCC及癌旁组织中均成负相关, 相关系数分别为-0.259(P = 0.003)、-0.274(P = 0.002)(表3, 4).

2.4 生存分析 入组患者的随访时间1-36 mo, 平均随访时间17 mo, 中位随访时间10.2 mo. 对132例肝癌患者的生存资料进行Kaplan-Meier分析显示: microRNA-34a低表达、Notch1高表达者3年生存率为11.3%, 平均生存时间为9.7 mo, 中位生存时间为7.4 mo; microRNA-34a高表达、Notch1低表达者3年生存率为34.7%, 平均生存时间为19.4 mo, 中位生存时间为13.7 mo. microRNA-34a低表达、Notch1高表达者生存时间较后者明显降低, 差异具有统计学意义(χ^2 = 38.163, P = 0.011)(图3).

3 讨论

HCC是成年人常见恶性肿瘤, 恶性程度高, 极易转移和复发, 预后一直较差[21], 诊断后存活率常少于1年. 虽然随着手术(包括同种异体肝脏移植术)技术的日新月异、现代高清影像技术的普遍推广[22]和非手术治疗方式的广泛认可与普及, 其治疗效果已明显改善, 但均未能达到医患双方预期的疗效. 现临床上多依靠肿瘤分化程度、TNM分期、是否转移等病理指标进行预后判断及实施后续治疗. 同时, 以AFP、组织多肽抗原(tissue polypeptide antigen, TPA)、α-L-岩藻糖苷酶(α-L-fucosidase, AFU)为代表的肿瘤标志物所进行的早期诊断亦不能十分准确, 对预后判断存在局限性[23]. 目前暂未发现满足临床需求的敏感、特异、简便、易测的HCC标志物. 因此, 在分子水平寻求HCC的标志物, 以预测患者预后、指导临床治疗的指标业已成为目前医学科学研究的热点.

mRNA基因大多位于染色体某些脆性位点或杂合子缺失区域, 可以参与细胞的增殖、分化及凋亡的调节, 与肿瘤、银屑病和糖尿病等疾病的发生、发展密切相关[24,25], 但具体作用机制不明. 其中, 作为p53的直接转录靶标,

表 2 Notch1在132例肝细胞肝癌组织表达与临床病理特征的关系 *n*(%)

临床病理因素	*n*	Notch1		*P*值	χ^2
		低表达(0-4分)	高表达(5-12分)		
性别				0.210	1.572
男性	70	33(47.10)	37(52.90)		
女性	62	36(58.10)	26(41.90)		
年龄(岁)				0.055	3.682
≤50	60	31(51.70)	29(48.30)		
>50	72	49(68.10)	23(31.90)		
肝功能(Child-Pugh分级)				0.124	2.370
A级	73	48(65.80)	25(34.20)		
B级+C级	59	31(52.50)	28(47.50)		
合并肝硬变				0.214	1.543
是	75	39(52.00)	36(48.00)		
否	57	37(62.70)	22(37.30)		
肝炎病毒感染				0.748	0.104
是	71	45(63.40)	26(36.60)		
否	61	37(60.70)	24(39.30)		
肿瘤部位				0.899	0.016
左肝	63	34(54.00)	29(46.00)		
右肝	69	38(55.10)	31(44.90)		
肿瘤数量				0.029	0.864
单发	84	53(63.10)	31(36.90)		
多发	48	31(64.60)	17(35.40)		
肿瘤体积(cm)				0.002	9.265
≤5	52	36(69.20)	16(30.80)		
>5	80	33(41.25)	47(58.75)		
肿瘤等级(分化)				0.000	18.876
高分化	29	23(79.30)	6(20.70)		
中或低度分化	103	35(34.00)	68(66.00)		
转移				0.001	11.565
是	68	39(57.40)	29(42.60)		
否	64	54(84.40)	10(15.60)		
静脉侵袭				0.009	6.894
+	70	39(55.70)	31(44.30)		
-	62	48(77.40)	14(22.60)		
卫星灶损害				0.043	4.111
+	69	45(65.20)	24(34.80)		
-	63	51(81.00)	12(19.00)		
TNM 分期				0.009	6.854
Ⅰ+Ⅱ	49	25(51.00)	24(49.00)		
Ⅲ+Ⅳ	83	61(73.50)	22(26.50)		
AFP (ng/mL)				0.686	0.163
≤400	33	19(57.60)	14(42.40)		
>400	99	53(53.50)	46(46.50)		

AFP: 甲胎蛋白.

microRNA-34a可下调多种细胞周期相关基因[26], 具有调节细胞周期、抑制细胞生长等作用[13]. 在人类多种肿瘤中microRNA-34a表达异常, 如胰腺癌、乳腺癌、非小细胞肺癌中microRNA-34a表达缺失或低表达, 与肿瘤的发生、发展、侵袭、转移等生物功能密切相关, 发挥着癌基因或抑癌基因的作用. Pang等[14]发现非小细胞型肺癌组织中miR-34家族的高表达降低了肿瘤的

表 3 肝细胞肝癌组织中MicroRNA-34a与Notch1的关系 (*n*)

变量	MicroRNA-34a		*P*值	*r*值
	高表达	低表达		
Notch1			0.003	−0.259
高表达	32	74		
低表达	16	10		

表 4 癌旁组织中MicroRNA-34a与Notch1的关系 (*n*)

变量	MicroRNA-34a		*P*值	*r*值
	高表达	低表达		
Notch1			0.002	−0.274
高表达	9	18		
低表达	70	35		

发生, miR-34基因表达恢复能抑制非小细胞型肺癌细胞生长. Welch等[8]研究发现microRNA-34a基因经常在儿童神经母细胞瘤中缺失, 试验提高microRNA-34a表达能抑制肿瘤细胞增殖, 同时激活细胞凋亡途径. 我们的试验同样显示HCC组织中microRNA-34a表达水平明显低于癌旁组织及正常肝组织, 转移性癌组织低于非转移性癌组织; 同时其表达与肿瘤数量、肿瘤分化等级、转移情况、静脉侵袭、卫星状损害及TNM分期相关, 随着HCC病理分级的增高而减低, 提示microRNA-34a可能在肝癌的发生、发展中起到了抑制作用.

Notch是在进化过程中结构具有高度保守性的一种生物信号通路, 在诸如正常细胞的分化、发育、增殖、凋亡、黏附, 及恶性肿瘤细胞的侵袭、迁移、血管形成、致癌作用等方面都起着重要的调节作用, 保持细胞增殖、分化和凋亡之间的动态平衡. 失控的Notch信号与肿瘤细胞的生长相关, 异常活化Notch信号可促使正常细胞向恶性转化. Notch信号在多数情况下作为癌基因促进肿瘤生长, 我们实验室前期的研究[27]表明高表达的Notch1与HCC进展及患者预后不良是密切相关的. 已有试验研究[28,29]显示Notch1通过调节Snail蛋白(snail protein, Snail)、E-钙黏连蛋白(E-cadherin, EC)、金属蛋白酶-2(matrix metalloproteinase-2, MMP-2)、MMP-9和血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF), 进而影响HCC细胞的侵袭和迁移能力. 同时, 这些试验证据也支持了在HCC细胞中下调Notch1, 肿瘤细胞的侵袭和迁移能力被抑制的事实. 我们试验中同样表现出相似结果, HCC组织中Notch1表达水平明显高于癌旁组织及正常肝组织, 转移性癌组织高于非转移性癌组织. 提示Notch1可能在肝癌的发生、发展中起到了促进作用.

但是这两者在肝癌中又是怎样的关系尚需进一步研究. 既往研究提示在前列腺癌中microRNA-34a几乎均为低表达, 同时引起有助于前列腺癌发展和增殖的Notch1上调. 引入过表达microRNA-34a可以导致Notch1表达降低, 同时显著地抑制了前列腺癌细胞系的生长和自我更新能力[30]. 所以, 在前列腺癌中Notch1是microRNA-34a的直接靶标, 并且microRNA-34a表达减低与前列腺癌袭能力是相关的. Ji等[31]对于胰腺癌的研究表明: microRNA-34a通过直接调控下游靶标Notch1/2, 参与了胰腺癌干细胞的自我更新和凋亡, 试验恢复microRNA-34a表达水平, 有望成为缺失或低表达p53-miR34的胰腺癌患者新的治疗方法. 为探讨microRNA-34a与Notch1在肝癌中的关系, 我们分析了所得结果, 发现microRNA-34a与North1在HCC及癌旁组织中均成负相关, 生存分析显示microRNA-34a低表达、Notch1高表达者生存时间较microRNA-34a高表达、Notch1低表达者明显降低, 与上述试验结论是非常吻合的. 所以, 我们认为Notch1可能是microRNA-34a的下游靶标, microRNA-34a可能通过抑制Notch1的表达来抑制肝癌的发生和发展过程. 但尚需通过体外实验进一步验证, Notch1是否直接受microRNA-34a的调控.

总之, microRNA-34a和Notch1在HCC组织中表达情况及其与临床病理特征、预后的关系提示两者可能同时影响着HCC的发生、发展过程, 并且microRNA-34a与Notch1呈现出负相关的调控作用. 因此, microRNA-34a、Notch1也可能成为HCC早期诊断的分子标志物、潜在的治疗靶点及预后预测因子, 但是关于两者在肝癌中具体的作用机制尚待进一步研究.

志谢: 中国人民解放军第四军医大学附属西京医院肝胆胰脾外科实验室的张福琴老师、李侠老师及细胞工程研究中心李郁副教授对于本研究课题和试验小组的技术支持及倾力帮助.

4 参考文献

1 彭承宏. 肝细胞癌早期诊断的研究热点与进展. 中华普通外科杂志 2012; 27: 89-91
2 许秀华, 向晓星. 肝细胞癌的病因及发病机制研究进

展. 医学综述 2013; 19: 832-834
3 汪福昌, 郭武华. 肝细胞癌生物标志物研究进展. 山东医药 2012; 52: 87-89
4 Huang YS, Dai Y, Yu XF, Bao SY, Yin YB, Tang M, Hu CX. Microarray analysis of microRNA expression in hepatocellular carcinoma and non-tumorous tissues without viral hepatitis. *J Gastroenterol Hepatol* 2008; 23: 87-94 [PMID: 18171346 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2007.05223.x]
5 Midorikawa Y, Makuuchi M, Tang W, Aburatani H. Microarray-based analysis for hepatocellular carcinoma: from gene expression profiling to new challenges. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 1487-1492 [PMID: 17461438]
6 Marnila P, Rokka S, Rehnberg-Laiho L, Kärkkäinen P, Kosunen TU, Rautelin H, Hänninen ML, Syväoja EL, Korhonen H. Prevention and suppression of Helicobacter felis infection in mice using colostral preparation with specific antibodies. *Helicobacter* 2003; 8: 192-201 [PMID: 12752731 DOI: 10.1046/j.1523-5378.2003.00144.x]
7 Guessous F, Zhang Y, Kofman A, Catania A, Li Y, Schiff D, Purow B, Abounader R. microRNA-34a is tumor suppressive in brain tumors and glioma stem cells. *Cell Cycle* 2010; 9: 1031-1036 [PMID: 20190569 DOI: 10.4161/cc.9.6.10987]
8 Welch C, Chen Y, Stallings RL. MicroRNA-34a functions as a potential tumor suppressor by inducing apoptosis in neuroblastoma cells. *Oncogene* 2007; 26: 5017-5022 [PMID: 17297439 DOI: 10.1038/sj.onc.1210293]
9 赵春娟, 翟庆娜, 余振东, 王俊豪, 周亮. microRNA-34a在前列腺癌血清中的表达意义. 中国男科学杂志 2011; 25: 6-9
10 姚志勇, 张超, 马鑫, 朱鸣阳, 张瑜, 史涛平, 司马晋, 艾青, 刘尚文, 黄庆波, 杨素霞, 张旭. microRNA-34a靶向抑制Notch-1基因对膀胱癌J82细胞增殖和迁移的影响. 中华泌尿外科杂志 2012; 33: 210-214
11 田智丹, 任勇亚, 戚晓红, 冯振卿. microRNA-34a在结直肠癌中的表达及其临床意义. 临床与实验病理学杂志 2011; 27: 347-350
12 Tazawa H, Tsuchiya N, Izumiya M, Nakagama H. Tumor-suppressive miR-34a induces senescence-like growth arrest through modulation of the E2F pathway in human colon cancer cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104: 15472-15477 [PMID: 17875987 DOI: 10.1073/pnas.0707351104]
13 Yan K, Gao J, Yang T, Ma Q, Qiu X, Fan Q, Ma B. MicroRNA-34a inhibits the proliferation and metastasis of osteosarcoma cells both in vitro and in vivo. *PLoS One* 2012; 7: e33778 [PMID: 22457788 DOI: 10.1371/journal.pone.0033778]
14 Pang RT, Leung CO, Ye TM, Liu W, Chiu PC, Lam KK, Lee KF, Yeung WS. MicroRNA-34a suppresses invasion through downregulation of Notch1 and Jagged1 in cervical carcinoma and choriocarcinoma cells. *Carcinogenesis* 2010; 31: 1037-1044 [PMID: 20351093 DOI: 10.1093/carcin/bgq066]
15 Chang TC, Wentzel EA, Kent OA, Ramachandran K, Mullendore M, Lee KH, Feldmann G, Yamakuchi M, Ferlito M, Lowenstein CJ, Arking DE, Beer MA, Maitra A, Mendell JT. Transactivation of miR-34a by p53 broadly influences gene expression and promotes apoptosis. *Mol Cell* 2007; 26: 745-752 [PMID: 17540599 DOI: 10.1016/j.molcel.2007.05.010]
16 Bommer GT, Gerin I, Feng Y, Kaczorowski AJ, Kuick R, Love RE, Zhai Y, Giordano TJ, Qin ZS, Moore BB, MacDougald OA, Cho KR, Fearon ER. p53-mediated activation of miRNA34 candidate tumor-suppressor genes. *Curr Biol* 2007; 17: 1298-1307 [PMID: 17656095 DOI: 10.1016/j.cub.2007.06.068]
17 Nomura S, Suzuki H, Masaoka T, Kurabayashi K, Ishii H, Kitajima M, Nomoto K, Hibi T. Effect of dietary anti-urease immunoglobulin Y on Helicobacter pylori infection in Mongolian gerbils. *Helicobacter* 2005; 10: 43-52 [PMID: 15691314 DOI: 10.1111/j.1523-5378.2005.00290.x]
18 张勇, 王德盛, 周亮, 孙伟, 王建锋, 韩炜, 苟泽鹏, 祝普利. Notch1在肝细胞癌组织中的表达情况及其临床意义. 中华消化外科杂志 2013; 12: 378-382
19 张超, 姚志勇, 朱鸣阳, 史涛坪, 司马晋, 马鑫, 李宏召, 张瑜, 张旭. MicroRNA-34a通过Notch1对膀胱肿瘤细胞株T24增殖的影响. 解放军医学杂志 2012; 37: 426-430
20 Yu X, Zhang W, Ning Q, Luo X. MicroRNA-34a inhibits human brain glioma cell growth by down-regulation of Notch1. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci* 2012; 32: 370-374 [PMID: 22684560 DOI: 10.1007/s11596-012-0064-0]
21 Forner A, Llovet JM, Bruix J. Hepatocellular carcinoma. *Lancet* 2012; 379: 1245-1255 [PMID: 22353262 DOI: 10.1016/S0140-6736(11)61347-0]
22 邱双健. 肝细胞癌的分子诊断和治疗. 肝脏 2012; 17: 651-655
23 Li P, Wang SS, Liu H, Li N, McNutt MA, Li G, Ding HG. Elevated serum alpha fetoprotein levels promote pathological progression of hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 4563-4571 [PMID: 22147961 DOI: 10.3748/wjg.v17.i41.4563]
24 Li W, Lebrun DG, Li M. The expression and functions of microRNAs in pancreatic adenocarcinoma and hepatocellular carcinoma. *Chin J Cancer* 2011; 30: 540-550 [PMID: 21801602 DOI: 10.5732/cjc.011.10197]
25 Calin GA, Ferracin M, Cimmino A, Di Leva G, Shimizu M, Wojcik SE, Iorio MV, Visone R, Sever NI, Fabbri M, Iuliano R, Palumbo T, Pichiorri F, Roldo C, Garzon R, Sevignani C, Rassenti L, Alder H, Volinia S, Liu CG, Kipps TJ, Negrini M, Croce CM. A MicroRNA signature associated with prognosis and progression in chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med* 2005; 353: 1793-1801 [PMID: 16251535 DOI: 10.1056/NEJMoa050995]
26 王苟思义, 袁贤瑞, 蒋星军. 新型microRNA-miR-34在肿瘤中的研究进展. 生命科学 2009; 21: 418-424
27 Zhou L, Zhang N, Li QJ, Sun W, Zhang Y, Wang DS, Dou KF. Associations between high levels of Notch1 expression and high invasion and poor overall survival in hepatocellular carcinoma. *Tumour Biol* 2013; 34: 543-553 [PMID: 23179396]
28 Zhou L, Wang DS, Li QJ, Sun W, Zhang Y, Dou KF. The down-regulation of Notch1 inhibits the invasion and migration of hepatocellular carcinoma cells by inactivating the cyclooxygenase-2/Snail/E-cadherin pathway in vitro. *Dig Dis Sci* 2013; 58: 1016-1025 [PMID: 23053901 DOI: 10.1007/s10620-012-2434-7]
29 Zhou L, Wang DS, Li QJ, Sun W, Zhang Y, Dou KF. Downregulation of the Notch signaling pathway inhibits hepatocellular carcinoma cell invasion by inactivation of matrix metalloproteinase-2 and -9 and vascular endothelial growth factor. *Oncol Rep* 2012; 28: 874-882 [PMID: 22736202 DOI: 10.3892/or.2012.1880]

30 Kashat M, Azzouz L, Sarkar SH, Kong D, Li Y, Sarkar FH. Inactivation of AR and Notch-1 signaling by miR-34a attenuates prostate cancer aggressiveness. *Am J Transl Res* 2012; 4: 432-442 [PMID: 23145211]
31 Ji Q, Hao X, Zhang M, Tang W, Yang M, Li L, Xiang D, Desano JT, Bommer GT, Fan D, Fearon ER, Lawrence TS, Xu L. MicroRNA miR-34 inhibits human pancreatic cancer tumor-initiating cells. *PLoS One* 2009; 4: e6816 [PMID: 19714243 DOI: 10.1371/journal.pone.0006816]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

• 消息 •

中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》影响因子0.873

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

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

世界华人消化杂志 2014年5月18日; 22(14): 1953-1958
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

文献综述 REVIEW

肝性胸水诊治的进展

胡铭洋, 彭 燕

胡铭洋, 彭燕, 四川省泸州医学院附属医院消化内科 四川省泸州市 646000
作者贡献分布: 本文综述由胡铭洋完成; 彭燕审校.
通讯作者: 彭燕, 教授, 主任医师, 646000, 四川省泸州市太平街25号, 泸州医学院附属医院消化内科. 1806857826@qq.com
电话: 0830-3165331
收稿日期: 2014-03-16 修回日期: 2014-04-07
接受日期: 2014-04-20 在线出版日期: 2014-05-18

Progress in diagnosis and treatment of hepatic hydrothorax

Ming-Yang Hu, Yan Peng

Ming-Yang Hu, Yan Peng, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, Luzhou 646000, Sichuan Province, China.
Correspondence to: Yan Peng, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, 25 Taiping Street, Luzhou 646000, Sichuan Province, China. 1806857826@qq.com
Received: 2014-03-16 Revised: 2014-04-07
Accepted: 2014-04-20 Published online: 2014-05-18

Abstract
Hepatic hydrothorax is defined as the presence of a significant pleural effusion that develops in a patient with cirrhosis of the liver who does not have an underlying cardiac or pulmonary disease. Hepatic hydrothorax is not rare in end-stage liver diseases. The clinical symptoms are various and many patients are misdiagnosed or never diagnosed. Approximately 21%-26% of cases of hepatic hydrothorax are refractory to salt and fluid restriction and diuretics and warrant consideration of additional treatment measures. Patients' poor conditions make treatment more difficult and unfavorable. This article aims to discuss the research progress in hepatic hydrothorax in terms of mechanisms, diagnosis and treatment.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Hydrothorax; Cirrhosis; Diagnosis; Treatment

Hu MY, Peng Y. Progress in diagnosis and treatment of hepatic hydrothorax. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(14): 1953-1958 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1953.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i14.1953

摘要
肝性胸水(hepatic hydrothorax, HH)是肝硬化患者出现的胸腔积液, 并排除心肺疾病引起的胸水. 常出现于临床肝病晚期, 临床表现多样, 易发生误诊、漏诊. 大约21%-26%的HH患者对常规限制水钠摄入及使用利尿剂等治疗措施有抵抗作用, 需要考虑其他治疗方法. 患者一般情况差使治疗较为棘手, 预后差. 本文就HH的发生机制、诊断、治疗的研究进展做一综述.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 胸水; 肝硬化; 诊断; 治疗

核心提示: 肝性胸水(hepatic hydrothorax, HH)常见于临床肝病晚期, 其发病机制尚未彻底阐明, 临床表现多样, 治疗效果欠理想. 本文就近年来HH的发生机制、诊断、治疗的研究进展做一综述, 对临床HH的诊治提供一定帮助.

胡铭洋, 彭燕. 肝性胸水诊治的进展. 世界华人消化杂志 2014; 22(14): 1953-1958 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1953.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i14.1953

0 引言
肝性胸水(hepatic hydrothorax, HH)是肝硬化患者出现的胸腔积液, 并排除心肺疾病引起的胸水, 国外报道发生率约为5%-10%, 国内约为2.1%-30.3%[1-3]. HH一般同时存在大量腹水, 少量腹水或无腹水的患者亦可发生[4,5]. 由于HH可合并细菌性胸膜炎或乳糜胸、血胸, 易发生误诊、漏诊. 由于多数患者有严重的肝功能障碍及代谢紊乱, 使治疗较为棘手, 预后差. 本文就HH近年来的研究进展作一综述.

■背景资料
肝性胸水(hepatic hydrothorax, HH)常见于临床肝病晚期, 其发病机制尚未彻底阐明, 临床表现多样, 治疗效果欠理想. 近年来对HH病因、合并症的诊断及内外科治疗方法等方面有了不少新进展.

■同行评议者
杨家和, 教授, 中国人民解放军第二军医大学附属东方肝胆外科医院综合治疗三科

■研发前沿
对HH形成机制、诊断、治疗有进一步的了解，利于HH的早期诊断，综合治疗，延缓其发展，为临床工作服务. 目前对一些新疗法临床应用较少，研究样本量不足.

1 发病机制

肝硬化时肝功能障碍、血流动力学改变、代谢紊乱等一系列因素打破了胸膜腔内液体的滤过和吸收平衡, 使液体积聚导致HH的产生. 但具体的发病机制尚不清楚, 可能与以下因素有关.

1.1 全身性因素 (1)血流动力学改变: 奇静脉系统以及肺循环高压使血管渗出增多, 对水分的重吸收减少; (2)淋巴引流障碍: 肝硬化时肝淋巴液生成过多, 一方面外溢形成腹水; 另一方面使胸导管内压增高, 胸膜淋巴管扩张、淋巴液淤滞、外溢[6]; (3)神经-内分泌紊乱: 肝硬化高排低阻状态使大量血液瘀滞, 有效循环血量下降, 激活交感神经系统、肾素-血管紧张素-醛固酮系统等, 发生水钠潴留[7,8]; (4)低蛋白血症.

1.2 局部性因素 (1)左右横隔发育不平衡: 在胚胎学上右侧横膈较易出现发育缺陷, 胶原腱索不连续或间隙形成, 当腹腔内的压力增加时(如腹水、咳嗽及用力), 横膈腱索部的胶原束分开形成缺损, 腹膜通过缺损形成胸腹膜小疱[9]. 另外, 横膈膜两侧的淋巴网右侧比左侧发达. 肝脏淋巴流量增加, 主要引起右侧胸膜淋巴管扩张, 淋巴回流障碍和淋巴液外溢; (2)右肺静脉压力相对高, 门-肺分流更易引起右肺静脉渗出, 形成胸腔积液; (3)横膈裂孔: 被多数学者认为是胸腔积液形成的主要原因. Rubinstein等[10]通过分别向胸腹腔内注入^{99m}Tc硫化胶体, 同时行胸腹腔闪烁照相发现胸腔内有放射性标志物, 证实了胸腹腔交通的存在, 且液体在胸腹腔之间的流动是单向的, 即只能从腹腔到胸腔. Yutaka等[9]向腹腔内注入染料并用气腹术清晰显示了横膈上的缺陷.

Huang等[11]发现所有的横膈缺损都位于横膈膜的腱性部分, 并按形态学特征将膈膜缺损分成了4类, 分别是TypeⅠ, 无明显缺损; TypeⅡ, 隔膜上水泡形成, 呈卵圆形, 直径1-2 cm; TypeⅢ, 膈膜上破碎的缺损, 常呈条纹状分布, 由破口和破裂的水泡组成; TypeⅣ, 隔膜多个缺口. TypeⅡ和TypeⅢ常在临床中发现, 以上4种缺损类型可同时出现. 膈膜缺损类型与胸腔积液体积间未发现相关性.

Lin等[12]根据横膈裂孔的大小将其分为4种类型, 分别为TypeⅠ: 大裂孔型, 气体和液体可以通过裂孔自由地穿越; TypeⅡ: 小裂孔型, 液体可以通过, 但气体无法通过, 裂孔呈单向活瓣, 腹水随呼吸运动单向进入胸腔; TypeⅢ: 微小裂孔型, 相对负压的胸内压就可将腹水泵入胸腔内, 当腹水量少或等于胸腔负压的吸引量时, HH可不伴有腹水; TypeⅣ: 超微裂孔型, 气体和液体均无法通过, 但重力作用可以使少量胸水流入腹腔. 在临床中TypeⅡ、TypeⅢ较为常见.

1.3 各因素相互影响 全身性因素与局部性因素相互影响, 共同作用产生了HH, 并使病情进一步恶化, 步入恶性循环. 而HH以右侧居多也与上述因素有关, 目前各文献报道的比例较一致: Bhattacharya等[13]发现HH患者中右侧胸腔积液约85%, 左侧胸腔积液约13%, 双侧胸腔积液约2%. Dinu等[14]发现右侧胸腔积液约79.16%, 左侧胸腔积液约12.5%, 双侧胸腔积液约8.34%.

2 诊断

HH的临床表现取决于胸水形成的速度及量、患者耐受程度等. 可无症状或有呼吸困难、干咳, 甚至出现低氧血症、呼吸功能衰竭等. 对于肝硬化并发HH通过临床表现及实验室、影像学检查等诊断并不困难. 常规的胸腔积液检查对评价HH性质很重要, 其特点如下: 分叶核细胞计数<0.25×10^9/L、蛋白质定量<25 g/L、胸水与血清中的总蛋白质比值<0.5、乳酸脱氢酶比值<0.6、白蛋白比值>1.1、胆红素比值<0.6, pH>7.4, 胸水葡萄糖与血糖的浓度相近[15,16]. 超声、CT检查横膈裂孔存在与否常较困难, 可以通过超声对比增强、放射性核医学扫描或胸腔镜证明腹膜-胸膜交通而做出最后的诊断[17,18]. 少见情况可有血性HH、乳糜性HH及自发性细菌性胸膜炎, 易发生误诊和漏诊.

马镇江[19]在40例HH患者中发现了4例血性胸水, 血性胸水的出现提示病情重, 预后差. 其产生机制主要为肝硬化出血倾向, 横膈小泡破裂出血, 红细胞从门静脉侧支血管和肝淋巴管漏出导致. 诊断需要排除肿瘤、结核等因素.

肝性乳糜性胸水是因肝硬化患者生成的淋巴液超过一定负荷时使胸膜淋巴管扩张、破裂或淋巴管通透性异常, 淋巴液外溢所致[20]. 胸液呈乳白色, 蛋白含量高, 比重大, 乳糜试验阳性等表现, 可初步考虑诊断乳糜胸; 同时要重视同乳白色胸液的鉴别, 对黄色或粉红色胸液也应作乳糜定性试验, 以免误诊, 而苏丹Ⅲ染色是诊断的金指标[21].

无论有无腹水, 自发性细菌性胸膜炎均可发生于HH患者. 国内学者发现其发病率可达20%-33.6%[22,23]. 而自发性细菌性胸膜炎患者均有自发性细菌性腹膜炎(spontaneous bacterial

peritonitis, SBP), 且胸水细菌培养结果常为大肠杆菌, 与SBP的腹水培养结果一致, 说明二者关系密切, 并提示细菌侵入胸腔的途径可能是在SBP基础上细菌经横膈膜裂孔或胸-腹腔交通的淋巴管或产生了菌血症随血流进入了胸腔[22-25]. 胸水常规提示为渗出液或介于渗-漏之间, 胸水细菌培养阳性且胸片未提示肺炎征象及邻近脏器的感染则可确立诊断.

3 治疗

HH的治疗是一个极具挑战的临床问题, 因为它是末期肝病的并发症, 大多数病例的结果不尽人意. 虽然目前的治疗方法很多, 但尚无一理想, 更多的时候是综合运用.

3.1 内科治疗

3.1.1 一般治疗: 改善肝脏功能和调整营养是其他一切治疗的基础, 其内容包括(1)卧床休息; (2)限制水、钠的摄入. 钠摄入量限制在2 g/d以内, 有稀释性低钠血症者摄入水量在500-1000 mL/d. 但过度、长期限钠对肝硬化腹水消退并无帮助, 快速纠正低钠血症可能更有害, 易增加各种并发症的发生率[26]; (3)营养支持. 80%-100%的肝硬化患者均存在不同程度的营养不良, 而且80%为蛋白质和/或能量不足[27]. 2000年欧洲营养协会达成共识[28]: 大多数患者可以耐受正常甚至更高的蛋白质摄入, 而不产生肝性脑病; 有必要晚上加餐; 对重症营养不良患者, 应考虑补充氨基酸; 肝性脑病者, 可以考虑以支链氨基酸作为氮源. 营养支持的方法尽量采用口服, 不能口服者置鼻肠管行肠内营养支持, 不能耐受者可采用肠外营养[29]; (4)使用利尿剂, 主要使用螺内酯和呋塞米, 目前主张两者联用, 可起协同作用, 并减少电解质紊乱的发生率. 螺内酯和呋塞米的开始剂量各为100和40 mg/d(剂量比为10∶4), 若效果不明显可逐渐加量至400和160 mg/d[2]; (5)强调原发病的治疗, 保肝、着重改善肝功能等. 乙型病毒性肝炎后肝硬化所致HH, 只要HBV DNA阳性. 应尽早进行抗病毒治疗. 2007年美国肝病研究协会(American Association for the Study of Liver Diseases, AASLD)关于《慢性乙型肝炎的临床实践指南》[30]及2008年新版的《亚太肝病学会慢性乙型肝炎管理指南》[31]均提出将核苷(酸)类似物作为失代偿期肝硬化患者抗病毒治疗的首选, 酒精性肝硬化、自身免疫性肝硬化及血吸虫性肝硬化等进行相应的对因治疗. 护肝治疗可酌情选用改善微循环及抗氧化剂, 如N-乙酰-L-半胱氨酸(NAC)和还原型谷胱甘肽等. 通过以上治疗, 很多患者的胸水明显减少或消失, 但往往随着肝脏原发病的恶化而复发. 各种文献报道的临床上运用一般方法治疗HH的有效率约为71%-88%[32-35].

3.1.2 胸腔穿刺或胸导管置入放液: 对一般治疗无效, 胸水量大, 影响呼吸循环功能的患者, 可考虑胸腔穿刺或胸导管置入放液来缓解症状. 该方法简单易行, 费用低, 痛苦小, 能迅速缓解患者呼吸困难症状. Mercky等[36]运用隧道式胸腔引流管置入治疗难治性HH患者, 治疗后6 mo未再出现胸水. Goto等[37]用胸导管引流胸水后经导管处注入OK-432(溶链菌制剂)行胸膜固定黏合术, 术后1 mo胸水完全消失. 国内学者运用中心静脉导管留置胸腔持续引流, 待胸水完全排净后联合注入高渗葡萄糖溶液[34]或白介素-2[38]的方法治疗HH患者, 发现较常规胸腔穿刺抽胸水治疗更为有效, 且胸水消退的天数、穿刺费用和住院天数均明显缩短(P<0.05). 不过以上方法都不同程度出现了堵管、发热、微胸痛、一过性肾功能恶化等不良反应, 经对症支持治疗后均缓解.

频繁放胸水打破了胸腹腔压力平衡不利于膈肌缺损处愈合, 还可引起胸腔细菌感染. 而大量含蛋白质及电解质液体的丢失可使患者一般情况恶化甚至诱发肝性脑病, 故放胸水有时被认为是一种禁忌症, 形成了一个两难的境地. 多数学者并不推荐常规使用, 除非大量胸水影响呼吸.

3.1.3 经颈静脉门体分流术(transjugular intrahepatic portosystemic shunt, TIPS): 是在肝内门静脉和肝静脉间建立分流道以降低门静脉压力, 自1994年首次用于治疗HH以来, 现已广泛地用于其他方法治疗无效的HH. 与外科的门体静脉分流比较, TIPS创伤小且手术病死率较低. 文献[39,40]报道对超过150例的HH患者行TIPS后的结果分析发现, 68%-82%的患者临床症状缓解, 57%-71%的患者HH完全缓解. 且TIPS能改善肾功能和门脉血管对移植物的血供, 明显提高了肝移植物及患者的存活率, 为等待肝移植起到桥梁作用, 这可能支持将TIPS运用在肝移植的候选人身上[41].

在广泛接受聚四氟乙烯覆盖支架前, 狭窄和闭塞是TIPS常见的并发症. 最常见的狭窄部位在肝静脉端, 其发生率为18%-78%[42]. 带膜支架的应用使分流道血流与肝组织隔离, 通过阻止

■相关报道

HH的形成解剖基础是膈肌缺陷, 显示膈肌缺损的技术如超声对比增强、放射性核医学扫描或胸腔镜等在诊治中得到应用. 治疗手段也更着重于介入治疗如TIPS及外科治疗如横膈修补术、肝移植等方面的研究.

■创新盘点
本文对HH的形成机制进行了较为全面的阐述, 对诊断、治疗的最新进展有较为系统的总结和介绍.

胆汁向分流道漏出或肝组织向分流道内部生长, 有效降低分流道阻塞的发生率. 患者若怀疑阻塞需要行TIPS静脉造影, 如果以前用的金属裸支架, 置入一个覆盖支架可能改善长期分流通畅[43]. TIPS的另一缺点是增加肝性脑病的发生率以及对肝功能的不良影响, 接受TIPS的患者中约30%出现肝性脑病, 临床上肝性脑病常在TIPS术后的2-3 wk出现[44]. 因此, 经TIPS治疗HH需权衡利弊.

3.2 外科治疗

3.2.1 横膈裂孔修补术: 横膈裂孔被认为是HH形成的主要解剖学原因, 但单独应用修补术成功的报道较少, 常与持续性气道正压通气(continuous positive airway pressure, CPAP), 胸膜固定黏连术等联合, 一般在胸腔镜下进行. 按形态学分类的横膈缺损TypeⅡ和TypeⅢ可采取一期缝合, 而对于TypeⅣ缺损, 仅仅用一期缝合或重复胸膜固定术可能并没多大好处, 网、组织胶或皮瓣认为可阻止从隔膜缺损处的持续渗漏. Yutaka等[9]运用气腹技术联合腹腔内注入吲哚菁绿(indocyanine green, ICG)将横膈水泡染成了绿色, 清晰地显示出不同的修补范围, 缝合缺损后缝线处由喷洒了纤维蛋白的聚乙二醇酸片加强, 术后CPAP来阻止扩张性肺水肿和控制胸腔积液, 取得了较好的治疗效果. Mutter等[45]通过微创的胸腔镜检查将肝膈膜区用心脏修补网状织物黏附起来, 成功治疗了4例腹膜透析引起的胸水患者, 可以为我们治疗HH提供借鉴.

3.2.2 化学胸膜固定术: 是用人工方法将化学性胸膜刺激剂导入胸膜腔, 诱发无菌性炎症. 以产生胸膜黏连. 现应用较成功的有滑石粉及四环素, 趋向在胸腔镜下吸尽胸水后进行. 胸腔镜可在局麻下进行, 因此它成本低, 风险小并能广泛运用. Lin等[12]在胸腔镜下喷洒无菌性滑石粉治疗26例HH患者成功率为92%, 完全应答率58%, 部分应答率33%, 无应答率8%, 但此法可引起部分HH患者转氨酶升高, 故需小心检查肝功能. 化学胸膜固定术的副作用还包括胸痛、发热等, 一般无特殊处理. 有学者报道化学胸膜固定术联合CPAP可能更为有效, 因为既可以形成一个胸内压正压梯度以阻止腹水流入胸腔, 又可为脏壁胸膜彼此黏连提供时间[36].

3.2.3 胸膜静脉分流术: 是从胸膜腔分流到锁骨下静脉或颈静脉治疗非恶性胸水的方法. 该分流有效, 创伤小但有局限性, 且合并有胸水感染是禁忌症.

3.2.4 腹膜静脉分流术: 通过置入腹膜静脉分流管, 将腹水直接引流人静脉系统. 这是一种不改变门静脉压而可减少腹水形成的方法, 但不能完全阻止胸水形成, 只适于血管结构异常而不宜行TIPS的患者, 对单纯性HH患者无效. 加之操作并发症多, 又不能提高生存率, 限制了其的应用.

3.2.5 肝移植: HH常发生于肝病的晚期, 上述方法只能暂时缓解症状, 提高生活质量, 最终治疗仍为肝移植. Xiol等[46]报道接受肝移植的28例HH患者, 术后1 mo有9例尚有胸水; 3 mo后仅有l例有胸水, 且与心功能衰竭有关; 1年生存率82%, 5年生存率70%. 针对目前全世界肝脏移植的瓶颈问题-供肝匮乏, 各学者对新的肝移植方式进行了探索. 李宏为等[47]建立了体外供肝劈离技术和综合防治活体肝移植SFSS的关键技术, 至今共完成4对8例, 手术成功率100%, 其中6例获6年以上长期存活. Sun等[48]实施了世界上首例原本拟摒弃的带血管瘤的左半肝成人间边缘供肝肝移植, 术后半年供者和受者均顺利恢复并重返工作岗位, 供肝体积明显增大, 但血管瘤体积无明显改变. Lu等[49]切取供者肝左动脉和肝右动脉共干, 使之成形为宽阔的“喇叭口”, 与受者肝动脉吻合, 重建供者剩余肝脏肝动脉, 这样既能保证供者安全, 又相对扩大了供肝来源. 目前我国肝移植总例数已超过2万例, 经典原位肝移植、背驮式肝移植、减体积肝移植、劈裂式肝移植等多种肝移植术式的发展使患者术后生存率获得了大幅度提高[50].

3.3 中医治疗 所有的胸腔积液, 在中医中都归之为“悬饮”范畴. HH常与“鼓胀”同时发病, 根据其特征可以参照“悬饮”、“鼓胀”、“积聚”、“黄疸”等病进行辨治, 其病机主要是肝脾肾三脏受病, 气血水瘀积胸腹而成, 故多数学者采用益气健脾、活血利水等治法进行选药组方. 陈兰玲等[51]采用益气活血消臌汤合葶苈大枣泻肺汤治疗HH40例(总有效率82.50%), 并与西医常规治疗40例比较(总有效率65.00%), 两组显有效率及总有效率差异有统计学意义(P<0.05). 邹同[32]对120例HH患者随机分为对照组运用常规治疗方式进行治疗, 和观察组在常规治疗方式上给予患者四妙回春汤, 观察组的总有效率为95%, 较对照组85%相比差异具有显著性(P<0.05).

4 结论

目前, HH的发病机制尚未彻底阐明. 临床表现的多样性和不典型性易发生误诊、漏诊. 治疗方法虽多, 但没有一种是完全而有效的, 且患者身体状况差、部分治疗方法也常导致并发症而限制了其的使用. HH的预后取决于病情轻重、肝硬化失代偿的严重程度及是否合并其他并发症等, 故需及早诊断, 综合治疗, 延缓其发展.

■应用要点

对HH的形成机制有较为全面的阐述, 加深对HH的了解, 对其合并症及不典型症状的介绍可提高临床警惕性, 降低误诊、漏诊率. 同时各种治疗新技术的探索开拓了HH的临床治疗思路.

5 参考文献

1 Hepatic Hydrothorax. *Clin Liver Dis* 2014; 18: 439-449 [PMID: 24679505 DOI: 10.1016/j.cld.2014.01.005]
2 Garcia N, Mihas AA. Hepatic hydrothorax: pathophysiology, diagnosis, and management. *J Clin Gastroenterol* 2004; 38: 52-58 [PMID: 14679328]
3 Siddappa PK, Kar P. Hepatic hydrothorax. *Trop Gastroenterol* 2009; 30: 135-141 [PMID: 20306741]
4 Porcel JM, Mas E, Reñé JM, Bielsa S. [Hepatic hydrothorax: report of a series of 77 patients]. *Med Clin* (Barc) 2013; 141: 484-486 [PMID: 24018252 DOI: 10.1016/j.medcli.2013.06.017]
5 胡茂东, 刘青杰. 23例单纯性肝性胸水临床分析. 实用医技杂志 2003; 10: 391
6 项妍姝. 肝性胸水的产生机制及诊治现状. 中国创新医学 2009; 6: 90-92
7 Hsu SJ, Huang HC. Management of ascites in patients with liver cirrhosis: recent evidence and controversies. *J Chin Med Assoc* 2013; 76: 123-130 [PMID: 23497963 DOI: 10.1016/j.jcma]
8 陆再英. 内科学. 第7版. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 446-448
9 Yutaka Y, Fukao A, Shirase T, Takahashi K, Katakura H, Sakai N, Yamanaka A. A novel surgical approach to refractory hepatic hydrothorax. *Ann Thorac Surg* 2013; 96: e75-e76 [PMID: 23992736 DOI: 10.1016/j.athoracsur.2013.03.112]
10 Rubinstein D, McInnes IE, Dudley FJ. Hepatic hydrothorax in the absence of clinical ascites: diagnosis and management. *Gastroenterology* 1985; 88: 188-191 [PMID: 3964765]
11 Huang PM, Chang YL, Yang CY, Lee YC. The morphology of diaphragmatic defects in hepatic hydrothorax: thoracoscopic finding. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2005; 130: 141-145 [PMID: 15999054]
12 Lin DJ, Wang MF, Gao GX, Li B, Su LL, Zhu L, Chen F, Xue LF. [The value of thoracoscopy for diagnosis and management of refractory hepatic hydrothorax]. *Zhonghua Jiehe He Huxi Zazhi* 2006; 29: 665-667 [PMID: 17129493]
13 Bhattacharya A, Mittal BR, Biswas T, Dhiman RK, Singh B, Jindal SK, Chawla Y. Radioisotope scintigraphy in the diagnosis of hepatic hydrothorax. *J Gastroenterol Hepatol* 2001; 16: 317-321 [PMID: 11339424]
14 Dinu M, Georgescu AC, Ciurea RN, Ştefan M. The role of cytology in the diagnosis of fluid collection syndromes associated with liver cirrhosis. Clinical, epidemiological, cytological and biochemical study of pleural effusion. *Rom J Morphol Embryol* 2012; 53: 989-995 [PMID: 23303023]
15 Cárdenas A, Arroyo V. Management of ascites and hepatic hydrothorax. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2007; 21: 55-75 [PMID: 17223497]
16 Gurung P, Goldblatt M, Huggins JT, Doelken P, Nietert PJ, Sahn SA. Pleural fluid analysis and radiographic, sonographic, and echocardiographic characteristics of hepatic hydrothorax. *Chest* 2011; 140: 448-453 [PMID: 21273292 DOI: 10.1378/chest.10-2134]
17 Foschi FG, Piscaglia F, Pompili M, Corbelli C, Marano G, Righini R, Alvisi V, Gasbarrini G, Bolondi L, Bernardi M, Stefanini GF. Real-time contrast-enhanced ultrasound--a new simple tool for detection of peritoneal-pleural communications in hepatic hydrothorax. *Ultraschall Med* 2008; 29: 538-542 [PMID: 19241513 DOI: 10.1055/s-2008-1027328]
18 Garrote A, Giraldez E, de Lange S, Galban C. [Using intraperitoneal contrast in X-ray study in the diagnosis of hepatic hydrothorax]. *Med Intensiva* 2011; 35: 260-261 [PMID: 21109329 DOI: 10.1016/j.medin.2010.07.010]
19 马镇江. 肝性胸水40例临床分析. 国际消化病杂志 2009; 29: 424-425
20 吕超, 王雨田. 肝硬化乳糜性腹水治疗进展. 国际消化病杂志 2008; 8: 106
21 李晓燕, 朱森林, 陈晏湖, 胡品津. 肝硬化所致乳糜性胸水的临床分析-附4例报告.临床消化病杂志 2011; 23: 195-197
22 孙国兴, 刘林. 肝硬化肝性胸水并发自发性细菌性胸膜炎46例分析. 中国误诊学杂志 2008; 8: 2942-2943
23 李慧. 肝硬化肝性胸水并发自发性细菌性胸膜炎42例临床分析. 医学理论与实践 2012; 25: 541-542
24 王永刚, 王宇明. 肝性胸水. 肝脏 2003; 8: 51-53
25 Tu CY, Chen CH. Spontaneous bacterial empyema. *Curr Opin Pulm Med* 2012; 18: 355-358 [PMID: 22450302 DOI: 10.1097/MCP.0b013e328352b50f]
26 陈东风, 艾正琳. 肝硬化腹水和肝性胸水的治疗. 胃肠病学和肝病学杂志 2009; 18: 303-304
27 王艳梅, 李楠, 吴凯, 翟俊山, 朱超慧, 朱建华. 肝硬化患者营养支持及疗效评价. 临床消化病杂志 2012; 24: 234-237
28 Marchesini G, Bianchi G, Rossi B, Brizi M, Melchionda N. Nutritional treatment with branched-chain amino acids in advanced liver cirrhosis. *J Gastroenterol* 2000; 35 Suppl 12: 7-12 [PMID: 10779207]
29 杨先芬, 荚卫东. 肝硬化患者营养状况与营养支持. 实用肝脏病杂志 2012; 15: 174-176
30 Lok AS, McMahon BJ. Chronic hepatitis B. *Hepatology* 2007; 45: 507-539 [PMID: 17256718]
31 任红. 亚太肝病学会慢性乙型肝炎管理指南(2008年版)解读. 中华肝脏病杂志 2008; 16: 243-246
32 邹同. 肝硬化肝性胸水的临床诊治体会. 中国现代药物应用 2013; 7: 36-37
33 高晓玲. 肝性胸水临床特征分析. 当代医学 2012; 18: 53-54
34 周健, 刘黎. 中心静脉导管联合高渗葡萄糖治疗肝性胸水的疗效观察. 胃肠病学和肝病学杂志 2011; 20: 745-747
35 Singh A, Bajwa A, Shujaat A. Evidence-based review of the management of hepatic hydrothorax. *Respiration* 2013; 86: 155-173 [PMID: 23571767 DOI: 10.1159/000346996]
36 Mercky P, Sakr L, Heyries L, Lagrange X, Sahel J, Dutau H. Use of a tunnelled pleural catheter for the management of refractory hepatic hydrothorax: a new therapeutic option. *Respiration* 2010; 80: 348-352 [PMID: 20145382 DOI: 10.1159/000282493]
37 Goto T, Oyamada Y, Hamaguchi R, Shimizu K, Kubota M, Akanabe K, Kato R. Remission of hepatic

■同行评价
本文思路清晰, 分别从HH的发生机制、诊断及治疗方面进一步探讨, 还加入中医方面的研究, 对于HH的临床诊治有一定帮助.

hydrothorax after OK-432 pleurodesis. *Ann Thorac Cardiovasc Surg* 2011; 17: 208-211 [PMID: 21597425]
38 周年兰, 陈超伍, 向晓星. 中心静脉导管引流联合白细胞介素-2注射治疗肝性胸水患者21例疗效观察. 临床肝胆病杂志 2012; 28: 616-617
39 Dhanasekaran R, West JK, Gonzales PC, Subramanian R, Parekh S, Spivey JR, Martin LG, Kim HS. Transjugular intrahepatic portosystemic shunt for symptomatic refractory hepatic hydrothorax in patients with cirrhosis. *Am J Gastroenterol* 2010; 105: 635-641 [PMID: 19904245 DOI: 10.1038/ajg.2009.634]
40 Wilputte JY, Goffette P, Zech F, Godoy-Gepert A, Geubel A. The outcome after transjugular intrahepatic portosystemic shunt (TIPS) for hepatic hydrothorax is closely related to liver dysfunction: a long-term study in 28 patients. *Acta Gastroenterol Belg* 2007; 70: 6-10 [PMID: 17619531]
41 Guerrini GP, Pleguezuelo M, Maimone S, Calvaruso V, Xirouchakis E, Patch D, Rolando N, Davidson B, Rolles K, Burroughs A. Impact of tips preliver transplantation for the outcome posttransplantation. *Am J Transplant* 2009; 9: 192-200 [PMID: 19067664 DOI: 10.1111/j.1600-6143.2008.02472.x]
42 Boyer TD, Haskal ZJ. American Association for the Study of Liver Diseases Practice Guidelines: the role of transjugular intrahepatic portosystemic shunt creation in the management of portal hypertension. *J Vasc Interv Radiol* 2005; 16: 615-629 [PMID: 15872315]
43 Jirkovsky V, Fejfar T, Safka V, Hulek P, Krajina A, Chovanec V, Raupach J, Lojik M, Vanasek T, Renc O, Ali SM. Influence of the secondary deployment of expanded polytetrafluoroethylene-covered stent grafts on maintenance of transjugular intrahepatic portosystemic shunt patency. *J Vasc Interv Radiol* 2011; 22: 55-60 [PMID: 21106389 DOI: 10.1016/j.jvir.2010.09.016]
44 Riggio O, Angeloni S, Salvatori FM, De Santis A, Cerini F, Farcomeni A, Attili AF, Merli M. Incidence, natural history, and risk factors of hepatic encephalopathy after transjugular intrahepatic portosystemic shunt with polytetrafluoroethylene-covered stent grafts. *Am J Gastroenterol* 2008; 103: 2738-2746 [PMID: 18775022 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2008.02102.x]
45 Mutter D, Callari C, Diana M, Bencheikh L, Heibel F, Marescaux J. A novel technique to treat hydrothorax in peritoneal dialysis: laparoscopic hepato-diaphragmatic adhesion. *Perit Dial Int* 2011; 31: 692-694 [PMID: 22123855 DOI: 10.3747/pdi.2010.00297]
46 Xiol X, Tremosa G, Castellote J, Gornals J, Lama C, Lopez C, Figueras J. Liver transplantation in patients with hepatic hydrothorax. *Transpl Int* 2005; 18: 672-675 [PMID: 15910292]
47 李宏为, 彭承宏, 沈柏用, 陈拥军, 邓侠兴, 詹茜, 陈皓. 多模式部分肝移植关键技术及其临床应用. 上海交通大学学报(医学版) 2012; 32: 1198-1202
48 Sun B, Mu X, Wang X. Successful adult-to-adult liver transplantation of an otherwise discarded partial liver allograft with a cavernous hemangioma: new strategy for expanding liver donor pool. *Transpl Int* 2013; 26: e79-e80 [PMID: 23721088 DOI: 10.1111/tri.12119]
49 Lu L, Qian XF, Li XC, Li GQ, Kong LB, Wang K, Wang XH, Zhang F. The technique and outcomes of branch-patch arterial reconstruction in living donor liver transplantation. *Transplant Proc* 2010; 42: 2607-2610 [PMID: 20832554 DOI: 10.1016/j.transproceed.2010.04.046]
50 王学浩, 李国强. 我国肝移植现状与面临的挑战. 中华消化外科杂志 2013; 12: 641-643
51 陈兰玲, 马薇, 阳航, 朱文芳, 谌宁生. 益气活血消臌汤合葶苈大枣泻肺汤治疗肝性胸水临床观察. 中国中医急诊 2010; 19: 1683-1684

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com
世界华人消化杂志 2014年5月18日; 22(14): 1959-1965
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

文献综述 REVIEW

肝螺杆菌感染与原发性肝癌相关性的研究进展

蒋 旗, 黄衍强, 黄赞松

蒋旗, 广西医科大学研究生学院 广西壮族自治区南宁市 530021
黄衍强, 右江民族医学院微生物学和免疫学教研室 广西壮族自治区百色市 533000
黄赞松, 右江民族医学院消化疾病研究所附属医院消化内科 广西壮族自治区百色市 533000
蒋旗, 在读硕士, 主要从事肝癌基础与临床的研究.
广西自然科学基金资助项目, No. 科教自0542119
广西教育厅重点课题基金资助项目, No. 201202ZD078
广西卫生厅课题基金资助项目, No. Z2010082
作者贡献分布: 本文综述由蒋旗完成; 黄衍强与黄赞松审校.
通讯作者: 黄赞松, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 533000, 广西壮族自治区百色市城乡路98号, 右江民族医学院消化疾病研究所附属医院消化内科. huangzansong@hotmail.com
电话: 0776-2846532, 2825103
收稿日期: 2014-02-24 修回日期: 2014-03-18
接受日期: 2014-04-04 在线出版日期: 2014-05-18

Relationship between *Helicobacter hepaticus* infection and hepatocellular carcinoma

Qi Jiang, Yan-Qiang Huang, Zan-Song Huang

Qi Jiang, Graduate College, Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China
Yan-Qiang Huang, Department of Microbiology and Immunology, Youjiang Medical College for Nationalities, Baise 533000, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China
Zan-Song Huang, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Youjiang Medical College for Nationalities, Baise 533000, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China
Supported by: the Natural Science Foundation of Guangxi Zhuang Autonomous Region, China, No. 0542119; the Focal Topic Foundation of Guangxi Education Department, No. 201202ZD078; the Health Department Foundation of Guangxi, No. Z2010082
Correspondence to: Zan-Song Huang, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Youjiang Medical College for Nationalities, 98 Chengxiang Road, Baise 533000, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. huangzansong@hotmail.com
Received: 2014-02-24 Revised: 2014-03-18
Accepted: 2014-04-04 Published online: 2014-05-18

Abstract

Hepatocellular carcinoma (HCC) has a high incidence worldwide, with a low diagnostic rate in the early period and therefore a high death rate. Causes for some cases of liver cancer are not completely clear. The finding that the rate of liver cancer in male A/Jr mice is significantly higher makes researchers realize that *Helicobacter hepaticus* may cause HCC in human beings. To get a new perspective for exploring causes of liver cancer, this paper introduces the biological nature of and detecting methods for *Helicobacter hepaticus*, as well as the relationship between *Helicobacter hepaticus* infection and HCC. *Helicobacter hepaticus* infection may play an important role in some HCC cases.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: *Helicobacter hepaticus*; Hepatocellular carcinoma; Relationship

Jiang Q, Huang YQ, Huang ZS. Relationship between *Helicobacter hepaticus* infection and hepatocellular carcinoma. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(14): 1959-1965 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1959.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i14.1959

摘要

原发性肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)全球发病率高, 早期诊断率低, 死亡率高, 部分肝癌患者的病因仍不十分明确, 随着A/Jr小鼠感染肝螺杆菌(*Helicobacter hepaticus*, *Hh*)后致雄性小鼠肝癌发生率明显升高现象的发现, 人们开始思考是否存在肝螺杆菌感染人群致人类肝癌的发生率升高, 为肝癌的病因提供一个新的视野, 本文简述了*Hh*生物特性、检测方法、与肝癌的相关性及致病机制, 研究表明肝螺杆菌可能在部分原发性肝癌中充当着十分重要的角色.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 肝螺杆菌; 原发性肝癌; 相关性

核心提示: 肝螺杆菌(Helicobacter hepaticus, *Hh*)无论在动物实验或人类研究都可能参与原发性肝癌的发病过程, 其可能机制是: (1)*Hh*自身及其代谢产物的影响; (2)*Hh*感染继发炎症过程中释放多种细胞因子、一氧化氮和自由基等多因素协同作用.

蒋旗, 黄衍强, 黄赞松. 肝螺杆菌感染与原发性肝癌相关性的研

■背景资料
原发性肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)部分病因尚不十分明确, 肝螺杆菌(*Helicobacter hepaticus*, *Hh*)感染动物模型导致动物HCC的发病率增高, 同时HCC患者的肝脏、胆汁、胆囊组织发现*Hh* DNA, 提示*Hh*可能参与HCC的发病, 因此, 对*Hh*感染与HCC的相关性研究成为热点.

■同行评议者
傅晓辉, 副教授, 副主任医师, 东方肝胆外科医院

究进展. 世界华人消化杂志 2014; 22(14): 1959-1965 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1959.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i14.1959

■研发前沿
肝螺杆菌的检测方法，如何提高肝螺杆菌检测的特异性，还有肝螺杆菌致肝癌的可能的作用机制，目前最主要的难点是肝螺杆菌的体外培养技术.

0 引言

原发性肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)在全球范围内是一种常见导致死亡的恶性肿瘤，在一些地区占癌症相关的死因的首位[1]，我国为HCC的高发区，死亡率在消化系肿瘤中排名第2位，城市中仅次于肺癌，农村仅次于胃癌[2-4]，遗传和环境因素与HCC的发生密切相关，在美国，乙型肝炎、丙型肝炎、酒精导致的肝硬化为HCC发生主要病因；我国病毒性肝炎和肝硬化、黄曲霉素及饮用水污染为主要病因，但是仍有多达30%危险因素是不清楚的[5]. 自从1983年Marshall和Warren从慢性胃炎患者胃黏膜中培养出一种弯曲的细菌，于1989年这种弯曲菌被证实命名为幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)[6]. 越来越多的螺杆菌株被鉴定，目前至少有30种以上从哺乳动物及鸟类胃肠道或肝脏分离出来，被分为胃螺杆菌和肠肝螺杆菌[7]，他们能致人或动物肝、胆、肠疾病. 肝螺杆菌(*Helicobacter hepaticus*, *Hh*)定植于小鼠下消化系，包括盲肠、结肠及肝胆系统，可引起所系小鼠：A/Jcr、C3H/HeNcr、SJL/Ncr发生活动性肝炎，并可引起敏感小鼠肝癌的发生[8-10]. 1994年国际癌症研究中心(International Agency for Research on Cancer, IARC)将*H. pylori*列为I类致癌因子[11]，*Hh*与*H. pylori*具有许多相同的特性，对宿主持续性感染，导致慢性炎症，同时慢性炎症均可导致癌症的发生[12]. 近年来的研究发现*Hh*感染可能与肝癌的发生有一定的相关性[13]，使人们联想是否也存在*Hh*-肝炎-肝癌模式，许多研究证实HCC患者能检测到螺杆菌DNA[14-16]，尤其是*Hh* DNA在原发性硬化性胆管炎、原发性胆汁性肝硬化患者的肝脏、胆汁、胆囊组织中发现[17]. 因此对*Hh*与HCC的相关关系的研究是十分必要，将对肝癌的病因研究提供新的视野.

1 *Hh*生物特性

*Hh*为革兰阴性菌，在暗视-相差显微镜下，细菌弯曲呈螺旋状，具有动力，长1.5-5.0 μm，宽约0.2-0.3 μm，电镜下表现为表面光滑，胞浆周围无纤维，典型表现为菌体两端各含一条带鞘的鞭毛，*Hh*为微需氧菌，对营养培养条件要求高，一般在哥伦比亚培养基或布氏肉汤培养基上能良好生长，生长较缓慢，需要3-7 d，可见1-2 mm针尖样透明菌落，无明显溶血，为防杂菌生长，培养基中常需加入万古霉素、多黏菌素B、两性霉素等，与*H. pylori*一样能产生尿素酶、过氧化氢酶、氧化酶，但不同*H. pylori*是能将氮化物还原成硝酸盐及和水解吲哚酸盐，对甲硝唑敏感，对头孢及萘啶酸耐药. Suerbaum等[18]对*Hh* ATCC51449进行全基因测序发现，*Hh*是一个含有1799146(G+C所占比例为35.9%)环状染色体，比*H. pylori* 26695和J99稍大[19](1.64和1.67 Mbp)，预测能编码1875个蛋白，缺乏一些*H. pylori*熟知的毒力因子，如黏附素、VacA、和cag致病岛，但具有与空肠弯曲菌相似的黏附蛋白1(periplasmic solute-binding protein 1, PEB1)及细胞致死膨胀毒素，同时具有一个71 kb肝螺杆菌基因岛1(*Hh* genomic island 1, *HHGI1*)能编码IV分泌系统的基本组件和其他毒力蛋白.

2 *Hh*的检测手段

作为金标准的细菌培养，目前虽然通过各种努力和方法却未能从人肝脏组织中培养出*Hh*，人们推测*Hh*在肝脏中生长使之丧失了在人工培养基成活的能力或许是*Hh*一过性菌血症未能在肝脏组织中存留，给*Hh*在肝脏疾病的诊断中带来了困难. 目前对*Hh*主要的诊断方法为特异性16S rRNA PCR技术，rRNA是所有细菌进化最保守的遗传物质，被称之为细菌的“分子化石”，对细菌rRNA序列进行比较是鉴别细菌种系最有价值的方法[20]，但Fox等[21]报道从感染Hh的小鼠培养阳性仅有11.5%，而使用PCR测定却有66.6%. 同时许多研究表明肝脏组织中*H. pylori* 16S rRNA阳性，但*H. pylori*血清学检测阴性[22]，所以16S rRNA PCR的可信度大大减低了. 目前免疫血清学抗体检测广泛的运用于病毒性肝炎的诊断中，但抗-*Hh*抗体存在低的特异性，一些实验证实螺杆菌属可能存在一些相同的抗原[23]，这样就可能出现血清学交叉反应，使可信度下降，Ananieva等[24]使用*H. pylori*抗体去除其他可能引起抗*Hh*抗体产生交叉反应的抗原，提高特异性；Shimoyama等[25]使用Western blot方法证实*Hh*可引起人类胆道及胰腺疾病；Murakami等[26]使用特异性单克隆II-*Hh*-51抗体检测肝脏组织中*Hh*感染情况；我国高正琴等[27]以毒力基因*flaB*、*ureA*、*cdtB*和*cdtC*作为靶基因，建立*Hh*的多重PCR检测方法，为*Hh*流行病学调查提供了有利的科学工具.

3 *Hh*感染与HCC相关性研究

3.1 动物研究 动物实验研究对理解人类疾病提供一个坚实的基础, 螺杆菌属能感染几乎所有的脊椎动物, 包括人类. 不同的螺杆菌寄生在不同的部位, 包括胆总管、胆囊、肝内胆管和肝脏[28]. 1992年, 美国国家癌症研究所的Frederick癌症研究和发展中心, 在小鼠体内发现一种新型的慢性活动性肝炎, 同时肝癌的发生率明显升高, 这种疾病不能用目前已知的致病源所解释, 一般认为小鼠肝脏肿瘤多为化学致癌物质所诱发, 所以起初人们主要集中在化学物质的研究, 经过排除所有可能致癌物质后通过病理组织学检测发现100%♂小鼠患有活动性肝炎[8,29], 同时这种肝炎可以通过接种患病小鼠的肝脏组织匀浆而被传染, 最后通过特殊的银染方法发现一种大小、形态如同螺杆菌的病原体存在动物的肠道和肝脏组织, 并通过生化检测、DNA测序、及电镜观察, 证实与*H. pylori*相关的新的螺杆菌属, 1994年他被命名为*Hh*[8,29], 从而打开了研究*Hh*的序幕. *Hh*也能引起其他鼠类慢性活动性肝炎和肝肿瘤, 如C3H/HeNCr、SJL/NCr、Balb/c AnNCr和SCID/NCr. 根据Koch法则, 成功的复制出Hh感染A/Jr小鼠导致慢性活动性肝炎同时显著地增加肝肿瘤的发生的动物模型, 实验表明肝脏最早的组织形态学损伤是在2-6 mo, 表现为肝局灶性坏死和亚急性非化脓性炎症, 到6-10 mo, 慢性损伤加重, 包括卵圆细胞增殖、淋巴细胞浸润、胆道炎、肝脏增大[21], 尽管没有观察到肝癌的发生[21]. 但是, 另一个实验中, 有一只雌性瑞士韦斯特小鼠演变为肝癌[30]; Rogers等[31]研究感染*Hh*啮齿动物癌前病变的病理机制时发现, 除了雄性易感外, 感染*Hh*时的年龄也是疾病发生的一个关键因素; Alexis García等[32]使用13只A/J和C57BL/6杂交小鼠F1实验发现, 其中三只雄性小鼠感染*Hh* 18 mo患上了肝癌. 我国高正琴等[33]在2008-01, 对CBL57/6小鼠进行细菌学培养、血清学试验、多重PCR检测、病理组织学检查等方法进行鉴别, 并对细菌的分子生物学特征进行分析, 成功分离出一种能产生多种毒素的细菌, 经鉴别为*Hh*(HHm0801), 这是中国首次从小鼠中分离出的*Hh*, 为进一步研究该菌及展开流行病学调查提供了坚实的基础; 丁聪等[34]调查了上海及周边地区实验大小鼠螺杆菌携带情况, 结果表明平均35.8%小鼠*Hh* 16S rRNA PCR阳性.

3.2 人类研究 螺杆菌与人类肝脏疾病存在多发方面的联系已经进行评估, 尤其是*H. pylori*, 临床研究关注幽门螺杆在肝性脑病的作用, 是导致肝性脑病的发生或是加重肝性脑病, 对螺杆菌属在肝胆疾病的作用同样感兴趣, *Hh*感染A/Jr小鼠雄性鼠易发生肝癌与人类HCC男性高发相吻合, 是否同样存在螺杆菌感染致肝癌或促进肝癌发生同样值得关注. Al-Soud等[35]通过回顾性分析肝肠螺杆菌株DNA在HCC及胆管癌癌组织及癌旁组织的表达, 其中HCC12例, 胆管癌13例, 患者来源于低乙型肝炎、丙型肝炎患病率和低肝癌发病率地区, 同时选取24例肝脏良性病变作为对照, 通过使用螺杆菌基因特异性PCR, 及使用PCR方法分析其他肠杆菌、拟杆菌属、乳酸杆菌属、肠球菌属, 如果特异性螺杆菌PCR阳性患者再通过变性梯度凝胶电泳及DNA测序, 结果表明, HCC有7例(58%)、胆管癌有8例(63%)螺杆菌基因特异性PCR阳性, 而对照组3例阳性(12.5%), 两组相比$P<0.01$, 同时其他肠道细菌仅有1例在HCC组、1例在对照组(4%), 通过使用变性梯度凝胶电泳及DNA测序发现PCR产物, 与螺杆菌相似率达90%, 实验表明螺杆菌属与肝脏致癌作用有关, 而非其他常见的肠道细菌; Pandey等[36]用MATE分析评价螺杆菌属是否可能增加肝胆癌症的风险, 从PubMed、斯高帕斯、及谷歌数据库收集了15篇关于螺杆菌属和肝胆癌症的综述, 5篇是单一群体组研究, 10篇是病例对照研究, 病例对照组累积病例达205例, 其中115例(56%)螺杆菌是阳性, 而单组病例达263例, 其中仅有53例(20%)螺杆菌是阳性, 结果表明病例对照组螺杆菌阳性明显高于单一群体组研究, 累计优势比8.72(95%CI: 4.78-15.91, $Z = 7.07$, $P<0.00001$). 这有足够的依据表明螺杆菌属在肝胆致癌过程中充当了一个积极的角色; 我国黄燕等[37]对38例肝癌组织、15例肝硬化、12例慢性肝炎、15例肝良性肿瘤采用聚合酶链反应(PCR)扩增螺杆菌16S rRNA检测螺杆菌, 扩增产物经Southern杂交证实, 结果: 52.6%(20/38)的肝癌组织中发现螺杆菌存在, 而非肝癌组无一例阳性($P<0.01$). 提示螺杆菌与肝癌可能存在一定的联系; 林英豪等[38]对47例原发性肝细胞癌及24例结肠直肠癌肝转移患者胆汁使用PCR及DNA测序进行螺杆菌属及*Hh*特异性16S rRNA检测, 同时使用酶联免疫吸附法检测胆汁中Hh抗体, 结果发现12例(占25.5%)原发性肝细胞癌患者胆汁中检测*Hh*特异性16S rRNA, 15例(占31.9%)患者胆汁中检测出*Hh*抗体, 而对照组

■相关报道

我国学者覃月秋在*H. pylori*与原发性肝癌相关性研究的文献中提到*H. pylori*感染肝脏组织的病因学意义, 指出: *H. pylori*感染在肝炎向肝硬化、肝癌发展起到桥梁或协同作用, 这个机制可能同样适合*Hh*与HCC.

■创新盘点
目前HCC病因的研究主要集中病毒感染, 细菌感染病因研究不多, 特别是*Hh*与HCC的研究比较少.

只有1例(占4.2%)检测出*Hh*特异性16S rRNA, 其中3(占12.5%)例患者胆汁中检测出*Hh*抗体, 提示*Hh*可能参与HCC的发病机制. 同时吉林大学附属医院的学者对50例HCC患者进行*Hh*血清抗体学检测, 结果发现50%的患者血清学抗体阳性, 而肝脏良性肿瘤组为仅7.7%, 正常肝组织为6.3%(P<0.001)具有统计学意义; 同时对25例*Hh*血清抗体阳性患者行*Hh* 16S rRNA检测, 发现9例阳性(占36%); 这9例患者中有4例表达*Hh cdtB*基因, 而肝良性肿瘤及正常肝组织中未发现表达[39].

4 *Hh*进入肝脏的途径

*Hh*通过口-口传播, 使*Hh*通过胃、十二指肠、胆总管、肝总管、肝内胆管到达肝脏成为可能, *Hh*通过这条途径必须与胆汁接触, 胆汁由胆盐、胆固醇、胆色素及无机盐等组成, 其中胆汁酸具有两种不同的形式: 结合型胆汁酸和非结合型胆汁酸, 使得他具有不同抗菌效价, 其中非结合型胆汁酸抗菌能力更强, Okoli等[40]通过体外实验证实*Hh*上调分子伴侣GrpE和GroEL对抗胆汁酸对细胞蛋白和细胞膜的损害及在胆汁作用下可以通过上调*flaAB*、*galU*和*pldA*基因利于细菌的定值, 同时通过改变能量代谢等适应胆汁环境而存活, 证实*Hh*能在胆汁中生存提供了依据, 由此推测*Hh*可能通过胆管逆流进入肝脏; 我国学者陈东风等[41]在人胆囊炎患者的胆囊中检测出螺杆菌属, 为这一途径提供有利的证据, 同时一些实验表明螺杆菌属能产生菌血症[42,43], 通过肝静脉进入肝脏.

5 *Hh*致肝癌的可能机制

*Hh*致肝癌的确切机制尚未明了, 现有研究资料认为*Hh*在肿瘤中的作用机制包括: (1)*Hh*自身及其代谢产物的影响; (2)*Hh*感染继发炎症过程中释放多种细胞因子、一氧化氮和自由基等多因素协同作用[44]. 同时许多研究表明慢性感染或其他一些肝脏损害在肿瘤的发生机制和途径是多样性[45], 目前认为, 癌基因与抑癌基因在肝癌的发生中起到重要的作用[46]. *Hh*可能通过以下参与肝癌的发生: (1)*Hh*感染AJr及C57BL6两种不同的鼠系, 表现出不同的病理特点, 与C57BL6小鼠相比在AJr小鼠的肠道菌群较少, 同时表现较轻的肠道反应, 而且主要定值在AJr小鼠的肝脏中, 导致慢性活动性肝炎或肝癌, 表明*Hh*导致肝癌可能与宿主易感因素[47]及调控转录的*IKBKJ*基因、促炎基因*Ccl5*、*Cd44*上调、主要组织相容性复合体基因增加F1小鼠对*Hh*的易感性有关[34]; (2)*Hh*表达热休克蛋白70, 从而导致自身免疫性肝炎的发生[48], 从而诱导肝癌中表皮生长因子, 转化生长因子, 细胞周期蛋白cyclinD1原癌基因高表达, 而细胞周期蛋白cyclinD1研究表明参与肿瘤的发生、发展, 被认为是一种原癌基因, 在进展期肝癌中cyclinD1扩增及高表达, 表明可能参与肝癌的发生[49]; (3)*Hh*还可以诱导Th1型免疫反应, 提高血清IgG2a水平, 并在体外刺激动物脾单核细胞增多, 这也可能与肝癌的发生有关[50]; (4)Fox等[51]研究*Hh*引起AJr小鼠慢性增殖性肝炎的同时, 采用5-溴脱氧核苷渗入法进行研究, 结果发现实验小鼠肝细胞的增殖指数明显高于对照组, 尤其是雄性小鼠, Nyska等[52]采用增殖细胞核抗原免疫组化染色法及TUNEL法对感染*Hh*B6C3F1肝动力学改变研究, 感染*Hh*并导致肝炎的小鼠细胞增殖率及凋亡率高于对照组, *Hh*可能通过破坏肝细增殖及凋亡的平衡而导致肝癌的发生; (5)*Hh*能分泌细胞致死膨胀毒素cdt, 包括3个亚型cdtA、cdtB、cdtC[53], 同时cdtB被证实具有脱氧核糖核酸酶1活性, cdt影响细胞周期[54], 从而可能促发肿瘤的形成, 还有虽然*Hh*不同*H. pylori*缺乏cag致病岛, 但具有一个71 kb基因区(HHGI1)能编码Ⅳ分泌系统的基本组件和其他毒力蛋白[18], 可能直接致细胞损害而促进肝脏肿瘤的形成.

6 结论

*Hh*感染也许对肝癌的发生、发展有重要的作用. *Hh*可能通过不同的作用机制导致或促进HCC的发生, 然而迄今的研究资料表明仅为初步探讨, 对肝癌组织*Hh*存在的研究主要依赖于螺杆菌16S rRNA和DNA测序, 很多研究表明, 螺杆菌属16S rDNA序列不够长, 对螺杆菌种系内亚群的鉴别不够灵敏[55], 所以仍不能明确肝癌组织中是*H. pylori*充当着致病因子还是*Hh*、或是其他肝肠螺杆菌, 同时*Hh*是导致肝癌的病因, 还是促进乙型肝炎或丙型肝炎的病程或是协同致病仍然不是十分清楚, 对于慢性肝病患者, 我们应该更加全面的寻找病因, 不要局限于病毒性肝炎、酒精性肝炎等常见病因的考虑, 应综合是否存在有螺杆菌属感染, 尤其是*Hh*感染及*Hh*与肝病的基础研究进一步深入, 以阐明致病机制. 目前*Hh*感染与肝癌之间的确切关系如何? 其确切作用机制如何? *Hh*感染与嗜肝病毒在肝癌的发生

过程中的相互关系如何? 如何从肝组织中分离培养出*Hh*并建立相应的动物模型? 如何解决这些问题我们还有大量的实验研究工作要做. 随着这些实验研究的不断深入开展, *Hh*感染与肝癌的关系就将进一步阐明, 这将为抗感染和疫苗注射防治肝癌可能提供实验理论依据.

7 参考文献

1 Bosch FX, Ribes J, Cléries R, Díaz M. Epidemiology of hepatocellular carcinoma. *Clin Liver Dis* 2005; 9: 191-211, v [PMID: 15831268 DOI: 10.1016/j.cld.2004.12.009]

2 Chen WQ, Zheng RS, Zhang SW. Liver cancer incidence and mortality in China, 2009. *Chin J Cancer* 2013; 32: 162-169 [PMID: 23489585 DOI: 10.5732/cjc.013.10027]

3 叶胜龙. 2013年肝癌领域新进展. 中华肝脏病杂志 2014; 22: 2-4

4 黄赞松, 仇仪英. 中医药治疗原发性肝癌的研究现状. 时珍国医国药 2012; 23: 2851-2853

5 Davila JA, Petersena NJ, Nelson HA, El-Serag HB. Geographic variation within the United States in the incidence of hepatocellular carcinoma. *J Clin Epidemiol* 2003; 56: 487-493 [PMID: 12812824 DOI: 10.1016/S0895-4356(02)00605-4]

6 Marshall BJ, Warren JR. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet* 1984; 1: 1311-1315 [PMID: 6145023 DOI: 10.1016/S0140-6736(84)91816-6]

7 Yokota K, Kita M, Okada H, Matsushita O, Oguma K. [New Helicobacters other than H. pylori]. *Nihon Rinsho* 2013; 71: 1374-1379 [PMID: 23967666]

8 Ward JM, Fox JG, Anver MR, Haines DC, George CV, Collins MJ, Gorelick PL, Nagashima K, Gonda MA, Gilden RV. Chronic active hepatitis and associated liver tumors in mice caused by a persistent bacterial infection with a novel Helicobacter species. *J Natl Cancer Inst* 1994; 86: 1222-1227 [PMID: 8040890 DOI: 10.1093/jnci/86.16.1222]

9 Ward JM, Anver MR, Haines DC, Benveniste RE. Chronic active hepatitis in mice caused by Helicobacter hepaticus. *Am J Pathol* 1994; 145: 959-968 [PMID: 7943185]

10 Stout MD, Kissling GE, Suárez FA, Malarkey DE, Herbert RA, Bucher JR. Influence of Helicobacter hepaticus infection on the chronic toxicity and carcinogenicity of triethanolamine in B6C3F1 mice. *Toxicol Pathol* 2008; 36: 783-794 [PMID: 18812577 DOI: 10.1177/0192623308322312]

11 Schistosomes, liver flukes and Helicobacter pylori. IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Lyon, 7-14 June 1994. *IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum* 1994; 61: 1-241 [PMID: 7715068]

12 Suerbaum S, Michetti P. Helicobacter pylori infection. *N Engl J Med* 2002; 347: 1175-1186 [PMID: 12374879 DOI: 10.1056/NEJMra020542]

13 覃月秋, 黄赞松. 幽门螺杆菌感染与原发性肝癌研究进展. 右江民族医学院学报 2011; 33: 514-515

14 Rocha M, Avenaud P, Ménard A, Le Bail B, Balabaud C, Bioulac-Sage P, de Magalhães Queiroz DM, Mégraud F. Association of Helicobacter species with hepatitis C cirrhosis with or without hepatocellular carcinoma. *Gut* 2005; 54: 396-401 [PMID: 15710989 DOI: 10.1136/gut.2004.042168]

15 Murakami K. Infection of Helicobacter species and liver disease. *J Gastroenterol* 2012; 47: 724-725 [PMID: 22492219 DOI: 10.1007/s00535-012-0584-1]

16 Krüttgen A, Horz HP, Weber-Heynemann J, Vucur M, Trautwein C, Haase G, Luedde T, Roderburg C. Study on the association of Helicobacter species with viral hepatitis-induced hepatocellular carcinoma. *Gut Microbes* 2012; 3: 228-233 [PMID: 22572832 DOI: 10.4161/gmic.19922]

17 Nilsson HO, Taneera J, Castedal M, Glatz E, Olsson R, Wadström T. Identification of Helicobacter pylori and other Helicobacter species by PCR, hybridization, and partial DNA sequencing in human liver samples from patients with primary sclerosing cholangitis or primary biliary cirrhosis. *J Clin Microbiol* 2000; 38: 1072-1076 [PMID: 10698999]

18 Suerbaum S, Josenhans C, Sterzenbach T, Drescher B, Brandt P, Bell M, Droge M, Fartmann B, Fischer HP, Ge Z, Horster A, Holland R, Klein K, Konig J, Macko L, Mendz GL, Nyakatura G, Schauer DB, Shen Z, Weber J, Frosch M, Fox JG. The complete genome sequence of the carcinogenic bacterium Helicobacter hepaticus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100: 7901-7906 [PMID: 12810954 DOI: 10.1073/pnas.1332093100]

19 Tomb JF, White O, Kerlavage AR, Clayton RA, Sutton GG, Fleischmann RD, Ketchum KA, Klenk HP, Gill S, Dougherty BA, Nelson K, Quackenbush J, Zhou L, Kirkness EF, Peterson S, Loftus B, Richardson D, Dodson R, Khalak HG, Glodek A, McKenney K, Fitzegerald LM, Lee N, Adams MD, Hickey EK, Berg DE, Gocayne JD, Utterback TR, Peterson JD, Kelley JM, Cotton MD, Weidman JM, Fujii C, Bowman C, Watthey L, Wallin E, Hayes WS, Borodovsky M, Karp PD, Smith HO, Fraser CM, Venter JC. The complete genome sequence of the gastric pathogen Helicobacter pylori. *Nature* 1997; 388: 539-547 [PMID: 9252185 DOI: 10.1038/41483]

20 Gray MW, Sankoff D, Cedergren RJ. On the evolutionary descent of organisms and organelles: a global phylogeny based on a highly conserved structural core in small subunit ribosomal RNA. *Nucleic Acids Res* 1984; 12: 5837-5852 [PMID: 6462918 DOI: 10.1093/nar/12.14.5837]

21 Fox JG, Li X, Yan L, Cahill RJ, Hurley R, Lewis R, Murphy JC. Chronic proliferative hepatitis in A/JCr mice associated with persistent Helicobacter hepaticus infection: a model of helicobacter-induced carcinogenesis. *Infect Immun* 1996; 64: 1548-1558 [PMID: 8613359]

22 Castéra L, Pedeboscq A, Rocha M, Le Bail B, Asencio C, de Lédinghen V, Bernard PH, Laurent C, Lafon ME, Capdepont M, Couzigou P, Bioulac-Sage P, Balabaud C, Mégraud F, Ménard A. Relationship between the severity of hepatitis C virus-related liver disease and the presence of Helicobacter species in the liver: a prospective study. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 7278-7284 [PMID: 17143941]

23 Nilsson I, Lindgren S, Eriksson S, Wadström T. Serum antibodies to Helicobacter hepaticus and Helicobacter pylori in patients with chronic liver disease. *Gut* 2000; 46: 410-414 [PMID: 10673306 DOI: 10.1136/gut.46.3.410]

24 Ananieva O, Nilsson I, Vorobjova T, Uibo R, Wadström T. Immune responses to bile-tolerant helicobacter species in patients with chronic liver

■应用要点

综述*Hh*与HCC的相关性研究进展, 对了解*Hh*的生物学性质、检测方法及可能的致病机制有全面的认识, 对HCC患者临床病因寻找提供新的线索.

■同行评价
*Hh*感染和原发性肝癌的相关性研究并不多见, 此文选题较为新颖, 内容完整, 可以补充广大临床研究工作人员的知识.

diseases, a randomized population group, and healthy blood donors. *Clin Diagn Lab Immunol* 2002; 9: 1160-1164 [PMID: 12414744]
25 Shimoyama T, Takahashi R, Abe D, Mizuki I, Endo T, Fukuda S. Serological analysis of Helicobacter hepaticus infection in patients with biliary and pancreatic diseases. *J Gastroenterol Hepatol* 2010; 25 Suppl 1: S86-S89 [PMID: 20586873 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2010.06224.x]
26 Murakami K, Takahashi R, Ono M, Watanabe K, Okimoto T, Kodama M, Abe D, Kimura M, Fujioka T. Serodiagnosis of Helicobacter hepaticus infection in patients with liver and gastrointestinal diseases: western blot analysis and ELISA using a highly specific monoclonal antibody for H. hepaticus antigen. *J Gastroenterol* 2011; 46: 1120-1126 [PMID: 21656014 DOI: 10.1007/s00535-011-0414-x]
27 高正琴, 张强, 贺争鸣, 刑进, 岳秉飞, 冯育芳. Hh多重PCR的检测方法的建立和应用. 中国人兽共患病学报 2008; 18: 891-894
28 Solnick JV, Schauer DB. Emergence of diverse Helicobacter species in the pathogenesis of gastric and enterohepatic diseases. *Clin Microbiol Rev* 2001; 14: 59-97 [PMID: 11148003 DOI: 10.1128/CMR.14.1.59-97.2001]
29 Fox JG, Dewhirst FE, Tully JG, Paster BJ, Yan L, Taylor NS, Collins MJ, Gorelick PL, Ward JM. Helicobacter hepaticus sp. nov., a microaerophilic bacterium isolated from livers and intestinal mucosal scrapings from mice. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 1238-1245 [PMID: 8051250]
30 Fox JG, Yan L, Shames B, Campbell J, Murphy JC, Li X. Persistent hepatitis and enterocolitis in germfree mice infected with Helicobacter hepaticus. *Infect Immun* 1996; 64: 3673-3681 [PMID: 8751916]
31 Rogers AB, Boutin SR, Whary MT, Sundina N, Ge Z, Cormier K, Fox JG. Progression of chronic hepatitis and preneoplasia in Helicobacter hepaticus-infected A/JCr mice. *Toxicol Pathol* 2004; 32: 668-677 [PMID: 15513910 DOI: 10.1080/01926230490524247]
32 García A, Ihrig MM, Fry RC, Feng Y, Xu S, Boutin SR, Rogers AB, Muthupalani S, Samson LD, Fox JG. Genetic susceptibility to chronic hepatitis is inherited codominantly in Helicobacter hepaticus-infected AB6F1 and B6AF1 hybrid male mice, and progression to hepatocellular carcinoma is linked to hepatic expression of lipogenic genes and immune function-associated networks. *Infect Immun* 2008; 76: 1866-1876 [PMID: 18285497 DOI: 10.1128/IAI.01044-07]
33 高正琴, 岳秉飞, 贺争鸣. 首次从中国小鼠中分离到Hh及鉴定. 中国人兽共患病学报 2009; 25: 210-213
34 丁聪, 冯洁, 谢建云, 高诚, 胡建华. 两种方法对上海及周边地区实验大小鼠螺杆菌携带情况的调查. 中国比较医学杂志 2011; 12: 66-69
35 Abu Al-Soud W, Stenram U, Ljungh A, Tranberg KG, Nilsson HO, Wadström T. DNA of Helicobacter spp. and common gut bacteria in primary liver carcinoma. *Dig Liver Dis* 2008; 40: 126-131 [PMID: 18083084 DOI: 10.1016/j.dld.2007.09.011]
36 Pandey M, Shukla M. Helicobacter species are associated with possible increase in risk of hepatobiliary tract cancers. *Surg Oncol* 2009; 18: 51-56 [PMID: 18715780]
37 黄燕, 范学工, 陈永平, 汤立军. 肝癌组织中16SrRNA基因检测. 世界华人消化杂志 2002; 10: 878-881
38 林英豪, 王亚东, 熊婧, 付金金. Hh感染与人类原发性肝细胞癌相关性研究. 现代消化及介入诊疗 2013; 18: 63-66
39 Yang J, Ji S, Zhang Y, Wang J. Helicobacter hepaticus infection in primary hepatocellular carcinoma tissue. *Singapore Med J* 2013; 54: 451-457 [PMID: 24005452 DOI: 10.11622/smedj.2013153]
40 Okoli AS, Raftery MJ, Mendz GL. Effects of human and porcine bile on the proteome of Helicobacter hepaticus. *Proteome Sci* 2012; 10: 27 [PMID: 22533459 DOI: 10.1186/1477-5956-10-27]
41 陈东风, 胡辂, 易萍, 刘为纹, 房殿春, 曹红. 人胆囊炎标本中幽门螺杆菌的检出及意义. 世界华人消化杂志 2004; 12: 1814-1817
42 Kaplan M, Yavuz SS, Cinar B, Koksal V, Kut MS, Yapici F, Gercekoglu H, Demirtas MM. Detection of Chlamydia pneumoniae and Helicobacter pylori in atherosclerotic plaques of carotid artery by polymerase chain reaction. *Int J Infect Dis* 2006; 10: 116-123 [PMID: 16183317 DOI: 10.1016/j.ijid.2004.10.008]
43 Kilic A, Onguru O, Tugcu H, Kilic S, Guney C, Bilge Y. Detection of cytomegalovirus and Helicobacter pylori DNA in arterial walls with grade III atherosclerosis by PCR. *Pol J Microbiol* 2006; 55: 333-337 [PMID: 17416070]
44 覃月秋, 黄赞松. 幽门螺杆菌感染与原发性肝癌相关性研究. 中国医药科学 2011; 1: 47-49
45 Nissen NN, Menon V, Bresee C, Tran TT, Annamalai A, Poordad F, Fair JH, Klein AS, Boland B, Colquhoun SD. Recurrent hepatocellular carcinoma after liver transplant: identifying the high-risk patient. *HPB* (Oxford) 2011; 13: 626-632 [PMID: 21843263 DOI: 10.1111/j.1477-2574.2011.00342.x]
46 黄赞松, 仇仪英, 周喜汉. 原发性肝癌现代医学治疗的研究进展. 医学综述 2012; 18: 4169-4172
47 Whary MT, Cline J, King A, Ge Z, Shen Z, Sheppard B, Fox JG. Long-term colonization levels of Helicobacter hepaticus in the cecum of hepatitis-prone A/JCr mice are significantly lower than those in hepatitis-resistant C57BL/6 mice. *Comp Med* 2001; 51: 413-417 [PMID: 11924800]
48 Ward JM, Benveniste RE, Fox CH, Battles JK, Gonda MA, Tully JG. Autoimmunity in chronic active Helicobacter hepatitis of mice. Serum antibodies and expression of heat shock protein 70 in liver. *Am J Pathol* 1996; 148: 509-517 [PMID: 8579113]
49 李启炯, 宋军民, 陆敏, 刘芳芳, 邢宝才. CyclinD1在肝细胞癌中的表达及与肝细胞癌患者预后的关系. 中华临床医师杂志(电子版) 2012; 6: 355-360
50 Biswas A, Liu YJ, Hao L, Mizoguchi A, Salzman NH, Bevins CL, Kobayashi KS. Induction and rescue of Nod2-dependent Th1-driven granulomatous inflammation of the ileum. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; 107: 14739-14744 [PMID: 20679225 DOI: 10.1073/pnas.1003363107]
51 Cahill RJ, Foltz CJ, Fox JG, Dangler CA, Powrie F, Schauer DB. Inflammatory bowel disease: an immunity-mediated condition triggered by bacterial infection with Helicobacter hepaticus. *Infect Immun* 1997; 65: 3126-3131 [PMID: 9234764]
52 Nyska A, Maronpot RR, Eldridge SR, Haseman JK, Hailey JR. Alteration in cell kinetics in control B6C3F1 mice infected with Helicobacter hepaticus. *Toxicol Pathol* 1997; 25: 591-596 [PMID: 9437804 DOI: 10.1177/019262339702500609]
53 Young VB, Chien CC, Knox KA, Taylor NS, Schauer DB, Fox JG. Cytolethal distending toxin in avian

and human isolates of Helicobacter pullorum. *J Infect Dis* 2000; 182: 620-623 [PMID: 10915100 DOI: 10.1086/315705]

54 Liyanage NP, Manthey KC, Dassanayake RP, Kuszynski CA, Oakley GG, Duhamel GE. Helicobacter hepaticus cytolethal distending toxin causes cell death in intestinal epithelial cells via mitochondrial apoptotic pathway. *Helicobacter* 2010; 15: 98-107 [PMID: 20402812 DOI: 10.1111/j.1523-5378.2010.00749.x]

55 O'Rourke JL, Solnick JV, Neilan BA, Seidel K, Hayter R, Hansen LM, Lee A. Description of 'Candidatus Helicobacter heilmannii' based on DNA sequence analysis of 16S rRNA and urease genes. *Int J Syst Evol Microbiol* 2004; 54: 2203-2211 [PMID: 15545459 DOI: 10.1099/ijs.0.63117-0]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年5月18日; 22(14): 1966-1971
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

文献综述 REVIEW

新型钙离子通道TRPV5和TRPV6与胃肠肿瘤的研究进展

刘 微, 刘模荣, 张 慧

■背景资料
胃肠肿瘤的发生率目前呈现升高趋势, 钙及维生素D能显著降低结肠癌的发生率. 瞬时受体阳离子通道亚家族V成员5(transient receptor potential cation channel, subfamily V, member 5, TRPV5)和TRPV6是新发现的高选择性的Ca^{2+}跨膜转运通道, 与人体内多种肿瘤(如骨肿瘤、乳腺癌、前列腺癌及结肠癌等)形成过程相关. 本文作者主要从TRPV5和TRPV6与胃肠肿瘤关系等方面进行论述.

刘微, 刘模荣, 张慧, 遵义医学院附属医院消化内科 贵州省 遵义市 563003
刘微, 在读硕士, 主要从事大肠肿瘤的防治.
贵州省自然科学基金资助项目, No. 黔科合J字(2009)2205号
作者贡献分布: 本文综述由刘微完成; 张慧协助资料整理; 刘模荣审校.
通讯作者: 刘模荣, 主任医师, 563003, 贵州省遵义市汇川区大连路149号, 遵义医学院附属医院消化内科. zylmr@163.com
电话: 0852-8609224
收稿日期: 2014-02-25 修回日期: 2014-03-20
接受日期: 2014-04-03 在线出版日期: 2014-05-18

Novel calcium ion channels TRPV5 and TRPV6 and gastrointestinal tumors

Wei Liu, Mo-Rong Liu, Hui Zhang

Wei Liu, Mo-Rong Liu, Hui Zhang, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, Zunyi 563003, Guizhou Province, China
Supported by: the Guizhou Provincial Science and Technology Fund, No. (2009)2205
Correspondence to: Mo-Rong Liu, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, 149 Dalian Road, Zunyi 563000, Guizhou Province, China. zylmr@163.com
Received: 2014-02-25 Revised: 2014-03-20
Accepted: 2014-04-03 Published online: 2014-05-18

Abstract
Transient receptor potential cation channel, subfamily V, member 5 (TRPV5) and TRPV6 are the subfamily members of the transient receptor potential (TRP), representing new highly selective Ca^{2+} membrane transport channels, which are mainly responsible for active transport of Ca^{2+} across the cell membrane and participate in regulation of many physiological activities in the body. This paper discusses the structures and electrophysiological properties of TRPV5 and TRPV6, their related factors and their relationship with gastrointestinal tumors, highlighting the role of TRPV5 and TRPV6 in the formation of gastrointestinal tumors.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Calcium ion channels; TRPV5; TRPV6; Gastrointestinal tumors

Liu W, Liu MR, Zhang H. Novel calcium ion channels TRPV5 and TRPV6 and gastrointestinal tumors. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(14): 1966-1971 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1966.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i14.1966

摘要
瞬时受体阳离子通道亚家族V成员5(transient receptor potential cation channel, subfamily V, member 5, TRPV5)和TRPV6为瞬时性受体电位通道(transient receptor potential, TRP)的亚家族成员, 是新发现的高选择性的Ca^{2+}跨膜转运通道, 其主要负责Ca^{2+}由细胞外向细胞内的主动跨膜运输, 在机体内参与多项生理活动的调节, 本文作者从TRPV5和TRPV6的结构、电生理特性和调控相关因素及其与胃肠肿瘤关系等方面进行论述, 探索TRPV5和TRPV6在胃肠肿瘤形成过程中的作用及其机制.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 钙离子通道; TRPV5; TRPV6; 胃肠道肿瘤

核心提示: 通过对新型钙离子通道瞬时受体阳离子通道亚家族V成员5(transient receptor potential cation channel, subfamily V, member 5, TRPV5)和TRPV6的蛋白结构、生理特性、组织表达及其与肿瘤关系方面的研究进展进行总结, 阐述了TRPV5和TRPV6在人类胃肠肿瘤形成过程中的作用及其机制.

刘微, 刘模荣, 张慧. 新型钙离子通道TRPV5和TRPV6与胃肠肿瘤的研究进展. 世界华人消化杂志 2014; 22(14): 1966-1971
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1966.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i14.1966

0 引言
随着我国工业化城市化进程加快, 人民生活水平逐步提高, 胃肠肿瘤的发生率也呈现升高趋势, 如何预防胃肠肿瘤的发生已经引起研究者的普遍重视[1]. 流行病学研究表明, 钙及维生素D能显著降低结肠癌的发生率[2-4]. Lamprecht等[5]研究指出, 结肠隐窝表面与细胞内维持正常的钙离子梯

■同行评议者
张志坚, 教授, 福州总医院消化内科

度对于结肠细胞的终末分化和凋亡起着重要的调节作用, 这种钙离子梯度与维生素D水平有关. 在结肠肿瘤发生的过程中, 钙离子梯度则被破坏. 此外, 钙离子也可以通过干预细胞血管形成和调控细胞周期来影响结直肠癌的发展进程[6,7]. Sheinin等[8]发现细胞外钙浓度升高对分化程度高的的结肠癌细胞有抑制作用, 但是对低分化的细胞则影响很小. 但钙离子对结肠肿瘤影响的具体机制目前仍尚不清楚.

1999年以前, 对钙离子的跨膜转运的研究主要集中在Ca^{2+}-ATP酶和钠-钙交换这2种形式上, 也就是钙离子从细胞中转运到细胞外的过程, 但对细胞外钙离子如何进入小肠、肾、和骨细胞的机制并不了解. 自1999年Hoenderop等[9,10]首次报道瞬时受体阳离子通道亚家族V成员5(transient receptor potential cation channel, subfamily V, member 5, TRPV5)和TRPV6, 并证实其和钙离子细胞转运有关后, 近十年间, 相继发现了多种钙离子的跨膜转运通道, 且主要集中在瞬时性受体电位通道(transient receptor potential, TRP)超家族这一类新型钙离子转运蛋白通道. 因其位于细胞膜, 最早发现于果蝇的视觉系统, 突变体果蝇对持续的光刺激只产生瞬时而非持续的锋电位而得名. 目前, 大约30种TRP通道已被明确, 他们分为TRPC、TRP超家族中V亚家族(transient receptor potential vanilloid receptor, TRPV)、TRPM、TRPML、TRPP、TRPA和TRPN七个不同的家族[11]. TRPV5和TRPV6是TRPV中唯一已知的2种钙离子高选择性通道. 因为首先发现其存在于上皮组织, 曾分别被命名为上皮性钙通道1(etpithelial calcium channel, ECaC1)和ECaC2. 研究表明, TRPV5和TRPV6同源性高达75%, 具有高度的钙离子选择性(PCa/PNa>100). 雌激素、甲状旁腺激素(parathyroid hormone, PTH)、维生素D、钙离子等通过影响TRPV5/TRPV6通道的表达, 调节钙离子的代谢[12,13].

1 TRPV5和TRPV6蛋白的结构

TRPV5和TRPV6受体最初分别克隆于兔的肾脏和鼠的小肠, 实验研究表明, 其蛋白序列具有高度的同源性, 某些功能区结构完全相同. 研究人员用多种实验方法对TRPV5和TRV6复合物进行分子量测定, 证实这些通道可以形成同源或异四倍体通道复合物, 当构成包括4个TRPV5和/或TRPV6亚基的连环通道时, TRPV5和TRPV6亚基比例的差异导致了TRPV5和TRPV6通道的混合特性. Hellwig等[14]在2005年时发现, 鉴于TRPV其他通道优先形成同源四聚体, TRPV5和TRPV6似乎是唯一形成异四倍体的通道. 因此, 在TRPV5和TRPV6共同表达的组织中对TRPV5和TRPV6相对表达量的调节可能是精细调节钙转运动力学的机制. 此外, 两者的化学结构仍存在着区别. 如TRPV6的TM6羧基端存在组氨酸残基(H587)突变体, 而TRPV5则未发现该突变体. TRPV6的羧基末端没有蛋白激酶C磷酸化位点, 而TRPV5羧基末端存在3个蛋白激酶C磷酸化位点. 通道化学结构的差别引起电生理学特点的差异, 表现为: (1)TRPV6的失活特点首先是一个快速失活过程, 随后是一个缓慢的过程, 而TRPV5在整个过程中都表现为一个缓慢失活的过程; (2)TRPV5中Ba^{2+}/Ca^{2+}电流比值明显比TRPV6高; (3)通道阻滞剂钌红对TRPV6阻滞作用比TRPV5弱100倍. 由于TRPV5和TRPV6化学结构与电生理学的差别, 决定了两者表达部位及生理功能的差异[15].

2 TRPV5和TRPV6的组织表达

TRPV5和TRPV6作为钙离子高选择性通道, 在多数具有钙离子跨细胞转运功能的器官, 包括肾脏、十二指肠、空结肠、骨组织、胎盘等组织和前列腺、胰腺、乳腺等外分泌器官均有不同程度的表达[16]. 但最主要表达在肾脏和小肠的上皮细胞中[17-19]. TRPV5主要发生在肾脏, TRPV6主要表达在肠上皮细胞, 在实验中发现人结肠癌细胞(Caco-2与SW480细胞株)也存在表达[20-22]. 此外, 在大鼠表达胆囊收缩素1(cholecystokinin 1)受体的迷走神经节状神经元也发现TRPV5表达[23].

3 TRPV5和TRPV6的生理作用

3.1 TRPV5和TRPV6在胃肠道中的功能及影响

TRPV5和TRPV6是TRP离子通道家族成员中最显著的Ca^{2+}选择性通道, 对肠道Ca^{2+}吸收发挥了重要作用[17-19]. 实验证明, TRPV5和TRPV6的功能是相互连接的, *TRPV5*基因敲除的小鼠, 由于TRPV5介导的Ca^{2+}在肾脏重吸收的损失, 而立即上调肠道TRPV6的表达来补偿以致达到负钙平衡. 相反, *TRPV6*基因敲除的小鼠发生继发性甲状旁腺功能亢进, 却没有显示任何补偿机制. TRPV5和TRPV6的表达和功能还共同受饮食条件及多种钙调激素的调节[18,24]. 其中, 饮食中

■研究前沿
近十年间, 相继发现了多种钙离子的跨膜转运通道, 且主要集中在瞬时性受体电位通道(transient receptor potential, TRP)超家族这一类新型钙离子转运蛋白通道. 而TRPV5和TRPV6是该家族中V亚家族中唯一已知的两种钙离子高选择性通道, 目前研究发现TRPV5和TRPV6与人体内多种肿瘤(如骨肿瘤、乳腺癌、前列腺癌及结肠癌等)形成过程相关.

■相关报道
研究表明TRPV5、TRPV6通过调控细胞内钙离子的浓度影响细胞生物学行为, 在人乳腺癌, 前列腺癌, 结肠癌等多种肿瘤中呈高表达.

■创新盘点

本文反映出了近期在TRPV5和TRPV6与胃肠肿瘤形成关系方面的最新研究成果, 对今后此领域的研究方向提出了自己的见解, 认为TRPV5和TRPV6在胃肠道一些慢性炎症、癌前疾病和癌前病变中的表达可成为胃肠肿瘤防治的一个新的研究方向.

的钙缺乏对增加TRPV6在小鼠十二指肠黏膜的表达是一个重要的因素[25]; 除此之外, 短链脂肪酸、低聚果糖的发酵产品、姜黄素等也可发挥类似作用, 增加大鼠结肠上皮细胞及Caco-2细胞中TRPV6的表达[13], 促进钙的吸收, 对结肠癌起防御作用[20].

此外, 与肠道黏膜TRPV5和TRPV6的表达相关的还有甲状旁腺激素和1,25-二羟维生素D_3[1,25-dihydroxyvitamin D_3, 1,25-$(OH)_2D_3$][18,21]. 在鸡的肠上皮细胞, 1,25-$(OH)_2D_3$和甲状旁腺激素通过刺激蛋白激酶A途径释放β葡萄糖醛酸来增加钙吸收, 这反过来又激活了TRPV6通道[26]. 因此, 1,25-$(OH)_2D_3$诱导的钙吸收是可以被TRPV6 siRNA阻断的. 实验研究发现十二指肠黏膜中TRPV6的表达可随1,25-$(OH)_2D_3$暴露的增加而增加[27]. 但是, 维生素D和肠道*TRPV6*基因之间虽具有密切的功能连接, 二者功能却也可彼此独立发挥. 在实验研究发现, 在*TRPV6*基因敲除的小鼠中也发生肠钙的吸收现象, 提示1,25-$(OH)_2D_3$诱导的小鼠十二指肠钙转运并不完全依赖TRPV6[28]; 反之, 在肠钙吸收增加和十二指肠TRPV6表达上调的孕期和哺乳期大鼠中, 发现甚至缺乏维生素D受体[29]. 除此之外, 另一些激素对肠钙吸收也具有影响, 例如, 泌乳素与1,25-$(OH)_2D_3$协同诱导大鼠十二指肠上皮TRPV6 mRNA的表达等[30].

3.2 TRPV5和TRPV6通道的调节 目前为止, 仍没有发现确切的TRPV5和TRPV6直接激活剂. 但有研究表明, 在质膜内的TRPV5和TRPV6通道表现出持续的活性, 因此, 所有可影响质膜通道密度的化学生理因子都有可能会调节TRPV5和TRPV6的表达. 因此, TRPV5的表达受1,25-$(OH)_2D_3$[31]、钙结合蛋白S100A10、膜联蛋白Ⅱ[32]及胞外碱化的影响[33]; 钙调素与TRPV5和TRPV6结合后至少可促进TRPV6的激活[34].

此外, 另一个重要的调节途径是由组织的丝氨酸蛋白酶激肽释放酶引起的. 激肽释放酶激活缓激肽受体-2, 从而反过来通过磷脂酶C家族β异构体(phospholipase C-β, PLC-β)途径激活了蛋白激酶C(protein kinase C, PKC)依赖的甘油二酯途径, 使TRPV5发生磷酸化作用增加了通道的膜插入并延迟其恢复[35]. 因此, PKC激活剂二酰基甘油类似物OAG(1-oleoyl-acetyl-sn-glycerol)也可增加细胞表面TRPV5的表达量; PTH可通过增加TRPV5通道在细胞内的电流密度, 来共表达TRPV5和1型PTH受体. 这种由PTH引起的TRPV5的增加也可由PKC抑制剂、磷酸化A-Raf抗体anti-phospho-A Raf(Ser299)/磷酸化相似肿瘤抑制基因HUGL抗体(human homolog to the D-lgl gene protein)(ser654)及caveolin-1拮抗剂阻止. PKC的调控机制可能有助于PTH对肾脏Ca^{2+}重吸收和TRPV5通道的短期激活作用[36].

TRPV5还受赖氨酸缺陷蛋白激酶4(protein kinase with no lysine 4, WNK4)的高度调控. *WNK4*基因的表达可增加细胞表面TRPV5的表达, 由此来调节该通道并介导钙的重吸收. 前蛋白尿激素Klotho(一种β葡萄糖醛酸苷酶)的影响主要限于上皮钙离子通道TRPV5和TRPV6, 可水解胞外TRPV5/6通道上的糖残基, 截留细胞膜内的TRPV5/6通道, 促进TRPV5和TRPV6的积累[37].

当IC_{50}值介于0.1-1 μmol/L之间时, 内膜钙通道抑制剂钌红(ruthenium red, RR)和抗真菌益康唑是TRPV5通道电流最有效的抑制剂. 当IC_{50}值介于1到大约10 μmol/L之间时, 二价阳离子对TRPV5的阻断情况是Pb^{2+} = Cu^{2+}>Zn^{2+}>Co^{2+}>Fe^{2+}. 值得注意的是, RR可阻断TRPV6, 但对于TRPV6的亲和力却要比TRPV5低100倍[38]. 胞外Ca^{2+}诱导的TRPV6通道失活发生在超极化时期, Ca^{2+}引起的半数最大失活发生在钙浓度为约100 μmol/L时, 而TRPV6通道失活这一过程, 可被Ca^{2+}依赖性PLC途径的激活和磷脂酰肌醇PIP2的消耗触发. 因此, PLC抑制剂U73122和依地福新在十二指肠可诱导TRPV6持续激活, PLC调节剂则可作为新型的TRPV6通道钙离子吸收调节剂[39].

细胞外Mg^{2+}对TRPV5和TRPV6通道的拮抗具有电压依赖性, 且关键依赖于TRPV5/6孔隙选择过滤器中的单个天冬氨酸残基. 同时, 胞内Mg^{2+}也具有电压依赖性拮抗作用, 且此作用在通道去极化时被削弱, 并有助于TRPV6通道时间依赖性的激活和失活[40,41].

TRPV6通道与蛋白酪氨酸磷酸酶1B(protein tyrosine phosphatase-1B, PTP-1B)相互作用, 可能通过某种活性氧成份被Ca^{2+}抑制. PTP-1B被拮抗导致酪氨酸去磷酸化作用被抑制, 从而保证了TRPV6对钙离子内流的维持, 产生正反馈作用[42,43].

4 TRPV5和TRPV6与肿瘤的关系

与正常组织或细胞相比, TRPV6 mRNA或蛋白的表达在前列腺癌、结肠癌、乳腺癌、甲状腺癌和卵巢癌组织中有大幅度的增加[44,45]. 研究显示,

前列腺癌组织切片中TRPV6 mRNA的表达与肿瘤侵袭程度成正比, 其可作为前列腺癌临床诊治的一个预测指标[46-48]. TRPV6特定的siRNA处理可通过以下几个方面来控制人前列腺LNCaP细胞的增殖: (1)直接降低细胞增殖率; (2)减少在细胞S期积聚的细胞数量; (3)降低增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen)的表达[49]. 此外, TRPV6在乳腺癌组织中也有强烈表达, 且可通过雌激素、孕激素及他莫昔芬等来调节, 对乳腺癌细胞增殖产生较大影响, 可能会成为钙通道抑制剂治疗乳腺癌的新的靶基因. 在大鼠嗜碱性粒细胞白血病细胞中TRPV5/TRPV6也被证明有表达, 其存在于白血病细胞裂解液和粗膜制剂内. 另一方面, Vasil'eva等[50]采用RT-PCR分析出, 在人类Jurkat白血病细胞株和K562红白血病细胞系中均有TRPV5 mRNA的表达. 其中K562细胞可共表达TRPV5和TRPV6钙通道, 两通道相互作用, 调节白血病细胞分化和增殖.

目前研究显示, 结肠TRPV6表达水平的增加与早期结肠癌相关[19]. TRPV6在Ⅰ期结肠肿瘤中66%过表达, 在Ⅱ期结肠肿瘤中17%过表达, 但在Ⅲ、Ⅳ期结肠肿瘤中却几乎检测不到. 在高水平表达TRPV6mRNA的结肠癌细胞株Caco-2实验中, 经用TRPV6特异性siRNA来处理后, TRPV6 mRNA水平显著降低了约50%, 同时减少了40%细胞增殖和增加了两倍以上的细胞凋亡. 在结肠隐窝增生模型实验中显示出, TRPV6 mRNA表达发生显著性增强, 且广泛分布于结肠隐窝的增殖区, 而当动物被喂以高钙饮食时, 增生模型中TRPV6的过表达可被逆转[51,52]. 由此, 我们可预测TRPV6促进结肠上皮细胞增殖, 可能是早期结肠癌发生发展的一个重要致病因素, 这需要更多的实验来证明.

5 结论

TRPV5和TRPV6作为钙离子高选择性通道, 其表达与多种肿瘤的发生发展密切相关, 尤其是在胃肠肿瘤组织的早期发展阶段. 但TRPV5和TRPV6是通过何种机制来影响细胞生长及肿瘤的发生, 仍需要进一步研究. 特别是对TRPV5和TRPV6在胃肠道一些慢性炎症、癌前疾病和癌前病变中的表达的研究, 将为胃肠肿瘤的防治研究提供新的方向.

■应用要点

本文总结论述了近几年新型钙离子通道TRPV5和TRPV6与胃肠肿瘤的研究进展, 认为对TRPV5和TRPV6在胃肠道一些慢性炎症、癌前疾病和癌前病变中的表达的研究, 将为胃肠肿瘤的防治研究提供新的方向.

6 参考文献

1 Serrano D, Lazzeroni M, Decensi A. Chemoprevention of colorectal cancer: an update. *Tech Coloproctol* 2004; 8 Suppl 2: s248-s252 [PMID: 15666100 DOI: 10.1007/s10151-004-0170-5]

2 Peters U, Chatterjee N, McGlynn KA, Schoen RE, Church TR, Bresalier RS, Gaudet MM, Flood A, Schatzkin A, Hayes RB. Calcium intake and colorectal adenoma in a US colorectal cancer early detection program. *Am J Clin Nutr* 2004; 80: 1358-1365 [PMID: 15531687]

3 Cho E, Smith-Warner SA, Spiegelman D, Beeson WL, van den Brandt PA, Colditz GA, Folsom AR, Fraser GE, Freudenheim JL, Giovannucci E, Goldbohm RA, Graham S, Miller AB, Pietinen P, Potter JD, Rohan TE, Terry P, Toniolo P, Virtanen MJ, Willett WC, Wolk A, Wu K, Yaun SS, Zeleniuch-Jacquotte A, Hunter DJ. Dairy foods, calcium, and colorectal cancer: a pooled analysis of 10 cohort studies. *J Natl Cancer Inst* 2004; 96: 1015-1022 [PMID: 15240785 DOI: 10.1093/jnci/djh185]

4 Satia-Abouta J, Galanko JA, Martin CF, Potter JD, Ammerman A, Sandler RS. Associations of micronutrients with colon cancer risk in African Americans and whites: results from the North Carolina Colon Cancer Study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2003; 12: 747-754 [PMID: 12917206]

5 Lamprecht SA, Lipkin M. Chemoprevention of colon cancer by calcium, vitamin D and folate: molecular mechanisms. *Nat Rev Cancer* 2003; 3: 601-614 [PMID: 12894248 DOI: 10.1038/nrc1144]

6 Umar S, Morris AP, Kourouma F, Sellin JH. Dietary pectin and calcium inhibit colonic proliferation in vivo by differing mechanisms. *Cell Prolif* 2003; 36: 361-375 [PMID: 14710853 DOI: 10.1046/j.1365-2184.2003.00291.x]

7 Lin R, White JH. The pleiotropic actions of vitamin D. *Bioessays* 2004; 26: 21-28 [PMID: 14696037 DOI: 10.1002/bies.10368]

8 Sheinin Y, Kállay E, Wrba F, Kriwanek S, Peterlik M, Cross HS. Immunocytochemical localization of the extracellular calcium-sensing receptor in normal and malignant human large intestinal mucosa. *J Histochem Cytochem* 2000; 48: 595-602 [PMID: 10769043 DOI: 10.1177/002215540004800503]

9 Hoenderop JG, van der Kemp AW, Hartog A, van de Graaf SF, van Os CH, Willems PH, Bindels RJ. Molecular identification of the apical Ca2+ channel in 1, 25-dihydroxyvitamin D3-responsive epithelia. *J Biol Chem* 1999; 274: 8375-8378 [PMID: 10085067]

10 Hoenderop JG, van der Kemp AW, Hartog A, van Os CH, Willems PH, Bindels RJ. The epithelial calcium channel, ECaC, is activated by hyperpolarization and regulated by cytosolic calcium. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 261: 488-492 [PMID: 10425212 DOI: 10.1006/bbrc.1999.1059]

11 Peng JB, Chen XZ, Berger UV, Vassilev PM, Tsukaguchi H, Brown EM, Hediger MA. Molecular cloning and characterization of a channel-like transporter mediating intestinal calcium absorption. *J Biol Chem* 1999; 274: 22739-22746 [PMID: 10428857]

12 Hoenderop JG, Müller D, Van Der Kemp AW, Hartog A, Suzuki M, Ishibashi K, Imai M, Sweep F, Willems PH, Van Os CH, Bindels RJ. Calcitriol controls the epithelial calcium channel in kidney. *J Am Soc Nephrol* 2001; 12: 1342-1349 [PMID: 11423563]

13 Weber K, Erben RG, Rump A, Adamski J. Gene structure and regulation of the murine epithelial

■名词解释
TRPV5和TRPV6是TRP超家族中V亚家族中唯一已知的两种钙离子高选择性通道. 因为首先发现其存在于上皮组织, 曾分别被命名为上皮性钙通道1(etpithelial calcium channel, ECaC1)和ECaC2. 研究表明, TRPV5和TRPV6同源性高达75%, 具有高度的钙离子选择性, 其存在于具有钙离子跨细胞转运功能的器官.

calcium channels ECaC1 and 2. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 289: 1287-1294 [PMID: 11741335 DOI: 10.1006/bbrc.2001.6121]
14 Hellwig N, Albrecht N, Harteneck C, Schultz G, Schaefer M. Homo- and heteromeric assembly of TRPV channel subunits. *J Cell Sci* 2005; 118: 917-928 [PMID: 15713749 DOI: 10.1242/jcs.01675]
15 Lee KP, Nair AV, Grimm C, van Zeeland F, Heller S, Bindels RJ, Hoenderop JG. A helix-breaking mutation in the epithelial Ca(2+) channel TRPV5 leads to reduced Ca(2+)-dependent inactivation. *Cell Calcium* 2010; 48: 275-287 [PMID: 21035851 DOI: 10.1016/j.ceca.2010.09.007]
16 Hoenderop JG, Vennekens R, Müller D, Prenen J, Droogmans G, Bindels RJ, Nilius B. Function and expression of the epithelial Ca(2+) channel family: comparison of mammalian ECaC1 and 2. *J Physiol* 2001; 537: 747-761 [PMID: 11744752]
17 Clapham DE, Julius D, Montell C, Schultz G. International Union of Pharmacology. XLIX. Nomenclature and structure-function relationships of transient receptor potential channels. *Pharmacol Rev* 2005; 57: 427-450 [PMID: 16382100 DOI: 10.1124/pr.57.4.6]
18 Nijenhuis T, Hoenderop JG, Bindels RJ. TRPV5 and TRPV6 in Ca(2+) (re)absorption: regulating Ca(2+) entry at the gate. *Pflugers Arch* 2005; 451: 181-192 [PMID: 16044309 DOI: 10.1007/s00424-005-1430-6]
19 Peleg S, Sellin JH, Wang Y, Freeman MR, Umar S. Suppression of aberrant transient receptor potential cation channel, subfamily V, member 6 expression in hyperproliferative colonic crypts by dietary calcium. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2010; 299: G593-G601 [PMID: 20508153 DOI: 10.1152/ajpgi.00193.2010]
20 Fukushima A, Aizaki Y, Sakuma K. Short-chain fatty acids induce intestinal transient receptor potential vanilloid type 6 expression in rats and Caco-2 cells. *J Nutr* 2009; 139: 20-25 [PMID: 19056662 DOI: 10.3945/jn.108.096230]
21 Schoeber JP, Hoenderop JG, Bindels RJ. Concerted action of associated proteins in the regulation of TRPV5 and TRPV6. *Biochem Soc Trans* 2007; 35: 115-119 [PMID: 17233615 DOI: 10.1042/BST0350115]
22 Bartik L, Whitfield GK, Kaczmarska M, Lowmiller CL, Moffet EW, Furmick JK, Hernandez Z, Haussler CA, Haussler MR, Jurutka PW. Curcumin: a novel nutritionally derived ligand of the vitamin D receptor with implications for colon cancer chemoprevention. *J Nutr Biochem* 2010; 21: 1153-1161 [PMID: 20153625 DOI: 10.1016/j.jnutbio.2009.09.012]
23 Zhao H, Simasko SM. Role of transient receptor potential channels in cholecystokinin-induced activation of cultured vagal afferent neurons. *Endocrinology* 2010; 151: 5237-5246 [PMID: 20881249 DOI: 10.1210/en.2010-0504]
24 Suzuki Y, Landowski CP, Hediger MA. Mechanisms and regulation of epithelial Ca2+ absorption in health and disease. *Annu Rev Physiol* 2008; 70: 257-271 [PMID: 17850211 DOI: 10.1146/annurev.physiol.69.031905.161003]
25 Ko SH, Lee GS, Vo TT, Jung EM, Choi KC, Cheung KW, Kim JW, Park JG, Oh GT, Jeung EB. Dietary calcium and 1,25-dihydroxyvitamin D3 regulate transcription of calcium transporter genes in calbindin-D9k knockout mice. *J Reprod Dev* 2009; 55: 137-142 [PMID: 19106481]
26 Khanal RC, Peters TM, Smith NM, Nemere I. Membrane receptor-initiated signaling in 1,25(OH)2D3-stimulated calcium uptake in intestinal epithelial cells. *J Cell Biochem* 2008; 105: 1109-1116 [PMID: 18773429 DOI: 10.1002/jcb.21913]
27 Balesaria S, Sangha S, Walters JR. Human duodenum responses to vitamin D metabolites of TRPV6 and other genes involved in calcium absorption. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2009; 297: G1193-G1197 [PMID: 19779013 DOI: 10.1152/ajpgi.00237.2009]
28 Benn BS, Ajibade D, Porta A, Dhawan P, Hediger M, Peng JB, Jiang Y, Oh GT, Jeung EB, Lieben L, Bouillon R, Carmeliet G, Christakos S. Active intestinal calcium transport in the absence of transient receptor potential vanilloid type 6 and calbindin-D9k. *Endocrinology* 2008; 149: 3196-3205 [PMID: 18325990 DOI: 10.1210/en.2007-1655]
29 Fudge NJ, Kovacs CS. Pregnancy up-regulates intestinal calcium absorption and skeletal mineralization independently of the vitamin D receptor. *Endocrinology* 2010; 151: 886-895 [PMID: 20051486 DOI: 10.1210/en.2009-1010]
30 Ajibade DV, Dhawan P, Fechner AJ, Meyer MB, Pike JW, Christakos S. Evidence for a role of prolactin in calcium homeostasis: regulation of intestinal transient receptor potential vanilloid type 6, intestinal calcium absorption, and the 25-hydroxyvitamin D(3) 1alpha hydroxylase gene by prolactin. *Endocrinology* 2010; 151: 2974-2984 [PMID: 20463051 DOI: 10.1210/en.2010-0033]
31 Yamauchi D, Raveendran NN, Pondugula SR, Kampalli SB, Sanneman JD, Harbidge DG, Marcus DC. Vitamin D upregulates expression of ECaC1 mRNA in semicircular canal. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; 331: 1353-1357 [PMID: 15883024 DOI: 10.1016/j.bbrc.2005.04.053]
32 van de Graaf SF, Hoenderop JG, Bindels RJ. Regulation of TRPV5 and TRPV6 by associated proteins. *Am J Physiol Renal Physiol* 2006; 290: F1295-F1302 [PMID: 16682485 DOI: 10.1152/ajprenal.00443.2005]
33 Lambers TT, Oancea E, de Groot T, Topala CN, Hoenderop JG, Bindels RJ. Extracellular pH dynamically controls cell surface delivery of functional TRPV5 channels. *Mol Cell Biol* 2007; 27: 1486-1494 [PMID: 17178838 DOI: 10.1128/MCB.01468-06]
34 Lambers TT, Weidema AF, Nilius B, Hoenderop JG, Bindels RJ. Regulation of the mouse epithelial Ca2(+) channel TRPV6 by the Ca(2+)-sensor calmodulin. *J Biol Chem* 2004; 279: 28855-28861 [PMID: 15123711 DOI: 10.1074/jbc.M313637200]
35 Gkika D, Topala CN, Chang Q, Picard N, Thébault S, Houillier P, Hoenderop JG, Bindels RJ. Tissue kallikrein stimulates Ca(2+) reabsorption via PKC-dependent plasma membrane accumulation of TRPV5. *EMBO J* 2006; 25: 4707-4716 [PMID: 17006539 DOI: 10.1038/sj.emboj.7601357]
36 Cha SK, Wu T, Huang CL. Protein kinase C inhibits caveolae-mediated endocytosis of TRPV5. *Am J Physiol Renal Physiol* 2008; 294: F1212-F1221 [PMID: 18305097 DOI: 0.1152/ajprenal.00007.2008]
37 Jiang Y, Ferguson WB, Peng JB. WNK4 enhances TRPV5-mediated calcium transport: potential role in hypercalciuria of familial hyperkalemic hypertension caused by gene mutation of WNK4. *Am J Physiol Renal Physiol* 2007; 292: F545-F554 [PMID: 17018846 DOI: 10.1152/ajprenal.00187.2006]
38 Nilius B, Prenen J, Vennekens R, Hoenderop JG,

Bindels RJ, Droogmans G. Pharmacological modulation of monovalent cation currents through the epithelial Ca2+ channel ECaC1. *Br J Pharmacol* 2001; 134: 453-462 [PMID: 11588099 DOI: 10.1038/sj.bjp.0704272]

39 Thyagarajan B, Benn BS, Christakos S, Rohacs T. Phospholipase C-mediated regulation of transient receptor potential vanilloid 6 channels: implications in active intestinal Ca2+ transport. *Mol Pharmacol* 2009; 75: 608-616 [PMID: 19073818 DOI: 10.1124/mol.108.052449]

40 Voets T, Janssens A, Prenen J, Droogmans G, Nilius B. Mg2+-dependent gating and strong inward rectification of the cation channel TRPV6. *J Gen Physiol* 2003; 121: 245-260 [PMID: 12601087 DOI: 10.1085/jgp.20028752]

41 Voets T, Prenen J, Fleig A, Vennekens R, Watanabe H, Hoenderop JG, Bindels RJ, Droogmans G, Penner R, Nilius B. CaT1 and the calcium release-activated calcium channel manifest distinct pore properties. *J Biol Chem* 2001; 276: 47767-47770 [PMID: 11687570 DOI: 10.1074/jbc.C100607200]

42 Bogeski I, Bozem M, Sternfeld L, Hofer HW, Schulz I. Inhibition of protein tyrosine phosphatase 1B by reactive oxygen species leads to maintenance of Ca2+ influx following store depletion in HEK 293 cells. *Cell Calcium* 2006; 40: 1-10 [PMID: 16678897 DOI: 10.1016/j.ceca.2006.03.003]

43 Sternfeld L, Krause E, Schmid A, Anderie I, Latas A, Al-Shaldi H, Köhl A, Evers K, Hofer HW, Schulz I. Tyrosine phosphatase PTP1B interacts with TRPV6 in vivo and plays a role in TRPV6-mediated calcium influx in HEK293 cells. *Cell Signal* 2005; 17: 951-960 [PMID: 15894168 DOI: 10.1016/j.cellsig.2004.11.012]

44 Wissenbach U, Niemeyer BA, Fixemer T, Schneidewind A, Trost C, Cavalie A, Reus K, Meese E, Bonkhoff H, Flockerzi V. Expression of CaT-like, a novel calcium-selective channel, correlates with the malignancy of prostate cancer. *J Biol Chem* 2001; 276: 19461-19468 [PMID: 11278579 DOI: 10.1074/jbc.M009895200]

45 Zhuang L, Peng JB, Tou L, Takanaga H, Adam RM, Hediger MA, Freeman MR. Calcium-selective ion channel, CaT1, is apically localized in gastrointestinal tract epithelia and is aberrantly expressed in human malignancies. *Lab Invest* 2002; 82: 1755-1764 [PMID: 12480925]

46 Peng JB, Zhuang L, Berger UV, Adam RM, Williams BJ, Brown EM, Hediger MA, Freeman MR. CaT1 expression correlates with tumor grade in prostate cancer. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 282: 729-734 [PMID: 11401523 DOI: 10.1006/bbrc.2001.4638]

47 Fixemer T, Wissenbach U, Flockerzi V, Bonkhoff H. Expression of the Ca2+-selective cation channel TRPV6 in human prostate cancer: a novel prognostic marker for tumor progression. *Oncogene* 2003; 22: 7858-7861 [PMID: 14586412 DOI: 10.1038/sj.onc.1206895]

48 Bödding M. TRP proteins and cancer. *Cell Signal* 2007; 19: 617-624 [PMID: 17029734 DOI: 10.1016/j.cellsig.2006.08.012]

49 Lehen'kyi V, Flourakis M, Skryma R, Prevarskaya N. TRPV6 channel controls prostate cancer cell proliferation via Ca(2+)/NFAT-dependent pathways. *Oncogene* 2007; 26: 7380-7385 [PMID: 17533368 DOI: 10.1038/sj.onc.1210545]

50 Vasil'eva IO, Neguliaev IuA, Marakhova II, Semenova SB. [TRPV5 and TRPV6 calcium channels in human T cells]. *Tsitologiia* 2008; 50: 953-957 [PMID: 19140341]

51 Santoni G, Farfariello V, Amantini C. TRPV channels in tumor growth and progression. *Adv Exp Med Biol* 2011; 704: 947-967 [PMID: 21290335 DOI: 10.1007/978-94-007-0265-3_49]

52 Lehen'kyi V, Raphaël M, Prevarskaya N. The role of the TRPV6 channel in cancer. *J Physiol* 2012; 590: 1369-1376 [PMID: 22331416 DOI: 10.1113/jphysiol.2011.225862]

编辑 郭鹏 电编 都珍珍

■同行评价

本文对近十年来TRPV5和TRPV6与胃肠肿瘤形成关系方面的研究进展进行了总结论述, 文章的科学性和可读性能较好地反映该领域基础研究的先进水平. 对同行在TRPV5和TRPV6钙离子通道方面的研究有一定的参考价值.

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com
世界华人消化杂志 2014年5月18日; 22(14): 1972-1976
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

研究快报 RAPID COMMUNICATION

整合素a5b1对胃癌细胞黏附、转移及耐药的影响

贺 宇, 齐洁敏, 谢朝辉, 张 杰

■背景资料
本文采用Western blot检测法及RT-PCR分别测量HTB-103、CRL-5822、CRL-5971及CRL-5973等不同对数生长期的白细胞株整合素a5b1蛋白表达水平及整合素a5b1 mRNA水平. 将不同胃癌细胞株随机分为实验组及对照组, 实验组加入整合素a5b1抗体, 对照组加入同型IgG, 观察两组胃癌细胞与ECV304细胞系的黏附率、细胞迁移率及白细胞穿过人工基质膜的浸润能力.

贺宇, 河北省承德市中心医院消化内科 河北省承德市 067000
齐洁敏, 河北省承德医学院病理教研室 河北省承德市 067000
谢朝辉, 河北承德市第三医院肿瘤科 河北省承德市 067000
张杰, 河北省承德市中心医院老年病科 河北省承德市 067000
贺宇, 主治医师, 主要从事消化内科及内镜方面的研究.
作者贡献分布: 此课题由贺宇与齐洁敏设计; 标本由贺宇与谢朝辉留取; 实验由齐洁敏与张杰完成; 病理由齐洁敏分析; 论文写作由贺宇与张杰完成.
通讯作者: 贺宇, 主治医师, 067000, 河北省承德市西大街路北11号, 河北省承德市中心医院消化内科. heyu6695@163.com
电话: 0314-2029282
收稿日期: 2014-02-22 修回日期: 2014-03-29
接受日期: 2014-04-04 在线出版日期: 2014-05-18

Role of integrin a5b1 in adhesion, migration and extramedullary infiltration of gastric cancer cells

Yu He, Jie-Min Qi, Zhao-Hui Xie, Jie Zhang

Yu He, Department of Gastroenterology, Chengde Central Hospital of Hebei Province, Chengde 067000, Hebei Province, China
Jie-Min Qi, Department of Pathology, Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China
Zhao-Hui Xie, Department of Oncology, Chengde Third Hospital of Hebei Province, Chengde 067000, Hebei Province, China
Jie Zhang, Department of Geriatrics, Chengde Central Hospital of Hebei Province, Chengde 067000, Hebei Province, China
Correspondence to: Yu He, Attending Doctor, Department of Gastroenterology, Chengde Central Hospital of Hebei Province, 11 Xidajie North Road, Chengde 067000, Hebei Province, China. heyu6695@163.com
Received: 2014-02-22 Revised: 2014-03-29
Accepted: 2014-04-04 Published online: 2014-05-18

Abstract

AIM: To investigate the role of the adhesion molecule integrin a5b1 in adhesion, migration and extramedullary infiltration of gastric cancer cells.

METHODS: Immunohistochemistry and RT-PCR were used to measure integrin a5b1protein and mRNA expression levels in cell lines HTB-103, CRL-5822, CRL-5971 and CRL-5973. Different cell lines were randomly divided into an experimental group and a control group. The experimental group was incubated with anti-integrin a5b1 antibody, and the control group was incubated with control IgG. After incubation, the adhesion, migration and extramedullary infiltration of the above cells and ECV304 cells were assessed.

RESULTS: The relative mRNA expression levels of integrin a5b1 were significantly higher in CRL-5822, CRL-5971 and CRL-5973 cells than in HTB-103 cells (0.0821 ± 0.0128, 0.185 ± 0.0082, 0.798 ± 0.042 *vs* 0.0002 ± 0.0000, $P < 0.05$). The rates of adhesion, migration and extramedullary infiltration in CRL-5822, CRL-5971 and CRL-5973 cells in the experimental groups were significantly lower than those in the control groups (adhesion (%): 52.16 ± 2.52 *vs* 83.89 ± 7.21, 44.22 ± 2.59 *vs* 71.17 ± 7.38, 33.58 ± 4.06 *vs* 60.89 ± 10.59; migration (%): 45.96 ± 1.21 *vs* 75.41 ± 9.51, 38.86 ± 1.99 *vs* 65.78 ± 14.62, 24.65 ± 3.28 *vs* 49.91 ± 13.47; infiltration rate (%): 29.85 ± 4.63 *vs* 42.63 ± 7.69, 21.31 ± 3.24 *vs* 29.92 ± 5.47, 13.67 ± 3.48 *vs* 21.59 ± 6.72; $P < 0.05$ for all), but the above indexes did not differ in HTB-103 cells between the two groups ($P > 0.05$ for all).

CONCLUSION: The adhesion molecule integrin a5b1 may be involved in the adhesion, migration and extramedullary infiltration of gastric cancer cells.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Adhesion molecule integrin a5b1; Leukemia cells; Extramedullary infiltration

He Y, Qi JM, Xie ZH, Zhang J. Role of integrin a5b1 in adhesion, migration and extramedullary infiltration of gastric cancer cells. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(14): 1972-1976 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1972.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i14.1972

摘要

目的: 探讨整合素a5b1 mRNA表达水平对胃癌细胞黏附、迁移、髓外浸润过程的影响.

■同行评议者
刘平, 教授, 主任医师, 南京医科大学第一附属医院(江苏省人民医院)肿瘤内科

方法: 采用Western blot检测法及RT-PCR分别测量HTB-103、CRL-5822、CRL-5971及CRL-5973等不同对数生长期的白细胞株整合素a5b1蛋白表达水平及整合素a5b1 mRNA水平. 将不同胃癌细胞株随机分为实验组及对照组, 实验组加入整合素a5b1抗体, 对照组加入同型IgG, 观察两组胃癌细胞与ECV304细胞系的黏附率、细胞迁移率及白细胞穿过人工基质膜的浸润能力.

结果: CRL-5822、CRL-5971及CRL-5973细胞整合素a5b1 mRNA相对表达量分别为(0.0821±0.0128)、(0.185±0.0082）、(0.798±0.042)明显高于HTB-103细胞(0.0002±0.0000)(P<0.05). 观察组CRL-5822、CRL-5971及CRL-5973细胞株黏附率(52.16%±2.52%、44.22%±2.59%、33.58%±4.06%)、迁移率(45.96%±1.21%、38.86%±1.99%、24.65%±3.28%)及浸润率(29.85%±4.63%、21.31%±3.24%、13.67%±3.48%)、显著低于对照组黏附率(83.89%±7.21%、71.17%±7.38%、60.89%±10.59%)、迁移率(75.41%±9.51%, 65.78%±14.62%, 49.91%±13.47%)及浸润率(42.63%±7.69%, 29.92%±5.47%, 21.59%±6.72%)(P<0.05), 而两组HTB-103细胞黏附率、迁移率及浸润率无统计学差异(P>0.05).

结论: 黏附因子整合素a5b1可能参与胃癌细胞的形成、聚集、生长及浸润的过程, 其表达水平与胃癌病程进展具有密切的关系.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 整合素a5b1; 胃癌细胞; 髓外浸润

核心提示: 本研究采用Western blot检测法及RT-PCR分别测量HTB-103、CRL-5822、CRL-5971及CRL-5973等不同对数生长期的白细胞株整合素a5b1蛋白表达水平及整合素a5b1 mRNA水平. 将不同胃癌细胞株随机分为实验组及对照组, 实验组加入整合素a5b1抗体, 对照组加入同型IgG, 观察两组胃癌细胞与ECV304细胞系的黏附率、细胞迁移率及白细胞穿过人工基质膜的浸润能力.

贺宇, 齐洁敏, 谢朝辉, 张杰. 整合素a5b1对胃癌细胞黏附、转移及耐药的影响. 世界华人消化杂志 2014; 22(14): 1972-1976
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1972.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i14.1972

0 引言

整合素a5b1是由白细胞分化的抗原分化簇, 其主要由T细胞分泌并存储在记忆T细胞中, 其主要作用是介导淋巴细胞向炎症部位归位、促进淋巴细胞归巢, 并可与细胞外基质如胶原蛋白、透明质酸、层纤蛋白及多种细胞因子相互作用, 参与造血细胞生成、迁移、黏附[1,2]. 近年相关研究[3]指出整合素a5b1分子与众多恶性肿瘤的生成、侵袭及转移有关, 但关于整合素a5b1对胃癌细胞黏附及髓外浸润的影响目前国内外研究甚少. 为此, 本文将对不同胃癌细胞株进行培养, 并观察整合素a5b1在胃癌细胞中的黏附、迁移、浸润中的作用, 旨在为胃癌临床防治提供实验参考依据.

1 材料和方法

1.1 材料 整合素a5b1单克隆抗体为美国西格玛公司产品, 兔抗人整合素a5b1抗体及羊抗兔IgG抗体为北京康维生物公司产品, 胎牛血清为上海生物科技有限公司产品, 无血清培养基RPMI、IMDM均为杭州四季青生物公司产品, 人工基质膜为英国Abcam公司产品. RT-PCR扩增仪为大连生物工程有限公司产品. RT-PCR引物为上海生物工程有限公司产品. 人慢性粒细胞胃癌细胞株(HTB-103)、人急性单核胃癌单核细胞株(CRL-5822、CRL-5971)以及人急性早幼粒细胞胃癌细胞株(CRL-5973)均购于浙江杭州血液生物研究所. 上述细胞株均置于37 ℃的5%CO_2中隔代培养, 每2-3 d传代培养1次, 取传代生长对数期的细胞进行研究.

1.2 方法

1.2.1 胃癌细胞株整合素a5b1 mRNA表达: 据miRBase数据库中miRNA序列, 参照Gu等[4]提供的miRNA表达谱分析方法, 建立了血清miRNA表达谱分析的多重茎环RT-PCR技术. 根据相关文献报道的miRNA检测茎环RT-qPCR方法, 以let-7a miRNA作为内参基因, 分析miR-199a-3p和miR-199a-5p表达情况. 选取胃癌及配对组织进行整合素a5b1 mRNA表达水平检测, 设计反应引物. 分别以整合素a5b1 mRNA及let-7a颈环RT引物进行RNA逆转录, 反应条件为: 先在42 ℃中反向转录30 min, 随后将温度变为95 ℃将mRNA变性2 min, 然后于55 ℃中15 s、72 ℃中30 s以及95 ℃中30 s反复循环扩增, 并在退火阶段收集荧光信号, 并记录每个反应管中荧光信号到达预设阈值时所经历的循环数, 并计算miR-199a-3p和miR-199a-5p相对表达量. 基因相对表达量 = 目的基因/内参基因.

■研发前沿
近年胃癌发病率呈上升趋势, 晚期胃癌患者预后较差. 从细胞学角度对胃癌进行研究是近年研究的热点, 近来不少研究表明整合素在细胞生理过程中起到重要的作用, 但其与胃癌的关系尚不见报道.

■相关报道
本研究采用Western blot检测法及RT-PCR分别测量HTB-103、CRL-5822、CRL-5971及CRL-5973等不同对数生长期的白细胞株整合素a5b1蛋白表达水平及整合素a5b1 mRNA水平.

■创新盘点
近来不少研究表明整合素在细胞生理过程中起到重要的作用, 但其与胃癌的关系尚不见报道.

表 1 不同的胃癌细胞株整合素a5b1 mRNA表达水平分析 (n = 5, mean ± SD)

胃癌细胞株	整合素a5b1 mRNA水平
CRL-5822	0.0821 ± 0.0128[a]
CRL-5971	0.185 ± 0.0082[a]
CRL-5973	0.798 ± 0.042[a]
HTB-103	0.0002 ± 0.0000

[a]P<0.05 *vs* HTB-103组.

表 2 不同的胃癌细胞株整合素a5b1 蛋白表达水平分析 (n = 5, mean ± SD)

胃癌细胞株	整合素a5b1 mRNA水平
CRL-5822	0.42 ± 0.11[a]
CRL-5971	0.44 ± 0.13[a]
CRL-5973	0.62 ± 0.18[a]
HTB-103	0.007 ± 0.0002

[a]P<0.05 *vs* HTB-103组.

1.2.2 整合素a5b1蛋白水平: 采用Western blot检测法检测4种白细胞整合素a5b1蛋白表达情况, 由美国Pierce公司提供BCA蛋白定量试剂盒测定蛋白浓度. 取40 μg总蛋白进行SDS-PAGE电泳、转膜及封闭实验, 并加入由博士德公司提供的NR2A及NR2B抗体进行孵育震荡过夜. 次日将膜取出经TBS漂洗后加入美国Gell signaling公司提供的羊抗兔二抗于室温下孵育1 h, 采用ECL发光法进行漂洗染色 . 同时采用Image 1 36b软件测定蛋白条带灰度值, 蛋白相对表达量 = 目的蛋白灰度值/GAPDH灰度值.

1.2.3 体外黏附实验: 分别于96孔平底细胞培养板中每孔加入10 μL样品液, 于室温下培养48 h, 采用PBS洗涤后, 用20 g/L牛血清蛋白温育1 h后加入4种胃癌细胞, 对照组加入IgG, 观察组加入20 μg/mL的整合素a5b1单抗, 并将细胞液浓度调整为1×10/mL. 分别于培养板中加入细胞液, 并于37 ℃中恒温培养30 min. 培养结束后采用PBS冲洗2次去除未黏附细胞, 并加入20 μL/孔MMT工作液, 采用酶联免疫检测仪测定每孔570 nm处的吸光度, 计算胃癌细胞黏附率.

1.2.4 胃癌细胞髓外迁移能力: 参照相关文献[5]将ECV304细胞接种于培养皿中进行培养, 于室温下静止放置24 h, 待培养皿中长满ECV304细胞后弃去上清液, 将4种胃癌细胞分别加入培养皿中, 实验组同时加入整合素a5b1单抗, 对照组加入IgG, 将培养液置于室温下培养12 h后取出培养皿, 计数下层细胞迁移数.

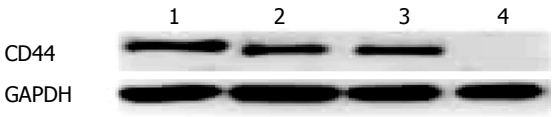


图 1 胃癌细胞株的免疫组织化学法测定整合素a5b1蛋白表达水平. 1: CRL-5822cells; 2: CRL-5971cells; 3: CRL-5973cells; 4: HTB-103cells.

1.2.5 体外浸润实验: 将人工基质膜胶稀释至5 mg/mL, 取80 μL置于培养皿中, 并置于室温下成膜, 并置于24孔板中, 分别加入4种胃癌细胞, 同时于室温下培养24 h, 将培养皿取出, 吸尽器皿中液体, 并将未穿过膜的细胞采用棉签搽掉, 将其置于400倍光学显微镜下采用5个视野细胞数进行计算, 并记录穿过基质膜细胞平均值, 记录读数.

统计学处理 采用SPSS17.0进行统计学分析, 计量资料采用mean±SD表示, 组间计量资料比较采用t检验, 计数资料采用率表示, P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 不同白细胞株整合素a5b1 mRNA表达水平分析 CRL-5822、CRL-5971及CRL-5973细胞整合素a5b1 mRNA相对表达量为与HTB-103细胞整合素a5b1 mRNA相对表达量相比, 差异有统计学意义(P<0.05)(表1).

2.2 不同白细胞株整合素a5b1蛋白表达水平分析 通过免疫组织化学测定可知, 整合素a5b1蛋白在CRL-5822、CRL-5971及CRL-5973细胞核中棕黄色颗粒, 而整合素A5B1在HTB-103内几乎不表达. CRL-5822、CRL-5971及CRL-5973蛋白表达水平与HTB-103相比, 差异有统计学意义(P<0.05)(表2, 图1).

2.3 观察组与对照组不同白细胞株黏附率、迁移率及浸润率分析 观察组CRL-5822、CRL-5971及CRL-5973细胞株黏附率、迁移率及浸润率显著低于对照组, 差异有统计学意义(P<0.05), 而两组HTB-103细胞黏附率、迁移率及浸润率无统计学差异(P>0.05)(表3).

3 讨论

整合素a5b1属于细胞表面跨膜糖蛋白受体, 其可与透明质酸(hyaluronic acid, HA)结合生成高分子黏多糖, 介导淋巴细胞归巢、细胞外基质

表 3 不同胃癌细胞株与对照组细胞株黏附率、迁移率及浸润情况分析(mean ± SD, %)

分组	CRL-5973	CRL-5822	CRL-5971	HTB-103
黏附率				
观察组	52.16 ± 2.52[ac]	44.22 ± 2.59[ac]	33.58 ± 4.06[ac]	101.25 ± 11.36
对照组	83.89 ± 7.21	71.17 ± 7.38	60.89 ± 10.59	100.62 ± 18.25
迁移率				
观察组	45.96 ± 1.21[ac]	38.86 ± 1.99[ac]	24.65 ± 3.28[ac]	2.02 ± 0.45
对照组	75.41 ± 9.51	65.78 ± 14.62	49.91 ± 13.47	2.12 ± 0.78
浸润率				
观察组	29.85 ± 4.63[ac]	21.31 ± 3.24[ac]	13.67 ± 3.48[ac]	0.008 ± 0.002
对照组	42.63 ± 7.69	29.92 ± 5.47	21.59 ± 6.72	0.007 ± 0.001

[a]P<0.05 *vs* HTB-103组; [c]P<0.05 *vs* 对照组.

■应用要点

本文通过分析整合素a5b1 mRNA表达水平对胃癌细胞黏附、迁移、髓外浸润过程的影响, 为临床胃癌的防治提供指导.

黏附等多种生理病理反应[6]. 近年众多的研究表明[7], 整合素a5b1高度表达与肿瘤生成、转移过程关系密切. 近年众多学者[8]以整合素a5b1为靶点分子, 通过阻断整合素a5b1与HA结合从而抑制肿瘤生成及转移, 起到靶向治疗的作用. Sun等[8]通过运用整合素a5b1单克隆抗体、整合素a5b1v10受体蛋白及整合素A5B1s蛋白阻断肺癌小鼠细胞中整合素a5b1与HA的结合, 结果显示, 肺癌小鼠不经任何治疗的情况下, 其整合素a5b1v10及受体蛋白在肺部的转移量分别下降了60%及70%. Fedorchenko等[9]发现急性胃癌患者血清整合素a5b1水平显著高于正常体检者, 其患者放化疗后血清整合素A5B1水平居高不下者较血清整合素a5b1正常者更容易出现复发, 从而推测胃癌病情进展可能与血清整合素a5b1水平增高有关. 吕慧等[10]指出肺癌患者淋巴结外转移、临床分期较高的患者其血清整合素a5b1水平较高. Zhang等[11]发现急性胃癌Ⅱ-Ⅲ期患者血清整合素a5b1水平显著高于0-I期患者. 从以上研究可推断出, 整合素a5b1表达水平可作为某些肿瘤病情发展的预测指标, 通过测定血清整合素a5b1可有效评价肿瘤恶性程度及预后效果[12,13].

本研究中免疫组织化学法结果均显示, CRL-5822、CRL-5971及CRL-5973细胞整合素a5b1蛋白表达量均高于HTB-103, 整合素a5b1早HTB-103细胞中表达量极低, 甚至不表达. 经PCR进一步证实表明, 整合素a5b1在HTB-103细胞中的表达非常微小甚至不表达[14]. 黏附实验显示, 观察组整合素A5B1单抗经预处理后CRL-5822、CRL-5971及CRL-5973细胞株黏附率显著低于对照组, 且CRL-5973下降水平较为显著. CRL-5822、CRL-5971及CRL-5973细胞迁移及髓外浸润能力显著高于HTB-103, 且整合素a5b1单抗可阻断这些细胞的迁移及浸润能力, 而HTB-103细胞迁移及浸润则不受整合素a5b1单抗的影响. 与其他细胞相比, CRL-5973细胞黏附、迁移、浸润能力最高, 从而推断出整合素a5b1可参与胃癌细胞基质外黏附、迁移、浸润过程, 与胃癌病情进展关系密切.

目前关于整合素a5b1在胃癌中髓外浸润的机制还有待进一步研究, 但相关研究指出[15], 整合素a5b1参与肿瘤的形成、生长、转移及髓外浸润与基质金属蛋白酶活性有关. 整合素a5b1可介导肿瘤细胞转移, 并参与信号传统, 介导肿瘤细胞转移及肿瘤侵袭, 此外还可参与肿瘤细胞免疫逃逸及诱导肿瘤细胞Fas表达[16,17]. 因此关于整合素a5b1与胃癌髓外浸润的相关性还需要结合临床病例进一步研究.

4 参考文献

1 陈冰琳, 郭坤, 刘银坤. 黏附分子CD44的表达及其糖基化与肝癌转移的相关性. 中华肝脏病杂志 2011; 19: 898-903

2 Singh V, Erb U, Zöller M. Cooperativity of CD44 and CD49d in leukemia cell homing, migration, and survival offers a means for therapeutic attack. *J Immunol* 2013; 191: 5304-5316 [PMID: 24127558]

3 Wu H, Deng J, Zheng J, You Y, Li N, Li W, Wu D, Zhou Y. Functional polymorphisms in the CD44 gene and acute myeloid leukemia cancer risk in a Chinese population. *Mol Carcinog* 2013 Sep 4. *[Epub ahead of print]* [PMID: 24038513 DOI: 10.1002/mc.22078]

4 Gu X, Xing X, Yang W, Hu J, Dai D. High expression of integrin-linked kinase predicts aggressiveness and poor prognosis in patients with gastric cancer. *Acta Histochem* 2014 Feb 3. *[Epub ahead of print]* [PMID: 24502999 DOI: 10.1016/j.acthis.2014.01.005]

5 Ren J, Xu S, Guo D, Zhang J, Liu S. Increased expression of α5β1-integrin is a prognostic marker for

■同行评价
本文新颖, 重点突出, 思路明确, 对临床具有一定的指导意义.

patients with gastric cancer. *Clin Transl Oncol* 2013 Nov 19. *[Epub ahead of print]* [PMID: 24248895]
6 Daines DA, Sun J, Uchakina ON, McKallip RJ. Development of a novel treatment for leukemia directed at tumor-associated mRNA splicing. *Leuk Res* 2013; 37: 1125-1131 [PMID: 23830513 DOI: 10.1016/j.leukres.2013.06.017]
7 张雁, 关雪晶, 吴宏, 周玥, 姜蓉, 何晓莉. 当归多糖对放射损伤小鼠骨髓单个核细胞黏附分子表达及细胞周期的影响. 中国组织化学与细胞化学杂志 2010; 19: 587-592
8 Sun YH, Sun YL, Ran XH, Cui JY, Zhang HL, Chen ZX. [The influence of CD44 on the adhesive, migratory and infiltrative abilities of leukemia cells]. *Zhonghua Xueyexue Zazhi* 2013; 34: 60-63 [PMID: 23597468]
9 Fedorchenko O, Stiefelhagen M, Peer-Zada AA, Barthel R, Mayer P, Eckei L, Breuer A, Crispatzu G, Rosen N, Landwehr T, Lilienthal N, Möllmann M, Montesinos-Rongen M, Heukamp L, Dürig J, Hallek M, Fingerle-Rowson G, Herling M. CD44 regulates the apoptotic response and promotes disease development in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2013; 121: 4126-4136 [PMID: 23547049 DOI: 10.1182/blood-2012-11-466250]
10 吕慧. 原发性IgA肾病患儿肾组织免疫病理及A5B1的表达. 中国妇幼保健 2010; 25: 4394-4396
11 Zhang S, Wu CC, Fecteau JF, Cui B, Chen L, Zhang L, Wu R, Rassenti L, Lao F, Weigand S, Kipps TJ. Targeting chronic lymphocytic leukemia cells with a humanized monoclonal antibody specific for CD44. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2013; 110: 6127-6132 [PMID: 23530247]
12 王华毅, 谢先木, 付德琴, 王虹. 腹腔冲洗液L3-PP和整合素α5β1检测对胃癌腹膜种植转移预测价值分析. 中华肿瘤防治杂志 2013; 20: 281-284
13 Kamazani FM, Bahoush GR, Aghaeipour M, Vaeli S, Amirghofran Z. CD44 and CD27 expression pattern in B cell precursor acute lymphoblastic leukemia and its clinical significance. *Med Oncol* 2013; 30: 359 [PMID: 23263849 DOI: 10.1007/s12032-012-0359-9]
14 梁桦. 七氟醚对人肺腺癌A549细胞生长、转移能力及化疗敏感性的影响. 南方医科大学, 2012: 1-128
15 朱大伟, 陈俊俊, 裴红蕾. 胃癌组织中粘附分子整合素CD11c的表达及对预后的影响. 临床肿瘤学杂志 2013; 18: 782-785
16 赵雪艳, 王娟, 荣小伟, 徐远义. DS对胃癌细胞整合素β1表达及腹腔种植转移的影响. 临床与实验病理学杂志 2013; 29: 365-368
17 洪宇, 陈冬梅, 李扬志, 李春花, 谢梅青. 整合素αvβ3和孕激素受体在子宫内膜异位症患者黄体中期子宫内膜中的表达. 中国妇幼保健 2012; 27: 2024-2027

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年5月18日; 22(14): 1977-1983
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

研究快报 RAPID COMMUNICATION

CD133$^+$CXCR4$^+$胃癌KATO-III细胞的侵袭能力

俞远林, 姜波健, 俞继卫

俞远林, 安徽省蚌埠医学院研究生部 安徽省蚌埠市 233030
俞远林, 姜波健, 俞继卫, 上海交通大学医学院附属第三人民医院普外一科 上海市 201999
俞远林, 在读硕士, 主要从事胃癌与胆囊癌的基础与临床研究.
蚌埠医学院研究生创新计划基金资助项目, No. Byycx1323
国家自然科学基金资助项目, No. 81101850
作者贡献分布: 此课题由俞继卫、姜波健及俞远林设计; 研究过程、数据分析由俞远林完成; 本论文写作由俞远林完成; 审校过程由姜波健、俞继卫完成.
通讯作者: 俞继卫, 主任医师, 201999, 上海市漠河路280号, 上海交通大学医学院附属第三人民医院普外一科.
jiweiyu919@hotmail.com
收稿日期: 2014-03-13 修回日期: 2014-04-10
接受日期: 2014-04-28 在线出版日期: 2014-05-18

High invasive capacity of CD133$^+$CXCR4$^+$ gastric cancer cells

Yuan-Lin Yu , Bo-Jian Jiang , Ji-Wei Yu

Yuan-Lin Yu, Postgraduate School, Benbu Medical College, Benbu 233030, Anhui Province, China
Yuan-Lin Yu, Bo-Jian Jiang, Ji-Wei Yu, the first Department of General Surgery, No. 3 People's Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 201900, China
Supported by: Postgraduate Innovation Research Program of Benbu Medical College, No. Byycx1323; and National Nature Science Foundation of China, No. 81101850
Correspondence to: Ji-Wei Yu, Chief Physician, Department of General Surgery, No. 3 People's Hospital, Shanghai Jiaotong University School of Medicine, 280 Mohe Road, Shanghai 201999, China. jiweiyu919@hotmail.com
Received: 2014-03-13 Revised: 2014-04-10
Accepted: 2014-04-28 Published online: 2014-05-18

Abstract

AIM: To assess the invasive capacity of CD133$^+$CXCR4$^+$ gastric cancer cells.

METHODS: The invasive and migration capacities of CD133$^-$CXCR4$^-$, CD133$^-$CXCR4$^+$, CD133$^+$CXCR4$^-$, and CD133$^+$CXCR4$^+$ gastric cancer cells were assessed by Transwell assays. The mRNA expression of EMT related factors in CD133$^+$CXCR4$^-$ and CD133$^+$CXCR4$^+$ cells was detected by semi-quantitative RT-PCR. After SDF-1α and AMD3100 were used to stimulate and inhibit KATO-III cells, respectively, the invasive ability of CD133$^+$CXCR4$^+$ and CD133$^+$CXCR4$^-$ cells was assessed, and the mRNA expression of EMT related factors was detected by semi-quantitative RT-PCR.

RESULTS: The mean number of migrated cells in the CD133$^+$CXCR4$^+$ group was significantly more than that in the CD133$^+$CXCR4$^-$ group (136.67 ± 14.36 *vs* 55.33 ± 7.37, P = 0.01). The expressive level of E-cadherin mRNA in the CD133$^+$CXCR4$^+$ group was significantly lower than that in the CD133$^+$CXCR4$^-$ (0.3068 ± 0.0399 *vs* 0.7665 ± 0.0899, P = 0.005). The expressive levels of N-cadherin and Snail mRNAs in CD133$^+$CXCR4$^+$ cells were significantly stronger than those in CD133$^+$CXCR4$^-$ cells (0.5852 ± 0.0453 *vs* 0.2980 ± 0.0626, P = 0.006; 0.9178 ± 0.0788 *vs* 0.6468 ± 0.1506, P = 0.03). In CD133$^+$CXCR4$^+$ cells, SDF-1α treatment significantly increased the number of invasive cells (P = 0.033), decreased the expressive level of E-cadherin mRNA (P = 0.018), and increased the expressive level of Snail mRNA (P = 0.028). AMD3100 treatment significantly increased E-cadherin mRNA expression (P = 0.008) and decreased Snail mRNA expression (P = 0.006). In CD133$^+$CXCR4$^-$ cells, SDF-1α or AMD3100 treatment did not significantly alter the invasion and expressive levels of E-cadherin and Snail mRNAs.

CONCLUSION: The high invasion ability of CD133$^+$CXCR4$^+$ gastric cancer cells may be mediated by EMT and SDF-1α/CXCR4.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Gastric cancer; Invasion; CD133; SDF-1α/CXCR4

Yu YL, Jiang BJ, Yu JW. High invasive capacity of CD133$^+$CXCR4$^+$ gastric cancer cells. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(14): 1977-1983 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1977.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i14.1977

摘要

目的: 研究CD133$^+$CXCR4$^+$胃癌细胞侵袭能力.

方法: Transwell检测CD133$^-$CXCR4$^-$、CD133$^-$

■背景资料
胃癌是消化系常见恶性肿瘤之一, 其死亡原因主要是胃癌高侵袭能力和高转移能力. 肿瘤起始细胞(tumor initiating cells, TICs)是近年来的研究热点, 多种证据表明TICs与肿瘤复发转移密切相关. 研究不同亚群的胃癌TICs侵袭能力差异, 有利于进一步阐明胃癌发生转移的机制.

■同行评议者
刘丽江, 教授, 江汉大学医学院病理学

■研发前沿
明确CD133$^+$CXCR4$^+$亚群胃癌细胞可能通过EMT和SDF-1α/CXCR4轴获得高侵袭能力,属于运动型TICs. 然而, 具体机制尚待深入探究.

CXCR4$^+$、CD133$^+$CXCR4$^-$、CD133$^+$CXCR4$^+$四组细胞迁移和侵袭能力. 半定量酶链聚合反应检测CD133$^+$CXCR4$^+$组与CD133$^+$CXCR4$^-$组细胞上皮间质转化(epithelial mesenchymal transition, EMT)相关因子表达. 分别用基质细胞衍生因子-1α(stromalcellderivedfactor-1α, SDF-1α)、AMD3100作用KATO-III细胞后, Transwell检测CD133$^+$CXCR4$^+$组与CD133$^+$CXCR4$^-$组细胞侵袭能力. 半定量酶链聚合反应检测KATO-III细胞中EMT相关因子表达.

结果: CD133$^+$CXCR4$^+$组平均迁移细胞数(136.67±14.36)高于CD133$^+$CXCR4$^-$组(55.33±7.37, P = 0.01). CD133$^+$CXCR4$^+$组E-cadherin mRNA相对灰度值(0.3068±0.0399)低于CD133$^+$CXCR4$^-$组(0.7665±0.0899, P = 0.005). CD133$^+$CXCR4$^+$组N-cadherin mRNA表达(0.5852±0.0453)、Snail mRNA表达(0.9178±0.0788)均高于CD133$^+$CXCR4$^-$组(0.2980±0.0626, P = 0.006; 0.6468±0.1506, P = 0.03). CD133$^+$CXCR4$^+$组中, 与对照组相比, SDF-1α组侵袭细胞数明显上升(P = 0.033). SDF-1α组E-cadherin mRNA表达下降(P = 0.018), 而AMD3100组E-cadherin mRNA表达上升(P = 0.008). SDF-1α组Snail mRNA表达上升(P = 0.028), 而AMD3100组Snail mRNA表达下降(P = 0.006). 然而CD133$^+$CXCR4$^-$组中, SDF-1α组侵袭细胞数无明显变化. SDF-1α与AMD3100组E-cadherin mRNA与Snail mRNA表达均无明显变化.

结论: CD133$^+$CXCR4$^+$胃癌细胞可能通过EMT和SDF-1α/CXCR4获得高侵袭能力.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 胃癌; 侵袭; CD133; SDF-1α/CXCR4

核心提示: 本研究初步明确CXCR4与CD133双阳性胃癌细胞的迁移与侵袭能力, 并深入地揭示了基质细胞衍生因子-1α(stromalcellderivedfactor-1α)/CXCR4轴与上皮间质转化(epithelial mesenchymal transition)现象在CXCR4与CD133双阳性胃癌细胞的迁移与侵袭能力扮演的重要作用.

俞远林, 姜波健, 俞继卫. CD133$^+$CXCR4$^+$胃癌KATO-III细胞的侵袭能力. 世界华人消化杂志 2014; 22(14): 1977-1983
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1977.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i14.1977

0 引言

胃癌的发病率在恶性肿瘤中位居前列, 其高死亡率主要由胃癌易侵袭和转移所致[1]. 肿瘤起始细胞(tumor initiating cells, TICs)又称肿瘤干细胞(cancer stem cells, CSCs), 是一类与正常干细胞相似的具有多能特性的祖细胞, 能够自我更新、无限增殖及多向分化[2]. CD133作为TICs的重要标志物近年来引起广泛关注[3-6]. 近来发现, 基质细胞衍生因子-1α(stromalcellderivedfactor-1α, SDF-1α)/CXCR4轴在乳腺癌、前列腺癌、肺癌、胰腺癌迁移、侵袭和转移过程中发挥关键作用[7]. 在结肠癌中, CXCR4和CD133联合表达提示高转移特性[8]. 此外, 在胃癌KATO-III细胞中SDF-1α/CXCR4轴参与调控CD133的表达[9]. 本研究旨在探索CXCR4和CD133联合表达对胃癌KATO-III细胞侵袭能力的影响.

1 材料和方法

1.1 材料 人胃癌KATO-III细胞细胞株(ATCC公司, 美国); 胎牛血清(Hyclone公司, 美国); ATCC培养基(ATCC公司, 美国); CXCR4兔抗人多克隆抗体(Abcam公司, 英国); CD133鼠抗人单克隆抗体(Miltenyi公司, 德国); 辣根过氧化物酶(HRP)标记的二抗(Jackson公司, 美国); CD133分选试剂盒、CXCR4分选试剂盒(Miltenyi公司, 德国); HRP标记的二抗(Jackson公司, 美国); 人重组SDF-1α(PeproTech公司, 美国); CXCR4特异性受体抑制剂AMD3100(Sigma公司, 美国); TRIzol试剂和PCR试剂盒(Takara公司, 日本); 目的引物(上海生工生物工程公司, 中国);

1.2 方法

1.2.1 细胞培养及免疫磁珠分选: 细胞培养: KATO-III细胞用含20%胎牛血清, 100 U/mL青霉素、100 U/mL链霉素的ATCC培养基, 置37 ℃、5%CO_2饱和湿度培养箱中, 每2-3 d传代1次. 收集KATO-III细胞, 调整密度至1×10^{7}个/mL, 用300 μL缓冲液重悬, 按操作步骤经MiniMACS分离柱分选, 用无血清含20 ng/mL EGF及10 ng/mL bFGF的ATCC培养基重悬, 并设定为CD133$^+$CXCR4$^+$组、CD133$^+$CXCR4$^-$组、CD133$^-$CXCR4$^+$组、CD133$^-$CXCR4$^-$组. 实验分为3组: (1)空白对照组: 即不加任何药物的细胞组; (2)SDF-1α组: 100 ng/mL SDF-1α刺激2 h; (3)AMD3100组: CXCR4特异性的抑制剂AMD3100(40 μmol/L)预处理细胞30 min[10].

1.2.2 免疫蛋白印迹法(Western blot)检测: 用100 μL裂解液作用于1×10^{5}个胰酶消化后的KATO-III细胞, 冰上裂解30 min, 4 ℃12000 r/min, 5 min

表 1 各类检测指标相关引物序列及其功能

因子	引物序列	产物长度(bp)	功能
Snail	上游: 5'-CCTCCCTGTCAGATGAGGAC-3'	234	EMT调节因子
	下游: 5'-CCAGGCTGAGGTATTCCTTG-3'		
E-cadherin	上游: 5'-TGCCCAGAAAATGAAAAAGG-3'	200	上皮细胞表面标志物
	下游: 5'-GTGTATGTGGCAATGCGTTC-3'		
N-cadherin	上游: 5'-ACAGTGGCCACCTACAAAGG-3'	201	间质细胞表面标志物
	下游: 5'-CCGAGATGGGGTTGATAATG-3'		
CD133	上游: 5'-TTACGGCACTCTTCACCT-3'	172	TICs表面标志物
	下游: 5'-TATTCCACAAGCAGCAAA-3'		
GAPDH	上游: 5'-ACGGATTTGGTCGTATTGGGCG-3'	197	内参
	下游: 5'-CTCCTGGAAGATGGTGATGG-3'		

■相关报道
近来发现, SDF-1α/CXCR4轴在多种恶性肿瘤的迁移、侵袭和转移过程中发挥关键作用. 在结肠癌中, CXCR4和CD133联合表达提示高转移可能性. 本课题组前期发现CXCR4和CD133在胃癌原发灶中高表达, 两者呈正相关, 其联合表达与转移淋巴结比率和转移淋巴结数呈正相关, 推测胃癌CD133阳性细胞亚群可能在CXCR4介导下更易导致淋巴管浸润和淋巴结转移.

离心, 取上清液60 μL+15 μL蛋白上样缓冲液, 即得该组细胞的蛋白, 每次均取15 μL上样量在10%分离胶、5%浓缩胶上面进行SDS-PAGE凝胶电泳分离, 经电转膜仪转至PVDF膜. 然后用5%脱脂奶粉室温封闭2 h, 用5%脱脂奶稀释的兔抗人CXCR4抗体(1∶1000)、鼠抗人抗体CD133(1∶200), 4 ℃轻摇过夜, 用吐温-20三羟甲基氨基甲烷缓冲盐溶液(TBST)振洗, 洗3次, 每次10 min, 分别加HRP标记的山羊抗兔和抗鼠IgG二抗(1∶2000), 室温下孵育2 h, 再用TBST振洗2次, 每次10 min; TBS振洗1次, 每次10 min. 加增强化学发光(ECL)底物显色, 曝光洗片. 取胶片于扫描仪上获取图像, 图像分析软件进行半定量分析, 实验重复3次取平均值[11].

1.2.3 半定量聚合酶链式反应(RT-PCR)检测: TRIzol法提取总RNA, 逆转录成cDNA后行PCR反应(表1). 反应条件为94 ℃ 3 min, 94 ℃ 30 s、50 ℃-57 ℃ 30 s、72 ℃ 30 s 35个循环, 4 ℃ 10 min, 应用凝胶成像系统及凝胶图像分析软件行半定量分析目的产物与对应GAPDH产物的灰度值, 目的mRNA表达水平以目的mRNA扩增条带灰度值与GAPDH mRNA扩增条带灰度值比值表示, 图像分析软件进行半定量分析, 实验重复3次取平均值[11].

1.2.4 Transwell法检测KATO-III细胞侵袭能力: 将基质胶以1∶1比例用无血清ATCC培养基稀释后, 取50 μL铺于Transwell上室中, 置于37 ℃培养箱中, 待上室的基质胶凝结, 收集对数生长期KATO-III细胞, 以无血清ATCC培养基重悬, 取100 μL加入Transwell上室中, 调整细胞浓度为1×10^5-5×10^{5}个/孔, 下室中加入含有20%胎牛血清的ATCC完全培养基, 37 ℃培养箱培养24 h后, 取出Transwell小室, 用棉签擦去上室中的基质胶及细胞, 4%多聚甲醛固定, 结晶紫染色, 在高倍镜下平移非重叠观察9个视野, 计数其中的穿膜细胞数, 并计算平均数, 实验结果最终以平均穿膜细胞数表示.

1.2.5 Transwell法检测KATO-III细胞迁移能力: 收集对数生长期KATO-III细胞, 以无血清ATCC培养基重悬, 取100 μL加入Transwell上室中, 调整细胞浓度为(1-5)×10^{5}个/孔, 下室中加入含有20%胎牛血清的ATCC完全培养基, 37 ℃培养箱培养24 h后, 取出Transwell小室, 用棉签擦去上室的细胞, 4%多聚甲醛固定, 结晶紫染色, 在高倍镜下平移非重叠观察9个视野, 计数其中的穿膜细胞数, 并计算平均数, 实验结果最终以平均穿膜细胞数表示.

统计学处理 采用SPSS17.0软件进行统计学分析, 计量数据以mean±SD表示, 组间比较采用单因素方差分析. P<0.05为差异有统计学意义. CXCR4及CD133联合表达和胃癌临床病理的关系采用卡方检验分析.

2 结果

2.1 CD133$^-$CXCR4$^-$、CD133$^-$CXCR4$^+$、CD133$^+$CXCR4$^-$、CD133$^+$CXCR4$^+$四组细胞迁移能力检测 Transwell法迁移能力检测发现, CD133$^+$CXCR4$^+$组平均迁移细胞数(136.67±14.36), 显著高于CD133$^+$CXCR4$^-$组(55.33±7.37, P = 0.01), CD133$^-$CXCR4$^+$组(31.33±5.51, P = 0.01), CD133$^-$CXCR4$^-$组(33.33±5.69, P = 0.002)(图1).

2.2 CD133$^+$CXCR4$^+$组与CD133$^+$CXCR4$^-$组细胞上皮间质转化(epithelial mesenchymal transition,

■创新盘点

本研究在体外实验的层面上, 首次利用免疫磁珠法从胃癌细胞株中分选出$CD133^+CXCR4^+$亚群细胞, 并对其迁移和侵袭能力进行检测, 随即对其机制进行深入的探索, 从而为胃癌的转移和复发寻找更加充分的理论依据.

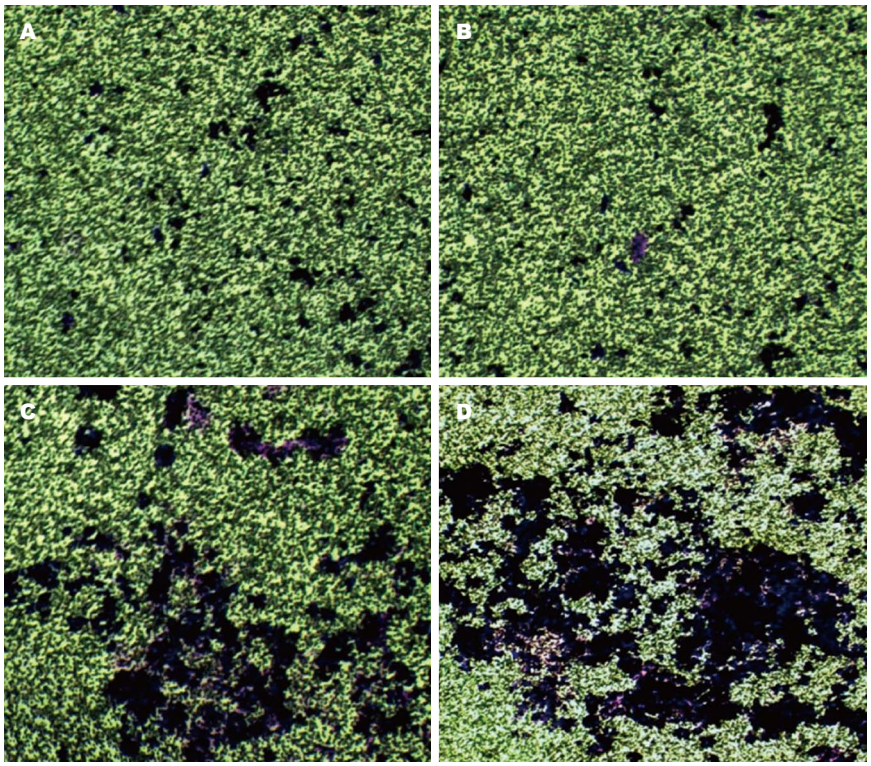


图 1 Transwell法检测四组细胞迁移能力. A: $CD133^-CXCR4^-$; B: $CD133^-CXCR4^+$; C: $CD133^+CXCR4^-$; D: $CD133^+CXCR4^+$.

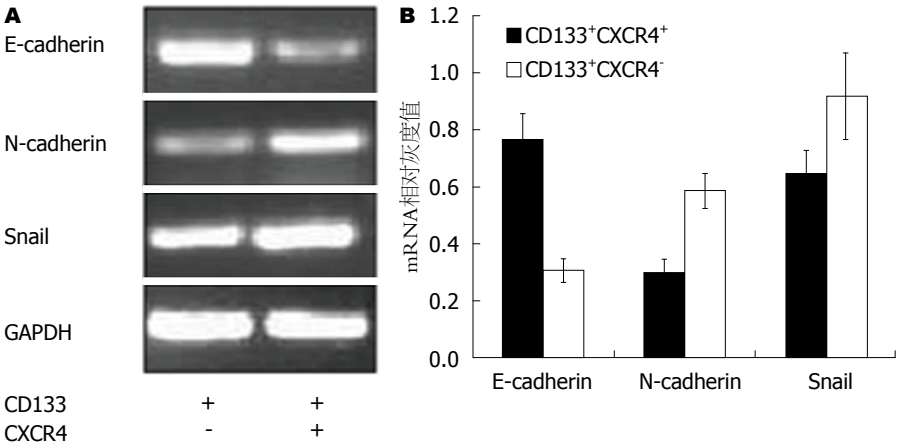


图 2 $CD133^+CXCR4^+$组与$CD133^+CXCR4^-$组EMT相关因子mRNA表达. A: EMT相关因子mRNA电泳条带图; B: 柱状图.

EMT)相关因子mRNA检测 RT-PCR检测发现, $CD133^+CXCR4^+$组E-cadherin mRNA相对灰度值(0.3068±0.0399)显著低于$CD133^+CXCR4^-$组(0.7665±0.0899, P = 0.005). $CD133^+CXCR4^+$组N-cadherin mRNA相对灰度值(0.5852±0.0453)显著高于$CD133^+CXCR4^-$组(0.2980±0.0626, P = 0.006). $CD133^+CXCR4^+$组Snail mRNA相对灰度值(0.9178±0.0788)显著高于$CD133^+CXCR4^-$组(0.6468±0.1506, P = 0.03)(图2).

2.3 SDF-1α刺激后$CD133^+CXCR4^+$组与$CD133^+CXCR4^-$组细胞侵袭能力变化 Transwell法侵袭能力检测发现, $CD133^+CXCR4^+$组中, 与对照组(42.33±6.51)相比, SDF-1α组侵袭细胞数(81.67±12.10, P = 0.033)明显上升. 然而在$CD133^+CXCR4^-$组中, 与对照组(17.67±3.51)相比, SDF-1α组侵袭细胞数(17.33±4.93, P = 0.475)无明显变化(图3).

2.4 SDF-1α、AMD3100刺激后$CD133^+CXCR4^+$组与$CD133^+CXCR4^-$组细胞中EMT相关因子表达变化 RT-PCR检测发现, $CD133^+CXCR4^+$组中, 与对照组(0.4102±0.0675)相比, SDF-1α组E-cadherin mRNA相对灰度值(0.2170

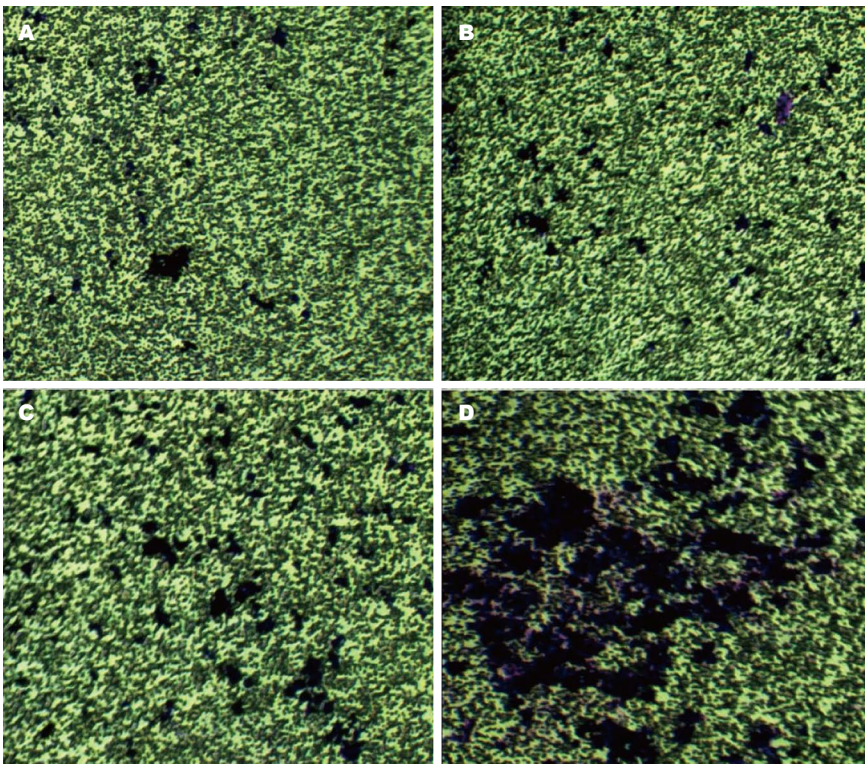


图 3 SDF-1α刺激后CD133^{+}CXCR4^{+}组与CD133^{+}CXCR4^{-}组侵袭能力变化. A: Control组CD133^{+}CXCR4^{-}; B: SDF-1α组CD133^{+}CXCR4^{-}; C: Control组CD133^{+}CXCR4^{+}; D: SDF-1α组CD133^{+}CXCR4^{+}. SDF-1α: 基质细胞衍生因子-1α.

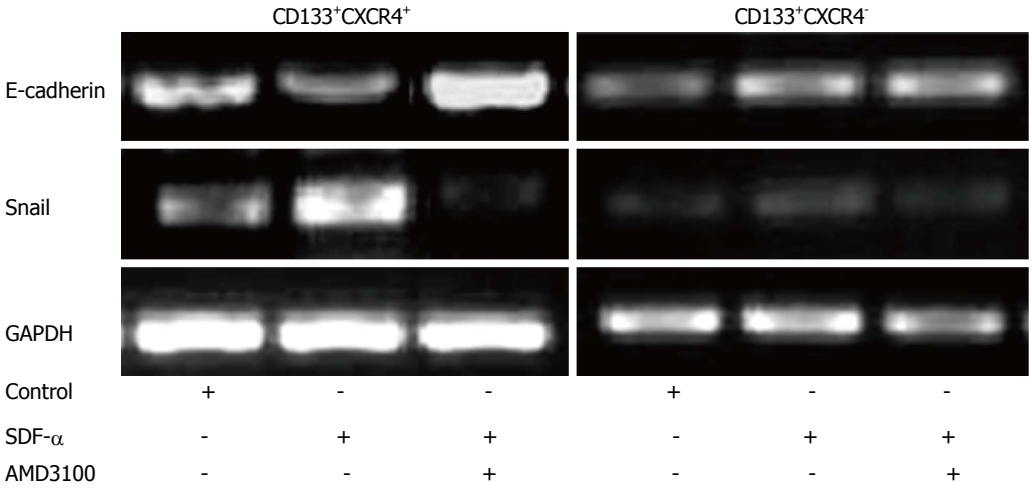


图 4 SDF-1α、AMD3100刺激后CD133^{+}CXCR4^{+}组与CD133^{+}CXCR4^{-}组EMT相关因子mRNA表达的变化. SDF-1α: 基质细胞衍生因子-1α.

±0.0220, P = 0.018)下降, 而AMD3100组E-cadherin mRNA相对灰度值(0.8415±0.0934, P = 0.008)上升. 与对照组(0.3034±0.0501)相比, SDF-1α组Snail mRNA相对灰度值(0.5660±0.0715, P = 0.028)上升, 而AMD3100组Snail mRNA相对灰度值(0.1280±0.0274, P = 0.006)下降. CD133^{+}CXCR4^{-}组中, 与对照组(0.3281±0.0657)相比, SDF-1α组E-cadherin mRNA相对灰度值(0.3014±0.0282, P = 0.335)无明显变化, AMD3100组E-cadherin mRNA相对灰度值(0.3300±0.0312, P = 0.480)无明显变化. 与对照组(0.1908±0.0471)相比, SDF-1α组Snail mRNA相对灰度值(0.1759±0.0361, P = 0.391)无明显变化, AMD3100组Snail mRNA相对灰度值(0.1715±0.0598, P = 0.187)无明显变化(图4),

2.5 胃癌原发灶CXCR4和CD133 mRNA及蛋白表达与淋巴转移的关系 半定量RT-PCR示, CXCR4 mRNA及CD133 mRNA相对灰度值在淋

■应用要点

由于胃癌侵袭转移的机制尚未明确, 基于本课题组前期研究成果及国内外文献报道, 本研究通过免疫磁珠分选的方法分离CD133^{+}CXCR4^{+}亚群胃癌细胞, 通过检测侵袭能力及EMT相关因子的表达情况, 初步阐明CD133^{+}CXCR4^{+}亚群胃癌细胞侵袭能力机制, 从而为进一步探寻胃癌的转移和复发提供理论依据.

■同行评价
本文选题具有重要的基础研究及临床应用的意义.

巴结转移组高于无淋巴结转移组, 差异均有统计学意义(P = 0.011, P = 0.038). CXCR4蛋白相对灰度值在N1组明显高于无淋巴结转移的N0组, 差异有统计学意义(P = 0.023), 而明显低于N2+N3组(P = 0.008); 在淋巴管浸润组明显高于无淋巴管浸润组(P = 0.020). CD133蛋白灰度值在N1组、N2+N3组与N0组之间差异有统计学意义(P = 0.04, P = 0.01), N1组与N2+N3组之间无明显差异; 在淋巴管浸润组高于无淋巴管浸润组(P = 0.047).

3 讨论

Bonnte等[12]最早研究发现在白血病中, 存在一特定亚群细胞与正常干细胞相似的具有多能特性的祖细胞, 能够自我更新、无限增殖及多向分化, 并由此提出了TICs理论. 近年来, TICs理论已在多种实体肿瘤相继得到验证[13]. 人AC133抗原也称为CD133, 是PROM1基因编码的5次跨膜糖蛋白, 被认为是包括脑肿瘤、胰腺癌、结肠癌、前列腺癌中陆续得到实验论证[3-6]等多种TICs的标志. 在对KATO-Ⅲ胃印戒细胞癌的研究中发现, $CD133^+$亚群KATO-Ⅲ细胞相对于$CD133^-$亚群具有更强的克隆形成能力、分化能力、裸鼠移植成瘤能力及耐药的潜能, 同时, 后续实验[14]已成功转染并抑制KATO-Ⅲ $CD133^+$胃癌细胞CD133基因的表达, CD133基因表达被抑制以后, 细胞的增殖活性、侵袭和克隆球形成能力显著降低, 由此推测CD133或可作为胃癌TICs的表面标志物之一[11].

SDF-1α/CXCR4轴是由趋化因子SDF-1α与其特异性受体CXCR4相互作用而构成的一个与细胞间信息传递、细胞迁移有密切关系的偶联分子对[15]. 体外实验中, 本研究利用免疫磁珠分选成功分离出以CD133和CXCR4为标志物的不同亚群细胞. 随后, 通过Transwell法检测发现, $CD133^+CXCR4^+$亚群细胞迁移能力显著高于其它亚群, 由此推测$CD133^+CXCR4^+$亚群细胞可能具备高侵袭潜能. 深入地, 通过SDF-1α激活SDF-1α/CXCR4轴后, $CD133^+CXCR4^+$亚群细胞侵袭能力明显上升, 而$CD133^+CXCR4^-$亚群细胞侵袭能力无明显变化.

EMT是指上皮细胞发生形态转变, 变为间质细胞的一个过程[16]. 本课题组前期研究表明CD133可以通过诱导EMT的发生而促进胃癌的侵袭与转移. 通过RT-PCR检测$CD133^+CXCR4^+$与$CD133^+CXCR4^-$两个亚群细胞EMT相关因子mRNA表达发现, 对应于$CD133^+CXCR4^-$亚群, $CD133^+CXCR4^+$亚群细胞上皮标志物E-cadherin表达降低, 而间质标志物N-cadherin和Snail表达升高. 由此推断, $CD133^+CXCR4^+$亚群更倾向于发生EMT现象, 其机制可能是CD133通过CXCR4诱导EMT发生促进胃癌的侵袭和转移.

为了进一步验证$CD133^+$胃癌KATO-Ⅲ细胞中SDF-1α/CXCR4轴与EMT现象之间的关系. 本研究利用SDF-1α或CXCR4特异性抑制剂AMD3100激活或抑制SDF-1α/CXCR4轴, 观察$CD133^+CXCR4^+$与$CD133^+CXCR4^-$两个亚群细胞EMT相关因子的表达变化. 结果发现, 在$CD133^+CXCR4^+$亚群中, 激活或抑制SDF-1α/CXCR4轴能够调控EMT相关因子的表达. 然而, $CD133^+CXCR4^-$亚群中, 激活或抑制SDF-1α/CXCR4轴, EMT相关因子表达无明显变化. TICs理论认为, 因侵袭能力不同, TICs可分为运动型TICs与静止型TICs. 由此, 我们可认为在$CD133^+$胃癌KATO-Ⅲ细胞中, $CD133^+CXCR4^+$亚群细胞属于运动型TICs, 负责侵袭和转移的启动与发生.

总之, $CD133^+CXCR4^+$胃癌细胞可能通过EMT和SDF-1α/CXCR4获得高侵袭能力的一群运动型TICs, 同时, CD133与CXCR4蛋白双阳性与胃癌淋巴结转移正相关.

4 参考文献

1 Jemal A, Tiwari RC, Murray T, Ghafoor A, Samuels A, Ward E, Feuer EJ, Thun MJ. Cancer statistics, 2004. *CA Cancer J Clin* 2004; 54: 8-29 [PMID: 14974761]

2 Scatena R, Bottoni P, Pontoglio A, Giardina B. Cancer stem cells: the development of new cancer therapeutics. *Expert Opin Biol Ther* 2011; 11: 875-892 [PMID: 21463158 DOI: 10.1517/14712598]

3 O'Brien CA, Pollett A, Gallinger S, Dick JE. A human colon cancer cell capable of initiating tumour growth in immunodeficient mice. *Nature* 2007; 445: 106-110 [PMID: 17122772]

4 Rappa G, Fodstad O, Lorico A. The stem cell-associated antigen CD133 (Prominin-1) is a molecular therapeutic target for metastatic melanoma. *Stem Cells* 2008; 26: 3008-3017 [PMID: 18802032 DOI: 10.1634/stemcells.2008-0601]

5 Hermann PC, Huber SL, Herrler T, Aicher A, Ellwart JW, Guba M, Bruns CJ, Heeschen C. Distinct populations of cancer stem cells determine tumor growth and metastatic activity in human pancreatic cancer. *Cell Stem Cell* 2007; 1: 313-323 [PMID: 18371365 DOI: 10.1016/j.stem.2007.06.002]

6 Smith LM, Nesterova A, Ryan MC, Duniho S, Jonas M, Anderson M, Zabinski RF, Sutherland MK, Gerber HP, Van Orden KL, Moore PA, Ruben SM, Carter PJ. CD133/prominin-1 is a potential therapeutic target for antibody-drug conjugates in hepatocellular and gastric cancers. *Br J Cancer* 2008; 99: 100-109 [PMID: 18542072 DOI: 10.1038/sj.bjc.6604437]

7 Sun X, Cheng G, Hao M, Zheng J, Zhou X, Zhang J, Taichman RS, Pienta KJ, Wang J. CXCL12 / CXCR4 / CXCR7 chemokine axis and cancer progression. *Cancer Metastasis Rev* 2010; 29: 709-722 [PMID: 20839032 DOI: 10.1007/s10555-010-9256-x]

8 Zhang SS, Han ZP, Jing YY, Tao SF, Li TJ, Wang H, Wang Y, Li R, Yang Y, Zhao X, Xu XD, Yu ED, Rui YC, Liu HJ, Zhang L, Wei LX. CD133(+)CXCR4(+) colon cancer cells exhibit metastatic potential and predict poor prognosis of patients. *BMC Med* 2012; 10: 85 [PMID: 22871210 DOI: 10.1186/1741-7015-10-85]

9 姜海广, 陆瑞祺, 吴巨钢, 周国才, 俞继卫, 姜波健. 基质细胞源性因子-1α/CXC趋化因子受体-4轴经PI3K/Akt通路对胃癌细胞CD133表达的调控作用. 中华实验外科杂志 2012; 29: 378-380

10 Domanska UM, Timmer-Bosscha H, Nagengast WB, Oude Munnink TH, Kruizinga RC, Ananias HJ, Kliphuis NM, Huls G, De Vries EG, de Jong IJ, Walenkamp AM. CXCR4 inhibition with AMD3100 sensitizes prostate cancer to docetaxel chemotherapy. *Neoplasia* 2012; 14: 709-718 [PMID: 22952424]

11 陆瑞祺, 俞继卫, 吴巨钢, 周国才, 姜海广, 姜波健. 胃癌CD133阳性细胞亚群肿瘤起始细胞样特性的检测. 中华胃肠外科杂志 2012; 15: 174-179

12 Bonnet D, Dick JE. Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell. *Nat Med* 1997; 3: 730-737 [PMID: 9212098]

13 Magee JA, Piskounova E, Morrison SJ. Cancer stem cells: impact, heterogeneity, and uncertainty. *Cancer Cell* 2012; 21: 283-296 [PMID: 22439924 DOI: 10.1016/j.ccr.2012.03.003]

14 王守练, 俞继卫, 蔡成, 陆瑞琪, 吴巨钢, 倪晓春, 姜波健. RNA干扰抑制KATO-III CD133胃癌细胞CD133基因表达及对其生物学特性的影响. 中华胃肠外科杂志2013; 16: 889-894

15 陆瑞祺, 俞继卫, 姜波健. CXCL12(SDF-l)-CXCR4轴在胃癌中作用的研究进展. 中国普通外科杂志 2010; 19: 430-433

16 Chaffer CL, Weinberg RA. A perspective on cancer cell metastasis. *Science* 2011; 331: 1559-1564 [PMID: 21436443 DOI: 10.1126/science.1203543]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2014年5月18日; 22(14): 1984-1991
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

研究快报 RAPID COMMUNICATION

紫草素对人共刺激细胞杀伤胃癌细胞的影响及其机制

郭雪兴, 刘军权, 陈复兴, 吕小婷, 陈永强, 陈剑群

■背景资料
人共刺激细胞是一种由外周血淋巴细胞经7种细胞因子在体外诱导获得的异质群T淋巴细胞, 其为胃癌的新兴治疗方案. 紫草素是一种能抑制胃癌细胞增殖及调控机体免疫功能的中药. 本研究主要探讨紫草素对人共刺激细胞增殖和功能的影响.

郭雪兴, 徐州医学院研究生学院 江苏省徐州市 221000
刘军权, 陈复兴, 吕小婷, 陈永强, 中国人民解放军第九七医院实验科 江苏省徐州市 221000
陈剑群, 徐州医学院附属医院消化内科 江苏省徐州市 221000
郭雪兴, 主要从事消化系肿瘤的研究.
作者贡献分布: 陈剑群确定研究内容并审校文章; 郭雪兴查阅文献、实验操作及撰写文章; 刘军权指导进行CCK8、MTT及LDH实验; 吕小婷指导进行FCM实验; 陈永强指导进行Western blot实验, 陈复兴参与确定研究内容.
通讯作者: 陈剑群, 主任医师, 221000, 江苏省徐州市泉山区环海西路99号, 徐州医学院附属医院消化内科. xyfyzzk@163.com
收稿日期: 2014-03-13 修回日期: 2014-04-03
接受日期: 2014-04-09 在线出版日期: 2014-05-18

Shikonin induces cytotoxicity of co-stimulated human cells to gastric cancer cell lines

Xue-Xing Guo, Jun-Quan Liu, Fu-Xing Chen, Xiao-Ting Lv, Yong-Qiang Chen, Jian-Qun Chen

Xue-Xing Guo, Department of Gastroenterology, Xuzhou Medical College, Xuzhou 221000, Jiangsu Province, China
Jun-Quan Liu, Fu-Xing Chen, Xiao-Ting Lv, Yong-Qiang Chen, Department of Central Laboratory, 97th Hospital of PLA, Xuzhou 221000, Jiangsu Province, China
Jian-Qun Chen, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Xuzhou Medical College, Xuzhou 221000, Jiangsu Province, China
Correspondence to: Jian-Qun Chen, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Xuzhou Medical College, 99 Huanhai West Road, Quanshan District, Xuzhou 221000, Jiangsu Province, China. xyfyzzk@163.com
Received: 2014-03-13 Revised: 2014-04-03
Accepted: 2014-04-09 Published online: 2014-05-18

Abstract

AIM: To observe the effect of shikonin on the growth of co-stimulated human cells and the cytotoxicity of co-stimulated cells to gastric cancer cell lines NCI-N87, BGC-823 and HGC-27, and to explore the underlying mechanisms.

METHODS: Peripheral blood mononuclear cells were separated form healthy volunteers and induced with various cytokines (CD3 mAb, IL-2, IFN-γ, IL-1α, CD28 mAb, IL-15 and IL-21) to result in co-stimulated human cells *in vitro*. After co-stimulated cells were incubated with shikonin of different concentrations for 24, 48 and 72 h and co-cultured with the three gastric cancer cell lines, CCK8 assay was used to assess the proliferation of co-stimulated cells, and MTT assay was used to measure the reduced rate of growth of gastric cancer cells. FCM was used to detect the expression of GraB, PFP, CD107a and IFN-γ on co-stimulated cells before and after shikonin treatment. LDH release assay was used to measure the influence of shikonin on cytotoxic activity of co-stimulated cells to gastric cancer cells. Western blot assay was used to measure β-catenin, P-ERK1/2, Bcl-2 and P-AKT expression in co-stimulated cells before and after shikonin induction.

RESULTS: After incubation with shikonin at concentrations ranging from 0.2 to 50 μg/L for 48 h, the proliferation rate of co-stimulated cells increased significantly ($P < 0.05$). The expression of GraB, PFP, CD107a, IFN-γ, β-catenin, P-ERK1/2, Bcl-2 and P-AKT on co-stimulated cells treated with shikonin at concentrations from 6 to 25 μg/L were significantly higher than that in the control group ($P < 005$). In addition, the cytotoxic activity of co-stimulated cells treated with shikonin against the three gastric cancer cell lines were significantly higher than that in the control group ($P < 0.05$).

CONCLUSION: These results suggest that shikonin can promote the growth of co-stimulated cells and increase the cytotoxic activity of co-stimulated cells against gastric cancer cells *via* mechanisms possibly associated with enhancing the activity of β-catenin, P-ERK1/2, Bcl-2 and P-AKT expression and increasing the expression of PFP, GraB, CD107a and IFN-γ.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Shikonin; Gastric cancer cells; Co-stimulated cells; Cytotoxic activity

Guo XX, Liu JQ, Chen FX, Lv XT, Chen YQ, Chen JQ. Shikonin induces cytotoxicity of co-stimulated human cells to gastric cancer cell lines. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(14): 1984-1991 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1984.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i14.1984

■同行评议者
徐灿霞, 教授, 主任医师, 中南大学湘雅三医院消化内科; 郑鹏远, 教授, 主任医师, 河南省郑州市, 郑州大学第二附属医院消化科

摘要

目的: 观察紫草素作用前后对人共刺激细胞的增殖及对胃癌细胞NCI-N87、BGC-823、HGC-27杀伤活性的影响, 并探讨其作用机制.

方法: 分离健康者外周血单个核细胞, 在体外经CD3单克隆抗体(CD3 monoclon antibody, CD3 mAb)、白介素2(interleukin-2, IL-2)、干扰素γ(interferon-γ, IFN-γ)、白介素1α(interleukin-1α, IL-1α)、CD28 mAb、IL-15和IL-21共同诱导为人共刺激细胞, 予不同浓度紫草素诱导人共刺激细胞和3株胃癌细胞24、48、72 h后, 水溶性四唑盐(cell counting kit-8, CCK8)法检测人共刺激细胞增殖率, 四甲基偶氮唑蓝(colorimetric methyl thiazolyl tetrazolium, MTT)法检测胃癌细胞的抑制率, 流式细胞术(flow cytometry, FCM)检测人共刺激细胞颗粒酶B(granzyme B, GraB)、穿孔素(perforin, PFP)、CD107a、IFN-γ的表达, Western blot检测人共刺激细胞β-catenin、P-ERK1/2、P-AKT和Bcl-2的表达, 乳酸脱氢酶释放法(lactate dehydrogenase, LDH)检测紫草素对人共刺激细胞杀伤3株胃癌细胞的活性影响.

结果: 经紫草素诱导48 h后, 人共刺激细胞0.2-50 μg/L浓度组增殖明显(P<0.05), 6-25 μg/L浓度组GraB、PFP、CD107a、IFN-γ和β-catenin、p-ERK1/2、Bcl-2、P-AKT的表达显著高于对照组(P<0.05), 且对NCI-N87、BGC-823、HGC-27的杀伤活性较对照组增强(P<0.05).

结论: 紫草素在一定浓度范围内能够促进人共刺激细胞增殖, 并增强其对胃癌细胞NCI-N87、BGC-823、HGC-27的杀伤活性, 其机制可能与活化β-catenin、P-ERK1/2、Bcl-2、P-AKT和PFP、GraB、CD107a、IFN-γ的表达有关.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 紫草素; 胃癌细胞; 人共刺激细胞; 杀伤活性

核心提示: 紫草素在一定浓度范围内能促进人共刺激细胞增殖并提高其杀伤活性, 其可能机制为紫草素能激活β-catenin、磷酸化细胞外信号调节激酶1/2、Bcl-2和P-AKT信号通路促进人共刺激细胞增殖, 提高人共刺激细胞颗粒酶B(granzyme B)、穿孔素(perforin)、CD107a和干扰素γ(interferon-γ)表达促进人共刺激细胞对胃癌细胞的杀伤活性.

郭雪兴, 刘军权, 陈复兴, 吕小婷, 陈永强, 陈剑群. 紫草素对人共刺激细胞杀伤胃癌细胞的影响及其机制. 世界华人消化杂志 2014; 22(14): 1984-1991 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1984.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i14.1984

■**研发前沿**
如何获得足够数量并具有高细胞毒活性的效应细胞已成为人共刺激细胞治疗成功的关键. 紫草素具有抗炎、抗氧化、抗肿瘤等多种药理活性. 同时紫草素能提高淋巴细胞活性. 本研究主要为进一步提高人共刺激细胞的治疗效果提供参考.

0 引言

胃癌是消化系最常见恶性肿瘤之一, 其发病率居世界第4位, 在全球肿瘤致死原因中排名第2位[1]. 胃癌的常规治疗方法有手术、化疗、放疗等, 但其均会对机体造成不同程度的组织损伤和免疫功能减退[2]. 肿瘤过继细胞免疫治疗被认为是对肿瘤具有确切效果的又一治疗方法, 其主要是利用肿瘤患者的自身免疫细胞来治疗肿瘤[3]. 人共刺激细胞是肿瘤过继细胞免疫治疗中的一种效应细胞, 其是在常规细胞因子诱导的杀伤细胞(cytokine-induced killer cells, CIK)培养体系中增加刺激因子CD28单克隆抗体(CD28 monoclon antibody, CD28 mAb)、白介素15(interleukin-15, IL-15)和IL-21后获得的以$CD3^+CD56^+$为功能特征的异质群T淋巴细胞, 其增殖能力、细胞因子分泌和杀伤活性明显提高[4]. 如何获得足够数量并具有高细胞毒活性的效应细胞已成为人共刺激细胞治疗成功的关键[5]. 紫草素(shikonin)是一种从中药紫草中的提取的萘醌类化合物, 具有抗炎、抗氧化、抗肿瘤等多种药理活性[6]. 紫草素能明显抑制人胃癌细胞增殖[7]. 同时其也能调控机体的免疫功能, 例如提高免疫细胞活性, 促进淋巴细胞转化, 保护免疫器官和免疫功能免受肿瘤损伤[8]. 本研究主要探讨紫草素作用前后人共刺激细胞增殖和功能的变化, 为进一步提高人共刺激细胞的治疗效果提供参考.

1 材料和方法

1.1 材料 紫草素(Sigma公司); 人胃癌HGC-27、BGC-823细胞株(上海细胞研究所), NCI-N87细胞株(昆明细胞研究所); IL-15和IL-21(R&D公司); CD3(上海免疫研究所); CD28 mAb(苏州大学生物技术研究所); FITC和PerCP标记的抗人CD3、PE标记的穿孔素(perforin, PFP)、颗粒酶B(granzyme B, GraB)和APC标记的CD107a抗体购自杭州联科生物公司; 干扰素γ(interferon-γ, IFN-γ)试剂盒(Abender公司); 乳酸脱氢酶释放法(lactate dehydrogenase, LDH)试剂盒(日本世诺临床诊断制品株式会社); 鼠抗人β-catenin、磷酸化细胞外信号调节激酶(phosphorylated extracellular signal regulated kinase, p-ERK1/2), 兔抗人

■相关报道
既往研究发现紫草素对胃癌细胞SGC-7901的抑制率呈剂量和浓度依赖性. 刘军权等体外研究发现人共刺激细胞对能明显抑制SGC-7901、SW-1990和SW-1116细胞的增殖. 本研究主要应用紫草素对人共刺激细胞杀伤3株不同分化胃癌细胞影响机制.

Bcl-2和P-AKT抗体(CST公司); Encore生化分析仪(北京希亚克技术有限公司); FACS Caliber流式细胞仪(BD公司); ST-360酶标仪(上海科华实验系统有限公司).

1.2 方法

1.2.1 人共刺激细胞的培养: 取健康者外周血100 mL, 淋巴细胞分离液分离得到单个核细胞, RPMI 1640培养液(含IFN-γ 2×10^6 U/L、10%小牛血清、5%人AB血清)调整细胞数为5×10^8/L, 接种于6孔板, 置37 ℃、5%CO_2培养箱中培养24 h后收集细胞, 用RPMI 1640完全培养液(含10%小牛血清、5%人AB血清、IL-1α 10 μg/L、IL-2 5×10^4 U/L、CD3 mAb 1 mg/L、IL-15 20 μg/L、IL-21 10 μg/L和CD28 mAb 10 mg/L)调整细胞数为5×10^8/L, 接种于6孔板, 于37 ℃、5%CO_2培养箱中培养, 每2天换培养基(含IL-15、IL-21、CD28)1次.

1.2.2 CCK8法检测紫草素对人共刺激细胞生长的影响: 收集培养10 d的人共刺激细胞, 1×10^8/L细胞数接种于96孔板, 200 μL/孔, 加入紫草素(终浓度为0、0.1、0.2、0.4、0.8、1.6、3、6、12.5、25、50、100、200、400 μg/L), 孵育24、48、72 h后, 每孔加入CCK8 10 μL, 37 ℃孵育4 h后, 于酶标仪450 nm处检测各孔吸光度(*A*)值. 重复3次. 增殖率 = (实验*A*值-对照*A*值)/(对照*A*值)×100%.

1.2.3 MTT法检测紫草素对3株胃癌细胞生长的影响: HGC-27、BGC-823、NCI-N87分别以1×10^7、2×10^8、5×10^7/L细胞数分别接种于96孔板, 200 μL/孔, 加入紫草素(浓度分别为为0、0.1、0.2、0.4、0.8、1.6、3、6、12.5、25、50、100、200、400 μg/L), 孵育24、48、72 h后, 每孔加MTT 20 μL, 37 ℃孵育4 h后弃上清, 每孔加入DMSO 150 μL, 沉淀产物溶解后于酶标仪450 nm处检测各孔*A*值. 抑制率(%) = (对照*A*值-实验*A*值)/(对照*A*)×100%.

1.2.4 FCM检测紫草素对人共刺激细胞中CD107a、GraB、PFP和IFN-γ表达的影响: 取经紫草素(终浓度分别为0、0.4、1.6、6、25、100 μg/L)诱导48 h后的人共刺激细胞, 调整细胞数至1×10^7/L, 取100 μL细胞悬液, 加入PerCP-Cy5.5标记的CD3抗体和FITC标记的CD56抗体各20 μL, 室温避光孵育30 min; (1)用于检测CD107a的管加入APC标记的鼠抗人anti-CD107a 5 μL; (2)用于检测GraB、PFP和IFN-γ的管, 加入100 μL破膜剂A, 室温避光孵育15 min, 加入100 μL破膜剂B, 同时分别在试管中加入anti-GraB-PE、anti-PFP-PE 和anti-IFN-γ-APC各5 μL; 均设置同型对照抗体管, 共同孵育15 min, 流式细胞术(flow cytometry, FCM)检测CD107a、GraB、PFP和IFN-γ的含量.

1.2.5 LDH释放法检测人共刺激细胞杀伤活性: 收集培养10 d的人共刺激细胞, 2×10^9/L细胞数加入6孔板, 3 mL/孔, 加人紫草素(终浓度分别为0、0.4、1.6、6、25、100 μg/L), 培养48 h, 收集人共刺激细胞作为效应细胞. 取HGC-27、BGC-823和NCI-N87细胞配成2×10^8/L细胞悬液为靶细胞, 将效靶细胞等量混合, 置37 ℃、5%CO_2培养箱中孵育6 h后混合, 取上清, 按LDH试剂盒说明书要求操作, 在生化分析仪340 nm处测定*A*值. 杀伤活性(%) = (*A*实验组-*A*效应细胞自然释放组)/(*A*靶细胞最大释放组-*A*靶细胞自然释组)×100%.

1.2.6 Western-blot检测紫草素作用前后人共刺激细胞β-catenin、P-ERK1/2、P-AKT和Bcl-2的表达: 取培养10 d的人共刺激细胞, 5×10^8/L细胞数接种于6孔板, 3 mL/孔, 加入紫草素(终浓度分别为0、0.4、1.6、6、25、100 μg/L), 培养48 h后, 收集人共刺激细胞, 提取蛋白, BCA法测蛋白浓度, 每管加入蛋白处理液30 mL, 煮沸5 min, 按每泳道蛋白样品40 μg加入SDS-PAGE样品孔内, 电泳后半干电转移至硝酸纤维膜上, 一抗、二抗孵育及显色、扫描条带, Imagel软件分析灰度值.

统计学处理 采用软件SPSS13.0进行统计学处理, 计量资料采用mean±SD表示, 多组间采用单因素方差分析(One-way ANOVA). $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 人共刺激细胞的培养 培养前, PBMC中$CD3^+CD56^+$T细胞比例<4%, 培养10 d后$CD3^+CD56^+$T细胞比例增至42.31%, 倒置显微镜观察培养第10天的人共刺激细胞形态如图1A, FCM检测人共刺激细胞表型$CD3^+CD56^+$表达如图1B.

2.2 CCK-8检测结果 与对照组比较, 浓度为0.4-50 μg/L的紫草素诱导人共刺激细胞24、48、72 h后, 人共刺激细胞增殖明显($P<0.05$); 相同浓度的紫草素作用后, 48 h时人共刺激细胞增殖达最高峰, 与24、72 h组比较有统计学意义

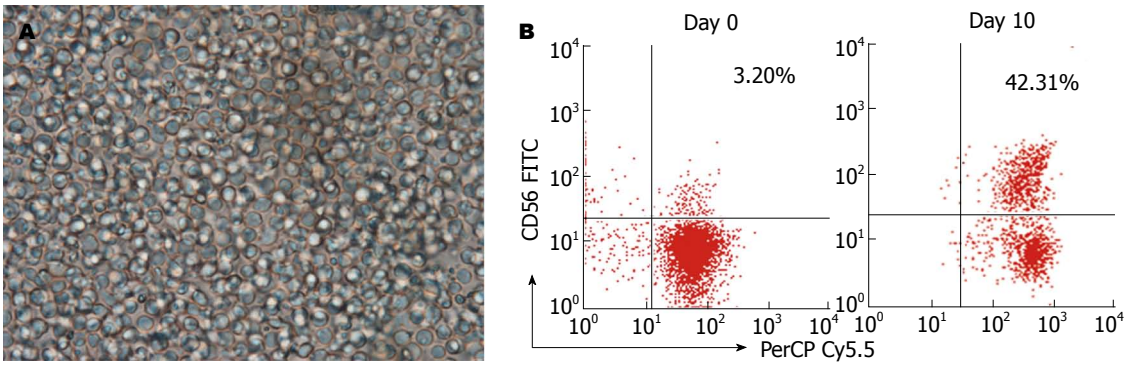


图 1 人共刺激细胞的培养. A: 培养10 d的人共刺激细胞(×400); B: 扩增前和扩增10 d后人共刺激细胞FCM分析.

■创新盘点
本文首先研究紫草素对人共刺激细胞增值率的影响, 后探讨紫草素促进人共刺激细胞增殖及增强人共刺激细胞对高分化胃癌细胞NCI-N87, 低分化胃癌细胞BGC-823和未分化胃癌细胞HGC-27杀伤活性的影响, 此研究国内外尚未见报道.

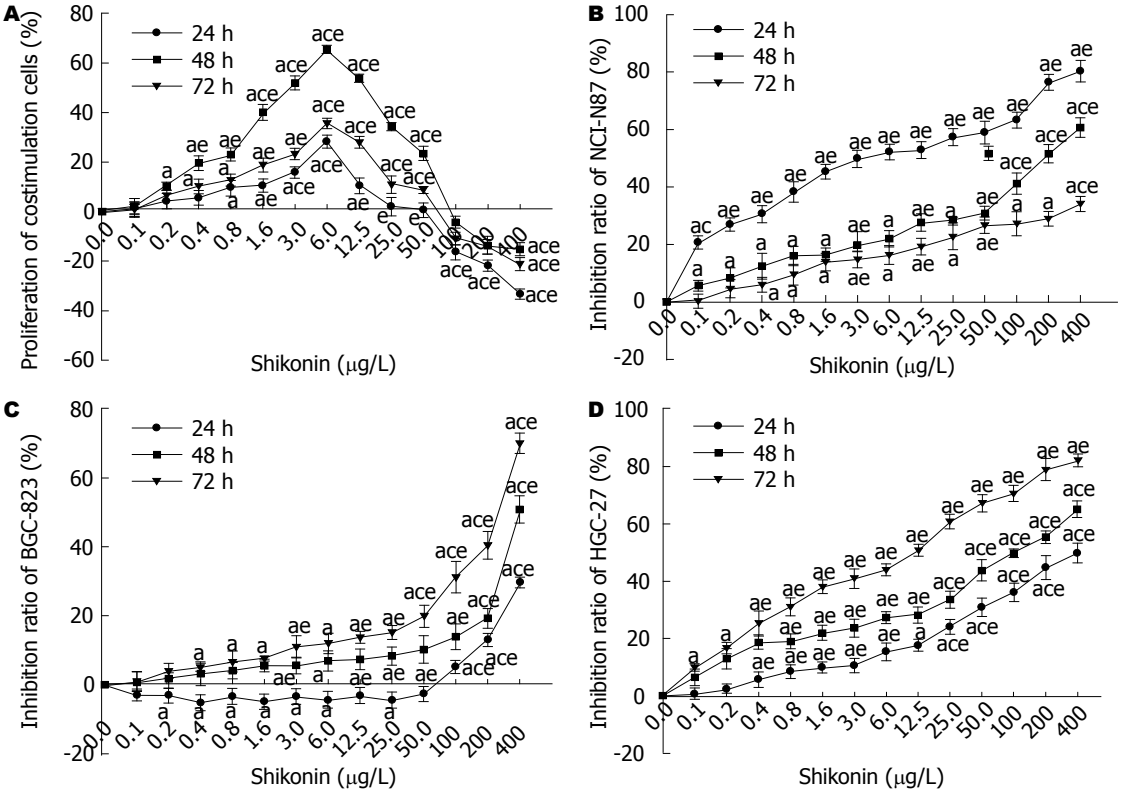


图 2 紫草素对人共刺激细胞增殖率及胃癌细胞抑制率的影响. A: 紫草素对人共刺激细胞增值率的影响; B: 紫草素对NCI-N87抑制率的影响; C: 紫草素对BGC-823抑制率的影响; D: 紫草素对HGC-27抑制率的影响; $^{a}P<0.05$ *vs* 对照组; 时间相同时, $^{c}P<0.05$ *vs* 其他浓度组; 浓度相同时, $^{c}P<0.05$ *vs* 其他时间组.

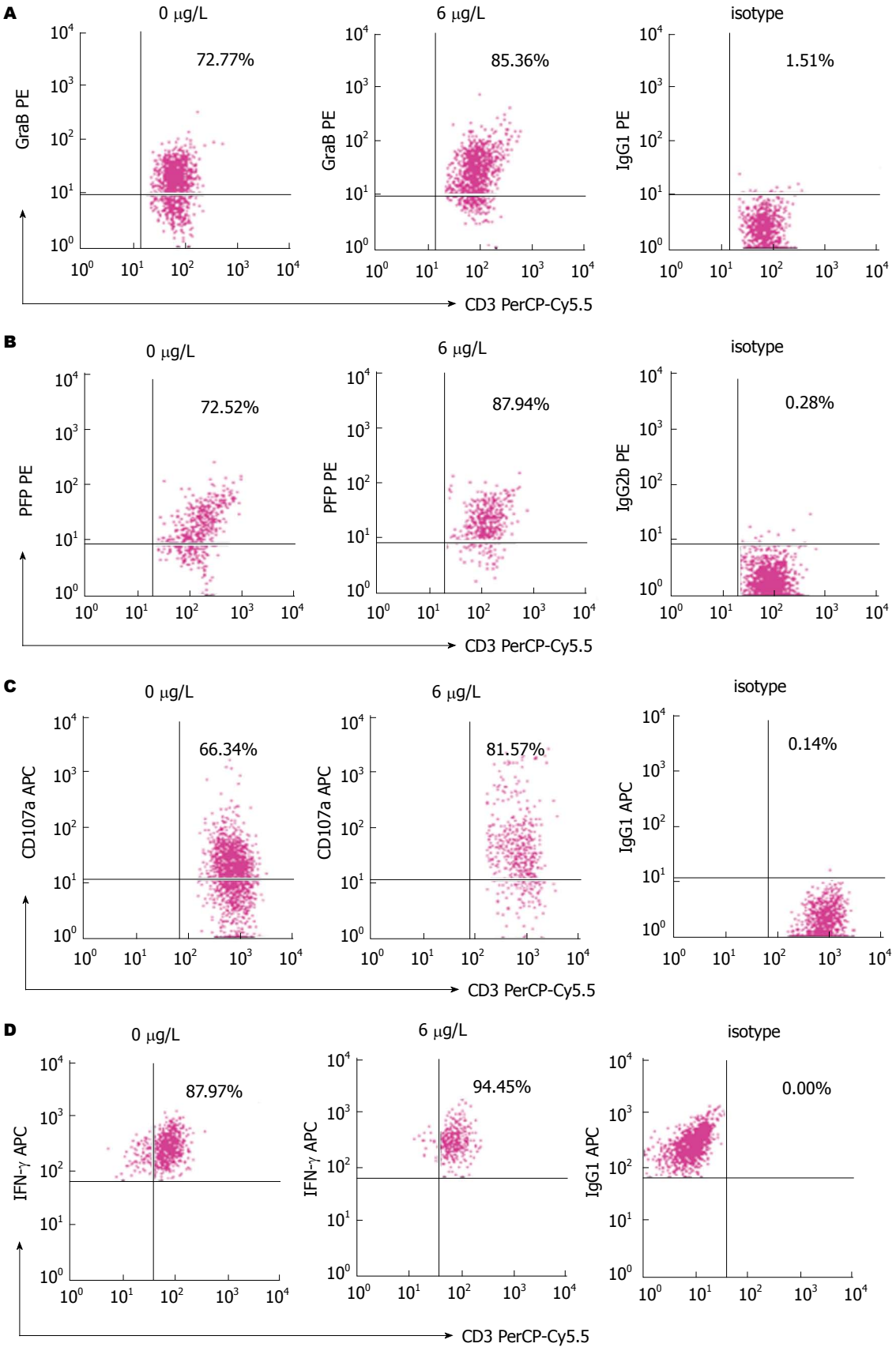
($P<0.05$); 紫草素浓度为100-400 μg/L时, 人共刺激细胞增殖率为负值($P<0.05$), 提示高浓度紫草素对人共刺激细胞具有杀伤作用, 可能为高浓度的紫草素产生的细胞毒作用所致(图2A).

2.3 MTT检测 与对照组比较, 0.4-400 μg/L的紫草素对NCI-N87抑制明显($P<0.05$), 且NCI-N87细胞的生长抑制率均随紫草素浓度增加而上升, 呈剂量依赖性; 紫草素浓度相同时, NCI-N87细胞生长抑制率24 h组达最高峰, 与48、72 h组比较, 均有显著差异($P<0.05$), 结果如图2B. 紫草素浓度为100-400 μg/L时, 紫草素对BGC-823细胞抑制明显($P<0.05$), 紫草素浓度相同时, BGC-823细胞生长抑制率72 h组达最高峰, 与24、48 h组比较, 均有显著差异($P<0.05$)(图2C). 与对照组比较, 0.8-400 μg/L的紫草素对HGC-27抑制明显($P<0.05$), 且HGC-27细胞的生长抑制率均随紫草素浓度增加而上升; 紫草素浓度相同时, HGC-27细胞生长抑制率72 h组达最高峰, 与24、48 h组比较, 均有显著差异($P<0.05$)(图2D).

2.3 FCM检测 紫草素与人共刺激细胞共培养48 h后, 人共刺激细胞GraB、PFP、CD107a和IFN-γ的表达不同程度升高, 且6和25 μg/L浓度

■应用要点

此研究为培养细胞毒性更强和安全性更高的人共刺激细胞提供了新的思路. 但此研究局限于体外实验, 如何使人共刺激细胞在体内持续发挥作用和引起体内的肿瘤免疫记忆并激发新一轮抗肿瘤免疫反应, 仍需进一步研究.



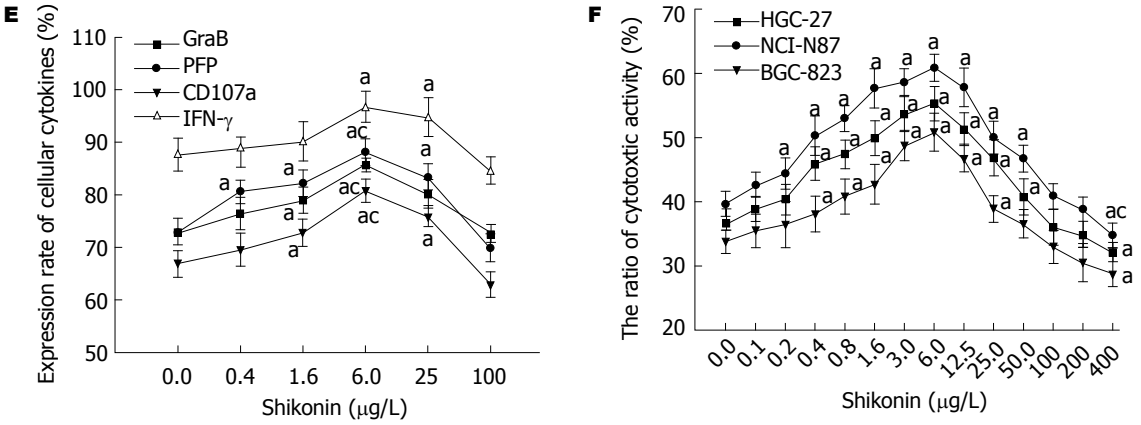


图 3 紫草素对人共刺激细胞功能的影响. A: 紫草素作用48 h后, 人共刺激细胞GraB表达的FCM结果; B: 紫草素作用48 h后, 人共刺激细胞PFP表达的FCM结果; C: 紫草素作用48 h后, 人共刺激细胞CD107a表达的FCM结果; D: 紫草素作用48 h后, 人共刺激细胞IFN-γ表达的FCM结果; E: 紫草素作用48 h后, 各组人共刺激细胞GraB、PFP、CD107a及IFN-γ表达的FCM结果的折线图; F: 紫草素作用人共刺激细胞48 h后, 对胃癌细胞NCI-N87、BGC-823、HGC-27杀伤活性的变化; $^{a}P<0.05$ *vs* 对照组, $^{c}P<0.05$ *vs* 其他浓度组.

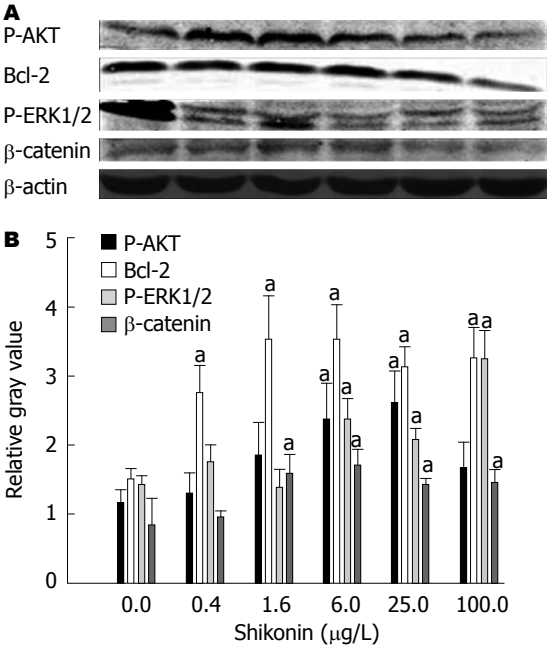


图 4 紫草素作用人共刺激细胞48 h后的蛋白表达. A: 不同浓度紫草素作用人共刺激细胞48 h后的蛋白条带图; B: 紫草素作用后人共刺激细胞β-catenin、P-ERK1/2、Bcl-2和P-AKT灰度值比较, $^{a}P<0.05$ *vs* 对照组.

组与对照组比较均有统计学意义($P<0.05$); 各实验组中, 6 μg/L组GraB、PFP和CD107a的表达最高, 与其他浓度组相比有统计学差别($P<0.05$)(图3E).

2.4 杀伤活性检测 经不同浓度紫草素作用48 h后, 人共刺激细胞对胃癌细胞NCI-N87、BGC-823和HGC-27的杀伤活性随着药物浓度的增加逐渐增强, 浓度在6 μg/L时杀伤活性达最高峰, 分别为55.30%、50.82%、60.86%, 0.4-25 μg/L, 与对照组比较, 差异显著($P<0.05$)(图3F).

2.5 Western blot检测 不同浓度紫草素作用48 h后, 人共刺激细胞中β-catenin、P-ERK1/2、Bcl-2和P-AKT蛋白的表达不同程度增高, 紫草素1.6-100 μg/L时β-catenin的表达高于对照组($P<0.05$); 紫草素6-100 μg/L时P-ERK1/2的表达高于对照组($P<0.05$), 且100 μg/L时P-ERK1/2表达最高; 紫草素0.4-100 μg/L时Bcl-2的表达高于对照组($P<0.05$); 6-25 μg/L时P-AKT的表达高于对照组($P<0.05$)(图4).

3 讨论

人共刺激细胞是PBMC在体外经多种细胞因子CD3 mAb、IL-2、IFN-γ、IL-1α、CD28 mAb、IL-15和IL-21诱导10 d后而获得的免疫效应细胞. 因CD3 mAb、IL-2、IFN-γ、IL-1α、CD28 mAb、IL-15和IL-21可以介导T细胞的增殖, 促进T细胞的活化及增强细胞毒活性, 并促其分泌IFN-γ及TNF-α等细胞因子, 所以人共刺激细胞的增殖率和细胞毒活性较CIK细胞明显提高[9]. Liu等[10]体外研究发现人共刺激细胞对能明显抑制SGC-7901、SW-1990和SW-1116细胞的增殖, 此细胞毒活性主要来源于$CD3^{+}CD56^{+}$T细胞比例较CIK细胞明显增高[11]. 本实验发现0.2-50 μg/L紫草素作用人共刺激细胞48 h后能明显促进其增殖, 增强人共刺激细胞对胃癌细胞的杀伤活性.

PFP和GraB是活化的T细胞和自然杀伤(natural killer, NK)细胞发挥细胞毒性作用的主要效应分子, 并协同发挥杀伤靶细胞的细胞毒

同行评价
本文具有一定指导意义.

性作用[12]. PFP在靶细胞膜上聚合形成活性孔道, 在靶细胞膜内外形成明显的渗透压反差, 导致靶细胞胀裂而死; GraB也可通过此PFP形成的孔道进入靶细胞, 导致靶细胞凋亡[13]. T细胞表面的CD107a分子, 与T细胞活化以后脱颗粒过程相关, 其比值可以直接反应该效应细胞具有的特异性杀伤活性[14]. IFN-γ可增强NK细胞、巨噬细胞和T淋巴细胞的活力, 促进其分泌各种细胞因子从而起到免疫调节作用, 并增强抗肿瘤能力[15]. 本研究发现紫草素促进人共刺激细胞GraB、PFP、CD107a和IFN-γ的表达并提高其对胃癌细胞的杀伤活性, 此印证了既往研究紫草素能通过免疫调节途径抗肿瘤理论[16]. 紫草素6-25 μg/L时人共刺激细胞的GraB、PFP、CD107a和IFN-γ表达均有不同程度的增加, 其杀伤活性在此范围内明显增强, 紫草素浓度为6 μg/L时达最大值, 与人共刺激细胞对胃癌细胞的杀伤结果相一致.

研究发现ERK1/2信号通路的激活能促进T淋巴细胞的活化、增殖并抑制其凋亡, 并促进IL-2生成[17]. 本研究发现, 紫草素促进人共刺激细胞P-ERK1/2的表达, 且100 μg/L时P-ERK1/2表达最高, 而此浓度紫草素抑制人共刺激细胞增殖, 这与ERK瞬态活化促进细胞增殖、持续活化促进细胞凋亡的理论一致[18]. 近来研究发现, Wnt/β-catenin信号通路在T细胞的增殖、分化、成熟等方面起着重要作用[19]. PI3K/Akt信号传递途径是T细胞最为重要的信号转导途径之一, 其功能主要表现为与CD28协同刺激信号一道促进T细胞活化; 调节周期蛋白和促T细胞增殖因子等表达使T细胞周期正常进行; 通过调控凋亡信号转导相关激酶活性和凋亡调控因子表达以拮抗P53、Fas等诱导的T细胞凋亡以等[20]. 在细胞凋亡过程中, Bcl-2是细胞死亡的负调因子, 其高表达能促进T细胞的增殖及活化. β-catenin的活化激活ERK分子, 进而上调抗凋亡分子Bcl-2的表达, 促进免疫细胞的存活, 从而控制自身免疫应答反应[21]. 鉴于β-catenin、P-ERK1/2、Bcl-2、P-AKT表达与免疫细胞增殖及活化的重要作用, 本研究发现紫草素能不同程度提高人共刺激细胞β-catenin、P-ERK1/2、Bcl-2、P-AKT的表达, 并且相同浓度范围下对人共刺激细胞的增殖及杀伤活性有明显的促进作用, 因此可以推断紫草素对人共刺激细胞的增殖和活化作用可能与激活β-catenin、P-ERK1/2、Bcl-2、P-AKT信号通路有关.

总之, 紫草素能促进人共刺激细胞增殖并提高其杀伤活性, 其可能机制为紫草素能激活β-catenin、P-ERK1/2、Bcl-2和P-AKT信号通路促进人共刺激细胞增殖, 提高GraB、PFP、CD107a和IFN-γ表达促进人共刺激细胞对胃癌细胞的杀伤活性, 此为培养细胞毒性更强和安全性更高的免疫活性细胞提供了新的思路.

4 参考文献

1 Yang Q, Jie Z, Cao H, Greenlee AR, Yang C, Zou F, Jiang Y. Low-level expression of let-7a in gastric cancer and its involvement in tumorigenesis by targeting RAB40C. *Carcinogenesis* 2011; 32: 713-722 [PMID: 21349817 DOI: 10.1093/carcin/bgr035]

2 Li XD, Xu B, Wu J, Ji M, Xu BH, Jiang JT, Wu CP. Review of Chinese clinical trials on CIK cell treatment for malignancies. *Clin Transl Oncol* 2012; 14: 102-108 [PMID: 22301398 DOI: 10.1007/s12094-012-0768-4]

3 Ma Y, Xu YC, Tang L, Zhang Z, Wang J, Wang HX. Cytokine-induced killer (CIK) cell therapy for patients with hepatocellular carcinoma: efficacy and safety. *Exp Hematol Oncol* 2012; 1: 11 [PMID: 23210562 DOI: 10.1186/2162-3619-1-11]

4 Tumeh PC, Koya RC, Chodon T, Graham NA, Graeber TG, Comin-Anduix B, Ribas A. The impact of ex vivo clinical grade activation protocols on human T-cell phenotype and function for the generation of genetically modified cells for adoptive cell transfer therapy. *J Immunother* 2010; 33: 759-768 [PMID: 20842061 DOI: 10.1097/CJI.0b013e3181f1d644]

5 Shi L, Zhou Q, Wu J, Ji M, Li G, Jiang J, Wu C. Efficacy of adjuvant immunotherapy with cytokine-induced killer cells in patients with locally advanced gastric cancer. *Cancer Immunol Immunother* 2012; 61: 2251-2259 [PMID: 22674056 DOI: 10.1007/s00262-012-1289-2]

6 Wang R, Yin R, Zhou W, Xu D, Li S. Shikonin and its derivatives: a patent review. *Expert Opin Ther Pat* 2012; 22: 977-997 [PMID: 22834677 DOI: 10.1517/13543776.2012.709237]

7 Wang HB, Ma XQ. [Mechanisms of (2-methyl-n-butyl) shikonin induced apoptosis of gastric cancer SGC-7901 cells]. *Yaoxue Xuebao* 2012; 47: 816-821 [PMID: 22919733]

8 Long S, Guang ZY, Bao JG, Wei X, Yan YH, YingLi W, Yang Z, Li HL. Shikonin derivatives protect immune organs from damage and promote immune responses in vivo in tumour-bearing mice. *Phytother Res* 2012; 26: 26-33 [PMID: 21538626 DOI: 10.1002/ptr.3503]

9 Ramanathan S, Dubois S, Chen XL, Leblanc C, Ohashi PS, Ilangumaran S. Exposure to IL-15 and IL-21 enables autoreactive CD8 T cells to respond to weak antigens and cause disease in a mouse model of autoimmune diabetes. *J Immunol* 2011; 186: 5131-5141 [PMID: 21430227 DOI: 10.4049/jimmunol.1001221]

10 Liu JQ, Zhu Y, Chen FX, Zhang NZ, Lv XT, Zhou ZH, Zhang J, Zhang S, Tao ZZ, Li Y. [Co-stimulation of multiple activating factors on proliferation and

phenotype of T lymphocytes in peripheral blood in vitro]. *Xibao Yu Fenzianyixue Zazhi* 2012; 28: 367-370 [PMID: 22482405]
11 Pievani A, Borleri G, Pende D, Moretta L, Rambaldi A, Golay J, Introna M. Dual-functional capability of CD3+CD56+ CIK cells, a T-cell subset that acquires NK function and retains TCR-mediated specific cytotoxicity. *Blood* 2011; 118: 3301-3310 [PMID: 21821703 DOI: 10.1182/blood-2011-02-336321]
12 Saito S, Murakoshi K, Kotake S, Kamatani N, Tomatsu T. Granzyme B induces apoptosis of chondrocytes with natural killer cell-like cytotoxicity in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2008; 35: 1932-1943 [PMID: 18785318]
13 Brown DM, Lee S, Garcia-Hernandez Mde L, Swain SL. Multifunctional CD4 cells expressing gamma interferon and perforin mediate protection against lethal influenza virus infection. *J Virol* 2012; 86: 6792-6803 [PMID: 22491469 DOI: 10.1128/JVI.07172-11]
14 Parkinson-Lawrence EJ, Dean CJ, Chang M, Hopwood JJ, Meikle PJ, Brooks DA. Immunochemical analysis of CD107a (LAMP-1). *Cell Immunol* 2005; 236: 161-166 [PMID: 16168398]
15 Becker C, Lienenklaus S, Jablonska J, Bauer H, Weiss S. CD8(+) T cells armed with retrovirally transduced IFN-gamma. *J Mol Med* (Berl) 2007; 85: 63-73 [PMID: 17109130]
16 Chen HM, Wang PH, Chen SS, Wen CC, Chen YH, Yang WC, Yang NS. Shikonin induces immunogenic cell death in tumor cells and enhances dendritic cell-based cancer vaccine. *Cancer Immunol Immunother* 2012; 61: 1989-2002 [PMID: 22527248 DOI: 10.1007/s00262-012-1258-9]
17 Raman M, Chen W, Cobb MH. Differential regulation and properties of MAPKs. *Oncogene* 2007; 26: 3100-3112 [PMID: 17496909]
18 Norambuena A, Metz C, Vicuña L, Silva A, Pardo E, Oyanadel C, Massardo L, González A, Soza A. Galectin-8 induces apoptosis in Jurkat T cells by phosphatidic acid-mediated ERK1/2 activation supported by protein kinase A down-regulation. *J Biol Chem* 2009; 284: 12670-12679 [PMID: 19276072 DOI: 10.1074/jbc.M808949200]
19 Gattinoni L, Ji Y, Restifo NP. Wnt/beta-catenin signaling in T-cell immunity and cancer immunotherapy. *Clin Cancer Res* 2010; 16: 4695-4701 [PMID: 20688898 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-10-0356]
20 Wang X, Hao J, Metzger DL, Ao Z, Chen L, Ou D, Verchere CB, Mui A, Warnock GL. B7-H4 Treatment of T Cells Inhibits ERK, JNK, p38, and AKT Activation. *PLoS One* 2012; 7: e28232 [PMID: 22238573 DOI: 10.1371/journal.pone.0028232.]
21 Charo J, Finkelstein SE, Grewal N, Restifo NP, Robbins PF, Rosenberg SA. Bcl-2 overexpression enhances tumor-specific T-cell survival. *Cancer Res* 2005; 65: 2001-2008 [PMID: 15753400]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com
世界华人消化杂志 2014年5月18日; 22(14): 1992-1997
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

研究快报 RAPID COMMUNICATION

LNAzyme设计及其体外特异性抑制丙型肝炎病毒C基因的表达

邓益斌, 农乐根, 梁祚仁, 张 梁, 覃羽华, 何 平

■背景资料
反义核酸技术, 包括反义寡核苷酸、反义寡聚脱氧核苷酸、核酶等技术, 其中, 核酶技术又包括核酶和脱氧核酶技术, 已被证实是研究、治疗病毒感染性疾病、遗传性疾病、恶性肿瘤等多种疾病的有效手段之一, 主要通过针对在疾病发生、发展过程中发挥重要作用的生长因子、受体、关键酶、原癌基因、抑癌基因或凋亡相关基因, 通过导入外源治疗基因(DNA、RNA、核酶等)短序列, 特异性识别、结合、封闭或调控其功能及产物表达, 从而达到治疗目的.

邓益斌, 农乐根, 梁祚仁, 张梁, 覃羽化, 何平, 右江民族医学院附属医院医学检验中心 广西壮族自治区百色市533000
邓益斌, 副教授, 医学博士, 主要从事基因诊断与治疗的研究.
广西自然科学基金资助项目, No. 2011GXNSFA018285
作者贡献分布: 该研究实验及锁核酸核酶分子设计由邓益斌完成; 研究经费来源于邓益斌主持的广西自然科学基金项目; 细胞培养及锁核酸核酶转染由张梁完成; 病毒核酸检测由梁祚仁完成; 病毒荧光素酶基因表达检测由覃羽华完成; 锁核酸核酶细胞毒性检测由何平完成; 数据分析及论文撰写由邓益斌完成; 农乐根提出修改意见.
通讯作者: 邓益斌, 副教授, 医学博士, 533000, 广西壮族自治区百色市右江区中山二路18号, 右江民族医学院附属医院医学检验中心. enbin0776@sina.com
电话: 0776-2852592
收稿日期: 2014-02-22 修回日期: 2014-03-20
接受日期: 2014-04-04 在线出版日期: 2014-05-18

Hepatitis C virus gene-specific locked nucleic acid enzyme significantly inhibits C gene expression *in vitro*

Yi-Bin Deng, Le-Gen Nong, Zuo-Ren Liang, Liang Zhang, Yu-Hua Qin, Ping He

Yi-Bin Deng, Le-Gen Nong, Zuo-Ren Liang, Liang Zhang, Yu-Hua Qin, Ping He, Center for Medical Laboratory Science, the Affiliated Hospital of Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China
Supported by: Guangxi Natural Science Foundation of China, No. 2011GXNSFA018285
Correspondence to: Yi-Bin Deng, Associate Professor, Center for Medical Laboratory Science, the Affiliated Hospital of Youjiang Medical College for Nationalities, 18 Zhongshan Second Road, Youjiang District, Baise 533000, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. enbin0776@sina.com
Received: 2014-02-22 Revised: 2014-03-20
Accepted: 2014-04-04 Published online: 2014-05-18

Abstract

AIM: To investigate the inhibitory effects of locked nucleic acid enzyme targeting the hepatitis C virus (HCV) C gene on HCV RNA replication and expression in HepG2.9706 cells.

METHODS: The sequences encoding DNAzyme, thiolmodificated DNAzyme and LNAzyme targeting the HCV C gene were designed and synthesized. The following experimental groups were set up: lipo-DNAzyme, lipo-S-DNAzyme, lipo-LNAzyme, blank control, empty liposomes, and lipo-random-LNAzyme. Transfection was performed using cationic liposomes. The level of HCV RNA and luciferase gene expression in supernatants were tested by real-time fluorescent quantitative PCR and chemiluminescence technique 24, 48 and 96 h after treatment, respectively. Cytotoxicity of LNAzyme was evaluated by MTT assay.

RESULTS: Significant down-regulation of HCV RNA replication and luciferase gene expression was noted in the lipo-LNAzyme group, lipo-DNAzyme group and lipo-S-DNAzyme group compared with the control group ($P < 0.05$ for all). Relative to the lipo-DNAzyme group and lipo-S-DNAzyme group, the average inhibition rates in the lipo-LNAzyme group were 47.55% and 52.44%, respectively. With the prolongation of the treatment time, the inhibition rate increased. At 96 h, HCR RNA replication and fluorescent protein expression were significantly lower than those before treatment in the lipo-LNAzyme group ($P < 0.01$ for both), and the average inhibition rates were 79.40% and 84.05%, respectively. No obvious toxicity was observed.

CONCLUSION: LNAzyme has a significant inhibitory effect on HCV C gene replication and expression *in vitro*, which is stronger than that of the thiolmodificated DNAzyme.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Hepatitis C; Hepatitis C virus; LNAzyme; Non-coding region; Gene expression

Deng YB, Nong LG, Liang ZR, Zhang L, Qin YH, He P. Hepatitis C virus gene-specific locked nucleic acid enzyme significantly inhibits C gene expression *in vitro*. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(14): 1992-1997
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1992.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i14.1992

■同行评议者
唐世刚, 教授, 湖南省人民医院

摘要

目的: 探讨针对丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)C基因的锁核酸核酶对病毒RNA复制与表达的特异性抑制作用.

方法: 设计合成能切割HCV C基因位点的DNAzyme、硫代DNAzyme和LNAzyme. 实验设对照组和实验组. 对照组包括空白对照组、脂质体对照组和脂质体-无关LNAzyme对照组. 实验组包括脂质体-DNAzyme、脂质体-硫代DNAzyme组和脂质体-LNAzyme组. 以阳离子脂质体介导转染HepG2.9706细胞. 采用荧光定量PCR和化学发光技术分别监测24、48、96 h细胞培养上清液中HCV RNA含量及荧光素酶基因表达; 四甲基偶氮唑蓝(MTT)法监测细胞代谢.

结果: 加入药物后, 脱氧核酶、硫代脱氧核酶及锁核酸核酶组对HCV RNA复制和荧光素酶基因表达的抑制作用均较对照组强(P<0.01), 其中, 锁核酸核酶的抑制作用均较脱氧核酶及硫代脱氧核酶明显(P<0.05), 平均抑制率分别达47.55%和52.44%, 且随用药时间延长, 抑制率呈增高趋势, 96 h后, HCV RNA复制和荧光蛋白表达的下降率均较用药前明显(P<0.01), 其中, 锁核酸核酶的抑制作用均较脱氧核酶及硫代脱氧核酶明显(P<0.05), 平均下降率分别达79.40%和80.05%. 而LNAzyme对细胞活性基本无影响.

结论: LNAzyme能特异性抑制HCV C基因的复制与表达, 且优于硫代修饰的DNAzyme.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 丙型肝炎; 丙型肝炎病毒; 锁核酸核酶; 非编码区; 基因表达

核心提示: 针对丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)C基因位点的锁核酸核酶, 体外能特异性抑制病毒基因调控, 为抗HCV基因治疗提供理论和实验依据, 有望成为RNA病毒基因治疗的新型反义核酸药物.

邓益斌, 农乐根, 梁祚仁, 张梁, 覃羽华, 何平. LNAzyme设计及其体外特异性抑制丙型肝炎病毒C基因的表达. 世界华人消化杂志 2014; 22(14): 1992-1997 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1992.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i14.1992

0 引言

丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)是单股正链RNA病毒, 含5'非编码区、结构区(C、E区)、非结构区(NS区)、和3'非编码区, 其中, C区是丙型肝炎病毒复制所必需的元件, 是HCV十分保守的序列之一. C区开放读码框架(open reading frame, ORF)的编码蛋白是大分子多聚蛋白前体, 在宿主信号肽酶及NS3蛋白激酶的作用下, 裂解成各种小分子病毒蛋白, 很显然, C区在病毒基因表达调控中发挥着重要的作用. 因此, 推测切割破坏该位点RNA序列可能有效阻断病毒的基因表达. 锁核酸(locked nucleic acid, LNA)是新发现的一种带环状结构的核苷酸衍生物, 与其他寡核苷酸相比, 具有热稳定性好[1-5]、分子杂交能力强[6-10]、抗酶解能力强[11-15]、脂溶性好[16-20]和低毒性[21-24]等优势. 锁核酸核酶(locked nucleic acid enzyme, LNAzyme)是在脱氧核酶的2条结合臂上引入1个或多个锁核酸单体构建而成的新型核酸酶, 与其他核酸酶相比, 具有更强的分子杂交能力、更高的酶切活性和切割效率[25-28]. 因此, 在前期研究基础上[29-31], 进一步针对HCV C区ORF的AUG位点设计合成两侧臂长约7-10 nt, 环结构由GGCTAGCTACAACGA碱基组成的LNAzyme, 以阳离子脂质体介导转染HepG2.9706细胞株, 观察其对病毒复制与表达的抑制作用, 以期为抗HCV治疗寻找专一、高效的新型分子药物.

■研发前沿
核酶技术作为分子生物学的新型基因治疗技术, 目前不仅广泛应用于生物学、病理学、药理学等学科的基础研究, 而且已成为药物发展的新兴策略. 在核酶技术基础上发展起来的锁核酸核酶技术, 是目前研究的新热点. 当前抗病毒基因治疗亟待解决的问题一是没有一种满意的肝靶向性药物载体, 另外就是缺乏特异性抗病毒核酸药物.

1 材料和方法

1.1 材料 HepG2.9706细胞是一种转染有质粒pHCV-neo的转基因HepG2细胞, 含荧光素酶基因, 由中国人民解放军广州军区空军医院刘光泽博士惠赠, 本室常规培养于含G418(380 ITI1)、10%胎牛血清的DMEM培养基中, 37 ℃、5%CO_2条件下5-6 d传代1次; DMEM培养基、G418等购自GIBCO公司; 胎牛血清购自杭州四季清公司; Lipofectamine™ 2000购自Invitrogen公司; TRIzol RNA提取试剂盒购自GIBCO公司; 荧光定量PCR检测HCV RNA试剂盒购自深圳匹基公司; 化学发光试剂盒(Bright-Glo™荧光素酶分析系统)购自Promega公司; Victor™ Wallac 1420多标记检测仪购自Promega公司; EVOS® FL Auto全自动荧光倒置显微镜系统购自美国LIFE公司.

1.2 方法

1.2.1 核酶分子设计与合成: 针对HCV C区ORF的AUG位点(341-356 nt)分别设计以下几段序列: (1)DNAzyme: 5'-UAGGAUUGGCTAGCTA-

■相关报道
邓益斌等针对乙肝病毒S保守区S基因mRNA的翻译起始位点, 设计合成反义LNA片段, 进行体内外实验研究, 结果发现, 反义LNA对靶mRNA基因表达的抑制作用明显强于其他寡核苷酸, 并且存在剂量和时间效应, 当反义LNA片段长度在20-25个核苷酸时, 更容易进入细胞内, 与靶mRNA形成LNA-RNA杂交分子, 封闭靶mRNA基团翻译的同时, 激活RNase H酶活性, 引起靶mRNA的降解, 从翻译水平阻断病毒靶基因表达, 降低病毒蛋白的合成, 抑制病毒装配、成熟和分泌过程, 从而抑制HBV病毒的复制.

表 1 LNAzyme对HepG2.9706细胞HCV RNA复制的影响 (n = 6, mean ± SD, × 10^5 copies/mL)

分组	0 h	24 h	48 h	96 h
空白对照组	1.52 ± 0.44	1.55 ± 0.47	1.61 ± 0.52	1.65 ± 0.44
脂质体对照组	1.62 ± 0.45	1.58 ± 0.46	1.67 ± 0.44	1.65 ± 0.43
脂质体–无关LNAzyme对照组	1.55 ± 0.45	1.57 ± 0.43	1.62 ± 0.48	1.68 ± 0.42
脂质体–DNAzyme组	1.65 ± 0.58	1.23 ± 0.49	1.02 ± 0.55	0.83 ± 0.53
脂质体–硫代DNAzyme组	1.62 ± 0.48	1.02 ± 0.53	0.81 ± 0.58	0.75 ± 0.42
脂质体–LNAzyme组	1.65 ± 0.44	0.83 ± 0.31	0.50 ± 0.22	0.34 ± 0.15[bceh]

[b]P<0.01 *vs* 对照组; [c]P<0.05 *vs* 脂质体–DNAzyme组; [e]P<0.05 *vs* 脂质体–硫代DNAzyme组; [h]P<0.05 *vs* 用药前. DNAzyme: 寡聚脱氧核酶.

CAACGACGAGUGCUCAU-3'; (2)硫代DNAzyme: 5'-UA^{S}GGA^{S}U^{S}UGGCTAGCTACAACGACGAGU^{S}GCU^{S}CA^{S}U-3', 即在DNAzyme基础上对5'端前5个碱基及3'端前5个碱基进行硫代修饰, 以上标“S”表示; (3)LNAzyme: 5'-UA^{L}GGA^{L}U^{L}UGGCTAGCTACAACGACGAGU^{L}GCU^{L}CA^{L}U-3', 即在DNAzyme的2个结合臂碱基A或T分别引入2个LNA单体, 以上标“L”表示; (4)无关DNAzyme: 5'-TCCAGAGGGGCTAGCTACAACGACATACAGC-3'. 其中, GGCTAGCTACAACGA为DNAzyme的催化活性序列, 其2侧为靶位特异性识别序列. 以上各序列经BLAST排除与人同源后由美国GENELINK公司合成修饰.

1.2.2 实验分组与脂质体转染: 本实验设对照组和实验组. 对照组包括空白对照组、脂质体对照组、脂质体-无关DNAzyme对照组. 实验组包括脂质体-DNAzyme组、脂质体-硫代DNAzyme组、脂质体-LNAzyme组. 将HepG2.9706细胞按1×10^5个/mL接种于16孔培养板, 每孔100 μL, 共设定6个组, 每组各设6个复孔, 待细胞贴壁后吸取培养上清液(-20 ℃保存), 分别在各组每孔中一次性加入含核酶量为10 μmol/L的DMEM混合液1 mL, 分别于24、48、96 h收集各孔培养上清液500 μL, 保存于-20 ℃待测. 脂质体转染严格按说明书操作.

1.2.3 培养上清液HCV RNA含量检测: 采用荧光定量PCR试剂盒法. (1)在预先准备好的1.5 mL灭菌离心管中加入RNA酶抑制剂20 μL, 然后分别加入待测液, 阴、阳性对照和标准品各100 μL, 再加入裂解液100 μL, 振荡混匀; (2)将上述混合液全部转移至核酸提取柱中, 开启负压装置, 抽干液体, 然后分别用洗涤液A和B液各500 μL, 各洗涤1次, 抽干; (3)关闭负压装置, 将提取柱转入2 mL离心管中, 15000 r/min, 离心1 min; (4)将提取转入新2 mL离心管中, 加入50 μL洗脱液, 静置1 min, 10000 r/min, 离心1 min, 取12.5 μL洗脱液加样, 余下步骤和PCR扩增条件严格按说明书操作. 结果采用计算对数平均值的方法获得cDNA平均拷贝数.

1.2.4 培养细胞内荧光蛋白表达检测: 分别于基因转染后24、48、96 h终止培养, 将培养板平衡至室温, 向每孔中加入经室温平衡后的荧光素酶发光试剂100 μL, 轻轻摇匀2 min以使细胞完全裂解, 立即应用Victor^{TM} Wallac 1420多标记检测仪检测1 s发光强度, 输出值以每秒计算值(counts per second, CPS)表示.

1.2.5 荧光显微镜系统观察细胞荧光蛋白表达: 培养细胞转染96 h后, 用倒转荧光显微镜系统在488 nm激发波长下观察绿色荧光的表达情况, 并拍照.

1.2.6 LNAzyme对细胞的毒性检测: 采用MTT比色法检测LNAzyme对细胞活性的影响. 加入LNAzyme后, 5%CO_2, 37℃培养96 h, 每孔加入20 μL 0.5%MTT液, 继续培养4 h后, 终止培养, 小心吸弃培养上清液; 每孔加入150 μL二甲基亚砜, 低速振荡孵育10 min, 使结晶物充分融解; 在酶联免疫监测仪上检测各孔吸光度值, 波长490 nm/570 nm, 同时设置调零孔和对照孔.

统计学处理 所有数据均采用mean±SD表示, 应用SPSS13.0统计软件处理, 组间比较采用重复测量设计方差分析, P<0.05为差异具有统计学意义. 抑制率(%) = (用药前N-用药后N)/用药前N×100%, 或(对照组N-实验组N)/对照组N×100%, 其中, N表示测定值.

2 结果

2.1 LNAzyme对HCV RNA复制的抑制作用 加入药物后, 各实验组对HCV RNA的复制均显示

表 2 LNAzyme对HepG2.9706细胞荧光素酶基因表达的影响 (n = 6, mean ± SD, $\times 10^4$ CPS)

分组	0 h	24 h	48 h	96 h
空白对照组	4.97 ± 2.92	4.95 ± 2.89	4.96 ± 2.81	4.97 ± 2.79
脂质体对照组	4.89 ± 2.91	4.91 ± 2.85	4.89 ± 2.75	4.91 ± 2.87
脂质体-无关LNAzyme对照组	4.93 ± 2.88	4.89 ± 2.78	4.91 ± 2.83	4.89 ± 2.78
脂质体-DNAzyme组	4.87 ± 2.66	3.57 ± 2.66	3.02 ± 2.69	2.41 ± 2.44
脂质体-硫代DNAzyme组	4.91 ± 2.87	3.04 ± 2.61	2.44 ± 2.15	2.21 ± 1.88
脂质体-LNAzyme组	4.89 ± 2.45	2.11 ± 1.52	1.66 ± 1.23	0.78 ± 0.25[bceh]

[b]P<0.01 *vs* 对照组; [c]P<0.05 *vs* 脂质体-DNAzyme组; [e]P<0.05 *vs* 脂质体-硫代DNAzyme组; [h]P<0.05 *vs* 用药前. DNAzyme: 寡聚脱氧核酶.

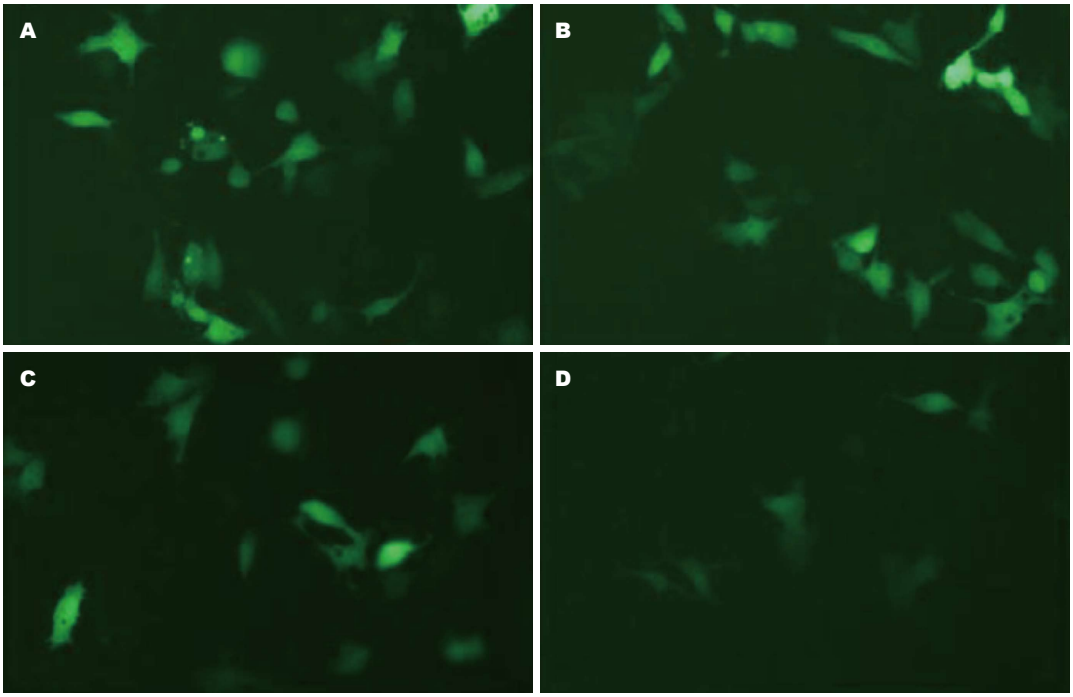


图 1 荧光电子显微镜下LNAzyme抑制细胞荧光蛋白表达作用比较(化学发光法 × 200). A: 空白对照组; B: 脂质体-DNAzyme组; C: 脂质体-硫代DNAzyme组; D: 脂质体-LNAzyme组. LNAzyme: 锁核酸核酶; DNAzyme: 寡聚脱氧核酶.

出较强的抑制作用(F = 227.50, P<0.01), 其中, 脂质体-LNAzyme组的抑制作用最强(F = 67.50, P<0.05), 平均抑制率为47.55%. 与用药前比较, HCV RNA的复制量也明显下降(F = 156.27, P<0.01), 96 h后, 脂质体-LNAzyme组的平均下降率达79.40%(表1).

2.2 LNAzyme对培养细胞荧光素酶基因表达的抑制作用 加入药物后, 各实验组对细胞荧光素酶基因的表达均显示出较强的抑制作用(F = 78.65, P<0.01), 其中, 脂质体-LNAzyme组的抑制作用最强(F = 72.35, P<0.05), 平均抑制率为52.44%. 与用药前比较, HCV RNA的表达量也明显下降(F = 186.21, P<0.01), 96 h后, 脂质体-LNAzyme组的平均下降率达84.05%(表2).

2.3 LNAzyme对细胞荧光蛋白表达的抑制作用 转染96 h后在荧光电子显微镜下观察, 脂质体-LNAzyme组细胞内荧光蛋白的表达明显少于对照组、脱氧核酶组及硫代脱氧核酶组(图1).

2.4 LNAzyme对细胞的毒性 用药7 d后, 采用MTT比色法测定各组A值, 脂质体-DNAzyme、脂质体-硫代DNAzyme和脂质体-LNAzyme组的A值分别为1.14±0.04、1.15±0.04和1.15±0.04, 与空白对照组的1.37±0.04比较均无差异, 表明锁核酸脂质体混合物对细胞活性基本无影响.

3 讨论

本研究针对丙型肝炎病毒5'非编码区内源性核糖体进入位点(internal ribosome entry site, IRES)

■创新盘点

锁核酸(locked nucleic acid, LNA)是一种新兴环状核苷酸衍生物, 具有热稳定性好、分子杂交能力强、抗核酸酶解能力高等特性, 本研究在以寡聚脱氧核酶分子的双侧臂上各引入2-4个LNA分子构建成锁核酸核酶(LNAzyme), 从而增强核酶分子与底物RNA的杂交亲和力, 同时, 增强其在细胞内稳定性和酶切能力.

■应用要点
锁核酸核酶在以RNA序列为切割底物的基因治疗研究中具有潜在研究价值, 特别是RNA病毒, 如丙型肝炎病毒、艾滋病病毒等.

位点设计合成LNAzyme, 并以阳离子脂质体介导转染HepG2.9706细胞, 采用分子生物学技术分别检测培养上清液中HCV RNA含量及荧光素酶基因表达, 观察锁核酸核酶对病毒基因表达的影响, 结果显示, 脱氧核酶、硫代脱氧核酶及锁核酸核酶对丙型肝炎病毒RNA的复制及细胞内荧光素酶基因的表达均显示出较强的抑制作用(P<0.01), 其中, 锁核酸核酶的抑制作用均较脱氧核酶及硫代脱氧核酶强(P<0.05), 平均抑制率分别达48.02%和53.05%, 而且, 随用药时间延长, 抑制率呈增高趋势, 用药后96 h, HCV RNA复制和荧光蛋白表达的下降率均较用药前明显(P<0.01), 其中, 锁核酸核酶的抑制作用均较脱氧核酶及硫代脱氧核酶明显(P<0.05), 平均抑制率分别达81.21%和84.25%. 此外, MTT比色结果表明, LNAzyme脂质体混合物对细胞活性基本无影响.

总之, 针对HCV 5'非编码区IRES位点的锁核酸核酶, 体外能特异性抑制病毒基因调控, 为抗丙型肝炎病毒基因治疗提供理论和实验依据, 有望成为RNA病毒基因治疗的新型反义核酸药物.

4 参与文献

1 Crouzier L, Dubois C, Edwards SL, Lauridsen LH, Wengel J, Veedu RN. Efficient reverse transcription using locked nucleic acid nucleotides towards the evolution of nuclease resistant RNA aptamers. *PLoS One* 2012; 7: e35990 [PMID: 22558297 DOI: 10.1371/journal.pone.0035990]

2 Hildebrandt-Eriksen ES, Aarup V, Persson R, Hansen HF, Munk ME, Ørum H. A locked nucleic acid oligonucleotide targeting microRNA 122 is well-tolerated in cynomolgus monkeys. *Nucleic Acid Ther* 2012; 22: 152-161 [PMID: 22545703 DOI: 10.1089/nat.2011.0332]

3 Mishra S, Ghosh S, Mukhopadhyay R. Ordered self-assembled locked nucleic acid (LNA) structures on gold(111) surface with enhanced single base mismatch recognition capability. *Langmuir* 2012; 28: 4325-4333 [PMID: 22309111 DOI: 10.1021/la204026j]

4 Robertson KL, Vora GJ. Locked nucleic acid flow cytometry-fluorescence in situ hybridization (LNA flow-FISH): a method for bacterial small RNA detection. *J Vis Exp* 2012; (59): e3655 [PMID: 22258228 DOI: 10.3791/3655]

5 Hull C, Szewcyk C, St John PM. Effects of locked nucleic acid substitutions on the stability of oligonucleotide hairpins. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids* 2012; 31: 28-41 [PMID: 22257208 DOI: 10.1080/15257770.2011.639825]

6 Owczarzy R, You Y, Groth CL, Tataurov AV. Stability and mismatch discrimination of locked nucleic acid-DNA duplexes. *Biochemistry* 2011; 50: 9352-9367 [PMID: 21928795 DOI: 10.1021/bi200904e]

7 Bhattacharyya J, Maiti S, Muhuri S, Nakano S, Miyoshi D, Sugimoto N. Effect of locked nucleic acid modifications on the thermal stability of noncanonical DNA structure. *Biochemistry* 2011; 50: 7414-7425 [PMID: 21774551 DOI: 10.1021/bi200477g]

8 Doessing H, Vester B. Locked and unlocked nucleosides in functional nucleic acids. *Molecules* 2011; 16: 4511-4526 [PMID: 21629180 DOI: 10.3390/molecules]

9 Zhang Y, Qu Z, Kim S, Shi V, Liao B, Kraft P, Bandaru R, Wu Y, Greenberger LM, Horak ID. Down-modulation of cancer targets using locked nucleic acid (LNA)-based antisense oligonucleotides without transfection. *Gene Ther* 2011; 18: 326-333 [PMID: 21179173]

10 Chabot S, Orio J, Castanier R, Bellard E, Nielsen SJ, Golzio M, Teissié J. LNA-based oligonucleotide electrotransfer for miRNA inhibition. *Mol Ther* 2012; 20: 1590-1598 [PMID: 22617110 DOI: 10.1038/mt.2012.95]

11 Johannsen MW, Veedu RN, Madsen AS, Wengel J. Enzymatic polymerisation involving 2'-amino-LNA nucleotides. *Bioorg Med Chem Lett* 2012; 22: 3522-3526 [PMID: 22503454 DOI: 10.1016/j.bmcl.2012.03.073]

12 Chaubey AK, Dubey KD, Ojha RP. Stability and free energy calculation of LNA modified quadruplex: a molecular dynamics study. *J Comput Aided Mol Des* 2012; 26: 289-299 [PMID: 22456858 DOI: 10.1007/s10822-012-9548-z]

13 Sun Z, Xiang W, Guo Y, Chen Z, Liu W, Lu D. Inhibition of hepatitis B virus (HBV) by LNA-mediated nuclear interference with HBV DNA transcription. *Biochem Biophys Res Commun* 2011; 409: 430-435 [PMID: 21596023 DOI: 10.1016/j.bbrc.2011.05.016]

14 Moschos SA, Frick M, Taylor B, Turnpenny P, Graves H, Spink KG, Brady K, Lamb D, Collins D, Rockel TD, Weber M, Lazari O, Perez-Tosar L, Fancy SA, Lapthorn C, Green MX, Evans S, Selby M, Jones G, Jones L, Kearney S, Mechiche H, Gikunju D, Subramanian R, Uhlmann E, Jurk M, Vollmer J, Ciaramella G, Yeadon M. Uptake, efficacy, and systemic distribution of naked, inhaled short interfering RNA (siRNA) and locked nucleic acid (LNA) antisense. *Mol Ther* 2011; 19: 2163-2168 [PMID: 21971426 DOI: 10.1038/mt.2011.206]

15 Ivanova MI, Shivarov VS, Hadjiev EA, Naumova EJ. Novel multiplex bead-based assay with LNA-modified probes for detection of MPL exon 10 mutations. *Leuk Res* 2011; 35: 1120-1123 [PMID: 21570117 DOI: 10.1016/j.leukres.2011.04.012]

16 Seth PP, Allerson CR, Siwkowski A, Vasquez G, Berdeja A, Migawa MT, Gaus H, Prakash TP, Bhat B, Swayze EE. Configuration of the 5'-methyl group modulates the biophysical and biological properties of locked nucleic acid (LNA) oligonucleotides. *J Med Chem* 2010; 53: 8309-8318 [PMID: 21058707 DOI: 10.1021/jm101207e]

17 Swayze EE, Siwkowski AM, Wancewicz EV, Migawa MT, Wyrzykiewicz TK, Hung G, Monia BP, Bennett CF. Antisense oligonucleotides containing locked nucleic acid improve potency but cause significant hepatotoxicity in animals. *Nucleic Acids Res* 2007; 35: 687-700 [PMID: 17182632 DOI: 10.1093/nar/gkl1071]

18 Yang CJ, Wang L, Wu Y, Kim Y, Medley CD, Lin H, Tan W. Synthesis and investigation of deoxyribonucleic acid/locked nucleic acid chimeric molecular beacons. *Nucleic Acids Res* 2007; 35: 4030-4041 [PMID:

17557813 DOI: 10.1093/nar/gkm358]
19 Brunet E, Corgnali M, Cannata F, Perrouault L, Giovannangeli C. Targeting chromosomal sites with locked nucleic acid-modified triplex-forming oligonucleotides: study of efficiency dependence on DNA nuclear environment. *Nucleic Acids Res* 2006; 34: 4546-4553 [PMID: 16951289 DOI: 10.1093/nar/gkl630]
20 Levin JD, Fiala D, Samala MF, Kahn JD, Peterson RJ. Position-dependent effects of locked nucleic acid (LNA) on DNA sequencing and PCR primers. *Nucleic Acids Res* 2006; 34: e142 [PMID: 17071964 DOI: 10.1093/nar/gkl756]
21 Johnson MP, Haupt LM, Griffiths LR. Locked nucleic acid (LNA) single nucleotide polymorphism (SNP) genotype analysis and validation using real-time PCR. *Nucleic Acids Res* 2004; 32: e55 [PMID: 15047860 DOI: 10.1093/nar/gnh046]
22 Crinelli R, Bianchi M, Gentilini L, Palma L, Sørensen MD, Bryld T, Babu RB, Arar K, Wengel J, Magnani M. Transcription factor decoy oligonucleotides modified with locked nucleic acids: an in vitro study to reconcile biostability with binding affinity. *Nucleic Acids Res* 2004; 32: 1874-1885 [PMID: 15051810 DOI: 10.1093/nar/gkh503]
23 Sørensen JJ, Nielsen JT, Petersen M. Solution structure of a dsDNA: LNA triplex. *Nucleic Acids Res* 2004; 32: 6078-6085 [PMID: 15550567 DOI: 10.1093/nar/gkh942]
24 Hertoghs KM, Ellis JH, Catchpole IR. Use of locked nucleic acid oligonucleotides to add functionality to plasmid DNA. *Nucleic Acids Res* 2003; 31: 5817-5830 [PMID: 14530430 DOI: 10.1093/nar/gkg801]
25 Dolinsek J, Dorninger C, Lagkouvardos I, Wagner M, Daims H. Depletion of unwanted nucleic acid templates by selective cleavage: LNAzymes, catalytically active oligonucleotides containing locked nucleic acids, open a new window for detecting rare microbial community members. *Appl Environ Microbiol* 2013; 79: 1534-1544 [PMID: 23263968 DOI: 10.1128/AEM.03392-12]
26 Suryawanshi H, Lalwani MK, Ramasamy S, Rana R, Scaria V, Sivasubbu S, Maiti S. Antagonism of microRNA function in zebrafish embryos by using locked nucleic acid enzymes (LNAzymes). *Chembiochem* 2012; 13: 584-589 [PMID: 22315191 DOI: 10.1002/cbic.201100789]
27 Kaur H, Scaria V, Maiti S. "Locked onto the target": increasing the efficiency of antagomirzymes using locked nucleic acid modifications. *Biochemistry* 2010; 49: 9449-9456 [PMID: 20879750 DOI: 10.1021/bi101185k]
28 Donini S, Clerici M, Wengel J, Vester B, Peracchi A. The advantages of being locked. Assessing the cleavage of short and long RNAs by locked nucleic acid-containing 8-17 deoxyribozymes. *J Biol Chem* 2007; 282: 35510-35518 [PMID: 17908692 DOI: 10.1074/jbc.M706993200]
29 邓益斌, 温旺荣. 反基因锁核酸体外抑制乙肝病毒前S1基因表达. 基础医学与临床 2013; 33: 722-725
30 邓益斌, 张梁, 王燕菲. HBV S基因的反义锁核酸抑制病毒体外复制. 基础医学与临床 2010; 30: 360-363
31 邓益斌, 农乐根, 黄炜, 潘国刚. 乙型肝炎病毒S/C基因位点反义锁核酸在小鼠体内抗病毒疗效研究. 中华肝脏病杂志 2009; 17: 900-904

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

■同行评价
该文设计了针对丙型肝炎病毒C基因的LNAzyme, 体外特异性抑制病毒基因调控, 具有一定研究价值.

世界华人消化杂志 2014年5月18日; 22(14): 1998-2002
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

研究快报 RAPID COMMUNICATION

肝纤维化能够保护小鼠抵抗D-GalN/LPS诱导的致死性损伤

白 丽, 孔 明, 张晓慧, 丁 美, 郑素军, 陈 煜, 段钟平

■背景资料
肝纤维化是许多肝脏病变的最终共同结局. 当前人们对纤维化的认知往往强调其导致病理损害的一面, 而忽视了纤维化本身也是一种针对慢性肝损伤的伤口愈合反应. 近年来有研究显示, 纤维化可能通过其强大的损伤修复能力发挥肝脏保护效应. 然而, 关于四氯化碳(carbon tetrachloride, CCl_4)诱导的肝纤维化中是否存在对致死性损伤的耐受效应尚无明确报道.

白丽, 孔明, 张晓慧, 丁美, 郑素军, 陈煜, 段钟平, 首都医科大学附属北京佑安医院人工肝中心 北京市 100069
白丽, 主要从事肝病相关的临床和基础研究.
国家“十二五”科技重大专项基金资助项目, Nos. 2012ZX10002004-006, 2012ZX10004904-003-001, 2013ZX10002002-006-001
北京市卫生系统高层次卫生技术人才基金资助项目, No. 2011-3-083
首都医科大学基础-临床合作基金资助项目, Nos. 14JL72, 14JL73
作者贡献分布: 此课题由白丽与段钟平设计; 研究过程由白丽、孔明、张晓慧及丁美完成; 数据分析由白丽、郑素军及陈煜完成; 本文由白丽完成写作.
通讯作者: 段钟平, 教授, 主任医师, 100069, 北京市丰台区右外西头条8号, 首都医科大学附属北京佑安医院.
duan2517@163.com
电话: 010-63291621
收稿日期: 2014-02-20 修回日期: 2014-03-27
接受日期: 2014-03-28 在线出版日期: 2014-05-18

Liver fibrosis protects mice against lethal injury induced by D-GalN/LPS

Li Bai, Ming Kong, Xiao-Hui Zhang, Mei Ding, Su-Jun Zheng, Yu Chen, Zhong-Ping Duan

Li Bai, Ming Kong, Xiao-Hui Zhang, Mei Ding, Su-Jun Zheng, Yu Chen, Zhong-Ping Duan, Beijing Youan Hospital Affiliated to Capital Medical University, Beijing 100069, China
Supported by: the National Major Science and Technology Project during the “Twelfth Five-Year Plan” Period, Nos. 2012ZX10002004-006, 2012ZX10004904-003-001, and 2013ZX10002002-006-001; Beijing Municipal Health System High-level Health Technical Personnel Program, No. 2011-3-083; Basic-Clinical Cooperation Project of Capital Medical University, Nos. 14JL72 and 14JL73
Correspondence to: Zhong-Ping Duan, Professor, Chief Physician, Artificial Liver Center, Beijing Youan Hospital Affiliated to Capital Medical University, 8 Youwai Xitoutiao, Fengtai District, Beijing 100069, China. duan2517@163.com
Received: 2014-02-20 Revised: 2014-03-27
Accepted: 2014-03-28 Published online: 2014-05-18

Abstract

AIM: To assess the tolerance of mice with carbon tetrachloride (CCl_4)-induced fibrosis to a lethal dose of D-galactosamine/lipopolysaccharide (D-GalN/LPS).

METHODS: A mouse model of hepatic fibrosis was established by intraperitoneal injection of CCl_4 (in mineral oil), twice a week for 6 wk. At the end of fibrosis induction, mice were challenged intraperitoneally with D-GalN (700 mg/kg)/LPS (50 μg/kg). Normal mice treated in the same way were used as controls. Mice were sacrificed 24 h after acute insult. Sera and liver tissues were harvested for analyses. To evaluate the tolerance of normal and fibrotic mice to a lethal dose of D-GalN/LPS, survival rate, serum alanine aminotransferase (sALT) levels and histological changes of the liver were compared between before and after acute challenge.

RESULTS: The survival rate of fibrotic mice subjected to a lethal dose of D-GalN/LPS was significantly higher than that of normal mice treated in the same way (100% *vs* 20%). After challenged by D-GalN/LPS, sALT in normal mice increased by 455.9 folds (49.2 U/L ± 12.9 U/L *vs* 22429 U/L ± 5446 U/L, $P < 0.01$), which was significantly higher than that in fibrotic mice (14.3 folds) [(463.7 U/L ± 109.0 U/L *vs* 6630 U/L ± 1675 U/L, $P < 0.01$). The tolerance of fibrotic mice to D-GalN/LPS was confirmed by well-preserved liver architecture as compared with controls.

CONCLUSION: CCl_4-induced liver fibrosis protects mice against a lethal dose of D-GalN/LPS.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Liver fibrosis; Lethal injury; Tolerance

Bai L, Kong M, Zhang XH, Ding M, Zheng SJ, Chen Y, Duan ZP. Liver fibrosis protects mice against lethal injury induced by D-GalN/LPS. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(14): 1998-2002 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1998.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i14.1998

摘要

目的: 证明四氯化碳(carbon tetrachloride, CCl_4)诱导的肝纤维化小鼠对致死性D-氨基半乳糖/脂多糖(D-galactosamine and lipopolysaccharide, D-GalN/LPS)攻击的耐受性.

■同行评议者
鲁玉辉, 副教授, 福建中医药大学中医学院

方法: 建立CCl_4诱导的肝纤维化小鼠模型, 于纤维化6 wk时以致死剂量的D-GalN(700 mg/kg)/LPS(50 μg/kg)进行攻击, 以同样处理的正常小鼠作为对照, 即实验共分为4组: 正常对照组(Nor)、急性损伤组(Nor+D-GalN/LPS)、肝纤维化组(Fib)、肝纤维化+急性攻击组(Fib+D-GalN/LPS). 根据攻击前后小鼠生存率、转氨酶水平及肝组织学的变化来评估正常和纤维化小鼠对致死性D-GalN/LPS损伤的耐受性.

结果: 生存分析显示, Fib+D-GalN/LPS组的生存率显著高于Nor+D-GalN/LPS组(100% *vs* 20%). 血清转氨酶结果表明, Fib+D-GalN/LPS组肝损伤程度明显轻于Nor+D-GalN/LPS组, 其sALT水平分别为(6630 U/L±1675 U/L)和(22429 U/L±5446 U/L)(P<0.01). 接受攻击的纤维化和正常小鼠的sALT分别升高了14.3倍和455.9倍. 肝组织学检查结果也证明, 接受致死性D-GalN/LPS攻击的纤维化小鼠的肝损伤较同样处理的正常小鼠明显减轻.

结论: CCl_4诱导的肝纤维化可保护小鼠抵抗致死性D-GalN/LPS损伤的攻击.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 肝纤维化; 损伤; 耐受

核心提示: 肝纤维化是一把“双刃剑”, 除导致病变外, 还具有很强的组织修复能力. 本研究利用致死剂量的D-氨基半乳糖/脂多糖(D-galactosamine and lipopolysaccharide, D-GalN/LPS)对正常和肝纤维化小鼠进行攻击, 观察二者对损伤的耐受性. 结果证明, CCl_4诱导的肝纤维化可以保护小鼠抵抗致死性D-GalN/LPS攻击.

白丽, 孔明, 张晓慧, 丁美, 郑素军, 陈煜, 段钟平. 肝纤维化能够保护小鼠抵抗D-Gal/LPS诱导的致死性损伤. 世界华人消化杂志 2014; 22(14): 1998-2002 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1998.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i14.1998

0 引言

肝纤维化是各种慢性肝脏疾病的共同终末途径, 以肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSC)活化、细胞外基质(extracellular matrix, ECM)过量沉积、正常肝组织结构破坏和血液循环紊乱为特征. 一旦肝内胶原组织过度沉积和增生, 假小叶形成, 可进一步发展为肝硬化, 甚至进展为致死性肝衰竭[1-4]. 因此, 大多数临床医生将肝纤维化视为一种有害的病理反应. 然而, 不容忽视的是, 肝纤维化还是一种针对慢性肝损伤的伤口愈合反应, 是促使组织修复、进而保护自身的一种正常反应[5-8]. 近年来国外有研究显示, 胆管结扎(bile duct ligation, BDL)或硫代乙酰胺(thioacetamide, TAA)诱导的肝纤维化可通过促进肝细胞生存/肝再生、抑制肝细胞凋亡而发挥有益的肝脏保护效应[9-11]. 然而, 关于四氯化碳(carbon tetrachloride, CCl_4)诱导的肝纤维化中是否存在该保护性效应尚无明确报道. 本研究中, 我们利用致死剂量的D-氨基半乳糖/脂多糖(D-galactosamine and lipopolysaccharide, D-GalN/LPS)对正常和肝纤维化小鼠进行攻击, 观察二者对损伤的耐受性. 我们的研究证明, CCl_4诱导的肝纤维化可以保护小鼠抵抗致死性D-GalN/LPS攻击.

■研发前沿
近年来, 临床医生和研究者逐渐将研究重心转移到肝纤维化作为“双刃剑”的另一面, 即其强大的组织修复能力可能具有的肝脏保护效应. 这种认知的转变促使我们能够对肝纤维化这种疾病产生全面而正确的认识.

1 材料和方法

1.1 材料 健康♂Balb/c小鼠, 8-12周龄, 购自军事医学科学院实验动物中心. 普通饲养, 自由饮水, 维持12 h亮/12 h暗昼夜节律. CCl_4购自国药集团(分析纯), 矿物油为Amresco产品, D-GalN和LPS购自Sigma公司.

1.2 方法

1.2.1 小鼠肝纤维化损伤模型的建立: 给Balb/c小鼠腹腔注射CCl_4(溶于矿物油中), 2次/wk, 共6 wk. CCl_4的初始剂量为2% (0.1 mL/10 g), 然后逐渐增加剂量至30%, 即遵从2%→5%→10%→20%→30%的给药模式.

1.2.2 急性攻击: 分别给正常小鼠和纤维化小鼠腹腔注射D-GalN(700 mg/kg)/LPS(50 μg/kg)进行急性攻击.

1.2.3 实验分组: 共分为4组: 正常对照组(Nor)、D-GalN/LPS诱导的急性肝损伤组(Nor+D-GalN/LPS)、肝纤维化组(Fib)、肝纤维化+急性攻击组(Fib+D-GalN/LPS). 于急性攻击后24 h处死小鼠, 收集血液和肝组织标本以供检测分析.

1.2.4 生存率分析: 记录各组小鼠在72 h内的死亡时间点, 并计算生存率.

1.2.5 肝细胞损害检测: 采用全自动生化分析仪检测反映肝细胞损害程度的指标血清丙氨酸氨基转移酶(serum alanine aminotransferase, sALT)的水平.

1.2.6 肝组织病理学检测: 肝组织经常规福尔马林固定、石蜡包埋、切片, HE染色及Masson染色, 在光学显微镜下观察肝组织细胞损伤情况及胶原纤维增生情况.

■相关报道
国外研究报道, 胆管结扎(bile duct ligation, BDL)或硫代乙酰胺(thioacetamide, TAA)诱导肝纤维化小鼠能够抵抗Fas介导的急性肝损伤.

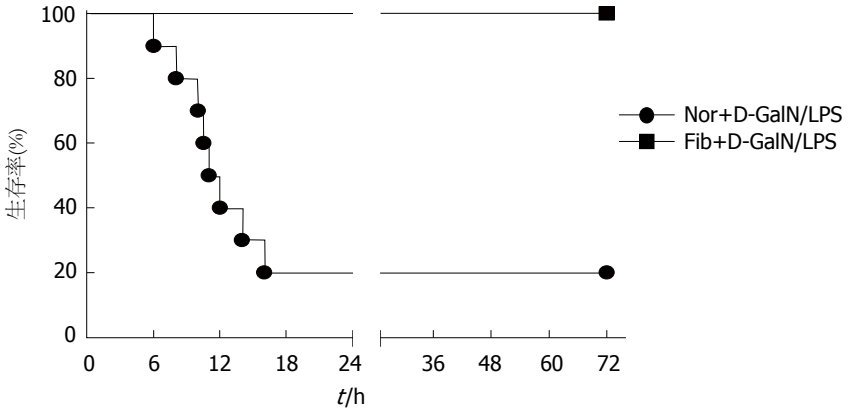


图 1 接受D-GalN/LPS攻击的正常和纤维化小鼠的生存率比较. D-GalN/LPS: D-氨基半乳糖/脂多糖. Nor+D-GalN/LPS: 正常小鼠接受D-Gal/LPS攻击; Fib+D-GalN/LPS: 肝纤维化小鼠接受D-GalN/LPS攻击.

表 1 接受D-GalN/LPS攻击的正常和纤维化小鼠的转氨酶水平比较

分组	动物数(只)	ALT(U/L)
Nor	8	49.2 ± 12.9[b]
Nor+ D-GalN/LPS	10	22429 ± 5446[d]
Fib	8	463.7 ± 109.0[d]
Fib+D-GalN/LPS	8	6630 ± 1675

[b]P<0.01 *vs* Nor+D-GalN/LPS; [d]P<0.01 *vs* Fib+D-GalN/LPS; Nor: 正常小鼠; Nor+D-GalN/LPS: 正常小鼠接受D-Gal/LPS攻击; Fib: CCl4诱导的肝纤维化小鼠; Fib+D-GalN/LPS: 肝纤维化小鼠接受D-GalN/LPS攻击; ALT: 丙氨酸转氨酶; D-GalN/LPS: D-氨基半乳糖/脂多糖.

统计学处理 所有数据以mean±SD表示. 利用Graphpad Prism 5.0软件包处理数据, 组间差异的比较采用One-way ANOVA分析. P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 接受D-GalN/LPS攻击的正常和纤维化小鼠生存率的比较 给正常小鼠腹腔注射致死剂量的D-GalN/LPS, 小鼠的死亡率可高达80%, 而给纤维化小鼠腹腔注射同样剂量的D-GalN/LPS, 小鼠均未死亡(图1). 这就提示, 纤维化小鼠并非像我们预期的那样“脆弱”, 相反, 他对致死性损伤的耐受性较正常小鼠明显增强, 因而生存率远远高于后者(100% *vs* 20%).

2.2 接受D-GalN/LPS攻击的正常和纤维化小鼠sALT水平的比较 正常小鼠经D-GalN/LPS急性攻击后, 血清转氨酶水平由49.2U/L±12.9 U/L急剧升高至22429 U/L±5446 U/L, 而在肝纤维化基础上给予D-GalN/LPS攻击时, 其sALT由463.7 U/L±109.0 U/L升高为6630 U/L±1675 U/L, 差异均有统计学意义(Nor *vs* Nor+D-GalN/LPS, Fib *vs* Fib+D-GalN/LPS, Nor+D-GalN/LPS *vs* Fib+D-GalN/LPS, P<0.01)(表1). 接受攻击前后, 正常组小鼠的sALT水平升高了455.9倍, 而纤维化小鼠的sALT水平仅升高了14.3倍. 该结果进一步证实, 纤维化小鼠对急性致死性损伤的耐受性较正常小鼠显著增强.

2.3 接受D-GalN/LPS攻击的正常和纤维化小鼠肝组织学改变的比较 病理结果显示: 正常小鼠肝小叶形态结构完整, 未见变性、坏死及炎症细胞浸润等. 纤维化组小鼠的正常肝小叶破坏, 汇管区纤维结缔组织增生, 形成线条状纤维间隔, 分割肝组织而形成假小叶. 急性损伤组小鼠肝损害严重, 肝小叶结构明显紊乱, 肝细胞明显肿胀、变性、凋亡及坏死, 汇管区可见大量炎细胞浸润. 而在肝纤维化基础上接受急性攻击的小鼠, 其肝细胞变性、坏死程度较急性损伤组明显减轻, 浸润的炎细胞也明显减少. Masson染色显示, 纤维化组小鼠纤维组织明显增生, 证明纤维化模型建立成功(图2).

3 讨论

肝纤维化的有害作用已为广大临床医生和研究者所熟知. 然而, 人们往往忽视, 除导致病变外, 肝纤维化还是一种针对慢性肝损伤的伤口愈合反应, 能够促使组织修复、进而保护自身. 近年来, 研究者不再过度关注肝纤维化的危害性, 单纯将其视为一种有害的病理过程, 反而将研究重心逐渐转移到肝纤维化作为“双刃剑”的另一面, 即其通过损伤修复可能呈现出的有益的肝脏保护效应.

本研究中, 当同时给正常小鼠和CCl_4诱导的纤维化小鼠腹腔注射D-GalN/LPS进行急性攻击时, 结果出乎意料: 接受急性攻击的纤维化小鼠的损伤程度明显轻于同样处理的正常小鼠, 表现为: 生存率更高(100% *vs* 20%); sALT水平明显降低; 肝组织学明显改善. 这就表明, 纤维化肝

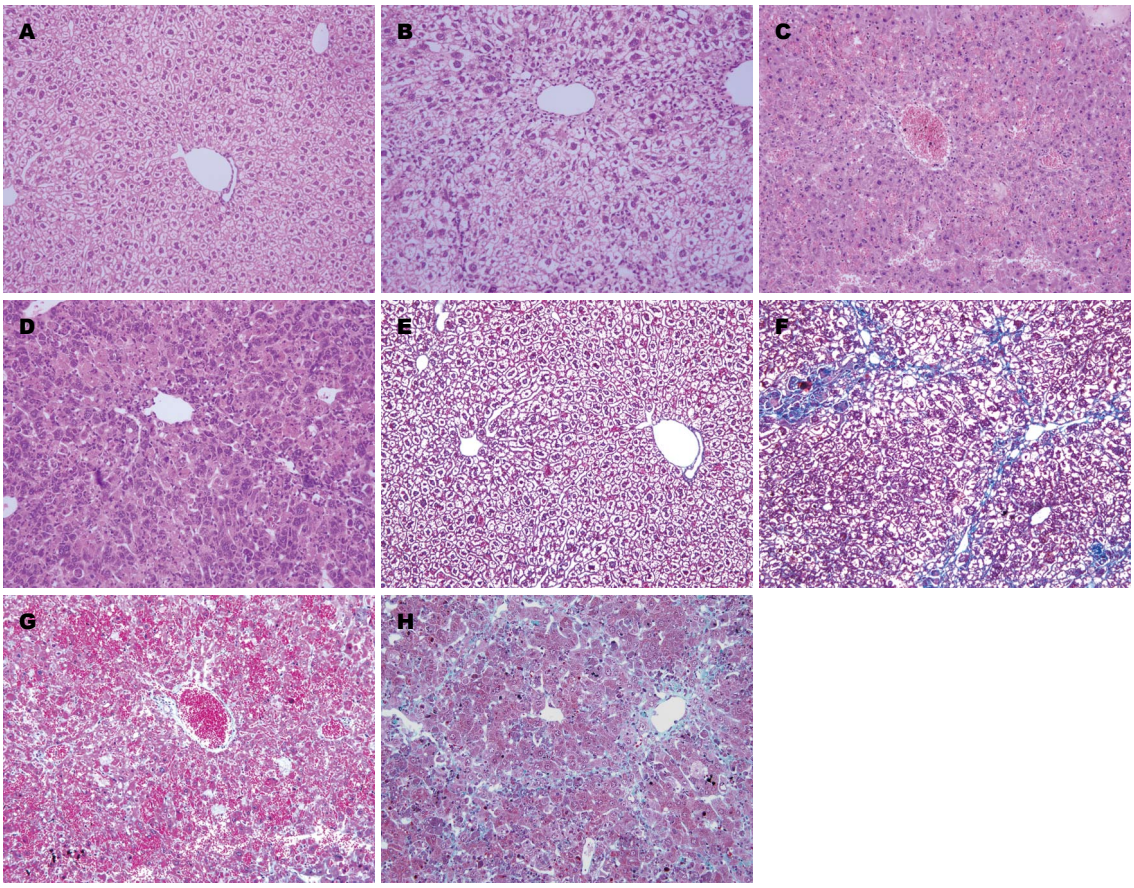


图 2 接受D-GalN/LPS攻击的正常和纤维化小鼠的病理改变(×200). A-D: HE; E-H: Masson. A, E: Nor; B, F: Fib; C, G: Nor+D-GalN/LPS; D, H: Fib+D-GalN/LPS. Nor: 正常小鼠; Nor+D-GalN/LPS: 正常小鼠接受D-Gal/LPS攻击; Fib: CCl4诱导的肝纤维化小鼠; Fib+D-GalN/LPS: 肝纤维化小鼠接受D-GalN/LPS攻击.

■创新盘点

本文从新的角度(即肝纤维化的组织修复功能)验证了纤维化小鼠对急性致死性攻击的保护性损伤耐受效应, 研究结果对于全面正确认识肝纤维化有积极意义.

脏并不像我们所预期的那样“脆弱”, 相反, 他对损伤的耐受性较正常小鼠明显增强, 可以保护小鼠抵抗急性致死性损伤的攻击.

我们所报道的关于肝纤维化诱导损伤耐受这一现象并非无迹可寻. Chalasani等[12]首次阐述了关于基线肝酶升高患者对他汀类药物的肝毒性是否更为敏感的问题. 研究发现, 基线肝酶升高患者的轻-中度(而非重度)生化指标升高较基线肝酶正常者更为多见, 然而这些生化指标的升高与是否服用他汀类药物无关, 也就是说, 肝酶升高者对他汀类药物肝毒性的敏感性并不高于肝酶正常者. 该结果提示肝损伤患者存在对肝毒性物质的耐受性. 部分胆管结扎(partial bile duct ligation, PBDL)小鼠模型(可快速形成纤维化)中, 与非结扎叶相比, 结扎叶对TNF-α/D-GalN诱导的肝细胞凋亡的耐受性更强, 并可阻止广泛出血的发生. BDL诱导的这种保护性凋亡抵抗可延缓或阻止肝衰竭的发生[9]. 同样, TAA诱导的肝纤维化小鼠也可以抵抗Fas介导的肝细胞凋亡及肝损害[11]. 体外实验也证明, 经Ⅰ型胶原(type Ⅰ collagen, COL1)处理的肝细胞对于多种肝毒素的耐受性增强(呈剂量依赖方式), 其促凋亡蛋白(Bad、Bid和Bax)的表达明显受到抑制[11].

上述临床和实验室证据证明了慢性肝损伤(肝纤维化)诱导的损伤耐受现象的存在. 那么, 这种保护性损伤耐受是通过何种细胞和分子途径发挥作用的呢? 利用PBDL小鼠模型进行的研究显示, 结扎叶所具有的肝脏保护效应(即对TNF-α/D-GalN诱导的肝细胞凋亡和肝损害的抵抗)与肝细胞内AKT(一种重要的促生存信号分子)的活化密切相关. 与非结扎叶相比, 结扎叶中AKT的磷酸化及活化显著增强. 然而, 抑制AKT时(Ad5DN-AKT), 结扎叶和非结扎叶对TNF-α/D-GalN诱导的肝损伤的反应相同, 此时结扎叶所具有的肝脏保护效应丧失[9]. 在TAA诱导的肝纤维化中也存在肝组织AKT磷酸化活性的增强[11]. 另外, ERK, 特别是ERK1, 也是涉及纤维化诱导的肝脏保护效应的关键效应信号分子. 在体外, 暴露于COL1的肝细胞中ERK1/2的

■同行评价
本文证明了肝纤维化诱导的损伤耐受现象的存在, 有一定的创新性, 能反映我国肝纤维化基础研究的先进水平.

活化更强、更快速. 然而, 抑制ERK信号通路可逆转COL1的凋亡抵抗效应. 在体内, 野生型纤维化小鼠肝脏中ERK1的磷酸化活性明显高于ERK1$^{-/-}$纤维化小鼠, 并且前者对Fas诱导细胞死亡的抵抗效应也明显强于后者[11].

以上提到的AKT和ERK都是重要的促生存信号分子, 其介导的肝保护效应主要与增强肝细胞的生长、增生、凋亡抵抗反应有关[13-15]. 在细胞水平, 肝纤维化诱导的损伤耐受与Kupffer细胞密切相关. 在PBDL小鼠模型中, 利用alendronate liposomes耗竭Kupffer细胞后, 结扎叶对TNF-α诱导的肝细胞凋亡的敏感性增强, 而肝细胞的再生则明显削弱, 从而致使结扎叶所具有的肝脏保护效应丧失[10]. Kupffer细胞在肝纤维化形成和消融中的关键作用已经明确[16-19], 因此, 经纤维化诱导活化的Kupffer细胞可能通过抑制肝细胞凋亡及促进肝细胞再生而保护小鼠抵抗随后的损伤攻击, 进而阻止肝衰竭或死亡的发生.

表面上, 肝纤维化诱导的肝脏保护效应似乎与临床医生对肝纤维化的认知相违背, 然而, 这一新认知实际上与肝脏强大而卓越的组织修复能力相符. 需要强调的是, 肝纤维化诱导的损伤耐受中对肝细胞凋亡的抵抗、肝细胞再生的促进是针对剩余正常肝细胞(而非已经发生异常转变的肝细胞)而言的[11]. 虽然肝纤维化诱导的保护效应在短期内是有益的. 然而, 长远来看, 如纤维化损伤过重, 则修复、保护效应远远弱于损伤效应, 最终仍会导致不可逆性肝损害.

4 参考文献

1 Bataller R, Brenner DA. Liver fibrosis. *J Clin Invest* 2005; 115: 209-218 [PMID: 15690074 DOI: 10.1172/JCI200524282]
2 Friedman SL. Mechanisms of hepatic fibrogenesis. *Gastroenterology* 2008; 134: 1655-1669 [PMID: 18471545 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.03.003]
3 Qin L, Han YP. Epigenetic repression of matrix metalloproteinases in myofibroblastic hepatic stellate cells through histone deacetylases 4: implication in tissue fibrosis. *Am J Pathol* 2010; 177: 1915-1928 [PMID: 20847282 DOI: 10.2353/ajpath.2010.100011]
4 Friedman SL. Evolving challenges in hepatic fibrosis. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2010; 7: 425-436 [PMID: 20585339 DOI: 10.1038/nrgastro.2010.97]
5 Wynn TA. Fibrotic disease and the T(H)1/T(H)2 paradigm. *Nat Rev Immunol* 2004; 4: 583-594 [PMID: 15286725 DOI: 10.1038/nri1412]
6 Friedman SL. Hepatic stellate cells: protean, multifunctional, and enigmatic cells of the liver. *Physiol Rev* 2008; 88: 125-172 [PMID: 18195085 DOI: 10.1152/physrev.00013.2007]
7 Wynn TA. Fibrosis under arrest. *Nat Med* 2010; 16: 523-525 [PMID: 20448575 DOI: 10.1038/nm0510-523]
8 Wynn TA. Integrating mechanisms of pulmonary fibrosis. *J Exp Med* 2011; 208: 1339-1350 [PMID: 21727191 DOI: 10.1084/jem.20110551]
9 Osawa Y, Hannun YA, Proia RL, Brenner DA. Roles of AKT and sphingosine kinase in the antiapoptotic effects of bile duct ligation in mouse liver. *Hepatology* 2005; 42: 1320-1328 [PMID: 16317686 DOI: 10.1002/hep.20967]
10 Osawa Y, Seki E, Adachi M, Suetsugu A, Ito H, Moriwaki H, Seishima M, Nagaki M. Role of acid sphingomyelinase of Kupffer cells in cholestatic liver injury in mice. *Hepatology* 2010; 51: 237-245 [PMID: 19821528 DOI: 10.1002/hep.23262]
11 Bourbonnais E, Raymond VA, Ethier C, Nguyen BN, El-Leil MS, Meloche S, Bilodeau M. Liver fibrosis protects mice from acute hepatocellular injury. *Gastroenterology* 2012; 142: 130-139. e4 [PMID: 21945831 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.09.033]
12 Chalasani N, Aljadhey H, Kesterson J, Murray MD, Hall SD. Patients with elevated liver enzymes are not at higher risk for statin hepatotoxicity. *Gastroenterology* 2004; 126: 1287-1292 [PMID: 15131789 DOI: 10.1053/j.gastro.2004.02.015]
13 Frémin C, Ezan F, Guegan JP, Gailhouste L, Trotard M, Le Seyec J, Rageul J, Theret N, Langouët S, Baffet G. The complexity of ERK1 and ERK2 MAPKs in multiple hepatocyte fate responses. *J Cell Physiol* 2012; 227: 59-69 [PMID: 21437905 DOI: 10.1002/jcp.22742]
14 Owens DM, Keyse SM. Differential regulation of MAP kinase signalling by dual-specificity protein phosphatases. *Oncogene* 2007; 26: 3203-3213 [PMID: 17496916]
15 Lips DJ, Bueno OF, Wilkins BJ, Purcell NH, Kaiser RA, Lorenz JN, Voisin L, Saba-El-Leil MK, Meloche S, Pouysségur J, Pagès G, De Windt LJ, Doevendans PA, Molkentin JD. MEK1-ERK2 signaling pathway protects myocardium from ischemic injury in vivo. *Circulation* 2004; 109: 1938-1941 [PMID: 15096454 DOI: 10.1161/01.CIR]
16 Duffield JS, Forbes SJ, Constandinou CM, Clay S, Partolina M, Vuthoori S, Wu S, Lang R, Iredale JP. Selective depletion of macrophages reveals distinct, opposing roles during liver injury and repair. *J Clin Invest* 2005; 115: 56-65 [PMID: 15630444]
17 Thomas JA, Pope C, Wojtacha D, Robson AJ, Gordon-Walker TT, Hartland S, Ramachandran P, Van Deemter M, Hume DA, Iredale JP, Forbes SJ. Macrophage therapy for murine liver fibrosis recruits host effector cells improving fibrosis, regeneration, and function. *Hepatology* 2011; 53: 2003-2015 [PMID: 21433043 DOI: 10.1002/hep.24315]
18 Tacke F, Zimmermann HW. Macrophage heterogeneity in liver injury and fibrosis. *J Hepatol* 2014 Jan 8. *[Epub ahead of print]* [PMID: 24412603 DOI: 10.1016/j.jhep.2013.12.025]
19 Male P. [Problems of the 1st development disorders in their relations with the psychopathology of the adolescent]. *Rev Neuropsychiatr Infant* 1970; Suppl: 97-108 [PMID: 4115204 DOI: 10.1002/hep.26754]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年5月18日; 22(14): 2003-2007
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

研究快报 RAPID COMMUNICATION

Genistein与5-FU通过p42/44 MAPK通路调控Bax诱导肝癌细胞凋亡

赵忠新, 迟大鹏, 王钰粟, 梅庆步, 于海涛, 岳丽玲, 王 玉, 王秀华, 刘 丹

赵忠新, 齐齐哈尔市建华医院普外科 黑龙江省齐齐哈尔市 161006
迟大鹏, 上海中医药大学附属岳阳医院神经外科 上海市 200437
王钰粟, 梅庆步, 于海涛, 岳丽玲, 王玉, 王秀华, 刘丹, 齐齐哈尔医学院基础医学院 黑龙江省齐齐哈尔市 161006
赵忠新, 主治医师, 主要从事普外科疾病的诊疗、教学及科研.
黑龙江省教育厅科学技术研究基金资助项目, No. 12531792
作者贡献分布: 此课题由刘丹、岳丽玲及于海涛设计; 研究过程由刘丹、赵忠新、迟大鹏、王钰粟及王秀华操作; 研究方法由王玉指导; 数据分析由梅庆步完成; 本论文写作由赵忠新、刘丹及王钰粟完成.
通讯作者: 刘丹, 讲师, 161006, 黑龙江省齐齐哈尔市建华区卜奎北大街333号, 齐齐哈尔医学院生物遗传教研室.
7896078_cn@sina.com
电话: 0452-2663174
收稿日期: 2014-03-16 修回日期: 2014-04-02
接受日期: 2014-04-09 在线出版日期: 2014-05-18

Genistein and 5-FU inhibit apoptosis of human hepatocellular cancer cells by regulating Bax *via* p42/44 MAPK pathway

Zhong-Xin Zhao, Da-Peng Chi, Yu-Su Wang, Qing-Bu Mei, Hai-Tao Yu, Li-Ling Yue, Yu Wang, Xiu-Hua Wang, Dan Liu

Zhong-Xin Zhao, Department of General Surgery, Qiqihar Jianhua Hospital, Qiqihar 161006, Heilongjiang Province, China
Da-Peng Chi, Department of Neurosurgery, Yueyang Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200437, China
Yu-Su Wang, Qing-Bu Mei, Hai-Tao Yu, Li-Ling Yue, Wang Yu, Xiu-Hua Wang, Dan Liu, Basic Medical Science College, Qiqihar Medical University, Qiqihar 161006, Heilongjiang Province, China
Supported by: the Science and Technology Research Project of Heilongjiang Provincial Department of Education, No. 12531792
Correspondence to: Dan Liu, Lecturer, Qiqihar Medical University, 333 Bukui North Road, Jianhua District, Qiqihar 161006, Heilongjiang Province, China. 7896078_cn@sina.com
Received: 2014-03-16 Revised: 2014-04-02
Accepted: 2014-04-09 Published online: 2014-05-18

Abstract

AIM: To explore whether genistein and 5-FU induce apoptosis of human hepatic cancer MHCC97-L cells by regulating Bax *via* the p42/44 MAPK pathway.

METHODS: MHCC97-L cells were treated with genistein, 5-FU, PD98059, genistein + 5-FU, PD98059 + genistein, PD98059 + 5-FU, or PD98059 + genistein + 5-FU, respectively. The density and morphology of MHCC97-L cells were observed under an inverted microscope. Apoptosis and cell death were detected after annexin V-FITC/PI staining under a fluorescence microscope. The expression of Bax protein was detected by Western blot.

RESULTS: All drug groups showed decreased cell density, cell death and debris, cell shrinkage or deformation, reduced cytoplasmic transparency, and vacuoles structure within the cells, with PD98059 + genistein + 5-FU group having the most obvious changes. Apoptotic cells and dead cells were detected in all drug groups. The relative expression of Bax protein was the highest in the genistein + 5-FU group, followed by the genistein, 5-FU, PD98059 + genistein + 5-FU, PD98059 + 5-FU, PD98059 + genistein, PD98059 and control groups. The expression of Bax protein in the PD98059 + genistein group was very close to that in the PD98059 group, but was significantly lower than that in the genistein group.

CONCLUSION: Genistein and 5-FU can induce the apoptosis of MHCC97-L cells and increase Bax expression possibly by regulating Bax mainly through the p42/44 MAPK pathway.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Mitogen-activatedproteinkinase; Genistein; 5-fluorouracil; Apoptosis; Bax; Hepatocellular cancer

Zhao ZX, Chi DP, Wang YS, Mei QB, Yu HT, Yue LL, Wang Y, Wang XH, Liu D. Genistein and 5-FU inhibit apoptosis of human hepatocellular cancer cells by regulating Bax *via* p42/44 MAPK pathway. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(14): 2003-2007 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2003.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i14.2003

■背景资料
p42/44丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinases, MAPKs)是调节细胞增殖、分化及发育的信号网络核心, Bax为Bcl-2家族中促凋亡蛋白. 在药物诱导肿瘤细胞凋亡的研究中, 明确p42/44 MAPK通路与Bax的关系有利于发现药物的作用机制及指导临床用药.

■同行评议者
唐世刚, 教授, 湖南省人民医院

■研发前沿
木黄酮(genistein, Gen)增强肿瘤细胞对化疗药物的敏感性, 降低肿瘤细胞耐药性的产生, 减轻患者对化疗药物的不良反应, 已成为国内外学者研究的热点之一. 联合用药的协同疗效与p42/44 MAPK通路相关性的大小有可能成为评价药物联用的可行性和有效性的指标.

摘要

目的: 探讨在染料木黄酮(genistein, Gen)与氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-FU)诱导肝癌MHCC97-L细胞凋亡作用中p42/44丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinases, MAPKs)对Bax的调控.

方法: 倒置显微镜观察细胞密度和细胞形态; 荧光显微镜(Annexin V-FITC/PI)检测细胞凋亡及细胞死亡; Western blot检测Bax蛋白表达.

结果: 倒置显微镜下, 所有药物组细胞密度均下降, 死亡细胞及碎片散落在培养液中, 贴壁细胞皱缩或变形, 胞浆透明度下降, 可见空泡结构, 其中以PD98059+Gen+5-FU组变化最明显; 荧光显微镜下, 所有药物组均可检测到凋亡和死亡细胞; Western blot检测各组Bax蛋白的相对表达量由高到低依次为Gen+5-FU、Gen、5-FU、PD98059+Gen+5-FU、PD98059+5-FU、PD98059+Gen、PD98059、对照组, PD98059+Gen组的Bax蛋白表达与PD98059组十分接近, 且明显低于Gen组; PD98059+5-FU组和PD98059+Gen+5-FU组的Bax蛋白表达介于单用抑制剂组与未用抑制剂预处理的对应药物组之间.

结论: Gen、5-FU和Gen+5-FU均能诱导MHCC97-L细胞凋亡, 并与上调Bax有关; Gen对Bax的调控与p42/44 MAPK通路关系密切; 5-FU和联用组调控Bax需要有p42/44 MAPK通路参与.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 丝裂原活化蛋白激酶; 染料木黄酮; 氟尿嘧啶; 细胞凋亡; Bax; 肝癌

核心提示: 降低p42/44丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinases)的活性能拮抗木黄酮(genistein)和氟尿嘧啶(5-fluorouracil)单用及联用对MHCC97-L细胞上调Bax的作用, 但所有经PD98059预处理的药物组抗肝癌细胞增殖的效果并没有减弱, 反而增强, 提示存在其他机制与之相互作用.

赵忠新, 迟大鹏, 王钰莹, 梅庆步, 于海涛, 岳丽玲, 王玉, 王秀华, 刘丹. Genistein与5-FU通过p42/44 MAPK通路调控Bax诱导肝癌细胞凋亡. 世界华人消化杂志 2014; 22(14): 2003-2007
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2003.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i14.2003

0 引言

丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinases, MAPKs)信号通路是将细胞外刺激信号从细胞表面转导至细胞核内的重要传递者[1]. 细胞外信号调节激酶(p42/44 MAPK, 又称ERK)是MAPK家族的重要成员, 是一个三级酶促级联反应链, 即Ras-Raf-MEK-p42/44 MAPK, 是调节细胞增殖、分化及发育的信号网络核心. 染料木黄酮(genistein, Gen)是天然异黄酮物质, 具有抗肿瘤功效, 氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-FU)是消化系肿瘤常用的化疗药物, 二者联合有可能增强肿瘤细胞对化疗药物的敏感性, 降低肿瘤细胞耐药性的产生. 本研究延续前期实验[2], 进一步探讨在Gen与5-FU诱导肝癌MHCC97-L细胞凋亡作用中p42/44 MAPK对Bax的调控机制.

1 材料和方法

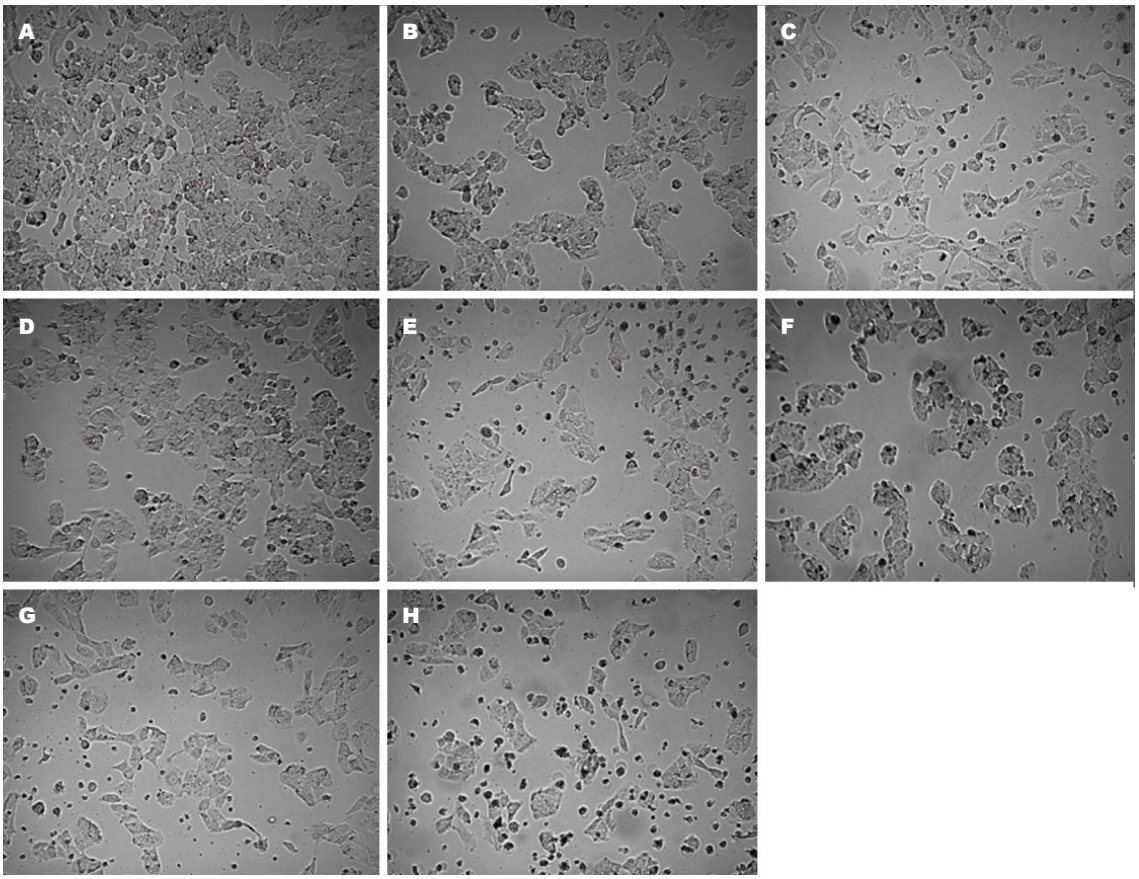
1.1 材料 肝癌MHCC97-L细胞购自复旦大学肝癌研究所. Gen(Sigma), 5-FU(天津金耀氨基酸有限公司), PD98059(Promega), 优级胎牛血清(Hyclone), 胰蛋白酶、DMSO(Amresco), DMEM高糖培养基(Gibco), Annexin V-FITC/PI试剂盒(南京凯基生物科技发展有限公司), Bax polyclonal antibody(Santa Cruz), β-actin(武汉博士德生物工程有限公司), 蛋白Marker(MBI), 哺乳动物蛋白抽提试剂盒、BCA蛋白定量试剂盒、一步法快速WB(HRP)试剂盒(北京康为世纪生物科技有限公司), ECL超敏发光液(北京普利莱基因技术有限公司), NC膜(Pall), 胶片(富士), 余为进口分装或国产分析纯.

1.2 方法

1.2.1 细胞培养: MHCC97-L细胞生长于DMEM高糖培养液中, 内含10% FBS及100 U/mL青霉素和100 μg/mL链霉素, 置于37 ℃、5.0%CO_2的培养箱中培养, 实验所用细胞均取对数生长期.

1.2.2 实验分组: 实验分为对照组、Gen组(80 μmol/L)、5-FU组(40 μmol/L)、PD98059组(50 μmol/L)(p42/44 MAPK抑制剂)、Gen(80 μmol/L)+5-FU(40 μmol/L)组、PD98059(50 μmol/L)+Gen(80 μmol/L)组、PD98059(50 μmol/L)+5-FU(40 μmol/L)组、PD98059(50 μmol/L)+Gen(80 μmol/L)+5-FU(40 μmol/L)组, 后3组为抑制p42/44 MAPK的药物组(PD98059预处理1 h后, 再加入联用药物).

1.2.3 倒置显微镜: 细胞以3×10^5个/孔接种于6孔板, 每孔2 mL细胞悬液, 每组设3个复孔, 培养24 h后, 加入不同药物处理的培养液, 处理48 h后, 倒置显微镜下观察细胞密度及形态学变化.



■相关报道
Gen诱导肝癌细胞凋亡作用与上调Bax、下调Bcl-2及激活Caspase9和Caspase3有关. 5-FU可激活Caspase8和Caspase3的活性, 诱导肝癌细胞凋亡. p42/44 MAPK与Bcl-2家族蛋白关系密切, p42/44 MAPK的激活可上调Bcl-2等抗凋亡蛋白的表达而抑制细胞凋亡, 也可下调Bcl-2和Bcl-xL, 增强Caspases3、6、8、9的活性而促进细胞凋亡.

图 1 倒置显微镜下各组细胞密度及形态学变化(×100). A: 对照组; B: Gen组; C: 5-FU组; D: PD98059组; E: Gen+5-FU组; F: PD98059+Gen组; G: PD98059+5-FU组; H: PD98059+Gen+5-FU组. 5-FU: 氟尿嘧啶; Gen: 木黄酮.

1.2.4 荧光显微镜: 细胞以5×10^{4}个/孔接种于24孔板, 每孔0.5 mL细胞悬液, 每组设2个复孔, 培养24 h后, 加入不同药物处理的培养液, 处理48 h后, PBS洗涤细胞2次, 加入提前混匀的500 μL Binding Buffer、5 μL Annexin V-FITC和5 μL PI的混合液, 室温避光反应5 min, 于荧光显微镜下, 用双色滤光片观察, Annexin V-FITC呈现绿色信号, PI呈现红色信号.

1.2.5 细胞蛋白的抽提: 细胞以3×10^{5}个/孔接种于6孔板中, 每孔2 mL细胞悬液, 每组设2个复孔, 培养24 h后, 加入不同药物处理的培养液, 培养48 h后, PBS(预冷)洗涤细胞2次, 冰上加入400 μL的蛋白抽提试剂(裂解液与蛋白酶抑制剂的混合物), 冰上用枪头小心吹打贴壁细胞, 将裂解液转移至EP管中, 冰上孵育30 min, 4 ℃ 14000 *g* 离心10 min, 小心转移上清液至新EP管中, 并记录各组转移体积.

1.2.6 BCA蛋白定量: 将稀释好的A-G组BSA标准品和待测蛋白样品(稀释10倍)各25 μL分别加入96孔板, 每组设3个复孔, 加入200 μL BCA工作液, 混匀后, 37 ℃孵育30 min, 冷却至室温, 于自动酶标仪检测570 nm的吸光度值, 绘制标准曲线, 计算待测样品的蛋白浓度, 用5×上样缓冲液和细胞裂解液稀释, 调整待测样品蛋白浓度为2 μg/μL, 100 ℃加热5 min, 冷却后混匀, -20 ℃保存.

1.2.7 Western blot: 取各组样品15 μL(30 μg)上样, 经SDS-PAGE电泳分离蛋白样品后, 转移至NC膜上, 封闭液封闭10 min, 再用抗体反应液处理后的一抗4 ℃孵育过夜, 经洗涤3次(每次5 min)后, 进行ECL发光, 显影, 定影, 用Photoshop13.0软件分析胶片泳带, 靶蛋白表达量用相对比率来表示.

统计学处理 数据用mean±SD表示, 采用SPSS16.0软件进行统计学分析, 两组间均数比较采用*t*检验. $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 倒置显微镜观察细胞密度及细胞形态学变化 所有药物组细胞密度均下降, 死亡细胞及碎片散落在培养液中, 贴壁细胞皱缩或变形, 胞浆透明度下降, 可见空泡结构, 其中以

■创新盘点

本实验结果显示，加入p42/44 MAPK抑制剂后Gen上调Bax的作用与单用抑制剂的相仿，又明显不及单用Gen，提示Gen可能主要通过p42/44 MAPK通路上调Bax；而5-FU和联用组上调Bax只有部分需要由p42/44 MAPK通路介导.

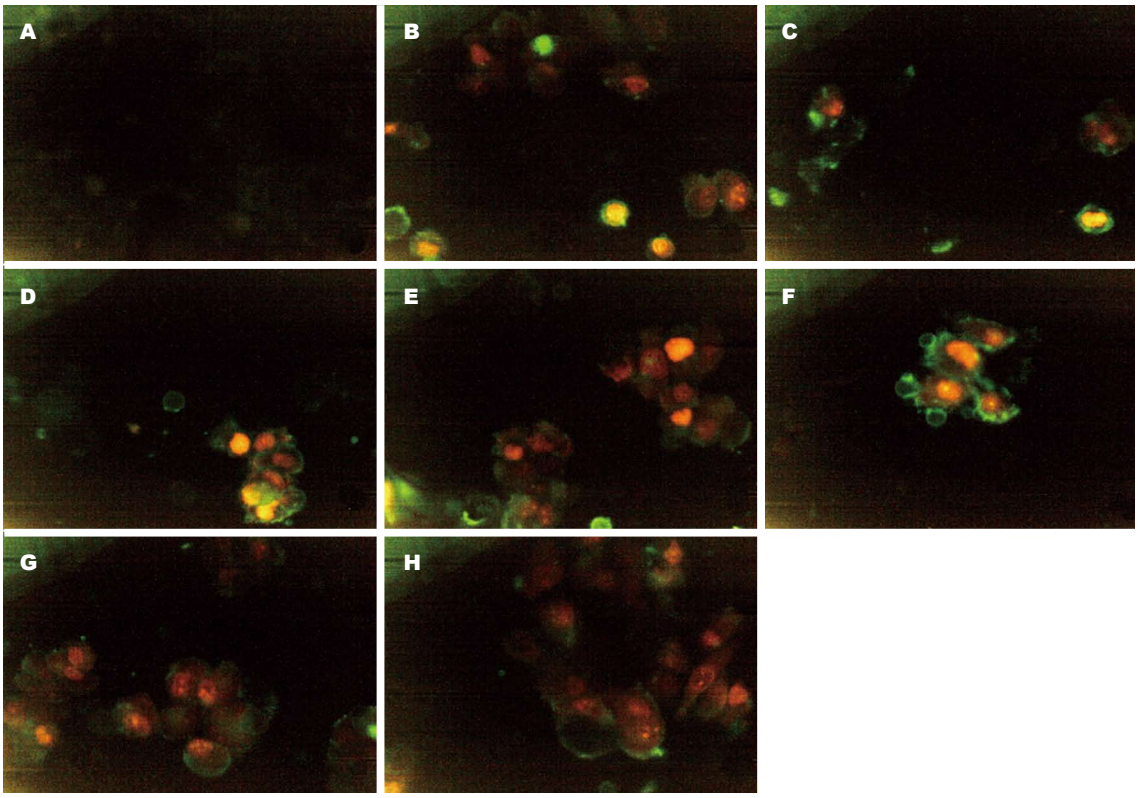


图 2 荧光显微镜显示各组细胞凋亡及死亡情况(×400). A: 对照组; B: Gen组; C: 5-FU组; D: PD98059组; E: Gen+5-FU组; F: PD98059+Gen组; G: PD98059+5-FU组; H: PD98059+Gen+5-FU组. 5-FU: 氟尿嘧啶; Gen: 木黄酮.

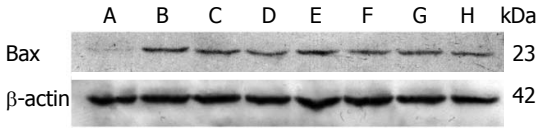


图 3 Western blot检测各组细胞Bax蛋白表达情况. A: 对照组; B: Gen组; C: 5-FU组; D: PD98059组; E: Gen+5-FU组; F: PD98059+Gen组; G: PD98059+5-FU组; H: PD98059+Gen+5-FU组. 5-FU: 氟尿嘧啶; Gen: 木黄酮.

PD98059+Gen+5-FU组变化最明显，而对照组胞浆内偶见空泡，其余未见异常(图1).

2.2 荧光显微镜(Annexin V-FITC/PI)观察细胞凋亡与细胞死亡 药物组荧光信号显示，绿色为早期凋亡的细胞，细胞内红色而细胞膜周围绿色的为晚期凋亡的细胞，红色的为死亡的细胞，所有药物组均可检测到凋亡和死亡细胞，对照组未见明显的绿色和红色信号(图2).

2.3 Western blot检测Bax蛋白表达 各组Bax蛋白的相对表达量由高到低依次为Gen+5-FU、Gen、5-FU、PD98059+Gen+5-FU、PD98059+5-FU、PD98059+Gen、PD98059、对照组；PD98059+Gen组的Bax蛋白表达与PD98059组十分接近，但明显低于Gen组，抑制p42/44 MAPK磷酸化未增加Gen上调Bax的作用；PD98059+5-FU组和PD98059+Gen+5-FU组的Bax蛋白表达介于单用抑制剂组与未用抑制剂预处理的对应药物组之间(图3). 结果提示，Gen、5-FU和Gen+5-FU诱导MHCC97-L细胞凋亡与上调Bax有关，Gen对Bax的调控与p42/44 MAPK通路关系密切，5-FU和联用组调控Bax需要有p42/44 MAPK通路参与.

3 讨论

国内外众多学者通过实验证明，Gen具有明显诱导肝癌细胞凋亡作用与上调Bax[3-5]、下调Bcl-2[4-6]及激活Caspase9[5]和Caspase3[5,7,8]有关. 5-FU是历史悠久的基础化疗药物，一般认为他是抗代谢药，但最新研究表明他还可通过诱导细胞凋亡发挥抗肿瘤作用[9]. 5-FU导致Fas受体增加，激活Fas信号途径，引起Caspase8和Caspase3的活化，诱导肝癌细胞凋亡[10,11]. 有研究表明，过表达的*Bax*基因能进一步抑制Bcl-2的功能，促进肝癌细胞凋亡[12]. 本实验结果显示，Gen、5-FU和Gen+5-FU组均能诱导肝癌MHCC97-L细胞凋亡，并与上调促凋亡蛋白Bax有关.

Bcl-2家族蛋白包括两大类，一类是抗凋亡

蛋白, 如Bcl-2和Bcl-xL等; 另一类是促凋亡蛋白, 如Bax、Bak、Bid和Bad等[13]. p42/44 MAPK是此信号转导通路的最下游, 当他活化后可使其底物磷酸化, Bax是其底物之一. 一般认为, p42/44 MAPK激活能促进细胞增殖, 抑制细胞凋亡, 这主要是因为p42/44 MAPK与Bcl-2家族蛋白有着密切的关系[14]. p42/44 MAPK的激活不仅可以上调Bcl-2等抗凋亡蛋白的表达, 而且还可以诱导其磷酸化[15-18]. 另外, 也有实验发现, p42/44 MAPK信号途径也可促进细胞凋亡, 在人B细胞的研究中, p42/44 MAPK参与诱导细胞凋亡[14]. Boucher等[19]以胰腺癌细胞为模型, 分析p42/44 MAPK在细胞生存中的调节作用以及相关机制时, 发现p42/44 MAPK抑制剂可以诱导细胞G_0/G_1期的阻滞及下调抗凋亡蛋白Bcl-2和Bcl-xL的表达, 增强Caspase3、Caspase6、Caspase8、Caspase9的活性, 但不影响促凋亡蛋白Bax和Bak的表达. 本实验结果显示, 加入p42/44 MAPK抑制剂后Gen上调Bax的作用与单用抑制剂的相仿, 又明显不及单用Gen, 提示Gen可能主要通过p42/44 MAPK通路上调Bax的蛋白表达; 而5-FU和联用组上调Bax只有部分需要由p42/44 MAPK通路介导.

总之, 降低p42/44 MAPK的活化能拮抗Gen、5-FU和联用组对MHCC97-L细胞上调Bax的作用, 但所有经PD98059预处理的药物组抗肝癌细胞增殖的效果并没有减弱, 反而增强, 说明仍存在其他机制与之相互作用, 尚待进一步研究.

4 参考文献

1 陈誉华. 医学细胞生物学. 第5版. 北京: 人民卫生出版社, 2013: 290
2 刘丹, 赵忠新. Genistein与5-FU联合对人肝癌细胞MHCC97-L的抗增殖作用. 世界华人消化杂志 2012; 20: 2474-2478
3 马兴标, 张继红, 梁力建, 黄洁夫. 金雀异黄素调节肝癌HepG2细胞bax基因表达诱导细胞凋亡的实验研究. 中国普外基础与临床杂志 2008; 15: 245-249
4 王宝海, 田晓丰, 曹宏. 金雀异黄素诱导人肝癌细胞SMMC-7721细胞凋亡的研究. 中国老年学杂志 2008; 28: 1888-1889
5 Jiang H, Ma Y, Chen X, Pan S, Sun B, Krissansen GW, Sun X. Genistein synergizes with arsenic trioxide to suppress human hepatocellular carcinoma. *Cancer Sci* 2010; 101: 975-983 [PMID: 20219070 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2009.01464.x]
6 Ma Y, Wang J, Liu L, Zhu H, Chen X, Pan S, Sun X, Jiang H. Genistein potentiates the effect of arsenic trioxide against human hepatocellular carcinoma: role of Akt and nuclear factor-κB. *Cancer Lett* 2011; 301: 75-84 [PMID: 21078540 DOI: 10.1016/j.canlet.2010.10.022]
7 Chodon D, Ramamurty N, Sakthisekaran D. Preliminary studies on induction of apoptosis by genistein on HepG2 cell line. *Toxicol In Vitro* 2007; 21: 887-891 [PMID: 17391909 DOI: 10.1016/j.tiv.2007.01.023]
8 Chodon D, Banu SM, Padmavathi R, Sakthisekaran D. Inhibition of cell proliferation and induction of apoptosis by genistein in experimental hepatocellular carcinoma. *Mol Cell Biochem* 2007; 297: 73-80 [PMID: 17006617 DOI: 10.1007/s11010-006-9324-2]
9 张厚莉, 裴可灵, 崔淑香. 5-FU类药物抗癌新调控机制研究进展. 中华肿瘤防治杂志 2012; 19: 1437-1440
10 Chen Z, Xu K. [Effect of fluorouracil combined with FK228 on the proliferation, apoptosis and Fas mRNA level in HepG2 hepatoma cell lines]. *Zhongnan Daxue Xuebao Yixueban* 2009; 34: 124-129 [PMID: 19270351]
11 Okamura M, Shimada J, Sakagami H. Comparative analysis of cell death induction by cisplatin and 5-FU in human oral squamous and hepatocellular carcinoma cell lines. *Anticancer Res* 2008; 28: 253-259 [PMID: 18383853]
12 Wang JM, Xiao BL, Zheng JW, Chen HB, Zou SQ. Effect of targeted magnetic nanoparticles containing 5-FU on expression of bcl-2, bax and caspase 3 in nude mice with transplanted human liver cancer. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 3171-3175 [PMID: 17589894]
13 刘志, 郑军. Bcl-2家族蛋白及其在细胞凋亡中的作用. 生命的化学 2007; 27: 22-25
14 郑铭, 韩启德. 参与细胞凋亡的丝裂原活化蛋白激酶及其作用机制. 生理科学进展 2000; 31: 157-160
15 Stadheim TA, Xiao H, Eastman A. Inhibition of extracellular signal-regulated kinase (ERK) mediates cell cycle phase independent apoptosis in vinblastine-treated ML-1 cells. *Cancer Res* 2001; 61: 1533-1540 [PMID: 11245462]
16 Romerio F, Zella D. MEK and ERK inhibitors enhance the anti-proliferative effect of interferon-alpha2b. *FASEB J* 2002; 16: 1680-1682 [PMID: 12206994]
17 Boucher MJ, Duchesne C, Lainé J, Morisset J, Rivard N. cAMP protection of pancreatic cancer cells against apoptosis induced by ERK inhibition. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 285: 207-216 [PMID: 11444827 DOI: 10.1006/bbrc.2001.5147]
18 Gebauer G, Peter AT, Onesime D, Dhanasekaran N. Apoptosis of ovarian granulosa cells: correlation with the reduced activity of ERK-signaling module. *J Cell Biochem* 1999; 75: 547-554 [PMID: 10572238]
19 Boucher MJ, Morisset J, Vachon PH, Reed JC, Lainé J, Rivard N. MEK/ERK signaling pathway regulates the expression of Bcl-2, Bcl-X(L), and Mcl-1 and promotes survival of human pancreatic cancer cells. *J Cell Biochem* 2000; 79: 355-369 [PMID: 10972974]

■同行评价
本文设计合理, 具有一定指导意义.

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com
世界华人消化杂志 2014年5月18日; 22(14): 2008-2015
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

研究快报 RAPID COMMUNICATION

不同比例ω-3/ω-6多不饱和脂肪酸对DSS诱导大鼠急性结肠炎的影响

田玉玲, 王化虹, 田 雨, 张 维, 滕贵根, 何 群

■背景资料
炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是一种慢性非特异性肠道炎症, 发病机制尚不明确. 近年来大规模研究发现“西方化”饮食的传播和炎症性病在以前非高发地区发病率升高有关系. 有研究发现ω-3/ω-6多不饱和脂肪酸(polyunsaturated fatty acid, PUFA)摄入比例的变化与IBD的发病有重要关系. 还有研究发现与ω-3PUFA和ω-6PUFA的含量相比, 两者的比例更能影响肠道的炎症过程.

田玉玲, 王化虹, 田雨, 张维, 滕贵根, 北京大学第一医院消化内科 北京市 100034
何群, 北京大学第一医院泌尿外科病理研究室 北京市 100034
田玉玲, 主要从事炎症性肠病的研究.
作者贡献分布: 试验设计由田玉玲、王化虹及田雨共同完成; 动物模型制作、试验检测、数据分析、论文写作主要有田玉玲完成; 张维、腾贵根及何群参与部分研究过程.
通讯作者: 王化虹, 主任医师, 100034, 北京市西什库大街8号, 北京大学第一医院消化内科. wanghuahong@medmail.com.cn
电话: 010-83572226
收稿日期: 2014-02-24 修回日期: 2014-04-02
接受日期: 2014-04-09 在线出版日期: 2014-05-18

Effects of different ratios of ω-3/ω-6 polyunsaturated fatty acids on experimental acute colitis in rats

Yu-Ling Tian, Hua-Hong Wang, Yu Tian, Wei Zhang, Gui-Gen Teng, Qun He

Yu-Ling Tian, Hua-Hong Wang, Yu Tian, Wei Zhang, Gui-Gen Teng, Department of Gastroenterology, Peking University First Hospital, Beijing 100034, China
Qun He, Pathology Institute of Urology, Peking University First Hospital, Beijing 100034, China
Correspondence to: Hua-Hong Wang, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Peking University First Hospital, 9 Xishenku, Beijing 100034, China. wanghuahong@medmail.com.cn
Received: 2014-02-24 Revised: 2014-04-02
Accepted: 2014-04-09 Published online: 2014-05-18

Abstract

AIM: To investigate the effect of different ratios of ω-3/ω-6 of polyunsaturated fatty acids (PUFAs) on acute colitis induced with dextran sulfate sodium (DSS) in rats and explore the possible mechanisms.

METHODS: Thirty-two male SD rats were randomly divided into four groups (n = 8 for each): A (control), B (ω-3/ω-6, 1:1), C (ω-3/ω-6, 1:3) and D (ω-3/ω-6, 1:30). After six weeks of feeding with different diets, acute colitis in rats in groups B, C and D were induced by giving 3% DSS in drinking water for seven days. Then all the rats were sacrificed. Overall inflammatory severity score and histological damage score were calculated. The levels of prostaglandin E_2 (PGE_2), tumor necrosis factor-α (TNF-α), nuclear transcription factor kappa B (NF-κB) in the colon, and the level of interleukin-6 (IL-6) in serum were measured by ELISA.

RESULTS: The overall inflammatory severity score in group B was significantly lower than those in groups C and D (2.8 ± 1.2 *vs* 4.3 ± 1.1, 5.6 ± 1.3, $P < 0.05$, $P < 0.01$). The histological damage score in group B was also significantly lower than those in groups C and D (3.2 ± 2.0 *vs* 35.0 ± 28.8, 27.0 ± 25.8, $P < 0.01$ for both). The levels of PGE_2 and TNF-α in the colon were significantly lower in groups B and C than in group D [443.4 ± 67.3 (ng/100 g tissue), 419.5 ± 52.6 (ng/100 g tissue) *vs* 541.2 ± 68.5 (ng/100 g tissue), $P < 0.05$, $P < 0.01$; 189.2 ± 27.0 (ng/100 g tissue), 173.2 ± 50.2 (ng/100 g tissue) *vs* 270.3 ± 49.1 (ng/100 g tissue), $P < 0.01$ for both). The level of IL-6 in serum was significantly lower in group B than in groups C and D (97.1 ng/L ± 8.2 ng/L *vs* 129.1 ng/L ± 5.5 ng/L, 125.4 ng/L ± 19.6 ng/L, $P < 0.01$, $P < 0.05$). There were no statistical differences in the level of nuclear NF-κB between groups B, C and D [497.9 ± 50.7 (ng/100 g tissue), 569.1 ± 121.2 (ng/100 g tissue), 582.5 ± 123.1 (ng/100 g tissue)].

CONCLUSION: Higher ratios of ω-3/ω-6 PUFAs have a more significant protective effect against acute colitis, especially when the ratio is 1:1. The overall inflammatory severity score, histological damage score, the levels of PGE_2 and TNF-α in colon and the level of IL-6 in serum are significantly lower in the 1:1 (ω-3/ω-6) group than in the 1:30 group. Adding moderate amount of ω-3 PUFA may be a new way to treat IBD.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: ω-3 polyunsaturated fatty acid; ω-6 polyunsaturated fatty acid; Dextran sulfate sodium induced acute colitis; Inflammatory bowel disease; Inflammatory cytokines

■同行评议者
江学良, 教授, 主任医师, 中国人民解放军济南军区总医院消化科; 杨柏霖, 副主任医师, 南京中医药大学附属医院; 张庆瑜, 教授, 主任医师, 天津医科大学总医院科研处

Tian YL, Wang HH, Tian Y, Zhang W, Teng GG, He Q. Effects of different ratios of ω-3/ω-6 polyunsaturated fatty acids on experimental acute colitis in rats. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(14): 2008-2015 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2008.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i14.2008

摘要

目的: 探讨不同比例ω-3/ω-6多不饱和脂肪酸对葡聚糖硫酸钠(dextran sulfate sodium, DSS)诱导大鼠急性结肠炎影响及其可能的作用机制.

方法: 32只1月龄♂SD大鼠随机分为4组, 每组8只, A: 普通饲料对照组, B: ω-3/ω-6 PUFA 1∶1组、C: ω-3/ω-6 PUFA 1∶3组, D: ω-3/ω-6 PUFA 1∶30组. 4组大鼠不同饲料喂养6 wk; 随后B、C、D组大鼠自由饮用3%DSS溶液7 d, 诱发急性结肠炎模型; A组大鼠自由引用普通水7 d. 比较各组大鼠结肠炎症状评分、病理炎症评分和结肠组织前列腺素E_2(prostaglandin E_2, PGE_2)、核因子-κB(nuclear factor-κB, NF-κB)、肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor α, TNF-α)、血清白介素-6(interleukin- 6, IL-6)的含量.

结果: B组大鼠结肠炎症程度积分显著低于C、D组, 分别为2.8±1.2、4.3±1.1、5.6±1.3(P<0.05, P<0.01). B组大鼠结肠炎病理学评分显著低于C、D组, 分别为3.2±2.0、35.0±28. 8、27.0±25.8(P<0.01, P<0.01). B、C组大鼠结肠组织中PGE2含量低于D组, 分别为443.4ng/100 g组织±67.3 ng/100 g组织、419.5 ng/100 g组织±52.6 ng/100 g组织、541.2 ng/100 g组织±68.5 ng/100 g组织(P<0.05, P<0.01). B、C组大鼠结肠组织中TNF-α含量低于D组, 分别为189.2 ng/100 g组织±27.0 ng/100 g组织、173.2 ng/100 g组织±50.2 ng/100 g组织、270.3 ng/100 g组织±49.1 ng/100 g组织(P<0.01, P<0.01). B组大鼠血清中IL-6含量低于C、D组, 分别为97.1 ng/L±8.2 ng/L、129.1 ng/L±5.5 ng/L、125.4 ng/L±19.6 ng/L(P<0.01, P<0.05). B、C、D大鼠结肠组织中NF-κB含量分别为497.9 ng/100 g组织±50.7 ng/100 g组织、569.1 ng/100 g组织±121.2 ng/100 g组织、582.5 ng/100 g组织±123.1 ng/100 g组织, 无统计学差异.

结论: 提高以ω-3/ω-6 PUFA的比例对于DSS诱导的大鼠急性结肠炎症具有保护作用, 尤其是当ω-3/ω-6 PUFA比例提高到1∶1保护作用最明显. 随着ω-3 PUFA的比例升高, ω-3/ω-6 PUFA1∶1组较ω-3/ω-6 PUFA1:30组大鼠的炎症评分、病理评分以及相关的炎症因子如PGE2、TNF-α、IL-6都有所下降. 向饮食中添加适量ω-6 PUFA或可成为治疗炎症性肠病新方向.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: ω-3多不饱和脂肪酸; ω-6多不饱和脂肪酸; 急性结肠炎; 炎症性肠病; 炎症因子

核心提示: 提高ω-3/ω-6 PUFA的比例对于葡聚糖硫酸钠(dextran sulfate sodium)诱导的大鼠急性结肠炎症可能具有保护作用, 提高膳食中ω-3 PUFA的比例可能成为炎症性肠病(inflammatory bowel disease)新的治疗手段.

田玉玲, 王化虹, 田雨, 张维, 滕贵根, 何群. 不同比例ω-3/ω-6多不饱和脂肪酸对DSS诱导大鼠急性结肠炎的影响. 世界华人消化杂志 2014; 22(14): 2008-2015 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2008.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i14.2008

0 引言

大规模流行病学调查发现西方经济发达国家炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)的发病率明显高于经济欠发达国家[1,2]. 近年来IBD在世界范围内区域性发病率的增高与“西方化饮食”的传播相平行的现象提示, 该病的发病可能和饮食结构变化相关[2]. 观察饮食中脂肪成分明显变化, 即随着植物油脂的摄入增加多不饱和脂肪酸(polyunsaturated fatty acid, PUFA)的构成发生了明显的改变. ω-3 PUFA与ω-6 PUFA的摄入比例从70年代的1∶1变为90年代的大约1∶15-1∶20[3,4]. 2009年欧洲一项大型前瞻性调查发现, 摄入高含量ω-6 PUFA和溃疡性结肠炎的发病具有相关性[5]. 虽然针对ω-3 PUFA对炎症性肠病的作用开展了许多研究, 但目前尚无定论. Cabre等[6]一项关于ω-3 PUFA和炎症性肠病系统综述得出结论: 目前的相关研究数据不能为ω-3 PUFA对于活动性或非活性炎症性肠病患者有益提供肯定性依据. 究其原因可能和目前大多数研究没有调整ω-3 PUFA和ω-6 PUFA比例相关. 而且目前大多数研究主要是关于多不饱和脂肪酸和慢性结肠炎症的关系, 对于其对急性炎症研究甚少. 目前ω-3 PUFA与ω-6 PUFA比例失衡导致的肠道炎症免疫反应的变化机制还存在很多未知领域. 深入研究相关方面的机制有利于我们对炎症性肠病肠道急性炎症发生机制的理

■研发前沿
目前ω-3 PUFA与ω-6 PUFA比例失衡导致的肠道炎症免疫反应的变化机制还存在很多未知领域. 深入研究相关方面的机制有利于我们对炎症性肠病肠道急性炎症发生机制的理解, 也有利于对患者进行合理的健康指导.

■相关报道
研究发现ω-3/ω-6 PUFA摄入比例的变化与IBD的发病有重要关系，又有研究认为ω-3 PUFA可以通过监控促炎因子如肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor α, TNF-α)、血清白介素-6(interleukin-6, IL-6)、IL-1a、IL-8以及参与核因子-κB(nuclear factor-κB, NF-κB)途径等抑制炎症的过程. 目前针对ω-3 PUFA对IBD炎症过程的影响尚无定论. 大部分临床及试验研究认为补充ω-3 PUFA对于炎症性肠病具有保护作用. 然而也有不少研究认为ω-3 PUFA对于炎症性肠病没有保护作用.

表 1 结肠炎症症状评分

评分	粪便性状	便血情况	体质量
0	干球或干条形	便潜血试验阴性	增加或维持原有体质量
1	成型软便	便潜血试验阳性	下降＜5%
2	不成形软便	附着新鲜血迹, 肛门口无血迹	下降≥5%且＜10%
3	水样便	肛门口大量血迹	下降≥10%

表 2 组织学损伤评分标准

评分	炎症	病变深度	隐窝破坏	病变范围(%)
0	无	无	无	无
1	轻	黏膜下层	基底1/3破坏	1–25
2	重	肌层	基底2/3破坏	26–50
3		浆膜层	仅有完整上皮	51–75
4			全部破坏	76–100

解, 也有利于对患者进行合理的健康指导.

1 材料和方法

1.1 材料 ♂SPF级SD大鼠32只, 4周龄, 体质量95-117 g. 动物于北京大学第一医院动物中心SPF级实验室饲养, 昼夜节律12 h/12 h. 购入后供应正常饲料和饮水饲养4 d, 习惯环境后进行实验. 本研究经北京大学第一医院实验动物福利伦理委员会审查通过. 葡聚糖硫酸钠(dextran sulfate sodium, DSS)36000-50000购自北京毕特博生物科技有限公司. 前列腺素E_2(prostaglandin E_2, PGE_2)、核因子-κB(nuclear factor-κB, NF-κB)、肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor α, TNF-α)、血清白介素-6(interleukin- 6, IL-6)酶联免疫检测试剂盒购自北京方程生物公司.

1.2 方法

1.2.1 饲料改造: 基础饲料中总油脂含量约4%-5%, 其中ω-3 PUFA含量约1.5 g/kg, ω-6 PUFA含量约23.5 g/kg, ω-3/ω-6 PUFA比例为1∶15. 向基础纯饲料按比例添加鱼油和亚麻油改造饲料, 3种改造后的饲料总油脂含量均增至约5%-10%. 其中鱼油购自海洋恒昌集团每1 g含DHA和EPA 210 mg. 亚油酸购自安庆市中创生物工程有限公司, 纯度为95%.

1.2.2 大鼠实验分组及结肠炎模型建立: 第一阶段(诱发结肠炎前期), 32只大鼠随机分为A、B、C、D 4组, 每组8只. B、C、D组分别给予ω-3/ω-6 PUFA为1∶1、1∶3及1∶30的改造饲料进行饲养; A组给予普通饲料饲养, 共喂养6 wk, 其他饲养条件均相同. 每周称量各组大鼠体质量, 记录大便、一般情况. 第二阶段(诱发结肠炎期), B、C、D组大鼠给予3%DSS做自由饮用诱发结肠炎. DSS诱发大鼠结肠炎参考文献[7,8]具体方案: 3%DSS水溶液给大鼠自由饮用7 d, 制造急性期结肠炎动物模型. A组大鼠自由引用普通用水7 d.

1.2.3 实验动物处理及相关指标测定: 各组实验大鼠于急性结肠炎造模结束后(对照组亦在同时)12%乌拉坦过量麻醉处死. 解剖分离出全部结肠, 自肛门至盲肠测量长度后, 沿肠系膜缘剪开肠管, 生理盐水清洗去除肠腔内容物, 采取标本. 结肠炎症症状评分, 根据参考文献[7,8]按表1从3方面评价, 以总分计算. 结肠炎组织学评分按表2进行, 用炎症、病变深度、隐窝破坏、病变范围评分的乘积表示[9]. 距肛门4 cm处取结肠组织, 迅速置于液氮中冷冻, -80℃保存. 剪出1.0 cm×0.5 cm大小的结肠组织, 称质量标本后按照检测试剂盒说明书进行检测结肠组织中PGE_2、TNF-α、NF-κB. 迅速经大鼠腹主动脉取血, 按照检测试剂盒说明书进行检测血清中IL-6.

统计学处理 采用SPSS17.0统计软件, 计量资料以mean±SD表示, 组间比较采用单因素方差分析, $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 大鼠诱发结肠炎前期生长情况 诱发结肠炎前期4组大鼠生长情况良好, 体质量无统计学差异(图1).

2.2 不同比例ω-3/ω-6 PUFA对大鼠结肠炎(诱发结肠炎期)症状影响 3组大鼠自由饮用3%DSS诱发结肠炎, 饮用第2天大便开始变软, 第3天大便潜血出现阳性, 第4天开始出现懒动、竖毛、毛色变差. 至第5天出现可见血便, 肛门附着血迹, 第6天体质量开始下降. 结肠炎造模结束时B组大鼠较C、D大鼠血便评分显著性降低, 分别为1.0±0. 5、 2.4±0. 7、 2.8±0.5(均$P<0.01$); C组和D组之间无统计学差异; B组大鼠较C、D

表 3 大鼠肠炎症程度评分

分组	体质量变化积分	粪质积分	血便积分	总积分
B	0.38 ± 0.74	1.38 ± 0.52	1.00 ± 0.53	2.75 ± 1.16
C	0.50 ± 0.53	1.75 ± 0.46	2.38 ± 0.74	4.26 ± 1.13
D	1.13 ± 0.83	1.75 ± 0.46	2.75 ± 0.46	5.62 ± 1.30

B: ω-3/ω-6 PUFA 1∶1组; C: ω-3/ω-6 PUFA 1∶3组; D: ω-3/ω-6 PUFA 1∶30组.

表 4 各组大鼠结肠PGE_2、TNF-α、NF-κB量(ng/100 g组织)

	A	B	C	D	*P*值
PGE_2	368.1 ± 43.9	443.4 ± 67.3	419.5 ± 52.6	541.2 ± 68.5	<0.01
TNF-α	170.5 ± 29.5	189.2 ± 27.0	173.2 ± 50.2	270.3 ± 49.1	<0.01
NF-κB	555.1 ± 83.8	497.9 ± 50.7	569.1 ± 121.2	582.5 ± 123.1	>0.05

A: 普通饲料对照组; B: ω-3/ω-6 PUFA 1∶1组; C: ω-3/ω-6 PUFA 1∶3组; D: ω-3/ω-6 PUFA 1∶30组. TNF: 肿瘤坏死因子; NF-κB: 核因子-κB; PGE_2: 前列腺素E_2.

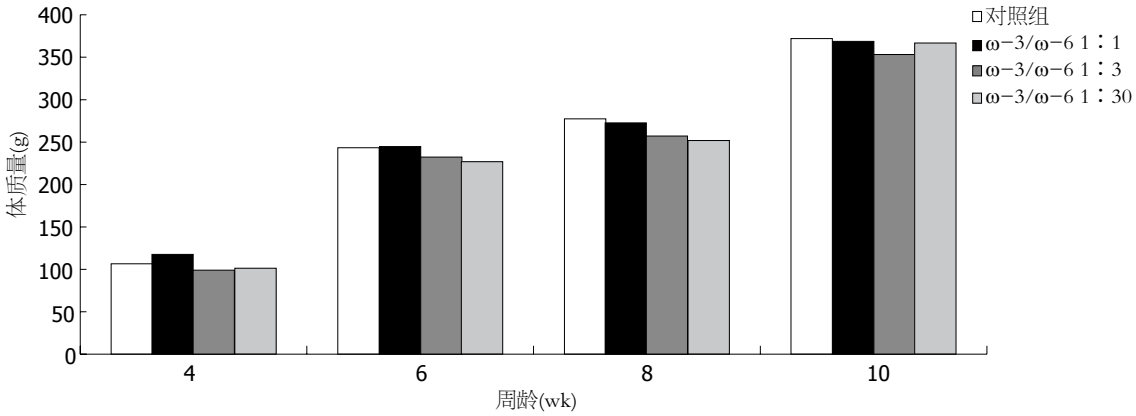


图 1 各组大鼠生长情况体质量变化.

大鼠总积分显著性降低, 分别为2.8±1.2、4.3±1.1、5.6±1.3(均*P*<0.01), C组和D组之间无统计学差异(表3).

2.3 不同比例ω-3/ω-6PUFA对大鼠病理组织学评分影响 大体观察A组大鼠结肠黏膜光滑; B组大鼠肠壁轻度水肿, 黏膜糜烂及溃疡少见; C、D组大鼠结肠黏膜水肿明显, 可见较多糜烂, 部分可见深大溃疡, 结肠壁变薄. 光镜下观察A大鼠结肠完全正常; B、C、D组结肠炎模型大鼠不同程度远段肠上皮损伤, 可见糜烂及溃疡形成, 腺体变形, 排列紊乱, 甚至消失, 隐窝破坏, 黏膜及黏膜下层可见淋巴细胞、单核细胞、嗜酸性粒细胞浸润, 并可见中性粒细胞浸润及淋巴小结形成(图2A). 其中B组大鼠镜下观察病变较轻, 仅有1只大鼠形成小溃疡. B组大鼠肠黏膜炎症评分显著低于C、D组, 分别为3.2±2.0、35.0±28.8、27.0±25.8, 具有统计学差异(均*P*<0.05); C、D两组无统计学意义.

2.4 不同比例ω-3/ω-6 PUFA对大鼠炎症因子影响 3组结肠炎模型大鼠结肠组织中PGE2较对照组均有升高, 其中B、C组大鼠结肠组织中PGE2含量低于D组, 分别为443.4 ng/100 g组织±67.3 ng/100 g组织、419.5 ng/100 g组织±52.6 ng/100 g组织、541.2 ng/100 g组织±68.5 ng/100 g组织(*P*<0.05, *P*<0.01)(图3, 表4). 3组结肠炎大鼠结肠TNF-α与对照组相比均有不同程度的升高, D组大鼠升高显著. B、C组大鼠结肠组织中TNF-α含量低于D组, 分别为189.2 ng/100 g组织±27.0 ng/100 g组织、173.2 ng/100 g组织±50.2 ng/100 g组织、270.3 ng/100 g组织±49.1 ng/100 g组织

■应用要点
本研究可以看出, 提高ω-3/ω-6 PUFA的比例对于DSS诱导的大鼠急性结肠炎症具有保护作用, 其中ω-3/ω-6 PUFA 1:1组效果最佳. 提示我们对于炎症性肠病治疗过程中, 提高膳食中ω-3 PUFA的比例可能成为新的治疗手段.

■同行评价
本文对阐明溃疡性结肠炎发病机制有一定意义, 并且对临床营养治疗也有一定启示.

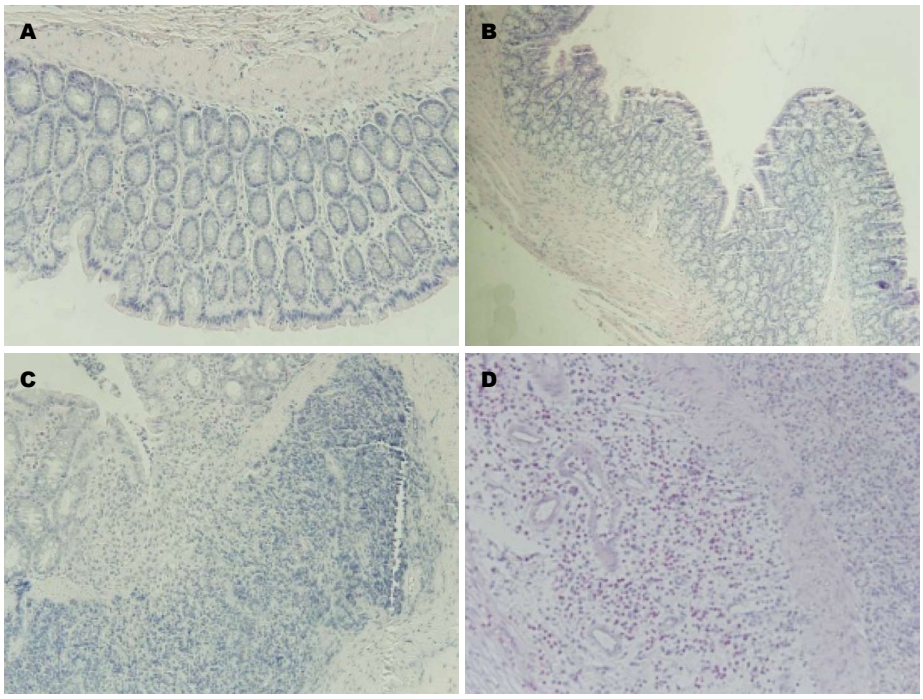


图 2 各组大鼠结肠组织HE染色(×40). A: 对照组大鼠结肠组织正常大鼠结肠黏膜; B: ω-3/ω-6 1∶1组; C: ω-3/ω-6 1∶3组; D: ω-3/ω-6 1∶30组, 大鼠结肠, 可见黏膜炎症逐渐加重, C组可见淋巴小结及小溃疡, D组可见大溃疡, 腺体完全消失, 黏膜及黏膜下层大量炎症细胞浸润.

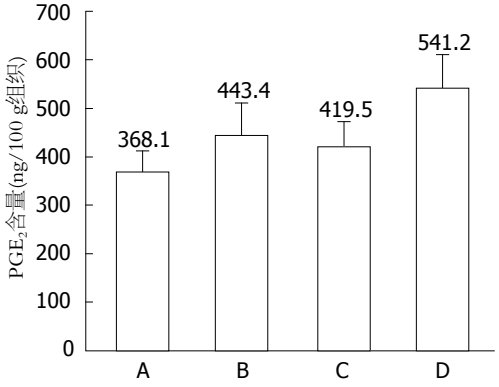


图 3 各组大鼠结肠PGE_2含量. A: 对照组大鼠结肠组织正常大鼠结肠黏膜; B: ω-3/ω-6 1∶1组; C: ω-3/ω-6 1∶3组; D: ω-3/ω-6 1∶30组.

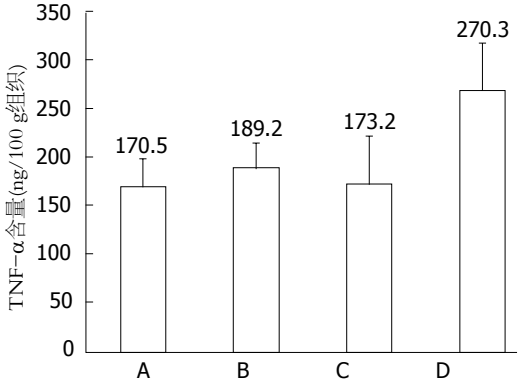


图 4 各组大鼠结肠TNF-α含量. A: 对照组大鼠结肠组织正常大鼠结肠黏膜; B: ω-3/ω-6 1∶1组; C: ω-3/ω-6 1∶3组; D: ω-3/ω-6 1∶30组. TNF: 肿瘤坏死因子.

(P<0.01, P<0.01)(图4, 表4). B组大鼠血清中IL-6含量低于C、D组, 分别为97.1 ng/L±8.2 ng/L、129.1 ng/L±5.5 ng/L、125.4 ng/L±19.6 ng/L (P<0.01, P<0.05). 具有统计学差异. B、C、D大鼠结肠组织中NF-κB含量分别为497.9 ng/100 g组织±50.7 ng/100 g组织、569.1 ng/100 g组织±121.2 ng/100 g组织、582.5 ng/100 g组织±123.1 ng/100 g组织, 不具有统计学差异.

3 讨论

IBD是一种慢性非特异性肠道炎症, 发病机制尚不明确. 近年来大规模研究发现“西方化”饮食的传播和炎症性病在以前非高发地区发病率升高有关系[10]. 有研究发现ω-3/ω-6 PUFA摄入比例的变化与IBD的发病有重要关系[11]. 还有研究发现与ω-3 PUFA和ω-6 PUFA的含量相比, 两者的比例更能影响肠道的炎症过程[12,13]. 针对IBD的营养治疗因为其不良反应低、花费相对低成为治疗新方向. 其中ω-3 PUFA又成为关键点之一. 目前针对ω-3 PUFA对IBD炎症过程的影响尚无定论. 大部分临床及试验研究认为补充ω-3 PUFA对于炎症性肠病具有保护作用[14,15]. 然而

也有不少研究认为ω-3 PUFA对于炎症性肠病没有保护作用, 甚至有害[16,17]. 既往动物实验中少有调整ω-3/ω-6 PUFA比例, 而且大多针对慢性炎症. 本实验研究的目的就是设立不同比例ω-3和ω-6 PUFA, 观察各组对急性结肠炎模型大鼠的影响.

本实验通过改造饲料, 设定ω-3/ω-6 PUFA 1∶1组、1∶3组、1∶30组, 观察不同比例ω-3 PUFA和ω-6 PUFA对急性结肠炎作用. Feagan等[17]认为ω-3/ω-6 PUFA在1∶1至1∶4对于炎症性疾病有益. 我们实验室曾对比ω-3/ω-6 PUFA 1∶3, 1∶15, 1∶30组对于DSS诱导大鼠溃疡性结肠炎慢性期影响, 未发现ω-3/ω-6 PUFA 1∶3对炎症有改善作用, 所以提高ω-3 PUFA剂量, 设立1∶1组观察对肠道炎症影响.

从本研究结果可以明显看出ω-3/ω-6 PUFA为1∶1组大鼠的结肠炎从症状评分到病理改变均较ω-3/ω-6 PUFA 1∶3及1∶30组大鼠有所改善, 提示高比例ω-3/ω-6对于溃疡性结肠炎急性期可能有保护作用, ω-3 PUFA的补充可以减轻肠道炎症, 适量补充ω-3 PUFA可能能够预防或者减轻肠道炎症, ω-3/ω-6 PUFA为1∶1组作用效果明显.

通过对炎症因子的影响观察, 本实验发现ω-3/ω-6 PUFA为1∶1组和1∶3组大鼠结肠组织中PGE2、TNF-α含量明显低于1∶30组(P<0.01), 结果提示提高ω-3/ω-6 PUFA的比例可以通过减少结肠组织中PGE2、TNF-α含量, 达到抑制急性结肠炎炎症过程. ω-3/ω-6 PUFA 1∶1组大鼠血浆中IL-6含量低于其余两组, P值分别为<0.05、<0.01, 结果提示高比例ω-3/ω-6 PUFA可以通过影响循环中炎症因子如IL-6减轻炎症反应.

早期研究认为由Cox-1途径介导产生的前列腺素对于肠道黏膜损伤所致炎症具有保护作用[18], PGE_2可以促进肝细胞生长[19], 抑制T细胞的增殖、细胞间黏附因子、细胞因子产生等[20,21]. 然而亦有研究表明PGE_2可以通过促进T细胞分化、炎症因子受体表达等达到促炎作用[22,23]. 本研究发现ω-3/ω-6 PUFA高比例组(1∶1, 1∶3)大鼠结肠中PGE_2含量较1∶30组明显下降, 与炎症程度有平行趋势. 说明提高ω-3/ω-6 PUFA比例到1∶1至1∶3可以通过抑制局部组织中PGE_2产生, 而达到抑制急性结肠炎的炎症过程. 这与Mbodji等[24]研究补充ω-3 PUFA可以减少肠道局部PGE_2的产生的结果一致. 有研究表明ω-3 PUFA可以与ω-6 PUFA竞争性结合细胞膜磷脂, 从而抑制花生四烯酸进入细胞膜, 抑制花生四烯酸向类花生酸的代谢. 推测结肠上皮细胞膜上的ω-3/ω-6 PUFA比例变化改变了细胞膜的生物物理化学特性, 导致下游信号传导、细胞因子分泌和转录调解发生变化, 是影响炎症轻重程度的核心机制[28]. 目前ω-3 PUFA对于PGE_2影响及其如何通过PGE_2调节炎症过程的机制尚不明确, 需要进一步研究.

另外有研究认为ω-3 PUFA可以通过监控促炎因子如TNF-α、IL-6、IL-1α、IL-8以及参与NF-κB途径等抑制炎症的过程[6]. 本实验发现ω-3/ω-6 PUFA为1∶1组和1∶3组大鼠结肠组织中TNF-α含量明显低于1∶30组. ω-3/ω-6 PUFA 1∶1组大鼠血浆中IL-6含量低于其余两组目前对于ω-3 PUFA. 该结果表明提高ω-3 PUFA在饮食中的比例可以降低TNF-α、IL-6等促炎因子, 从而达到降低急性期溃疡性结肠炎炎症反应. 本实验发现各组大鼠结肠NF-κB的含量有随着ω-6 PUFA比例升高而升高的趋势, 但没有统计学差异. 有研究报道ω-3可以通过降低NF-κB而起到抗炎作用[6,13,24,27,28]. 文献报道多通过电泳迁移率改变法测定NF-κB活性, 本实验采用ELISA检测, 有可能影响结果.

从本研究可以看出, 提高ω-3/ω-6 PUFA的比例对于DSS诱导的大鼠急性结肠炎症具有保护作用, 大鼠的炎症评分、病理评分以及相关的炎症因子PGE_2、TNF-α、IL-6都有所下降, 其中ω-3/ω-6 PUFA 1∶1组效果最佳. 提示我们对于炎症性肠病治疗过程中, 提高膳食中ω-3 PUFA的比例可能成为新的治疗手段. 但该实验仍然有待于进一步研究: (1)该试验设立的模型是急性结肠炎, 并没有模拟炎症性典型慢性、反复发作的临床过程, 这可能影响ω-3 PUFA对于IBD的疗效更加明确的影响. 进一步研究应该设置慢性期溃疡性结肠炎, 以观察疗效; (2)ω-3 PUFA对于肠道炎症过程作用机制尚不明确, 是如何调节PGE_2、IL等炎症因子需要进一步探讨. ω-3 PUFA作为一种重要的营养物质, 不良反应少, 相对于传统药物花费低, 应该加强其对IBD的作用及其作用机制的研究, 为IBD患者的治疗提供一种新选择.

4 参考文献

1 Cosnes J, Gower-Rousseau C, Seksik P, Cortot A.

Epidemiology and natural history of inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology* 2011; 140: 1785-1794 [PMID: 21530745 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.01.055]
2 Bernstein CN. New insights into IBD epidemiology: Are there any lessons for treatment? *Dig Dis* 2010; 28: 406-410 [PMID: 20926864 DOI: 10.1159/000320394]
3 Eaton SB, Konner M. Paleolithic nutrition. A consideration of its nature and current implications. *N Engl J Med* 1985; 312: 283-289 [PMID: 2981409 DOI: 10.1056/NEJM198501313120505]
4 Eaton SB, Eaton SB, Sinclair AJ, Cordain L, Mann NJ. Dietary intake of long-chain polyunsaturated fatty acids during the paleolithic. *World Rev Nutr Diet* 1998; 83: 12-23 [PMID: 9648501 DOI: 10.1159/000059672]
5 Tjonneland A, Overvad K, Bergmann MM, Nagel G, Linseisen J, Hallmans G, Palmqvist R, Sjodin H, Hagglund G, Berglund G, Lindgren S, Grip O, Palli D, Day NE, Khaw KT, Bingham S, Riboli E, Kennedy H, Hart A. Linoleic acid, a dietary n-6 polyunsaturated fatty acid, and the aetiology of ulcerative colitis: a nested case-control study within a European prospective cohort study. *Gut* 2009; 58: 1606-1611 [PMID: 19628674 DOI: 10.1136/gut.2008.169078]
6 Cabré E, Mañosa M, Gassull MA. Omega-3 fatty acids and inflammatory bowel diseases - a systematic review. *Br J Nutr* 2012; 107 Suppl 2: S240-S252 [PMID: 22591898 DOI: 10.1017/S0007114512001626]
7 Kwon HS, Oh SM, Kim JK. Glabridin, a functional compound of liquorice, attenuates colonic inflammation in mice with dextran sulphate sodium-induced colitis. *Clin Exp Immunol* 2008; 151: 165-173 [PMID: 18005263 DOI: 10.1111/j.1365-2249.2007.03539.x]
8 Gaudio E, Taddei G, Vetuschi A, Sferra R, Frieri G, Ricciardi G, Caprilli R. Dextran sulfate sodium (DSS) colitis in rats: clinical, structural, and ultrastructural aspects. *Dig Dis Sci* 1999; 44: 1458-1475 [PMID: 10489934]
9 Dieleman LA, Palmen MJ, Akol H, Bloemena E, Peña AS, Meuwissen SG, Van Rees EP. Chronic experimental colitis induced by dextran sulphate sodium (DSS) is characterized by Th1 and Th2 cytokines. *Clin Exp Immunol* 1998; 114: 385-391 [PMID: 9844047]
10 Hou JK, Abraham B, El-Serag H. Dietary intake and risk of developing inflammatory bowel disease: a systematic review of the literature. *Am J Gastroenterol* 2011; 106: 563-573 [PMID: 21468064 DOI: 10.1038/ajg.2011.44]
11 Andersen V, Olsen A, Carbonnel F, Tjønneland A, Vogel U. Diet and risk of inflammatory bowel disease. *Dig Liver Dis* 2012; 44: 185-194 [PMID: 22055893 DOI: 10.1016/j.dld.2011.10.001]
12 Simopoulos AP. Evolutionary aspects of diet, the omega-6/omega-3 ratio and genetic variation: nutritional implications for chronic diseases. *Biomed Pharmacother* 2006; 60: 502-507 [PMID: 17045449 DOI: 10.1016/j.biopha.2006.07.080]
13 Gravaghi C, La Perle KM, Ogrodwski P, Kang JX, Quimby F, Lipkin M, Lamprecht SA. Cox-2 expression, PGE(2) and cytokines production are inhibited by endogenously synthesized n-3 PUFAs in inflamed colon of fat-1 mice. *J Nutr Biochem* 2011; 22: 360-365 [PMID: 20655721 DOI: 10.1016/j.jnutbio.2010.03.003]
14 Kono H, Fujii H, Ogiku M, Tsuchiya M, Ishii K, Hara M. Enteral diets enriched with medium-chain triglycerides and N-3 fatty acids prevent chemically induced experimental colitis in rats. *Transl Res* 2010; 156: 282-291 [PMID: 20970751 DOI: 10.1016/j.trsl.2010.07.012]
15 Bogolepov NN, Pushkin AS. [Structural basis of cerebral plasticity]. *Vestn Akad Med Nauk SSSR* 1978; (12): 21-29 [PMID: 216178]
16 Middleton SJ, Naylor S, Woolner J, Hunter JO. A double-blind, randomized, placebo-controlled trial of essential fatty acid supplementation in the maintenance of remission of ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16: 1131-1135 [PMID: 12030955]
17 Feagan BG, Sandborn WJ, Mittmann U, Bar-Meir S, D'Haens G, Bradette M, Cohen A, Dallaire C, Ponich TP, McDonald JW, Hébuterne X, Paré P, Klvana P, Niv Y, Ardizzone S, Alexeeva O, Rostom A, Kiudelis G, Spleiss J, Gilgen D, Vandervoort MK, Wong CJ, Zou GY, Donner A, Rutgeerts P. Omega-3 free fatty acids for the maintenance of remission in Crohn disease: the EPIC Randomized Controlled Trials. *JAMA* 2008; 299: 1690-1697 [PMID: 18398081 DOI: 10.1001/jama.299.14.1690]
18 Wang D, Mann JR, DuBois RN. The role of prostaglandins and other eicosanoids in the gastrointestinal tract. *Gastroenterology* 2005; 128: 1445-1461 [PMID: 15887126]
19 Kimura M, Osumi S, Ogihara M. Stimulation of DNA synthesis and proliferation by prostaglandins in primary cultures of adult rat hepatocytes. *Eur J Pharmacol* 2000; 404: 259-271 [PMID: 10996591]
20 Ruggeri P, Nicocia G, Venza I, Venza M, Valenti A, Teti D. Polyamine metabolism in prostaglandin E2-treated human T lymphocytes. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 2000; 22: 117-129 [PMID: 10737261 DOI: 10.3109/08923970]
21 Harris SG, Padilla J, Koumas L, Ray D, Phipps RP. Prostaglandins as modulators of immunity. *Trends Immunol* 2002; 23: 144-150 [PMID: 11864843]
22 Bonta IL, Parnham MJ. Prostaglandins and chronic inflammation. *Biochem Pharmacol* 1978; 27: 1611-1623 [PMID: 358989]
23 Napolitani G, Acosta-Rodriguez EV, Lanzavecchia A, Sallusto F. Prostaglandin E2 enhances Th17 responses via modulation of IL-17 and IFN-gamma production by memory CD4+ T cells. *Eur J Immunol* 2009; 39: 1301-1312 [PMID: 19384872 DOI: 10.1002/eji.200838969]
24 Mbodji K, Charpentier C, Guérin C, Querec C, Bole-Feysot C, Aziz M, Savoye G, Déchelotte P, Marion-Letellier R. Adjunct therapy of n-3 fatty acids to 5-ASA ameliorates inflammatory score and decreases NF-κB in rats with TNBS-induced colitis. *J Nutr Biochem* 2013; 24: 700-705 [PMID: 22841543]
25 Melgar S, Drmotova M, Rehnström E, Jansson L, Michaëlsson E. Local production of chemokines and prostaglandin E2 in the acute, chronic and recovery phase of murine experimental colitis. *Cytokine* 2006; 35: 275-283 [PMID: 17088072 DOI: 10.1016/j.cyto.2006.09.007]
26 Calder PC. Polyunsaturated fatty acids, inflammatory processes and inflammatory bowel diseases. *Mol Nutr Food Res* 2008; 52: 885-897 [PMID: 18504706 DOI: 10.1002/mnfr.200700289]
27 Chapkin RS, Davidson LA, Ly L, Weeks BR, Lupton JR, McMurray DN. Immunomodulatory effects of

(n-3) fatty acids: putative link to inflammation and colon cancer. *J Nutr* 2007; 137: 200S-204S [PMID: 17182826]

28 Ibrahim A, Mbodji K, Hassan A, Aziz M, Boukhettala N, Coëffier M, Savoye G, Déchelotte P, Marion-Letellier R. Anti-inflammatory and anti-angiogenic effect of long chain n-3 polyunsaturated fatty acids in intestinal microvascular endothelium. *Clin Nutr* 2011; 30: 678-687 [PMID: 21632157 DOI: 10.1016/j.clnu.2011.05.002]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版)

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

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

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

世界华人消化杂志 2014年5月18日; 22(14): 2016-2022
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

食管鳞癌患者血清Stathmin的表达及临床意义

赵 楠, 韩 波, 吴宗勇, 周兰萍, 刘 芳, 颜 露, 赵晓航, 许 杨

■背景资料
食管鳞癌是我国常见的消化系恶性肿瘤，其早期症状不明显，大部分食管癌患者确诊时已属中晚期，以手术为主治疗后的五年生存率一直徘徊在25%-30%. 近年已有众多研究者正在努力寻找食管癌的各种标志物以用于食管癌的诊断、治疗效果评价和术后随访.

赵楠, 韩波, 周兰萍, 刘芳, 颜露, 赵晓航, 许杨, 中国医学科学院北京协和医学院肿瘤医院分子肿瘤学国家重点实验室 北京市 100021
吴宗勇, 中国医学科学院北京协和医学院肿瘤医院检验科 北京市 100021
赵晓航, 中国人民解放军海军总医院 北京市 100037
赵楠, 在读硕士, 主要从事食管癌生物学的研究.
国家自然科学基金资助项目, Nos. 81372385, 81071811
国家高技术发展计划项目“863”专题基金资助项目, Nos. 2012AA02A503, 2012AA020206
作者贡献分布: 此课题由赵楠与许杨设计; 研究过程由赵楠、韩波及颜露操作完成; 数据分析由赵楠和许杨完成; 病例采集和资料整理由吴宗勇、赵楠、周兰萍及刘芳完成; 论文起草由赵楠完成; 赵晓航与许杨审校.
通讯作者: 许杨, 副研究员, 100021, 北京市朝阳区潘家园南里17号, 中国医学科学院北京协和医学院肿瘤医院分子肿瘤学国家重点实验室. xuyang@cicams.as.cn
电话: 010-87788423 传真: 010-87778360
收稿日期: 2013-12-30 修回日期: 2014-02-11
接受日期: 2014-02-18 在线出版日期: 2014-05-18

Clinical significance of serum Stathmin in esophageal squamous cell carcinoma

Nan Zhao, Bo Han, Zong-Yong Wu, Lan-Ping Zhou, Fang Liu, Lu Yan, Xiao-Hang Zhao, Yang Xu

Nan Zhao, Bo Han, Lan-Ping Zhou, Fang Liu, Lu Yan, Xiao-Hang Zhao, Yang Xu, State Key Laboratory of Molecular Oncology, Cancer Institute & Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100021, China
Zong-Yong Wu, Clinical Laboratory, Cancer Institute & Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100021, China
Xiao-Hang Zhao, Center for Basic Medical Science, Navy General Hospital of Chinese PLA, Beijing 100037, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, Nos. 81372385 and 81071811; National High-Tech R&D Program, Nos. 2012AA02A503 and 2012AA020206
Correspondence to: Yang Xu, Associate Professor, State Key Laboratory of Molecular Oncology, Cancer Institute & Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, 17 Panjiayuan Nanli, Chaoyang District, Beijing 100021, China. xuyang@cicams.ac.cn
Received: 2013-12-30 Revised: 2014-02-11
Accepted: 2014-02-18 Published online: 2014-05-18

Abstract

AIM: To detect serum Stathmin in patients with esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) and evaluate its correlation with clinicopathological parameters in ESCC.

METHODS: Serum levels of Stathmin were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) in 74 patients with ESCC and 81 healthy individuals. Serum levels of Cyfra21-1 were measured by ELISA, and those of CEA, CA19-9 and CA72-4 were measured by chemiluminescence.

RESULTS: Serum levels of Stathmin in ESCC patients were significantly higher than those in healthy controls ($P < 0.001$). Serum levels of Stathmin were correlated with lymph node metastasis ($P = 0.036$), but not with age, gender, tumor differentiation, TNM stage or tumor size. According to the ROC curve, the sensitivity and specificity of serum Stathmin were significantly higher than those of Cyfra21-1 for diagnosis of esophageal squamous cell carcinoma. The sensitivity of serum Stathmin for diagnosis of ESCC was 94.6%.

CONCLUSION: Serum Stathmin levels increase in ESCC patients. Detection of serum Stathmin is helpful for diagnosis and prognostic evaluation of esophageal cancer. Stathmin may serve as a new potential serum tumor marker for clinical detection, therapy and prognostic evaluation of ESCC.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Stathmin; Esophageal squamous cell carcinoma; Enzyme-linked immunosorbent assay

Zhao N, Han B, Wu ZY, Zhou LP, Liu F, Yan L, Zhao XH, Xu Y. Clinical significance of serum Stathmin in esophageal squamous cell carcinoma. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(14): 2016-2022 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2016.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i14.2016

摘要

目的: 探讨血清Stathmin的表达水平对食管鳞状细胞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)的诊断价值及临床意义.

方法: 采用酶联免疫吸附法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)检测74例ESCC与

■同行评议者
姜春萌, 教授, 主任, 大连医科大学附属第二医院消化科

81例健康对照血清Stathmin含量; 采用ELISA检测34例食管鳞癌与40例健康对照血清角蛋白19片段抗原21-1(cytokeratin 19 fragment antigen 21-1, Cyfra21-1)的水平; 采用化学发光法检测血清癌胚抗原(carcinoembryonic antigen, CEA)、癌抗原19-9(cancer antigens 19-9, CA19-9)、癌抗原72-4(cancer antigens 72-4, CA72-4)水平; 统计学分析血清中Stathmin浓度与临床参数的相关性.

结果: ESCC组血清Stathmin水平显著高于健康对照组(P<0.001), ESCC组血清Stathmin水平与伴有淋巴结转移相关(P = 0.036), 血清Stathmin水平与患者性别、年龄、分化程度、TNM分期和肿瘤大小无显著相关. 比较Stathmin和Cyfra21-1的受试者工作特性曲线(receiver operating characteristic curve, ROC曲线), 提示Stathmin的灵敏度和特异性均优于Cyfra21-1, 血清Stathmin水平对ESCC的诊断灵敏度可达94.6%.

结论: 血清Stathmin升高在食管鳞癌的发生发展中起重要作用, 食管癌患者血清的Stathmin检测, 对ESCC的诊断和预后判定具有一定意义. Stathmin可作为食管鳞癌诊断、治疗和判断预后的一个新的血清标志物, 辅助临床诊断.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: Stathmin; **食管鳞癌; 酶联免疫吸附法**

核心提示: 本研究发现Stathmin在食管鳞癌患者血清中浓度升高, 血清Stathmin水平与食管癌淋巴结转移相关, Stathmin的灵敏度和特异性均显著优于目前已有肿瘤标志物, 提示Stathmin可作为食管鳞癌诊断、治疗和判断预后的一个新的血清标志物, 辅助临床诊断.

赵楠, 韩波, 吴宗勇, 周兰萍, 刘芳, 颜露, 赵晓航, 许杨. 食管鳞癌患者血清Stathmin的表达及临床意义. 世界华人消化杂志 2014; 22(14): 2016-2022 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2016.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i14.2016

0 引言

食管鳞状细胞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)是我国常见的消化系恶性肿瘤, 食管癌的早期症状不明显, 诊断时多为中晚期, 5年生存率低[1,2]. 目前, 已发现和可用于食管癌的血清标志物包括癌胚抗原(carcinoembryonic antigen, CEA)、癌抗原19-9(cancer antigens 19-9, CA19-9)、癌抗原72-4(cancer antigens 72-4, CA72-4)和角蛋白19片段抗原21-1(cytokeratin 19 fragment antigen 21-1, Cyfra21-1). 用免疫分析方法检测这些标志物, 4种标志物的敏感性分别为: CEA 11.9%; CA19-9 4.9%; CA72-4 7.0%; Cyfra21-1 33%[3,4], 可见在多种标志物中Cyfra21-1灵敏度相对较好. Brockmann等[5]报道Cyfra21-1在食管癌诊断中的灵敏度达45.5%. 可见上述用于食管癌检测的标志物敏感性偏低, 单独应用于食管癌的诊断价值不大. 因此, 临床上仍然缺乏食管鳞癌特异的诊断标志物, 应用蛋白质组学技术筛选用于诊断和监测的食管鳞癌特异标志物成为研究热点. 本实验室前期工作采用二维电泳(two dimensional electrophoresis, 2DE)分离-基质辅助激光解吸离子化飞行时间质谱(matrix-assisted laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry, MALDI-TOF-MS)的常规蛋白质组分析技术, 分析了8对伴随淋巴结转移和无淋巴结转移ESCC组织的差异蛋白质组表达谱, 提示Stathmin是一种在食管鳞癌中高表达的蛋白[6]. Stathmin(STMN1)是近年来研究较多的一个微管解聚蛋白, 通过磷酸化调节自身活性从而影响细胞内微管系统动力平衡, 对细胞周期的变化起着重要作用. 研究发现在多种人类恶性肿瘤中Stathmin过表达, 亦称为癌蛋白18(Op18)[7]. 本研究探讨血清Stathmin对食管鳞癌的临床诊断价值, ELISA检测74例食管鳞癌患者以及81例正常人血清Stathmin水平, 统计学分析血清中Stathmin浓度与临床参数的相关性. 并采用ELISA检测34例食管鳞癌与40例健康对照血清Cyfra21-1的水平. 探讨血清Stathmin水平对食管鳞癌诊断和判断预后的意义.

1 材料和方法

1.1 材料 食管鳞癌血清样本取自中国医学科学院肿瘤医院检验科, 患者经病理证实. 正常对照血清样本来自北京煤炭总医院的健康体检中心. 其中ESCC样本共74例, 其中男性63例, 女性11例, 平均年龄60岁±9.8岁. 健康对照血清样本81例, 其中男性51例, 女性30例, 平均年龄42岁±14.6岁. ESCC诊断按照2007年世界卫生组织(World Health Organization, WHO)分类标准分为高分化15例, 中分化28例, 低分化20例, 11例信息不详. ESCC临床分期按照2013美国国家综合癌症网络(National Comprehensive Cancer Network, NCCN)指南[8]分为Ⅰ期16例, Ⅱ期20例, Ⅲ期25

■研发前沿
Stathmin在多种肿瘤中表达异常, 目前发现, 食管鳞状细胞癌患者组织中Stathmin表达显著高于癌旁组织, 临床病理参数分析显示Stathmin表达与分化程度相关. 但Stathmin在食管癌患者血清水平及与临床参数的相关性尚无深入研究.

■相关报道
以往研究发现Stathmin在多种恶性肿瘤中升高, 可作为恶性肿瘤诊断、治疗和判断预后一个新参数.

表 1 血清Stathmin表达水平及临床参数相关性

临床病理参数	*n*	血清Stathmin浓度(ng/mL)		*P*值
		mean ± SD	范围	
年龄(岁)				0.587
<50	9	6.25 ± 0.90	3.29–11.74	
≥50	65	6.99 ± 0.49	0.72–24.41	
性别				0.500
男性	11	7.02 ± 0.48	0.72–24.41	
女性	63	6.18 ± 1.13	1.48–14.47	
分化程度				0.219
高分化	15	7.58 ± 0.72	3.16–14.37	
中分化	27	7.05 ± 0.70	1.48–13.96	
低分化	20	6.48 ± 1.12	0.72–24.41	
肿瘤大小(cm)				0.225
<5	22	6.00 ± 0.74	0.72–14.47	
≥5	45	7.23 ± 0.60	1.48–24.41	
TNM分期(期)				0.101
Ⅰ	16	6.04 ± 0.65	0.72–10.05	
Ⅱ	20	6.02 ± 0.60	1.65–10.11	
Ⅲ	25	8.68 ± 0.99	1.47–24.41	
淋巴结转移情况				0.036
是	34	7.92 ± 0.81	1.48–24.41	
否	31	5.94 ± 0.42	0.72–10.05	
ESCC患者	74	6.90 ± 0.44	0.72–24.41	<0.001
健康对照	81	0.73 ± 0.06	0.00–2.41	

例, 13例信息不详. 所有受试者均获得知情同意.

1.2 方法

1.2.1 ELISA检测血清Stathmin和Cyfra21-1浓度: 血清取材后迅速离心, 冰上分离血清, 干冰上分装后转入-80 ℃冰箱保存备用. 血清样本各100 μL用于Stathmin和Cyfra21-1检测, ELISA试剂盒均购自美国Cloud-Clone公司, 货号分别为SEC892Hu和SEB246Hu, 各项操作均严格按照说明进行. 血清样品及标准品分别稀释后加至反应孔, 37 ℃孵育2 h. 将孔板中液体去除, 每孔加入100 μL反应液A的工作液, 37 ℃孵育1 h吸出液体, 清洗3次. 加入100 μL/孔反应液B, 封膜后37 ℃ 30 min. 清洗5次. 加入底物溶液90 μL/孔, 避光37 ℃ 20 min. 每孔加入50 μL的终止液, 混合均匀, 液体由蓝变黄. 酶标仪(Bio-rad公司)上读取A_{450}. 根据试剂盒标准品的浓度和A值绘制标准曲线. 根据样品A_{450}值, 计算血清样品中Stathmin浓度并进行统计学分析. 每个样本重复3次, 取平均值作为该样本的血清Stathmin浓度.

1.2.2 化学发光法检测血清CEA、CA19-9和CA72-4浓度: 化学发光试剂盒购自罗氏(Roche), 经罗氏Cobas-601全自动化学发光免疫分析系统检测, 实验步骤严格按照试剂盒说明书进行, 将血清加入相应的样品杯中, 设定程序, 为我院检验科仪器自动进行定量检测. 按试剂盒提供的参考值, 确定CEA、CA19-9和CA72-4阳性界值分别为5 ng/mL、37 U/mL和9.8 U/mL.

统计学处理 应用SPSS16.0统计软件对计量资料采用秩和检验, 计量资料选择Student's *t*检验、Kruskal-Wallis nonparametric检验和Mann-Whitney检验, $P<0.05$为差异有统计学意义. 特异性、灵敏度、阳性预测值、Youden指数作为诊断价值的评价指标.

2 结果

2.1 食管鳞癌患者与健康对照血清Stathmin表达水平比较 在74例食管鳞癌和81例健康对照血清样本中, 食管癌血清Stathmin浓度中位值为6.9 ng/mL(浓度范围是0.72-24.41 ng/mL), 对照血清Stathmin浓度中位值为0.73 ng/mL(浓度范围是0-2.41 ng/mL), 经Mann-Whitney检验分析, 食管鳞癌患者血清Stathmin水平显著高于正常对照组, 两组具有极显著性差异($P<0.001$, 表1, 图1).

2.2 食管鳞癌血清Stathmin水平与与淋巴结转移

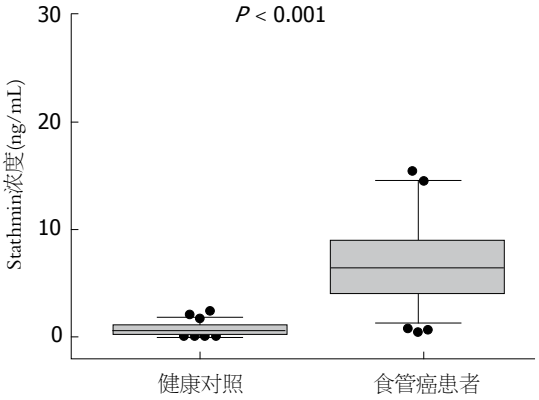


图 1 食管鳞癌和健康对照血清Stathmin浓度分布箱式图.

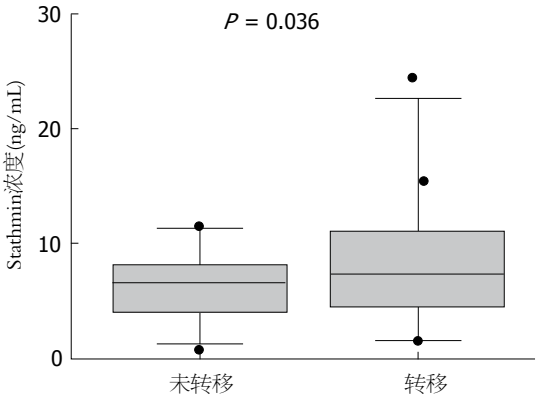


图 2 淋巴结转移血清Stathmin浓度分布箱式图.

参数的关系 74例食管鳞癌患者中, 其中34例为淋巴结转移, 31例为无淋巴结转移, 9例信息不详. 食管癌淋巴结转移患者血清Stathmin浓度中位值为7.92 ng/mL, 无淋巴结转移样本Stathmin浓度中位值为5.94 ng/mL, 经Mann-Whitney相关分析, 食管癌淋巴结转移患者血清Stathmin水平显著高于无转移组($P = 0.036$), 提示血清中Stathmin浓度与淋巴结转移相关(表1, 图2).

2.3 食管鳞癌血清Stathmin水平与临床病理参数的关系 为了比较Stathmin表达水平与临床参数的相关性, 统计学分析结果提示食管鳞癌患者血清Stathmin浓度与性别、年龄、TNM分期与分化程度以及肿瘤大小等因素无关(表1, 图3), (P>0.05).

2.4 Stathmin与Cyfra21-1联合检测对ESCC的诊断评价 基于上述74例食管鳞癌及81例健康对照血清样本随机选择34例ESCC血清样本和40例健康对照血清样本, 应用ELISA检测Cyfra21-1浓度, 其中位值分别是3.45 ng/mL和1.1 ng/mL. 经ROC曲线分析, Stathmin与Cyfra21-1的曲线下面积(area under curve, AUC)分别为0.968和0.817,

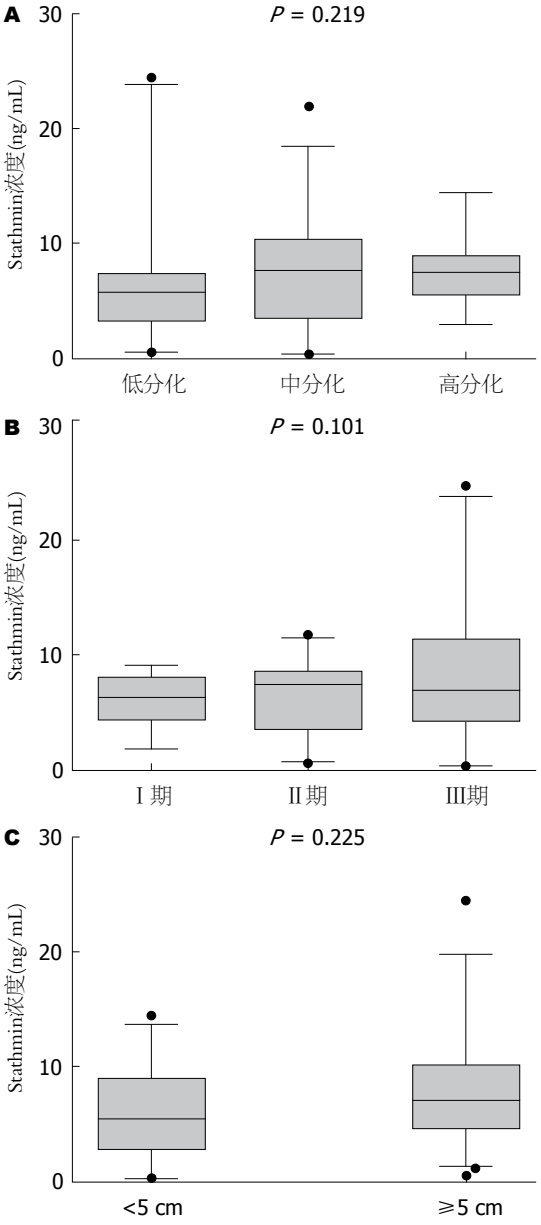


图 3 血清Stathmin浓度与相关临床参数分布箱式图. A: 血清Stathmin浓度与分化程度的关系; B: 血清Stathmin浓度与TNM分期的关系; C: 血清Stathmin浓度与肿瘤大小间的关系.

Stathmin确定阳性界值为1.77 ng/mL, Cyfra21-1确定阳性界值为3.4 ng/mL, 基于阳性界值确定Stathmin与Cyfra21-1单项检测对食管鳞癌诊断的灵敏度分别为94.6%和73.5%, 特异性分别为97.5%和80%. 提示Stathmin和Cyfra21-1在食管癌的血清诊断中都具有一定诊断价值, Stathmin的检测结果优于Cyfra21-1, 更灵敏有效. 联合检测的灵敏度, 特异性和Youden指数未见显著上升(表2, 3), 提示单独Stathmin检测具有较高的有效性和准确性.

2.5 ESCC血清中Stathmin表达水平与临床肿瘤标志物相关性分析 为了比较Stathmin与目前临床

■创新盘点

本研究采用ELISA方法研究食管癌患者血清中Stathmin表达水平, 分析血清Stathmin水平与食管癌各临床病理参数的关系, 发现食管鳞癌患者血清Stathmin显著高于健康人, 且Stathmin检测灵敏度显著优于目前已有食管癌肿瘤标志物, 提示Stathmin可作为一种食管癌潜在的肿瘤标志物.

■应用要点
食管癌患者血清Stathmin水平较正常人明显升高, 且与肿瘤的生长、侵袭和转移等肿瘤恶性生物学行为相关, 因此, 通过检测食管癌患者血清中的Stathmin水平, 可有助于食管癌的诊断、判断预后及术后随访.

表 2 血清Stathmin与Cyfra21-1联合测定对ESCC诊断的评价

标志物	灵敏度(%)	特异性(%)	Youden指数
Stathmin	94.6	97.5	92.1
Cyfra21-1	73.5	80	53.5
Stathmin+Cyfra21-1	94.6	97.5	92.1

Cyfra21-1: 角蛋白19片段抗原21-1.

所有肿瘤标志物的诊断效果, 计算各种肿瘤标志物检测食管鳞癌的灵敏度, 如表3所示, 经ROC曲线分析, Stathmin确定阳性界值为1.77 ng/mL, 基于阳性界值确定Stathmin的灵敏度为94.6%, Cyfra21-1确定阳性界值为3.4 ng/mL, 基于阳性界值确定灵敏度为73.5%, 基于本院CEA、CA72-4和CA19-9的阳性界值, 确定灵敏度分别为6.9%、1.8%和1.8%. 提示Stathmin的灵敏度显著优于CEA、Cyfra21-1、CA19-9、CA72-4.

3 讨论

Stathmin是由149个氨基酸组成的分子量为19 kDa微管解聚蛋白, 包含2个不同的亚型α和β. 结构上可分成3部分: N端的结构调节域、中心区和C端的蛋白相互作用结构域. 蛋白水解后的中心区包括4个结构域(Ⅰ-Ⅳ), 其核心区域(第42-126位氨基酸)连接N端和C端, 可构成与微管蛋白相互作用的最小片段[9]. N端包含4个丝氨酸磷酸化位点, 分别为Serl6、Ser25、Ser38和Ser63, 经磷酸化后Stathmin与微管蛋白异二聚体之间亲和力的下降从而失去微管解聚活性, 其中Ser16、Ser63磷酸化显著影响微管稳定性. C端的功能区域, 包括了一个α螺旋结构, 与微管的α/β异源二聚体螯合形成紧密的复合物从而抑制微管聚合[10]. Stathmin通过磷酸化调节自身活性影响细胞内微管系统的动力平衡影响细胞增殖, Stathmin磷酸化导致活性降低, 微管蛋白得以聚合; Stathmin去磷酸化, 促进微管蛋白解聚[11]. 在多种肿瘤包括子宫内膜癌、骨肉瘤、乳腺癌、非激素依赖性的前列腺癌的体外模型研究发现, 敲除Stathmin可诱导细胞周期停滞及细胞凋亡[7,12].

Stathmin作为微管解聚蛋白, 主要定位于细胞浆[11]. 近年来研究发现Stathmin在口腔鳞癌、肺癌、乳腺癌、前列腺癌、白血病、头颈癌、结肠癌、肝癌、淋巴瘤等多种恶性肿瘤组织表达增高[13]. 王峰等[14]应用免疫组织化学和原位

表 3 不同肿瘤标志物在食管鳞癌诊断中的阳性率

标志物	*n*	临界值	阳性率[*n*(%)]
Stathmin(ng/mL)	74	1.77	94.6(70)
Cyfra21-1(ng/mL)	34	3.4	73.5(25)
CEA(ng/mL)	58	5.0	6.9(4)
CA72-4 (U/mL)	56	9.8	1.8(2)
CA19-9 (U/mL)	56	37.0	1.8(2)

Cyfra21-1: 角蛋白19片段抗原21-1; CEA: 癌胚抗原; CA19-9: 癌抗原19-9; CA72-4: 癌抗原72-4.

杂交的方法分析了75例食管鳞癌组织、25例癌旁不典型增生组织和正常食管黏膜组织中Stathmin mRNA和蛋白的表达, 发现在食管鳞癌组织、癌旁不典型增生组织和正常食管黏膜组织中Stathmin蛋白的阳性率分别为81.3%、48.0%和30.0%, 组间比较有显著性差异(P<0.01), Stathmin mRNA和蛋白的阳性表达率分别为82.7%和90.2%, 与癌旁不典型增生组织及正常食管黏膜组织比较有显著性差异(P<0.01). 提示食管鳞癌组织中Stathmin蛋白高表达, Stathmin表达与食管癌的发生发展相关. Yousefi等[15]采用二维电泳与液相质谱联用的方法对两种肺癌细胞系的分泌蛋白进行研究发现Stathmin在分泌上清中特异性高表达, 说明Stathmin能够分泌到细胞外, 进入血循环中, 可从血清中检测Stathmin的水平. Bhagirath等[16]用ELISA的方法对30例移型性膀胱上皮癌, 15例健康对照和15例良性前列腺增生的血清和尿液进行检测, 结果显示在肿瘤患者中Stathmin表达显著升高(P<0.001), ROC曲线下面积为0.984, 灵敏度为93.3%, 特异性为86.7%, 临界值为0.7 ng/mL. 提示其可能作为一种肿瘤标志物用于移型性膀胱癌的检测.

在肿瘤细胞中Stathmin过表达与侵袭转移相关, 研究发现微管蛋白解聚与细胞的迁移、运动有关, 研究证实Stathmin具有促进细胞运动的功能, Jin等[17]发现Stathmin敲降可降低小鼠再生神经元的运动能力. Borghese等[18]在果蝇中发现Stathmin减少使胚胎细胞和边缘细胞的运动能力降低. Gan等[19]发现Stathmin在肝癌特别是高转移性的肝癌组织中高表达. siRNAs敲降人高转移肝癌细胞(human highly potentially metastatic liver cancer cell line, HCCLM3)的Stathmin后, 明显抑制了细胞的黏附能力, 抑制细胞的迁移和侵袭能力, 提示Stathmin的表达与肝癌癌变和转移有很大的关联. Trovik等[20]采用免疫组织化学染

色的方法对1067例子宫内膜癌组织样本检测发现Stathmin的表达与不良预后和淋巴结转移具有显著相关性. 我们进一步将食管癌患者分为淋巴结转移和未转移两组, ESCC伴有淋巴结转移组Stathmin在血清中浓度中位值为7.92 ng/mL, 显著高于ESCC未发生转移的中位值(5.94 ng/mL), 提示Stathmin的表达与食管癌的转移密切相关与文献报道一致. 本课题组前期研究也发现Stathmin在食管癌组织中表达强度显著高于癌旁组织, 临床病理参数分析显示Stathmin表达与分化程度相关, 在低分化程度的组织中表达较强, 高分化组织中表达较弱[6]. 本研究中血清学的Stathmin检测未见其与肿瘤分化的相关性, 但与淋巴结转移显著相关. 吴彬等[21]对470例食管癌患者进行回顾性分析显示随着细胞分化程度的降低, 区域淋巴结转移数显著增高(P<0.01), 与高分化食管癌相比中分化癌淋巴结转移度增加3倍, 中低分化癌增加4.5倍, 低分化癌增加6倍, 提示食管癌分化程度越低, 发生淋巴结转移的可能性越高. 而本研究的Stathmin与淋巴结转移显著相关, 与前期研究的Stathmin在低分化程度的食管癌组织中表达高具有一致性, 进一步说明Stathmin与食管癌的转移密切相关.

目前食管癌缺乏特异诊断标志物, 我院检测食管癌相关标志物为CEA、CA19-9、CA72-4和Cyfra21-1等常规肿瘤标志物. CEA是一种具有人类胚胎抗原特异性的酸性糖蛋白, 主要作为监测结、直肠癌标志物, 最新研究其在肺腺癌诊断中也有显著作用[22]. CA19-9是来自结直肠癌细胞系的单抗, 在消化系恶性肿瘤中和胰腺癌中有良好的应用价值, CA72-4对于胃癌的检测特异性较高. Chen等[23]研究发现将CA19-9与CA72-4联合使用对中国人群的胃癌检测具有更好的效果. 提示CEA、CA19-9和CA72-4都不是食管癌特异性标志物. Cyfra21-1是一种上皮来源的抗原, 作为肺癌标志物被广泛应用. 研究发现其在食管癌中也发挥一定作用, Wakatsuki等[24]检测51例食管癌患者放疗前后血清Cyfra21-1含量, 化疗后Cyfra21-1浓度低于临界值的患者不易复发, 结果显示血清Cyfra21-1具有评估和监测放疗效果的作用; Yi等[25,26]研究提示血清中Cyfra21-1的浓度可以作为预测食管癌放化疗效果的敏感性指标; Yan等[27]对192例食管癌患者血清Cyfra21-1的检测发现血清Cyfra21-1浓度低的患者在接受放化疗后具有更高的存活率. 本研究发现血清Stathmin水平在食管癌中表达显著升高, 其灵敏度和特异性分别达到94.6%和97.5%, 显著高于Cyfra21-1、CEA、CA72-4、CA19-9等标志物. Stathmin与Cyfra21-1联合检测与Stathmin单项检测相比, 其联合检测的灵敏度未见提高. 说明Stathmin可成为辅助食管癌诊断的重要血清学指标.

总之, 食管癌患者血清Stathmin水平升高, 与肿瘤转移代表肿瘤恶性生物学行为的因素相关, 可作为一种食管癌特异的肿瘤标志物用于早期诊断、转移和复发监测. 同时充分认识到上述结果仍有待于进一步扩大样本和多中心验证. 今后进一步检测高危人群的Stathmin的水平, 同时联合腔镜和食管拉网筛查、诊断和判断预后具有重要的意义.

■同行评价
论文研究内容较新, 具有临床潜在应用前景, 具有转化医学价值.

4 参考文献

1 Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Thun MJ. Cancer statistics, 2009. *CA Cancer J Clin* 2009; 59: 225-249 [PMID: 19474385 DOI: 10.3322/caac.20006]
2 Lin DC, Du XL, Wang MR. Protein alterations in ESCC and clinical implications: a review. *Dis Esophagus* 2009; 22: 9-20 [PMID: 18564170 DOI: 10.1111/j.1442-2050.2008.00845.x]
3 Shimada Y, Watanabe G, Kawamura J, Soma T, Okabe M, Ito T, Inoue H, Kondo M, Mori Y, Tanaka E, Imamura M. Clinical significance of osteopontin in esophageal squamous cell carcinoma: comparison with common tumor markers. *Oncology* 2005; 68: 285-292 [PMID: 16015046 DOI: 10.1159/000086961]
4 Wang XB, Jiang XR, Yu XY, Wang L, He S, Feng FY, Guo LP, Jiang W, Lu SH. Macrophage inhibitory factor 1 acts as a potential biomarker in patients with esophageal squamous cell carcinoma and is a target for antibody-based therapy. *Cancer Sci* 2014; 105: 176-185 [PMID: 24383865 DOI: 10.1111/cas.12331]
5 Brockmann JG, St Nottberg H, Glodny B, Heinecke A, Senninger NJ. CYFRA 21-1 serum analysis in patients with esophageal cancer. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 4249-4252 [PMID: 11106239]
6 Liu F, Sun YL, Xu Y, Liu F, Wang LS, Zhao XH. Expression and phosphorylation of stathmin correlate with cell migration in esophageal squamous cell carcinoma. *Oncol Rep* 2013; 29: 419-424 [PMID: 23229199 DOI: 10.3892/or.2012.2157]
7 Belletti B, Baldassarre G. Stathmin: a protein with many tasks. New biomarker and potential target in cancer. *Expert Opin Ther Targets* 2011; 15: 1249-1266 [PMID: 21978024 DOI: 10.1517/14728222.2011.620951]
8 NCCN Guidelines(R) Updates. *J Natl Compr Canc Netw* 2013; 11: xxxii-xxxvi [PMID: 24029131]
9 Cassimeris L. The oncoprotein 18/stathmin family of microtubule destabilizers. *Curr Opin Cell Biol* 2002; 14: 18-24 [PMID: 11792540]
10 Charbaut E, Curmi PA, Ozon S, Lachkar S, Redeker V, Sobel A. Stathmin family proteins display specific molecular and tubulin binding properties. *J Biol Chem* 2001; 276: 16146-16154 [PMID: 11278715 DOI: 10.1074/jbc.M010637200]

11 Ringhoff DN, Cassimeris L. Stathmin regulates centrosomal nucleation of microtubules and tubulin dimer/polymer partitioning. *Mol Biol Cell* 2009; 20: 3451-3458 [PMID: 19515833 DOI: 10.1091/mbc.E09-02-0140]

12 Nemunaitis J. Stathmin 1: a protein with many tasks. New biomarker and potential target in cancer. *Expert Opin Ther Targets* 2012; 16: 631-634 [PMID: 22686589 DOI: 10.1517/14728222.2012.696101]

13 Ying L, Su D, Zhu J, Ma S, Katsaros D, Yu H. Genotyping of stathmin and its association with clinical factors and survival in patients with ovarian cancer. *Oncol Lett* 2013; 5: 1315-1320 [PMID: 23599786 DOI: 10.3892/ol.2013.1144]

14 王峰, 王留兴, 何伟, 朱利楠, 赵培荣, 樊青霞. Stathmin基因在食管鳞癌中的表达及生物学意义. 南方医科大学学报 2010; 30: 1552-1557

15 Yousefi Z, Sarvari J, Nakamura K, Kuramitsu Y, Ghaderi A, Mojtahedi Z. Secretomic analysis of large cell lung cancer cell lines using two-dimensional gel electrophoresis coupled to mass spectrometry. *Folia Histochem Cytobiol* 2012; 50: 368-374 [PMID: 23042266 DOI: 10.5603/18762]

16 Bhagirath D, Abrol N, Khan R, Sharma M, Seth A, Sharma A. Expression of CD147, BIGH3 and Stathmin and their potential role as diagnostic marker in patients with urothelial carcinoma of the bladder. *Clin Chim Acta* 2012; 413: 1641-1646 [PMID: 22626996 DOI: 10.1016/j.cca.2012.05.005]

17 Jin K, Mao XO, Cottrell B, Schilling B, Xie L, Row RH, Sun Y, Peel A, Childs J, Gendeh G, Gibson BW, Greenberg DA. Proteomic and immunochemical characterization of a role for stathmin in adult neurogenesis. *FASEB J* 2004; 18: 287-299 [PMID: 14769823 DOI: 10.1096/fj.03-0973com]

18 Borghese L, Fletcher G, Mathieu J, Atzberger A, Eades WC, Cagan RL, Rørth P. Systematic analysis of the transcriptional switch inducing migration of border cells. *Dev Cell* 2006; 10: 497-508 [PMID: 16580994 DOI: 10.1016/j.devcel.2006.02.004]

19 Gan L, Guo K, Li Y, Kang X, Sun L, Shu H, Liu Y. Up-regulated expression of stathmin may be associated with hepatocarcinogenesis. *Oncol Rep* 2010; 23: 1037-1043 [PMID: 20204289]

20 Trovik J, Wik E, Stefansson IM, Marcickiewicz J, Tingulstad S, Staff AC, Njolstad TS, Vandenput I, Amant F, Akslen LA, Salvesen HB. Stathmin overexpression identifies high-risk patients and lymph node metastasis in endometrial cancer. *Clin Cancer Res* 2011; 17: 3368-3377 [PMID: 21242118 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-10-2412]

21 吴彬, 徐志飞, 孙耀昌, 李建秋, 赵学维. 食管癌的侵犯深度及分化程度与区域淋巴结转移的关系. 第二军医大学学报 2000; 21: 771-773

22 Yamao T, Kai S, Kazami A, Koizumi K, Handa T, Takemoto N, Maruyama M. Tumor markers CEA, CA19-9 and CA125 in monitoring of response to systemic chemotherapy in patients with advanced gastric cancer. *Jpn J Clin Oncol* 1999; 29: 550-555 [PMID: 10678558]

23 Chen XZ, Zhang WK, Yang K, Wang LL, Liu J, Wang L, Hu JK, Zhang B, Chen ZX, Chen JP, Zhou ZG, Mo XM. Correlation between serum CA724 and gastric cancer: multiple analyses based on Chinese population. *Mol Biol Rep* 2012; 39: 9031-9039 [PMID: 22752725 DOI: 10.1007/s11033-012-1774-x]

24 Wakatsuki M, Suzuki Y, Nakamoto S, Ohno T, Ishikawa H, Kiyohara H, Kiyozuka M, Shirai K, Nakayama Y, Nakano T. Clinical usefulness of CYFRA 21-1 for esophageal squamous cell carcinoma in radiation therapy. *J Gastroenterol Hepatol* 2007; 22: 715-719 [PMID: 17444861 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2006.04498.x]

25 Yi Y, Li B, Wang Z, Sun H, Gong H, Zhang Z. CYFRA21-1 and CEA are useful markers for predicting the sensitivity to chemoradiotherapy of esophageal squamous cell carcinoma. *Biomarkers* 2009; 14: 480-485 [PMID: 19863186 DOI: 10.3109/13547500903180265]

26 Yi Y, Li B, Sun H, Zhang Z, Gong H, Li H, Huang W, Wang Z. Predictors of sensitivity to chemoradiotherapy of esophageal squamous cell carcinoma. *Tumour Biol* 2010; 31: 333-340 [PMID: 20490963 DOI: 10.1007/s13277-010-0041-9]

27 Yan HJ, Wang RB, Zhu KL, Jiang SM, Zhao W, Xu XQ, Feng R. Cytokeratin 19 fragment antigen 21-1 as an independent predictor for definitive chemoradiotherapy sensitivity in esophageal squamous cell carcinoma. *Chin Med J* (Engl) 2012; 125: 1410-1415 [PMID: 22613644]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年5月18日; 22(14): 2023-2027
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

HBeAg阳性慢性乙型肝炎不同肝组织炎症与纤维化时期血清HBsAg含量的动力学特点

谭 雷, 吴泽倩, 刘 婷, 高志良, 柯伟民

谭雷, 中山大学附属第三医院超声科 广东省广州市 510630
吴泽倩, 高志良, 柯伟民, 中山大学附属第三医院感染科 广东省广州市 510630
刘婷, 中山大学附属孙逸仙纪念医院感染科 广东省广州市 510236
谭雷, 住院医师, 主要从事肝胆疾病超声诊断的研究.
作者贡献分布: 此回顾性分析课题由柯伟民、高志良、谭雷及吴泽倩共同设计; 由谭雷、吴泽倩及刘婷收集患者相关资料; 吴泽倩完成数据的统计分析; 谭雷完成本论文初步撰写; 吴泽倩修改加工论文原稿; 本论文撰写由柯伟民指导.
通讯作者: 柯伟民, 教授, 510630, 广东省广州市天河路600号, 中山大学附属第三医院感染科. tcl3626@gmail.com
电话: 020-85253171
收稿日期: 2014-02-23 修回日期: 2014-03-24
接受日期: 2014-04-03 在线出版日期: 2014-05-18

Dynamic changes in serum HBsAg levels in HBeAg-positive chronic hepatitis B patients with different liver inflammation grades and fibrosis stages

Lei Tan, Ze-Qian Wu, Ting Liu, Zhi-Liang Gao, Wei-Min Ke

Lei Tan, Department of Medical Ultrasound, the Third Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510630, Guangdong Province, China
Ze-Qian Wu, Zhi-Liang Gao, Wei-Min Ke, Department of Infectious Diseases, the Third Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510630, Guangdong Province, China
Ting Liu, Department of Infectious Diseases, Sun Yat-sen Memorial Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510236, Guangdong Province, China
Correspondence to: Wei-Min Ke, Professor, Department of Infectious Diseases, Third Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, 600 Tianhe Road, Guangzhou 510630, Guangdong Province, China. tcl3626@gmail.com
Received: 2014-02-23 Revised: 2014-03-24
Accepted: 2014-04-03 Published online: 2014-05-18

Abstract

AIM: To investigate the dynamic changes in serum HBsAg levels in HBeAg-positive chronic hepatitis B patients with different liver histological inflammation grades and hepatic fibrosis stages.

METHODS: Serum HBsAg levels in HBeAg-positive chronic hepatitis B patients were detected by electrochemiluminescence. Serum HBsAg levels were compared between patients with grades 1, 2, 3 and 4 liver histological inflammation, and between those with stages 1, 2, 3 and 4 hepatic fibrosis.

RESULTS: Serum HBsAg levels in patients with grades 1, 2, 3 and 4 liver histological inflammation were 2998 COI/mL ± 2515 COI/mL, 4064 COI/mL ± 2468 COI/mL, 5513 COI/mL ± 2390 COI/mL and 5736 COI/mL ± 1838 COI/mL, respectively; while the values in patients with stages 1, 2, 3 and 4 hepatic fibrosis were 3159 COI/mL ± 2577 COI/mL, 4075 COI/mL ± 2149 COI/mL, 5670 COI/mL ± 2189 COI/mL and 5976 COI/mL ± 2128 COI/mL, respectively. There were significant differences in serum HBsAg levels between different liver inflammation grades, as well as between different hepatic fibrosis stages ($F = 9.986$, $P < 0.000$; $F = 13.955$, $P < 0.000$).

CONCLUSION: Serum HBsAg levels increase dynamically along with the damage of hepatic tissues in patients with HBeAg-positive chronic hepatitis B.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Chronic hepatitis B; HBsAg; Pathological damage; Liver inflammation grade; Hepatic fibrosis stage

Tan L, Wu ZQ, Liu T, Gao ZL, Ke WM. Dynamic changes in serum HBsAg levels in HBeAg-positive chronic hepatitis B patients with different liver inflammation grades and fibrosis stages. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(14): 2023-2027 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2023.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i14.2023

摘要

目的: 探讨乙型肝炎病毒e抗原(hepatitis B e antigen, HBeAg)阳性在慢性乙型肝炎(chronic

■背景资料
目前, 关于乙型肝炎表面抗原(hepatitis B surface antigen, HBsAg)水平的研究是乙型肝炎研究领域的黄金热点. 近年来, 已有诸多高质量文章研究其在CHB自然病程中的表达特点, 血清HBsAg含量变化在慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)的病情监测和抗病毒治疗疗效预测等方面取得了较大进展. 本研究观察CHB自然病程中免疫清除期血清HBsAg含量在肝组织炎症分级与肝组织纤维化分期的表达规律.

■同行评议者
张明辉, 副主任医师, 河北医科大学第一医院肝病中心(传染病)

■研发前沿
肝内共价闭合环状DNA(covalently closed circular DNA, cccDNA)含量与合成释放入外周血的HBV DNA含量以及HBsAg含量有着良好的正相关性. 血清HBsAg含量可否间接反映病毒复制的活跃程度, 评价慢乙型肝炎活动期肝细胞的损伤程度, 甚至于基线血清HBsAg含量应用于预测HBsAg清除.

hepatitis B, CHB)自然病程中, 不同肝组织炎症分级和肝纤维化分期时, 血清HBsAg含量的动力学特点.

方法: 应用电化学发光法检测血清HBsAg含量. 各自两两比较在肝组织炎症分级1、2、3和4级的四级之间、肝组织纤维化分期Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ和Ⅳ期的四期之间血清HBsAg的含量.

结果: HBeAg阳性CHB患者的血清HBsAg含量, 在肝组织炎症1、2、3和4级时分别为2998 COI/mL±2515 COI/mL、4064 COI/mL±2468 COI/mL、5513 COI/mL±2390 COI/mL和5736 COI/mL±1838 COI/mL; 在肝组织纤维化Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ和Ⅳ期时分别为3159 COI/mL±2577 COI/mL、4075 COI/mL±2149 COI/mL、5670 COI/mL±2189 COI/mL和5976 COI/mL±2128 COI/mL. 血清HBsAg含量在肝组织炎症分级四级之间、肝组织纤维化分期四期之间均存在差异(F = 9.986, P<0.000和F = 13.955, P<0.000).

结论: HBeAg阳性CHB, 其血清HBsAg含量随肝组织损伤程度的进展而增加.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 慢性乙型肝炎; 乙型肝炎表面抗原; 病理损伤; 肝组织炎症; 肝纤维化

核心提示: 本文通过大样本回顾性分析, 比较了不同肝组织炎症分级与纤维化分期时血清HBsAg表达的动力学特点, 为慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B)自然史的研究提供有力依据.

谭雷, 吴泽倩, 刘婷, 高志良, 柯伟民. HBeAg阳性慢性乙型肝炎不同肝组织炎症与纤维化时期血清HBsAg含量的动力学特点. 世界华人消化杂志 2014; 22(14): 2023-2027 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2023.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i14.2023

0 引言

乙型肝炎表面抗原(hepatitis B surface antigen, HBsAg)是乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)的外膜蛋白, 由S-开放读码框架(S-open reading frames, S-ORS)编码合成, 是成熟病毒颗粒的必要成分[1]. 无论乙型肝炎患者的病程及转归如何, HBsAg仍是当前诊断乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染的最经典、最基本的病毒标志物[2]. HBsAg清除是临床治疗的最理想目标[3]. 近年来, 血清HBsAg含量变化在慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)的病情监测[4-6]和抗病毒治疗疗效预测[7-10]等方面取得了较大进展. 因此, 弄清CHB自然病程中免疫清除期血清HBsAg含量在肝组织炎症分级1级到4级与肝组织纤维化分期Ⅰ期到Ⅳ期的表达规律, 有助于进一步阐明HBeAg阳性CHB的发病机制, 监测病情进展, 为优化抗病毒治疗策略提供理论依据.

表 1 HBeAg阳性慢性乙型肝炎患者的肝组织炎症分级及他们所处的肝组织纤维化分期

肝组织纤维化分期	肝组织炎症分级				合计
	G1	G2	G3	G4	
S1	26	17	1	0	44
S2	1	37	5	2	45
S3	0	4	28	4	36
S4	0	0	13	25	38
合计	27	58	47	31	163

HBeAg: 乙型肝炎病毒e抗原.

1 材料和方法

1.1 材料 2009-01/2012-10中山大学附属第三医院感染科住院的HBeAg阳性CHB患者163例, 其中, 男性137例, 女性26例, 平均年龄33.5岁±10.1岁. 所有患者未应用过核苷(酸)类似物、干扰素和胸腺素等抗HBV药物, 无合并或重叠甲型、丙型和戊型肝炎病毒感染, 排除抗病毒药物与嗜肝病毒间的相互干扰对e抗原状态、血清HBsAg含量和肝组织病理的影响. 163例CHB患者的肝组织炎症分级以及他们所处的肝组织纤维化分期如表1.

1.2 方法

1.2.1 嗜肝病毒血清标志物的检测: 电化学发光法定量检测采用罗氏ECL-2010仪器及配套试剂. 检测结照果按以下指标作为判别标准: HBsAg参考值范围为<1.0(cut off index, COI), HBeAg参考值范围为0-10 IU/L, Anti-HBe参考值范围为>1.0 COI, Anti-HBc参考值范围为>1.0 COI. 检测结果的COI值在参考值范围以内为阴性, 参考值范围以外为阳性. 采用酶联免疫吸附法分别检测甲型肝炎病毒标志物(北京科卫临床诊断试剂有限公司)、丙型肝炎病毒标志物(北京现代高达生物技术有限责任公司)和戊型肝炎病毒标志物(生物医学亚太私人有限公司), 以上嗜肝病毒标志物的检测均按照试剂盒的说明书进行.

1.2.2 肝组织病理诊断: 163例HBeAg阳性CHB患

表 2 肝组织炎症分级和肝组织纤维化分期的病理诊断依据

肝组织炎症分级	汇管区炎症	腺泡内炎症	肝组织纤维化分期	纤维化程度
G1	汇管区炎	点、灶性坏死	S1	汇管区纤维化, 芒状纤维
G2	界面炎症较轻	灶性坏死, 嗜酸小体	S2	少数纤维间隔形成
G3	界面炎症较重	灶性坏死重, 桥接坏死	S3	纤维间隔伴小叶结构变形
G4	界面炎症重	多小叶融合坏死, 花结形成	S4	结节形成(前期肝硬化)

表 3 HBeAg阳性慢性乙型肝炎患者在不同肝组织炎症分级与纤维化分期的血清HBsAg含量

肝组织炎症分级	*n*	血清HBsAg含量(COI/mL)	肝组织纤维化分期	*n*	血清HBsAg含量(COI/mL)
G1	27	2998 ± 2515	S1	44	3159 ± 2577
G2	58	4064 ± 2468	S2	45	4075 ± 2149
G3	47	5513 ± 2390	S3	36	5670 ± 2189
G4	31	5736 ± 1838	S4	38	5976 ± 2128

HBeAg: 乙型肝炎病毒e抗原.

表 4 HBeAg阳性慢性乙型肝炎患者在不同肝组织炎症分级与纤维化分期血清HBsAg含量比较的统计学分析

肝组织炎症分级	血清HBsAg含量	肝组织纤维化分期	血清HBsAg含量
G1与G2	0.053	S1与S2	0.060
G1与G3	0.000	S1与S3	0.000
G1与G4	0.000	S1与S4	0.000
G2与G3	0.002	S2与S3	0.002
G2与G4	0.002	S2与S4	0.000
G3与G4	0.681	S3与S4	0.564
G1–G4组间	F = 9.986, P = 0.000	S1–S4组间	F = 13.955, P = 0.000

HBeAg: 乙型肝炎病毒e抗原.

者均以Esaote Au4型彩色多普勒机(美国产品)做引导, 使用其配套的16 G活检枪进行肝活检, 切割大约20 mm长度肝组织. 肝活检标本用Bouin's液固定和石蜡包埋. 分别用苏木素-伊红(HE)染色和Masson法网状纤维染色. 由我院病理科医师根据Desmet等慢性肝炎的分类进行肝组织炎症分级和肝纤维化分期[11]. 肝组织炎症分级和纤维化分期依据如表2.

统计学处理 应用SPSS13.0软件进行统计学分析. HBeAg阳性CHB肝组织炎症分级1、2、3和4级以及肝组织纤维化分期Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ和Ⅳ期, 血清HBsAg含量在4组之间的比较采用ANOVA检验, P<0.05为差异有统计学意义; 4组之间的两两比较采用ANOVA检验, P<0.008(0.05/6)为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 不同肝组织炎症分级与纤维化分期中血清HBsAg的含量特点 163例HBeAg阳性CHB患者, 在肝组织炎症分级1、2、3和4级以及肝组织纤维化分期Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ和Ⅳ期的血清HBsAg含量如表3. 由表3可知, HBeAg阳性CHB患者的血清HBsAg含量随着肝组织炎症和纤维化严重程度的增加而逐渐升高.

2.2 不同肝组织炎症分级与纤维化分期中血清HBsAg含量的统计分析 163例HBeAg阳性CHB患者, 血清HBsAg含量在肝组织炎症分级四级之间、肝组织纤维化分期四期之间比较的统计学分析如表4. 由表4可见, HBeAg阳性CHB患者的血清HBsAg含量在肝组织炎症分级1、2、3和4级之间存在明显差异(F = 9.986, P<0.000);

■相关报道
Hadziyannis等报道HBeAg阳性CHB患者血清HBV DNA水平往往呈高水平复制, 肝组织炎症活动较活跃, 肝细胞炎症坏死可伴随快速进展肝纤维化.

■创新盘点

本研究以CHB自然病程肝组织病理学改变的角度, 大样本回顾性分析不同肝组织炎症分级和肝组织纤维化分期中血清HBsAg含量的变化, 为进一步弄清HBeAg阳性CHB自然病程HBsAg含量的动力学特点提供有力依据.

HBeAg阳性CHB患者的血清HBsAg含量在肝组织纤维化分期Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ和Ⅳ期之间也存在明显差异($F = 13.955$, $P<0.000$).

3 讨论

已有多项研究[12-15]显示, 肝内共价闭合环状DNA(covalently closed circular DNA, cccDNA)含量与合成释放入外周血的HBV DNA含量以及HBsAg含量有着良好的正相关性. 血清HBsAg含量可间接反映病毒复制的活跃程度, 评价慢乙型肝炎活动期肝细胞的损伤程度, 甚至于基线血清HBsAg含量是预测HBsAg清除的唯一最有效指标[16].

HBeAg阳性CHB患者, 其血清HBV DNA水平往往呈高水平复制, 伴随有转氨酶水平的升高或波动, 使得肝组织炎症活动较活跃, 肝细胞炎症坏死可伴随快速进展的肝纤维化[17].

在此肝细胞炎症坏死活跃和肝纤维化不断进展的过程中, 随着纤维组织的累积增加, 提供给HBV复制的肝实质细胞体积在进行性地减少. 肝组织损伤程度的进展将导致肝实质细胞数量的下降, 这是否会影响释放入血清的HBsAg含量呢?

本研究结果显示, HBeAg阳性CHB患者, 在肝组织炎症1、2、3和4级之间以及肝组织纤维化Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ和Ⅳ期之间, 其血清HBsAg含量均存在明显差异($F = 9.986$, $P<0.000$和$F = 13.955$, $P<0.000$). HBeAg阳性CHB患者的血清HBsAg含量随着肝组织炎症与纤维化的逐步进展而不断增加. 由此可知, 随着HBeAg阳性CHB肝组织损伤以及肝纤维化的累积进展, 虽然提供给HBV复制的场所-肝实质细胞总数在不断减少, 但HBV的复制表达并没有下降或静止, 反而更加活跃. 据此我们推测, 可能随着肝病的进展, 即肝组织不断炎症坏死与纤维化不断累积增加的过程, 虽然HBV复制场所-肝实质细胞总数在不断减少, 但可能单个肝实质细胞内的HBV复制较前活跃, 可促进更多的血清HBsAg表达, 加重由T细胞等介导的特异性免疫损伤, 致使肝脏产生更为严重的炎症坏死.

弄清HBeAg阳性CHB病程进展中血清HBsAg含量的变化, 是对HBV自然史和宿主免疫应答的进一步研究. 与HBV DNA相比, HBsAg定量是更为简易、经济的检测手段. 动态监测其血清HBsAg含量的变化, 可更为有效地预测HBsAg清除等抗HBV治疗效果. 对于处于免疫清除期的CHB患者, 制定抗病毒治疗方案时, 除HBV DNA外, 或许应考虑到患者血清HBsAg含量高低. 对于血清HBsAg含量较高的患者, 需使用高效、低耐药率的抗病毒药物, 才能产生良好的持续应答, 长期有效地控制肝组织炎症坏死的进展, 部分逆转肝纤维化.

4 参考文献

1 Liang TJ. Hepatitis B: the virus and disease. *Hepatology* 2009; 49: S13-S21 [PMID: 19399811 DOI: 10.1002/hep.22881]

2 Liaw YF, Chu CM. Hepatitis B virus infection. *Lancet* 2009; 373: 582-592 [PMID: 19217993 DOI: 10.1016/S0140-6736(09)60207-5]

3 European Association For The Study Of The Liver. [EASL clinical practice guidelines. Management of chronic hepatitis B]. *Gastroenterol Clin Biol* 2009; 33: 539-554 [PMID: 19481389 DOI: 10.1016/j.gcb.2009.03.002]

4 Nguyen T, Thompson AJ, Bowden S, Croagh C, Bell S, Desmond PV, Levy M, Locarnini SA. Hepatitis B surface antigen levels during the natural history of chronic hepatitis B: a perspective on Asia. *J Hepatol* 2010; 52: 508-513 [PMID: 20206400 DOI: 10.1016/j.jhep.2010.01.007]

5 Jaroszewicz J, Calle Serrano B, Wursthorn K, Deterding K, Schlue J, Raupach R, Flisiak R, Bock CT, Manns MP, Wedemeyer H, Cornberg M. Hepatitis B surface antigen (HBsAg) levels in the natural history of hepatitis B virus (HBV)-infection: a European perspective. *J Hepatol* 2010; 52: 514-522 [PMID: 20207438 DOI: 10.1016/j.jhep.2010.01.014]

6 Tseng TC, Liu CJ, Yang HC, Su TH, Wang CC, Chen CL, Kuo SF, Liu CH, Chen PJ, Chen DS, Kao JH. Determinants of spontaneous surface antigen loss in hepatitis B e antigen-negative patients with a low viral load. *Hepatology* 2012; 55: 68-76 [PMID: 21858846 DOI: 10.1002/hep.24615]

7 Wursthorn K, Jung M, Riva A, Goodman ZD, Lopez P, Bao W, Manns MP, Wedemeyer H, Naoumov NV. Kinetics of hepatitis B surface antigen decline during 3 years of telbivudine treatment in hepatitis B e antigen-positive patients. *Hepatology* 2010; 52: 1611-1620 [PMID: 20931556 DOI: 10.1002/hep.23905]

8 Brunetto MR, Moriconi F, Bonino F, Lau GK, Farci P, Yurdaydin C, Piratvisuth T, Luo K, Wang Y, Hadziyannis S, Wolf E, McCloud P, Batrla R, Marcellin P. Hepatitis B virus surface antigen levels: a guide to sustained response to peginterferon alfa-2a in HBeAg-negative chronic hepatitis B. *Hepatology* 2009; 49: 1141-1150 [PMID: 19338056 DOI: 10.1002/hep.22760]

9 Moucari R, Mackiewicz V, Lada O, Ripault MP, Castelnau C, Martinot-Peignoux M, Dauvergne A, Asselah T, Boyer N, Bedossa P, Valla D, Vidaud M, Nicolas-Chanoine MH, Marcellin P. Early serum HBsAg drop: a strong predictor of sustained virological response to pegylated interferon alfa-2a in HBeAg-negative patients. *Hepatology* 2009; 49: 1151-1157 [PMID: 19115222 DOI: 10.1002/hep.22744]

10 Sonneveld MJ, Rijckborst V, Boucher CA, Hansen BE, Janssen HL. Prediction of sustained response

to peginterferon alfa-2b for hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B using on-treatment hepatitis B surface antigen decline. *Hepatology* 2010; 52: 1251-1257 [PMID: 20830787 DOI: 10.1002/hep.23844]
11 Chen M, Sällberg M, Hughes J, Jones J, Guidotti LG, Chisari FV, Billaud JN, Milich DR. Immune tolerance split between hepatitis B virus precore and core proteins. *J Virol* 2005; 79: 3016-3027 [PMID: 15709022]
12 Ben Slama N, Ahmed SN, Zoulim F. [HBsAg quantification: virological significance]. *Gastroenterol Clin Biol* 2010; 34 Suppl 2: S112-S118 [PMID: 21095514 DOI: 10.1016/S0399-8320(10)70030-0]
13 Brunetto MR, Oliveri F, Colombatto P, Moriconi F, Ciccorossi P, Coco B, Romagnoli V, Cherubini B, Moscato G, Maina AM, Cavallone D, Bonino F. Hepatitis B surface antigen serum levels help to distinguish active from inactive hepatitis B virus genotype D carriers. *Gastroenterology* 2010; 139: 483-490 [PMID: 20451520 DOI: 10.1053/j.gastro.2010.04.052]
14 Locarnini S, Bowden S. Hepatitis B surface antigen quantification: not what it seems on the surface. *Hepatology* 2012; 56: 411-414 [PMID: 22454331 DOI: 10.1002/hep.25732]
15 Chan HL, Wong VW, Tse AM, Tse CH, Chim AM, Chan HY, Wong GL, Sung JJ. Serum hepatitis B surface antigen quantitation can reflect hepatitis B virus in the liver and predict treatment response. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007; 5: 1462-1468 [PMID: 18054753]
16 Arai M, Togo S, Kanda T, Fujiwara K, Imazeki F, Yokosuka O. Quantification of hepatitis B surface antigen can help predict spontaneous hepatitis B surface antigen seroclearance. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2012; 24: 414-418 [PMID: 22273987 DOI: 10.1097/MEG.0b013e328350594d]
17 Hadziyannis SJ, Vassilopoulos D, Hadziyannis E. The natural course of chronic hepatitis B virus infection and its management. *Adv Pharmacol* 2013; 67: 247-291 [PMID: 23886003 DOI: 10.1016/B978-0-12-405880-4.00007-X]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

■同行评价
本文的研究为HBV自然史和宿主免疫应答的进一步研究提供了充足的有意义的信息, 研究较具有新颖性, 工作做得很细很扎实、严谨, 科学性与可读性较强.

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊

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

世界华人消化杂志 2014年5月18日; 22(14): 2028-2033
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

国产恩替卡韦对慢性乙型肝炎抗病毒治疗的Meta分析

郑人源, 张 琴, 高 勇, 卓 强

■背景资料
慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)可发展为肝衰竭、肝硬化、肝癌等疾病, 目前, 抗病毒治疗是乙型肝炎治疗的核心. 恩替卡韦(entecavir, ETV)(博路定)是一种新型抗乙型肝炎病毒药物, 近年来已作为乙型肝炎抗病毒治疗的首选药物之一, 但价格昂贵. 近年来, 国产ETV逐渐上市, 价格相对较低, 已成为一些乙型肝炎患者临床治疗的选择.

郑人源, 张琴, 卓强, 成都医学院 四川省成都市 610500
高勇, 成都军区总医院消化内科 四川省成都市 610083
郑人源, 医学硕士, 助理研究员, 主要从事消化内科学的相关研究.
四川省卫生厅科研基金资助项目, No. 130311
四川省教育厅科研基金资助项目, No. 14ZB0243
作者贡献分布: 郑人源与张琴对此文的贡献均等; 此课题由张琴与郑人源设计; 由郑人源、张琴及卓强负责文献检索、文献质量评价、资料提取、数据分析; 本文写作由郑人源与张琴完成; 高勇对本文提出修改意见并给予极大的工作支持.
通讯作者: 张琴, 主管药师, 610500, 四川省成都市新都区新都大道783号, 成都医学院, barya.mail@163.com
收稿日期: 2014-03-10 修回日期: 2014-03-27
接受日期: 2014-03-28 在线出版日期: 2014-05-18

China-made entecavir for treatment of chronic hepatitis B: A Meta-analysis

Ren-Yuan Zheng, Qin Zhang, Yong Gao, Qiang Zhuo

Ren-Yuan Zheng, Qin Zhang, Qiang Zhuo, Chengdu Medical College, Chengdu 610500, Sichuan Province, China
Yong Gao, General Hospital of Chengdu Military Command, Chengdu 610083, Sichuan Province, China
Supported by: Scientific Fund of Sichuan Province Health Department, No. 130311; Scientific Fund of Sichuan Province Education Department, No. 14ZB0243
Correspondence to: Qin Zhang, Chief Pharmacist, Chengdu Medical College, 783 Xindu Dadao, Xindu District, Chengdu 610500, Sichuan Province, China. barya.mail@163.com
Received: 2014-03-10 Revised: 2014-03-27
Accepted: 2014-03-28 Published online: 2014-05-18

Abstract

AIM: To evaluate the efficacy and safety of China-made entecavir in the antiviral treatment of chronic hepatitis B by comparing with baraclude.

METHODS: A computer-based search of Medline, PubMed, China Journal Full-text Database and CBM database from the inception to February 2014, in combination with a manual search of relevant journals, was performed to identify relevant randomized controlled trials that evaluated the use of entecavir in the treatment of chronic hepatitis B, regardless of language. Heterogeneity was examined by Chi-square test, the relative risk was calculated, subgroup analysis was performed by treatment course, and forest graph was plot.

RESULTS: Six trials involving 587 patients, including 312 treated with China-made entecavir and 275 treated with baraclude, were included in the systematic review. There were no statistical significances in the rates of undetected serum HBV DNA, serum ALT normalization, HBeAg loss and the incidence of adverse reactions between the two groups ($P > 0.1$ for all).

CONCLUSION: China-made entecavir is effective and safe in antiviral treatment of chronic hepatitis B in comparison with baraclude. However, high-quality RCTs are still needed to further clarify its efficacy.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Entecavir; Baraclude; Antiviral treatment; Chronic hepatitis B; Treatment effect; Safety; Meta-analysis

Zheng RY, Zhang Q, Gao Y, Zhuo Q. China-made entecavir for treatment of chronic hepatitis B: A Meta-analysis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(14): 2028-2033 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2028.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i14.2028

摘要

目的: 评价国产恩替卡韦(entecavir, ETV)对慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)抗病毒治疗的疗效和安全性.

方法: 检索Medline、PubMed及中国期刊全文数据库, 中国生物医学文献数据库等中外文数据库临床对照试验, 检索年限从建库检索到2014-02, 并辅以文献追溯、手工检索等方法收集查阅文献. 凡评价国产ETV治疗CHB的临床随机对照研究, 无论语种均纳入, 采用χ^2检验分析研究间的异质性, 以相对危险度为疗效分析统计量进行合并研究, 对疗程进行亚组分析, 并绘制森林图.

结果: 共纳入临床随机对照试验6个, 包括587个患者, 试验组312例, 对照组275例. 国产ETV组与博路定组比较, 2组的谷丙转氨酶(alanine

■同行评议者
林潮双, 教授, 中山大学附属第三医院感染科

aminotransferase, ALT)复常率、血清HBeAg阴转率、乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)DNA阴转率及不良反应发生率的差异均无统计学意义(均P>0.1).

结论: 国产ETV在促使ALT回复正常水平、血清HBeAg阴转率、降低患者血清HBV DNA载量及不良反应发生方面与博路定两者相当, 是安全、有效的. 有必要展开更多高质量的临床随机对照研究, 进一步明确其疗效.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 恩替卡韦; 博路定; 慢性乙型肝炎; 抗病毒治疗; 疗效; 安全性; Meta分析

核心提示: 国产恩替卡韦(entecavir, ETV)在乙型肝炎病毒治疗指标及不良反应发生方面与进口博路定两者相当, 是安全、有效的. 今后有必要开展更多高质量、大样本、长期随访的临床随机对照研究为国产ETV的疗效和安全性提供更加充分的证据.

郑人源, 张琴, 高勇, 卓强. 国产恩替卡韦对慢性乙型肝炎抗病毒治疗的Meta分析. 世界华人消化杂志 2014; 22(14): 2028-2033
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2028.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i14.2028

0 引言

我国现有慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)患者约3000万例, 每年有近50万人死于CHB相关的肝衰竭、肝硬化和肝癌等疾病, 乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染是其主要的病因, 抗病毒治疗是其治疗的核心[1]. 恩替卡韦(entecavir, ETV), 由Bristol-Myers Squibb(美国百时美施贵宝公司)2005年获美国食品和药物管理局(Food and Drug Administration, FDA)批准上市, 2006年引进我国销售, 商品名为博路定(baraclude), 是一种具有很强的抗HBV作用的核苷类似物, 具有疗效好、耐药率低、不良反应小、安全性高等优点, 且疗效优于拉米夫定等一线药物, 近年在乙型肝炎的抗病毒治疗中被广泛使用并作为首选药物之一. 但对于大多数消费者而言, 博路定价格昂贵[2]. 近年来, 国内制药商已开始生产销售恩替卡韦, 价格相对较低廉, 但其治疗效果和安全性还有待考证. 本研究旨在通过系统评价和分析现有国产恩替卡韦治疗CHB的临床随机对照试验, 评价国产恩替卡韦对CHB抗病毒治疗的疗效和安全性.

1 材料和方法

1.1 材料 以英文关键词“chronic hepatitis B”, “entecavir”, “clinical trial”, “chinese”, “baraclude”等检索式在Medline、PubMed数据库、FMJS(EMCC)数据库中检索; 以“慢性乙型肝炎”、“临床试验”、“恩替卡韦”、“国产”、“博路定”等检索式在中国生物医学文献数据库(CBMDisc)、维普中文科技期刊全文数据库、中国期刊全文数据库检索. 检索年限均从建库到2014-02. 并检索近3年来国内外有关慢性乙型病毒性肝炎治疗的学术会议及论文集. 并严格按纳入和排除标准筛选.

1.2 方法

1.2.1 纳入标准: 纳入同时符合以下条件的研究: (1)研究类型为随机对照临床试验(randomized controlled clinical trials, RCCT); (2)受试者为18岁以上成人, 乙型肝炎病史 6 mo以上, 诊断符合我国2011年《慢性乙型肝炎防治指南》[3]的诊断标准; (3)恩替卡韦用量为0.5 mg/d; 6 mo内未接受其他抗病毒药物治疗.

1.2.2 排除标准: (1)仅有摘要无全文的文献资料以及数据不完整无法利用的文献; (2)恩卡替韦联合其他药物治疗的文献, 未采用进口或合资恩卡替韦做对照的文献以及综述性的文献; (3)重复发表的文献, 雷同文献; (4)综述、短篇报道、自身对照试验以及不能提供全文的文献; (5)有其他肝炎病毒感染或人类免疫缺陷病毒感染, 以及有酒精性、自身免疫性肝炎或肝癌以及肝移植患者的研究文献.

1.2.3 评价标准: 所有文献的纳入由2名评价员独立进行, 然后交叉核对, 存在意见分歧时, 由第3名研究者参与决定纳入与否. 质量评价主要从是否采用随机分组、分配方案是否隐藏, 是否实施了盲法、是否报道了退出和失访、是否进行意向性分析、对比组间是否有可比性6个方面进行, 即Jadad质量评分法[4](1-2分为低质量研究, 3-5分为高质量研究). 资料提取包括研究的样本量、基本情况、干预措施、用药种类、剂量、疗程、随访时间、受试者特征[血清HBV DNA水平、血清谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)水平、血清HBeAg情况、不良反应]及结果. 所有评价指标均用治疗后到随访时间点的有效人数和受试对象总人数表示.

统计学处理 采用Cochrane协作网提供的Revman 5.2软件进行系统评价, 采用相对危险度(relative risk, RR)为疗效分析统计量, 记录95%

■研发前沿
目前, 证明药物有效性和安全性最可靠的依据是临床随机对照试验的Meta分析, 国产ETV的疗效和安全性有待考证, 有必要通过Meta分析评价其疗效和安全性.

■相关报道
国产ETV上市以来, 有关临床研究显示其疗效稳定, 安全性好. 但各研究样本量不大, 疗程及疗效结果不一, 缺少对其疗效和安全性的系统评价.

表 1 纳入研究的基本情况

研究	n(试验组/对照组)	疗程	Jadad评分
徐星娥2012[6]	70(35/35)	16	3
李超群2012[7]	110(54/56)	48	2
李青2011[8]	46(23/23)	24	3
王建芳2013[9]	56(28/28)	48	3
谢益明2012[10]	240(140/100)	48	3
邬亚妙2013[11]	65(32/33)	16	3

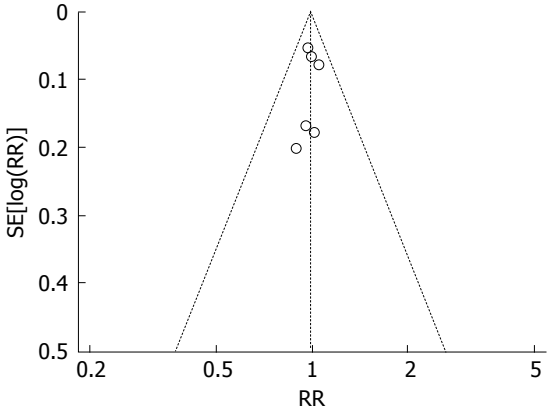


图 1 漏斗图. RR: 相对危险度.

可信区间(confidence interval, CI), 检验分析研究间的异质性, 并绘制森林图. 试验间异质性采用χ^2检验, P>0.1为研究间无统计学异质性. 根据美国医学会杂志(*JAMA*)建议的办法, 同时使用固定效应模型和随机效应模型计算合并统计量, 当组内各研究间无统计学异质性(P≥0.1, I^2≤50%)时, 采用固定效应模型, 若存在统计学异质性(P<0.1, I^2>50%)时, 分析可能产生临床异质性和统计学异质性的原因, 确定是否能采用随机效应模型[5].

2 结果

2.1 基本情况及研究方法学质量 初检文献119篇, 经过阅读摘要和全文, 排除重复文献, 按纳入和排除标准, 最终纳入6篇RCCT研究文献[6-11], 均为国内研究, 无符合标准的英文文献. 共587例患者, 试验组312例, 对照组275例, 所有受试对象的ALT均异常. 试验组均采用国产恩卡替韦片, 对照组均采用博路定(百时美施贵宝公司), 用药剂量均为常规剂量(0.5 mg/d). 6个RCCT文献中3个为短疗程(1个24 wk, 2个16 wk), 3个为常规疗程(48 wk), 研究的基本情况如表1. 对纳入研究中测量血清ALT复常指标的试验进行Egger回归分析, 并绘制漏斗图, 无明显不对称, 发表性偏倚不大(图1).

2.2 研究结果

2.2.1 ALT复常率: 纳入的6个RCCT研究[6-11]均报道了血清ALT复常, 各研究试验组间无统计学异质性(χ^2 = 1.05, P = 0. 96, P>0.1, I^2 = 0%, I^2<50%), 采用固定效应模型进行综合分析. 结果显示, 分别使用国产恩替卡韦和博路定治疗后, 血清ALT复常率的差异无统计学意义(Z = 0.25, P>0.1); RR = 0.99. 因6个研究间存在疗程差异, 其中3个为短疗程(1个24 wk, 2个16 wk), 3个为常规疗程(48 wk). 故对纳入试验按疗程(短疗程和常规疗程)进行亚组分析. 短疗程和常规疗程各试验组间均无统计学异质性(P值分别为0.69和0.86). 合并分析后, 短疗程试验组和对照组血清ALT复常率的差异无统计学意义(Z = 0.23, P>0.1); RR = 0.99, 常规疗程试验组和对照组血清ALT复常率的差异无统计学意义(Z = 0.16, P>0.1); RR = 0.99(图2).

2.2.2 血清HBeAg阴转率: 有5个RCCT研究[6-10]报道了血清HBeAg阴转率, 各研究试验组间无统计学异质性(χ^2 = 0.83, P = 0. 93, P>0.1, I^2 = 0%, I^2<50%), 采用固定效应模型进行综合分析. 结果显示, 分别使用国产恩替卡韦和博路定治疗后, 血清HBeAg阴转率的差异无统计学意义(Z = 0.45, P>0.1); RR = 0.94. 因5个研究间存在疗程差异, 其中3个为短疗程(1个24 wk, 2个16 wk), 2个为常规疗程(48 wk). 故对纳入试验按疗程(短疗程和常规疗程)进行亚组分析. 短疗程和常规疗程各试验组间均无统计学异质性(P值分别为0.84和0.50). 合并分析后, 短疗程试验组和对照组血清ALT复常率的差异无统计学意义(Z = 0.22, P>0.1); RR = 0.96, 常规疗程试验组和对照组血清ALT复常率的差异无统计学意义(Z = 0.41, P>0.1); RR = 0.90(图3).

2.2.3 HBV DNA阴转率: 6个RCCT研究[6-11]均报道了血清HBV DNA阴转率, 各研究试验组间无统计学异质性(χ^2 = 0.37, P = 1.00, P>0.1, I^2 = 0%, I^2<50%), 采用固定效应模型进行综合分析. 结果显示, 分别使用国产恩替卡韦和博路定治疗

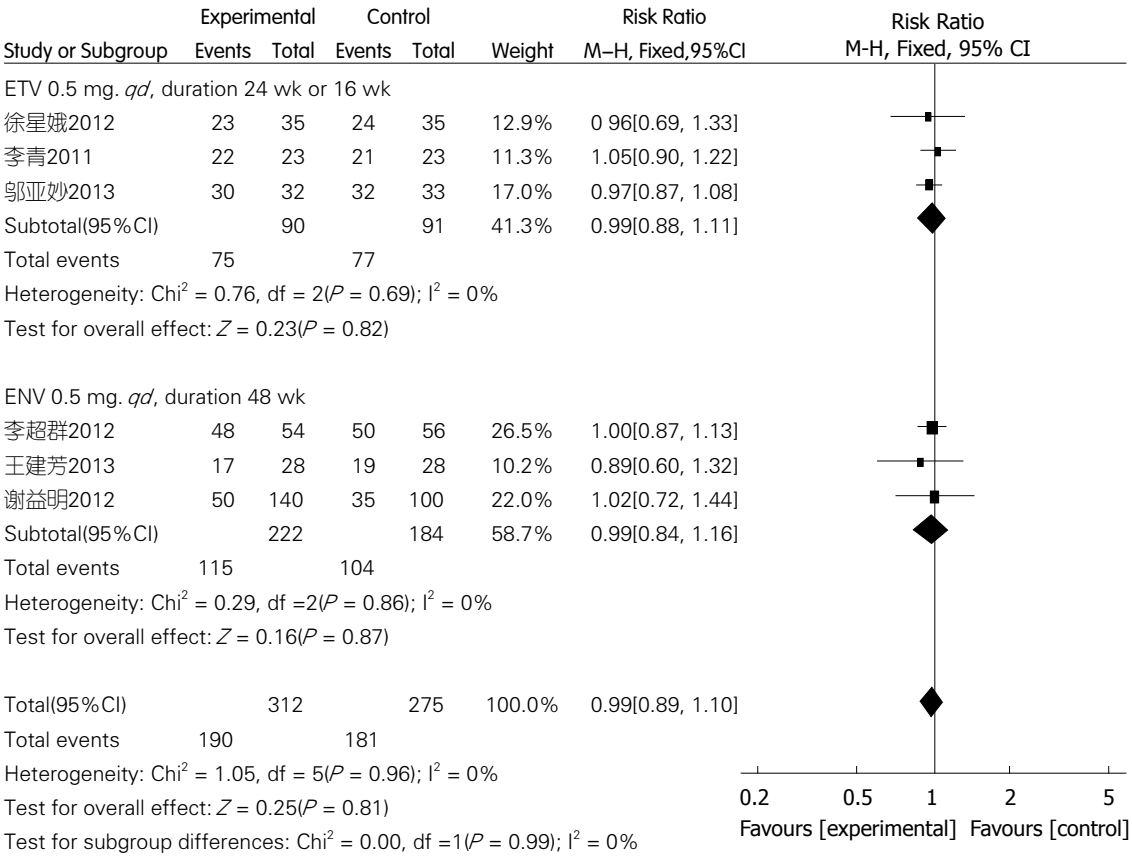


图 2 试验组与对照组血清ALT复常率的比较. ALT: 谷丙转氨酶.

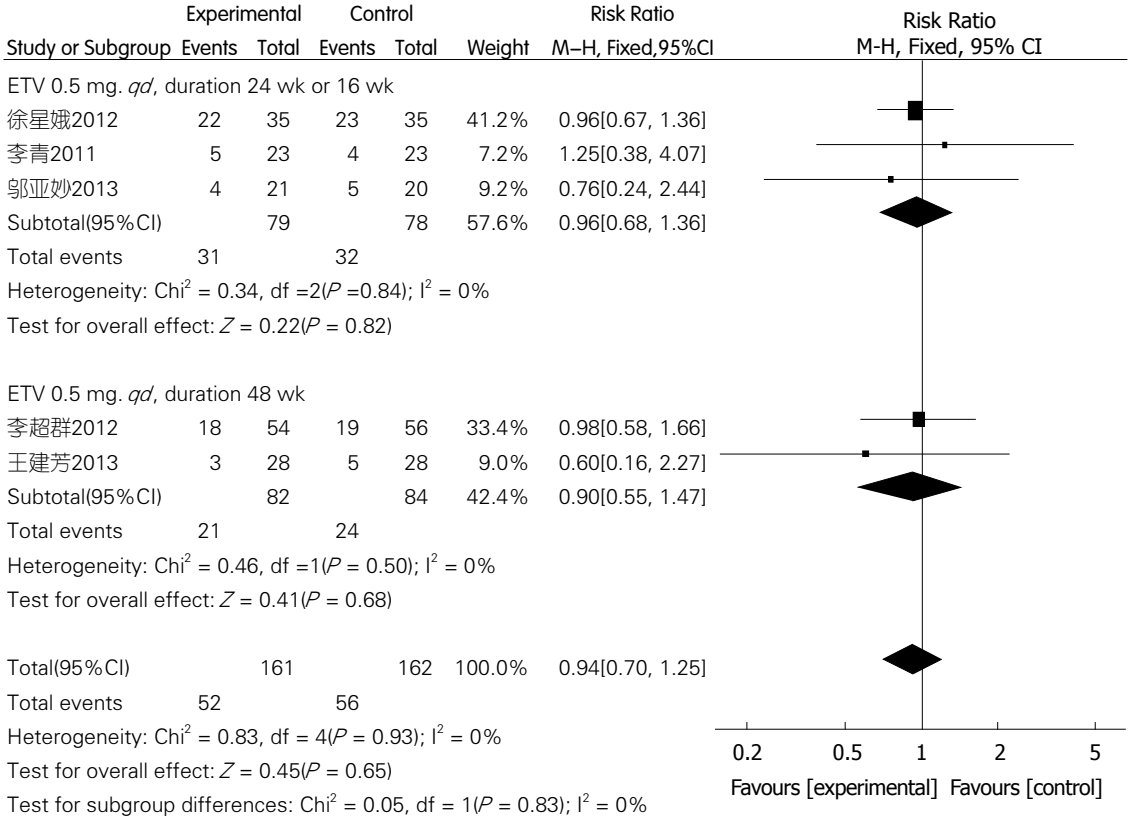


图 3 试验组与对照组血清HBeAg阴转率的比较.

■创新盘点

本研究严格按照Cochrane协作网推荐的系统评价步骤，纳入了6个国产ETV治疗CHB的临床随机对照试验，系统评价和分析了国产ETV治疗CHB的疗效和安全性.

■应用要点

ETV是目前乙肝抗病毒治疗中, 高疗效低耐药且不良反应最小的药物, 但价格昂贵, 治疗中停药会影响疗效, 甚至使病情进一步加重. 一些患者由于经济原因中断治疗得不偿失, 国产ETV价格相对低廉, 疗效和安全性与博路定相当, 可作为CHB临床治疗的参考.

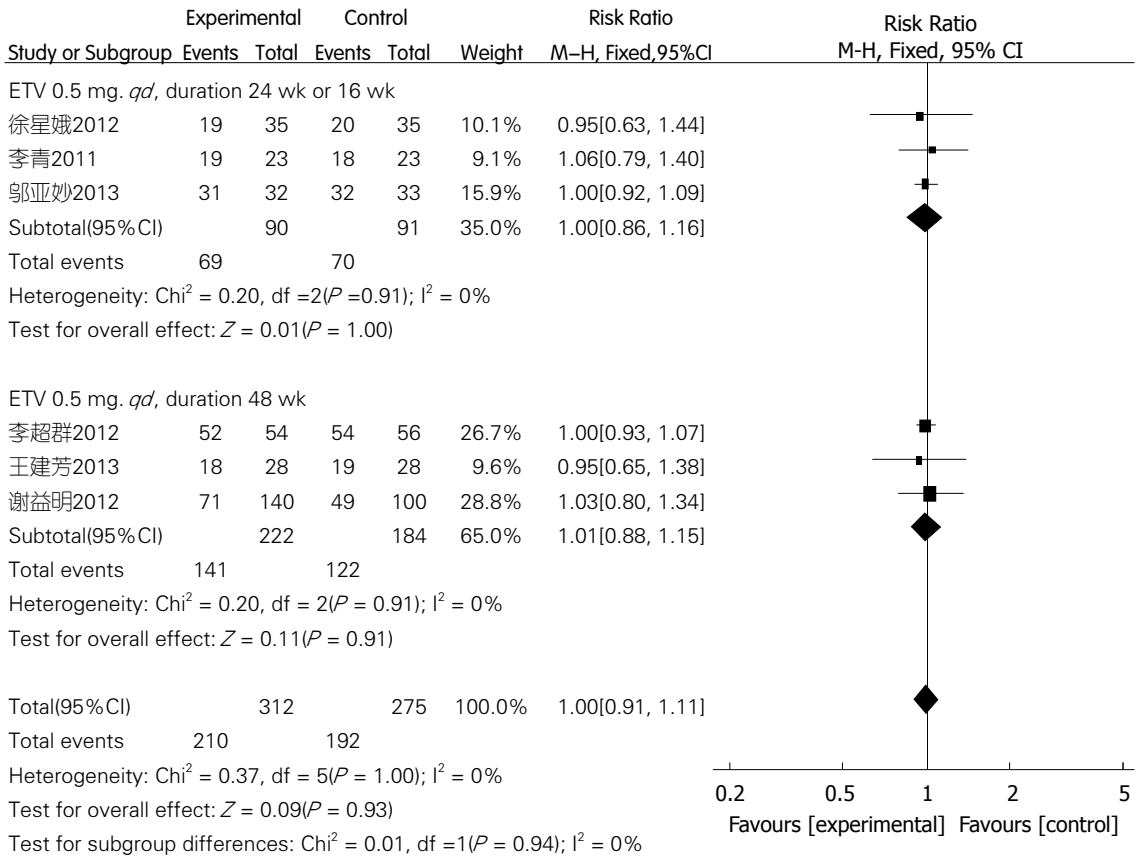


图 4 试验组与对照组HBV DNA阴转率的比较. HBV: 乙型肝炎病毒.

后, 血清HBV DNA阴转率的差异无统计学意义(Z = 0.09, P>0.1); RR = 1.00. 因5个研究间存在疗程差异, 其中3个为短疗程(1个24 wk, 2个16 wk), 3个为常规疗程(48 wk). 故对纳入试验按疗程(短疗程和常规疗程)进行亚组分析. 短疗程和常规疗程各试验组间均无统计学异质性(P值均为0.91). 合并分析后, 短疗程试验组和对照组血清ALT复常率的差异无统计学意义(Z = 0.01, P>0.1); RR = 1.00, 常规疗程试验组和对照组血清ALT复常率的差异无统计学意义(Z = 0.11, P>0.1); RR = 1.01(图4).

2.2.4 不良反应: 有4个RCCT研究[6,9-11]报道了不良反应, 各研究试验组间无统计学异质性(χ^2 = 1.87, P = 0.17, P>0.1, I^2 = 46%, I^2<50%), 采用固定效应模型进行综合分析. 结果显示, 分别使用国产恩替卡韦和博路定治疗中出现不良反应的差异无统计学意义(Z = 0.50, P>0.1); RR = 1.31. 因4个研究间存在疗程差异, 其中2个为短疗程(16 wk), 2个为常规疗程(48 wk). 故对纳入试验按疗程(短疗程和常规疗程)进行亚组分析. 短疗程试验组和对照组血清ALT复常率的差异无统计学意义(Z = 1.30, P>0.1); RR = 4.12, 常规疗程试验组和对照组血清ALT复常率的差异无统计学意义(Z = 0.48, P>0.1); RR = 0.71. 4个试验中提及的不良反应主要是轻微腹痛、头痛、恶心, 均未提及严重不良反应.

3 讨论

目前, CHB的治疗目标主要是抗HBV病毒, 通过持续抑制HBV病毒复制, 减少HBV突变, 延缓疾病进展为失代偿性肝病、肝硬化或肝癌[12]. 恩替卡韦是一种新型抗HBV药物, 是鸟嘌呤核苷类似物, 他能作用于反转录酶和HBV DNA聚合酶, 抑制病毒基因组RNA逆转录复制HBV DNA负链及正链的合成, 从而阻止HBV DNA的装配和延伸, 他能有效地选择性抑制HBV复制, 阻断HBV DNA复制的全部3个阶段. 该药起效快, 抗病毒活性强, 变异率低, 是目前强效低耐药的抗HBV药[13], 已作为乙型肝炎临床治疗的一线药物, 临床研究表明, 成人每日口服0.5 mg能有效抑制HBV DNA复制, 疗效优于拉米夫定, 且对发生YMDD变异者能有效抑制HBV DNA复制, 对初治患者治疗1年时的耐药发生率为0[14], 中国国家食品药品监督管理总局(China Food

and Drug Administration, CFDA)也已批准其用于治疗CHB.

恩替卡韦(博路定)对乙型肝炎抗病毒治疗效果好, 不良反应少, 但价格较贵, 用其治疗的同时也给众多的国内CHB患者带来了经济负担. 近几年, 国产的恩替卡韦逐渐上市, 价格相对低廉, 为CHB患者的抗病毒治疗降低了较大的经济成本, 但对其疗效还没有明确的报道. 目前, 证明某种药物的有效性和安全性最可靠的依据是临床随机对照试验的Meta分析. 本研究从检索策略、纳入和排除标准、文献的质量评价、信息采集和统计分析, 都严格按照Cochrane协作网推荐的系统评价步骤进行, 以森林图显示分析结果. 共收集了2014-02之前国内外有关国产恩替卡韦治疗CHB的临床对照研究, 分析了ALT复常率、血清HBeAg阴转率、HBV DNA阴转率抗病毒治疗指标以及不良反应的发生情况, 评价国产恩替卡韦在不同疗程下的有效性和安全性. 纳入6个临床临床随机对照研究, 共587例受试患者, 样本量较大, 均为国内人群, 针对适用性强. Meta分析结果表明经同剂量同疗程国产恩替卡韦组与博路定组治疗后在CHB患者的ALT复常率、血清HBeAg阴转率、HBV DNA阴转率治疗指标以及不良反应的发生上均无显著差异. 绘制的漏斗图无明显不对称, 发表偏倚不大.

从现有资料和Meta分析结果来看, 国产恩替卡韦对CHB的抗病毒治疗的疗效和安全性与博路定相当. 博路定是四大口服核苷酸类抗病毒药物中价格最高的药物, 抗病毒活性强, 不良反应小, 耐药性低, 但若在治疗中盲目停药会造成病毒反弹, 影响治疗效果, 更有甚者会引起病情加重[15]. 一些患者由于经济原因在治疗一半时被迫停止抗病毒治疗, 得不偿失, 而国产恩替卡韦价格相对低廉, 经济适用, 为临床治疗提供参考. 但国产恩替卡韦上市时间较短, 本研究纳入的6个试验中, 高质量研究较少, 主要问题是部分试验样本量较小、试验疗程较短、未描述随机分配方案、研究对象退出及失访等. 因此, 尚需开展更多高质量、大样本、长期随访的临床随机对照研究为国产恩替卡韦的疗效和安全性提供更加充分的证据.

■同行评价
本文方法合理, 结果可信, 具有一定临床指导意义.

4 参考文献

1 邹俐, 郑萍, 侯连兵. 慢性乙型肝炎患者健康相关生命质量评价研究现状. 热带医学杂志 2012; 12: 112-115
2 刘士敬. 恩替卡韦是治疗乙肝的首选药物. 求医问药 2010; (11): 18-19
3 中华医学会肝病学分会、感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南. 中华肝脏病杂志 2005; 13: 881-891
4 Jadad AR, Moore RA, Carroll D, Jenkinson C, Reynolds DJ, Gavaghan DJ, McQuay HJ. Assessing the quality of reports of randomized clinical trials: is blinding necessary? *Control Clin Trials* 1996; 17: 1-12 [PMID: 8721797]
5 Cummings KJ, Lee SM, West ES, Cid-Ruzafa J, Fein SG, Aoki Y, Sulkowski MS, Goodman SN. Interferon and ribavirin vs interferon alone in the re-treatment of chronic hepatitis C previously nonresponsive to interferon: A meta-analysis of randomized trials. *JAMA* 2001; 285: 193-199 [PMID: 11176813 DOI: 10.1001/jama.285.2.193]
6 徐星娥, 邹林霞. 国产与进口恩替卡韦治疗病毒性乙型肝炎的药物经济学分析. 海峡药学 2012; 24: 247-248
7 李超群, 唐莉梅. 国产恩替卡韦分散片对慢性乙型肝炎初次抗病毒的疗效分析. 中国医药 2012; 7: 839-840
8 李青. 国产恩替卡韦治疗初治HBeAg阳性慢乙肝患者24周的早期临床疗效观察. 中国医疗前沿 2011; 6: 20-21
9 王建芳. 国产恩替卡韦与进口恩替卡韦的疗效分析. 实用医技杂志 2013; 20: 334-335
10 谢益明, 朱建荣, 周文光. 进口与国产恩替卡韦治疗慢性乙型肝炎成本-效果分析. 医学理论与实践 2012; 25: 2438-2439
11 邬亚妙. 合资国产恩替卡韦治疗慢性乙型肝炎的最小成本分析. 药学实践杂志 2013; 31: 388-389
12 Choe WH, Hong SP, Kim BK, Ko SY, Jung YK, Kim JH, Yeon JE, Byun KS, Kim KH, Ji SI, Kim SO, Lee CH, Kwon SY. Evolution of hepatitis B virus mutation during entecavir rescue therapy in patients with antiviral resistance to lamivudine and adefovir. *Antivir Ther* 2009; 14: 985-993 [PMID: 19918102 DOI: 10.3851/IMP1417]
13 Suh DJ, Um SH, Herrmann E, Kim JH, Lee YS, Lee HJ, Lee MS, Lee YJ, Bao W, Lopez P, Lee HC, Avila C, Zeuzem S. Early viral kinetics of telbivudine and entecavir: results of a 12-week randomized exploratory study with patients with HBeAg-positive chronic hepatitis B. *Antimicrob Agents Chemother* 2010; 54: 1242-1247 [PMID: 20028815 DOI: 10.1128/AAC.01163-09]
14 Chang TT, Lai CL, Kew Yoon S, Lee SS, Coelho HS, Carrilho FJ, Poordad F, Halota W, Horsmans Y, Tsai N, Zhang H, Tenney DJ, Tamez R, Iloeje U. Entecavir treatment for up to 5 years in patients with hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B. *Hepatology* 2010; 51: 422-430 [PMID: 20049753 DOI: 10.1002/hep.23256]
15 李生英. 恩替卡韦停药不当致肝衰竭1例. 人民军医 2012; 55: 251

编辑 田滢 电编 都珍珍

世界华人消化杂志 2014年5月18日; 22(14): 2034-2038
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

奥曲肽注射液联合前列地尔注射液在常规治疗肝硬化合并HES患者中的作用

刘 剑, 景照峰, 晏家华, 罗 敏, 胡 蓉

■背景资料
肝肾综合征(hepatorenal syndrome, HRS)是终末期肝病患者的严重并发症之一, 与肝硬化和门静脉高压有紧密联系, 属于进展性肾功能衰竭. 目前对于HRS的发病机制尚无明确研究结果, Ⅰ型HRS患者生存期较短, 在2 wk左右, Ⅱ型HRS患者的生存期月为6 mo, 患者死亡率较高. 目前临床上对HRS的发病机制尚无明确研究结果, 但多数专家认为该病与门静脉高压以及机体肝功能减退有紧密联系, 是上述因素导致患者血管舒张因子水平升高, 促进内脏血管舒张, 导致有效循环血容量减少, 交感神经系统和肾素血管紧张素醛固酮系统被激活, 患者肾内血管收缩导致肾脏血流灌注减少、肾小球滤过率下降, 最终引发肾功能衰竭.

■同行评议者
李涛, 副主任医师, 北京大学人民医院肝胆外科

刘剑, 景照峰, 晏家华, 罗敏, 胡蓉, 贵州省六盘水市人民医院肾内科 贵州省六盘水市 553001
刘剑, 副主任医师, 主要从事肝硬化合并肝肾综合征疾病的研究.
作者贡献分布: 此课题由刘剑设计; 研究过程由刘剑与景照峰完成; 数据分析由晏家华、罗敏及胡蓉完成; 写作由刘剑、景照峰、晏家华、胡蓉及罗敏共同完成.
通讯作者: 刘剑, 副主任医师, 553001, 贵州省六盘水市钟山西路56号, 六盘水市人民医院肾内科. 4962482@qq.com
收稿日期: 2014-01-15 修回日期: 2014-03-03
接受日期: 2014-03-18 在线出版日期: 2014-05-18

Therapeutic effects of octreotide combined with alprostadil on cirrhosis with hepatorenal syndrome

Jian Liu, Zhao-Feng Jing, Jia-Hua Yan, Min Luo, Rong Hu

Jian Liu, Zhao-Feng Jing, Jia-Hua Yan, Min Luo, Rong Hu, Department of Urology, Liupanshui People's Hospital, Liupanshui 553001, Guizhou Province, China
Correspondence to: Jian Liu, Associate Chief Physician, Department of Urology, Liupanshui People's Hospital, 56 Zhongshan West Road, Liupanshui 553001, Guizhou Province, China. 4962482@qq.com
Received: 2014-01-15 Revised: 2014-03-03
Accepted: 2014-03-18 Published online: 2014-05-18

Abstract

AIM: To explore the therapeutic effects of octreotide combined with alprostadil on cirrhosis with hepatorenal syndrome.

METHODS: Sixty patients with cirrhosis and hepatorenal syndrome were randomly divided into two groups: a control group and an experimental group. The control group was treated by conventional treatment, while the experimental group was additionally given octreotide combined with alprostadil on the basis of conventional treatment. The indexes of renal function, hemodynamic parameters, diameters of the portal vein and splenic vein, and clinical effects were compared.

RESULTS: In the experiment group, the levels of BUN and SCr were significantly lower (10.15 mmol/L ± 5.02 mmol/L *vs* 19.02 mmol/L ± 7.45 mmol/L, 136.13 μmol/L ± 18.62 μmol/L *vs* 211.42 μmol/L ± 17.66 μmol/L, $P < 0.05$) and the level of 24 h urine volume was significantly higher (1644.36 mL/d ± 178.30 mL/d *vs* 443.41 mL/d ± 77.88mL/d, $P < 0.05$) after treatment than before treatment. In the control group, the level of SCr was significantly lower (152.60 μmol/L ± 16.89 μmol/L *vs* 207.12 μmol/L ± 16.27 μmol/L, $P < 0.05$) and the level of 24 h urine volume was significantly higher (1207.26 mL/d ± 177.05 mL/d *vs* 459.51 mL/d ± 90.37mL/d, $P < 0.05$) after treatment than before treatment. The levels of BUN and SCr were significantly lower (10.15 mmol/L ± 5.02 mmol/L *vs* 15.72 mmol/L ± 7.71 mmol/L, 136.13 μmol/L ± 18.62 μmol/L *vs* 152.60 μmol/L ± 16.89 μmol/L, $P < 0.05$) and the level of 24 h urine volume was significantly higher (1644.36 mL/d ± 178.30 mL/d *vs* 1207.26 mL/d ± 177.05 mL/d, $P < 0.05$) in the experimental group than in the control group. There were no significant differences in the levels of MAP and HR between before and after treatment in both groups (78.45 mmHg ± 4.01 mmHg *vs* 76.44 mmHg ± 4.06 mmHg, 84.08/min ± 4.70/min *vs* 86.22/min ± 4.67/min, 78.53 mmHg ± 4.17 mmHg *vs* 78.22 mmHg ± 4.08 mmHg, 84.77/min ± 4.34/min *vs* 85.55/min ± 4.58/min, $P > 0.05$). The diameters of the portal vein and splenic vein were significantly lower (11.99 mm ± 1.33 mm *vs* 14.02 mm ± 1.37 mm, 8.16 mm ± 1.20 mm *vs* 10.65 mm ± 1.57 mm, 13.05 mm ± 1.16 mm *vs* 13.94 mm ± 1.27 mm, 9.36 mm ± 1.61 mm *vs* 10.50 mm ± 1.61 mm, $P < 0.05$) after treatment than before treatment in both groups. The diameters of the portal vein and splenic vein in the experiment group were significantly lower than those in the control group (11.99 mm ± 1.33 mm *vs* 13.05 mm ± 1.16 mm, 8.16 mm ± 1.20 mm *vs* 9.36 mm ± 1.61 mm, $P < 0.05$). The improvement rate and the total response rate in the experimental group were significantly higher than those in the control group (20.00% *vs* 6.67%, 83.33% *vs* 46.67%, $P < 0.05$), although there was no significant difference in mortality (6.67% *vs* 6.67%, $P > 0.05$).

CONCLUSION: Octreotide combined with alprostadil can improve renal function, reduce the portal pressure, has less impact on haemodynamics and high safety in patients with cirrhosis with hepatorenal syndrome.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Octreotide; Alprostadil; Cirrhosis; Hepatorenal syndrome

Liu J, Jing ZF, Yan JH, Luo M, Hu R. Therapeutic effects of octreotide combined with alprostadil on cirrhosis with hepatorenal syndrome. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(14): 2034-2038 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2034.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i14.2034

摘要

目的: 探讨奥曲肽联合前列地尔治疗肝硬化并肝肾综合征(hepatorenal syndrome, HRS)的临床疗效.

方法: 按照随机数字表法将我院消化内科收治的60例肝硬化合并HRS患者均分为试验组和对照组, 两组患者均给予常规综合治疗, 试验组患者加用奥曲肽注射液联合前列地尔注射液治疗, 对照组患者加用前列地尔注射液治疗, 比较两组患者治疗前后肾功能指标、血流动力学水平、门静脉内径和脾静脉内径变化情况以及临床疗效.

结果: 试验组患者治疗后尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)和血肌酐(serum creatinine, SCr)水平明显降低, 24 h尿量明显增加, 与治疗前比较(10.15 mmol/L±5.02 mmol/L *vs* 19.02 mmol/L±7.45 mmol/L、136.13 μmol/L±18.62 μmol/L *vs* 211.42 μmol/L±17.66 μmol/L、1644.36 mL/d±178.30 mL/d, *vs* 443.41 mL/d±77.88 mL/d)差异具有统计学意义(P<0.05); 对照组患者治疗后SCr水平明显降低, 24 h尿量明显增加, 与治疗前比较(152.60 μmol/L±16.89 μmol/L *vs* 207.12 μmol/L±16.27 μmol/L)、(1207.26 mL/d±177.05 mL/d *vs* 459.51 mL/d±90.37 mL/d), 差异具有统计学意义(P<0.05); 试验组患者治疗后BUN和SCr水平明显低于对照组(10.15 mmol/L±5.02 mmol/L *vs* 15.72 mmol/L±7.71 mmol/L)、(136.13 μmol/L±18.62 μmol/L *vs* 152.60 μmol/L±16.89 μmol/L), 24 h尿量明显高于对照组, (1644.36 mL/d±178.30 mL/d, *vs* 1207.26 mL/d±177.05 mL/d)差异具有统计学意义(P<0.05); 两组患者治疗前后平均动脉压(mean artery pressure, MAP)、心率(heart rate, HR)水平无明显变化(78.45 mmHg±4.01 mmHg *vs* 76.44 mmHg±4.06 mmHg)、(84.08次/min±4.70次/min *vs* 86.22次/min±4.67次/min), (78.53 mmHg±4.17 mmHg *vs* 78.22 mmHg±4.08 mmHg)、(84.77次/min±4.34次/min *vs* 85.55次/min±4.58次/min), 差异无统计学意义(P>0.05); 两组患者治疗后门静脉内径和脾静脉内径均明显降低, 与治疗前比较(11.99 mm±1.33 mm *vs* 14.02 mm±1.37 mm)、(8.16 mm±1.20 mm *vs* 10.65 mm±1.57 mm), (13.05 mm±1.16 mm *vs* 13.94 mm±1.27 mm)、(9.36 mm±1.61 mm *vs* 10.50 mm±1.61 mm), 差异具有统计学意义(P<0.05); 试验组患者治疗后门静脉内径和脾静脉内径均明显低于对照组(11.99 mm±1.33 mm *vs* 13.05 mm±1.16 mm)、(8.16 mm±1.20 mm *vs* 9.36 mm±1.61 mm), 差异具有统计学意义(P<0.05); 试验组患者显效率和总有效率均明显高于对照组(20.00% *vs* 6.67%、83.33% *vs* 46.67%), 差异具有统计学意义(P<0.05); 两组患者死亡率比较(6.67% *vs* 6.67%), 差异无统计学意义(P>0.05).

结论: 奥曲肽联合前列地尔能够有效改善肝硬化并HRS患者肾功能、降低门静脉的压力, 对患者血流动力学影响小、安全性高, 是临床治疗的首选.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 奥曲肽; 前列地尔; 肝硬化; 肝肾综合征

核心提示: 本研究在白蛋白输注的基础上使用奥曲肽联合前列地尔治疗肝硬化合并肝肾综合征(hepatorenal syndrome, HRS). 其中前列地尔为前列腺E1的脂微球载体制剂, 具有高效、持续、安全性高等优点, 能够有效改善肝硬化合并HRS患者血浆中肿瘤坏死因子-α和内毒素水平, 也能够保护肝细胞、抑制炎症反应及缓解平滑肌痉挛. 本研究中单用前列地尔注射液治疗组患者肾功能均有不同程度改善, 表明其具有改善HRS患者肾功能的作用, 与相关文献报道相符.

刘剑, 景照峰, 晏家华, 罗敏, 胡蓉. 奥曲肽注射液联合前列地尔注射液在常规治疗肝硬化合并HES患者中的作用. 世界华人消化杂志 2014; 22(14): 2034-2038 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2034.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i14.2034

0 引言

肝肾综合征(hepatorenal syndrome, HRS)是终末

■研发前沿
HRS是在终末期肝病的基础上发生的功能性肾功能衰竭, 患者肾脏虽然并无器质性病理改变, 但由于病情严重且进展迅速, 预后效果不佳.

■相关报道
Nazar等的研究结果表明, 应用血管收缩药(奥曲肽、去甲肾上腺素、鸟氨加压素等)联合白蛋白临床疗效确切.

表 1 两组患者临床资料比较 (n = 30)

分组	性别		平均年龄(岁)	体质量(kg)	肝硬化病因			HRS类型	
	男	女			乙型	酒精性	其他	Ⅰ型HRS	Ⅱ型HRS
试验组	12	6	57.82±8.13	24.13±4.97	7	9	2	2	16
对照组	13	8	58.57±8.76	24.77±4.68	10	6	5	3	18

HRS: 肝肾综合征.

期肝病患者的严重并发症之一, 与肝硬化和门静脉高压有紧密联系, 属于进展性肾功能衰竭[1]. 目前对于HRS的发病机制尚无明确研究结果, Ⅰ型HRS患者生存期较短, 在2 wk左右, Ⅱ型HRS患者的生存期月为6 mo, 患者死亡率较高[2]. 临床研究表明, 血管收缩药物联合白蛋白对改善患者的生存情况具有显著效果[3]. 我院采用奥曲肽联合前列地尔治疗肝硬化合并HRS取得了良好的临床效果, 现报道如下.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2011-10/2013-10我院收治的60例肝硬化合并HRS的患者作为研究对象. 所有患者均符合中华医学会肝病学分会和中华医学会感染病学分会制定的《慢性乙型肝炎防治指南》[4]中肝硬化相关诊断标准和2010年欧洲肝脏研究协会制定的《肝硬化腹水、自发性细菌性腹膜炎、肝肾综合征临床实践指南》中HRS相关诊断标准[5]. 实验室检查显示血清肌酐水平高于133 μmol/L且停用利尿剂并给予白蛋白扩容治疗2 d以上无改善. 排除入选前4 wk内服用氨基糖苷类抗生素或两性霉素B等肾毒性药物治疗、合并肾实质性疾病以及妊娠期患者. 按照随机数字表法将60例患者均分为试验组和对照组, 两组患者在性别、年龄、体质量、肝硬化病因及HRS类型等差异无统计学意义(P>0.05)(表1), 具有可比性. 所有患者均签署知情同意书. 奥曲肽注射液购自瑞士Novartis Pharma AG公司(批准文号H20020229, 0.1 mg/mL/支), 前列地尔注射液购自北京泰德制药有限公司[国药准字H10980023, 10 μg/(2 mL•支)].

1.2 方法

1.2.1 治疗: 两组患者均给予常规综合治疗, 包括保肝、利尿、抗感染、营养支持治疗及人血白蛋白静脉输入(10 g/d)[6]. 试验组患者加用奥曲肽注射液联合前列地尔注射液治疗, 奥曲肽注射液肌注100 μg/次, 每次间隔8 h, 前列地尔注射液静脉推注, 10 μg/次, 1次/d; 对照组患者加用前列地尔注射液治疗, 用药方法和剂量与试验组相同. 两组患者均连续治疗2 wk, 观察临床疗效.

1.2.2 观察指标: 比较两组患者治疗前后肾功能指标[尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)和血肌酐(serum creatinine, SCr)、24 h尿量, 酶法]、血流动力学水平[平均动脉压(mean artery pressure, MAP)、心率(heart rate, HR), 无创血流动力学检测仪]、门静脉内径和脾静脉内径(彩色多普勒超声诊断仪)变化情况以及临床疗效.

1.2.3 疗效评价标准: 显效: 血肌酐水平下降50%以上或恢复正常; 有效: 血肌酐水平下降20%-50%; 无效: 血肌酐水平下降低于50%. 总有效 = 显效+有效[7].

统计学处理 本研究数据均采用SPSS18.0进行统计学处理, 计量资料采用mean±SD表示, 差异性比较使用t检验, 记数资料比较使用χ^2检验, P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 两组患者治疗前后肾功能指标变化情况比较 试验组患者治疗后BUN和SCr水平明显降低, 24 h尿量明显增加, 与治疗前比较, 差异具有统计学意义(P<0.05); 对照组患者治疗后SCr水平明显降低, 24 h尿量明显增加, 与治疗前比较, 差异具有统计学意义(P<0.05); 试验组患者治疗后BUN和SCr水平明显低于对照组, 24 h尿量明显高于对照组, 差异具有统计学意义(P<0.05)(表2).

2.2 两组患者治疗前后血流动力学水平变化情况比较 两组患者治疗前后MAP、HR水平无明显变化, 差异无统计学意义(P>0.05)(表3).

2.3 两组患者治疗前后门静脉内径和脾静脉内径变化情况比较 两组患者治疗后门静脉内径和脾静脉内径均明显降低, 与治疗前比较, 差异具有统计学意义(P<0.05); 试验组患者治疗后门静脉内径和脾静脉内径均明显低于对照组, 差异具有统计学意义(P<0.05)(表4).

表 2 两组患者治疗前后肾功能指标变化情况比较 (n = 30)

分组	BUN(mmol/L)		SCr(μmol/L)		24 h尿量(mL/d)	
	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
试验组	19.02 ± 7.45	10.15 ± 5.02[bc]	211.42 ± 17.66	136.13 ± 18.62[bc]	443.41 ± 77.88	1644.36 ± 178.30[bc]
对照组	18.66 ± 8.15	15.72 ± 7.71	207.12 ± 16.27	152.60 ± 16.89[b]	459.51 ± 90.37	1207.26 ± 177.05[b]

[b]P<0.01 *vs* 同组治疗前; [c]P<0.05 *vs* 对照组. BUN: 尿素氮; SCr: 血肌酐.

表 3 两组患者治疗前后血流动力学水平变化情况比较 (n = 30)

分组	MAP(mmHg)		HR(次/min)	
	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
试验组	76.44 ± 4.06	78.45 ± 4.01	86.22 ± 4.67	84.08 ± 4.70
对照组	78.22 ± 4.08	78.53 ± 4.17	85.55 ± 4.58	84.77 ± 4.34

MAP: 平均动脉压; HR: 心率.

表 4 两组患者治疗前后门静脉内径和脾静脉内径变化情况比较 (n = 30, mm)

分组	门静脉内径		脾静脉内径	
	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
试验组	14.02 ± 1.37	11.99 ± 1.33[ac]	10.65 ± 1.57	8.16 ± 1.20[ac]
对照组	13.94 ± 1.27	13.05 ± 1.16[a]	10.50 ± 1.61	9.36 ± 1.61[a]

[a]P<0.05 *vs* 同组治疗前; [c]P<0.05 *vs* 对照组.

表 5 两组患者临床疗效比较 [n = 30, n(%)]

分组	显效	有效	无效	总有效	死亡
试验组	6(20.00)[a]	19(63.33)	5(16.67)[a]	25(83.33)[a]	2(6.67)
对照组	2(6.67)	12(40.00)	16(53.33)	14(46.67)	2(6.67)

[a]P<0.05 *vs* 对照组.

2.4 两组患者治疗前后临床疗效比较 试验组患者显效率和总有效率均明显高于对照组, 差异具有统计学意义(P<0.05); 试验组患者死亡2例, 均为多脏器功能衰竭致死, 对照组患者死亡2例, 1例为多脏器功能衰竭致死, 1例为病情突然加重、食管胃底静脉曲张破裂出血致死. 两组患者死亡率比较, 差异无统计学意义(P>0.05)(表5). 两组患者均未发生明显不良反应.

3 讨论

HRS是在终末期肝病的基础上发生的功能性肾功能衰竭, 患者肾脏虽然并无器质性病理改变, 但由于病情严重且进展迅速, 预后效果不佳[8]. 目前临床上对HRS的发病机制尚无明确研究结果, 但多数专家认为该病与门静脉高压以及机体肝功能减退有紧密联系, 是上述因素导致患者血管舒张因子水平升高, 促进内脏血管舒张, 导致有效循环血容量减少, 交感神经系统和肾素血管紧张素醛固酮系统被激活, 患者肾内血管收缩导致肾脏血流灌注减少、肾小球滤过率下降, 最终引发肾功能衰竭[9].

Nazar等[10]的研究结果表明, 应用血管收缩药(奥曲肽、去甲肾上腺素、鸟氨加压素等)联合白蛋白临床疗效确切. 血管收缩药物的作用机制主要为用药后患者内脏血管收缩, 促使有效循环血容量增加, 抑交感神经系统和肾素血

■应用要点
奥曲肽联合前列地尔能够有效改善肝硬化并HRS患者肾功能、降低门静脉的压力, 对患者血流动力学影响小、安全性高, 是临床治疗的首选.

■同行评价
本研究选题尚可, 治疗方法具体, 有一定的临床参考价值.

管紧张素醛固酮系统活性以及抑制抗利尿激素分泌, 改善肾脏血流灌注和肾小球滤过率[11]. 应用血管收缩药不仅能够改善患者肾功能, 还可以延长患者的生存期, 改善预后效果, 因此发达国家将其广泛应用于肝移植之前的过渡治疗[12].

本研究在白蛋白输注的基础上使用奥曲肽联合前列地尔治疗肝硬化合并HRS. 其中前列地尔为前列腺E1的脂微球载体制剂, 具有高效、持续、安全性高等优点, 能够有效改善肝硬化合并HRS患者血浆中肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)和内毒素水平[13], 也能够保护肝细胞、抑制炎症反应及缓解平滑肌痉挛[14]. 本研究中单用前列地尔注射液治疗组患者肾功能均有不同程度改善, 表明其具有改善HRS患者肾功能的作用, 与相关文献报道相符.

奥曲肽为人工合成的生长抑素类似物, 能够通过抑制胰高血糖素释放预防患者餐后门静脉高压和肝血流量升高的发生[15]; 能够降低肝内血流阻力, 改善门脉压力; 还可直接作用于血管平滑肌, 诱导肠系膜血管收缩; 另外其对内皮素ET-1的血管收缩作用也有一定增强效果[16], 尤其适用于肝硬化门静脉高压患者. 本研究结果显示, 奥曲肽和前列地尔联合治疗组在改善患者肾功能上效果更优于单用前列地尔组, 表明奥曲肽能够进一步改善患者肾功能. 本研究中两组患者血流动力学水平均未发生明显改变, 表明两种药物安全性较高.

总之, 奥曲肽联合前列地尔能够有效改善肝硬化并HRS患者肾功能、降低门静脉的压力, 对患者血流动力学影响小、安全性高, 是临床治疗的首选. 但本研究优于入选样本基数较小且临床疗效也仅分析了治疗后2 wk内的近期疗效, 因此研究也具有一定局限性. 今后需要增加研究样本数量进行前瞻性研究, 以进一步探讨奥曲肽和前列地尔联合治疗肝硬化并HRS的远期疗效以及预后效果.

4 参考文献

1 董建平, 田国保, 谢雯, 张维燕, 张黔英, 曾争. 终末期肝病肾脏损坏的临床与病理关系. 世界华人消化杂志 2008; 16: 2184-2187
2 倪燕娜, 郭传勇. 肝肾综合征早期诊断和预后评估研究进展. 胃肠病学和肝病学杂志 2011; 20: 975-978
3 钟晓琴, 周飞. 血管活性物质与肝肾综合征发病机制的研究进展. 实用心脑肺血管病杂志 2013; 21: 3-5
4 中华医学会肝病学分会, 中华医学会感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南. 肝脏 2011; 16: 02-16
5 冯鑫, 闫杰. 2010年欧洲肝脏研究协会《肝硬化腹水、自发性细菌性腹膜炎、肝肾综合征临床实践指南》简介. 胃肠病学和肝病学杂志 2011; 20: 291-294
6 Wong F, Raina N, Richardson R. Molecular adsorbent recirculating system is ineffective in the management of type 1 hepatorenal syndrome in patients with cirrhosis with ascites who have failed vasoconstrictor treatment. *Gut* 2010; 59: 381-386 [PMID: 19710033 DOI: 10.1136/gut.2008.174615]
7 Saracyn M, Patera J, Kocik J, Brytan M, Zdanowski R, Lubas A, Kozłowski W, Wańkowicz Z. Strain of experimental animals and modulation of nitric oxide pathway: their influence on development of renal failure in an experimental model of hepatorenal syndrome. *Arch Med Sci* 2012; 8: 555-562 [PMID: 22852015 DOI: 10.5114/aoms.2012.29281]
8 傅强, 唐彤宇. 肝肾综合征的研究进展. 临床肝胆病杂志 2010; 26: 557-560
9 郭莲怡, 刘沛. 肝肾综合征肾血管收缩机制的研究进展. 世界华人消化杂志 2008; 16: 982-986
10 Nazar A, Pereira GH, Guevara M, Martín-Llahi M, Pepin MN, Marinelli M, Solá E, Baccaro ME, Terra C, Arroyo V, Ginès P. Predictors of response to therapy with terlipressin and albumin in patients with cirrhosis and type 1 hepatorenal syndrome. *Hepatology* 2010; 51: 219-226 [PMID: 19877168 DOI: 10.1002/hep.23283]
11 Ni J, McLoughlin RM, Brodovitch A, Moulin P, Brouckaert P, Casadei B, Feron O, Topley N, Balligand JL, Devuyst O. Nitric oxide synthase isoforms play distinct roles during acute peritonitis. *Nephrol Dial Transplant* 2010; 25: 86-96 [PMID: 19706695 DOI: 10.1093/ndt/gfp415]
12 Gluud LL, Christensen K, Christensen E, Krag A. Systematic review of randomized trials on vasoconstrictor drugs for hepatorenal syndrome. *Hepatology* 2010; 51: 576-584 [PMID: 19885875 DOI: 10.1002/hep.23286]
13 肖倩, 张旸, 谭善忠. 温肾利水法联合前列地尔治疗肝硬化并发肝肾综合征29例. 临床肝胆病杂志 2012; 28: 189-191
14 Narahara Y, Kanazawa H, Sakamoto C, Maruyama H, Yokosuka O, Mochida S, Uemura M, Fukui H, Sumino Y, Matsuzaki Y, Masaki N, Kokubu S, Okita K. The efficacy and safety of terlipressin and albumin in patients with type 1 hepatorenal syndrome: a multicenter, open-label, explorative study. *J Gastroenterol* 2012; 47: 313-320 [PMID: 22038555 DOI: 10.1007/s00535-011-0485-8]
15 巩林强, 汪素文, 曹晔华, 王倩, 张化岭. 奥曲肽联合前列地尔治疗肝硬化并肝肾综合征的疗效观察. 中华医学会第十六次全国病毒性肝炎及肝病学术会议论文汇编, 2013: 383
16 余春四, 程家亮. 奥曲肽联合前列地尔治疗肝肾综合征38例疗效观察. 九江学院学报(自然科学版) 2013; 22: 82-83

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年5月18日; 22(14): 2039-2044
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

射波刀联合TACE治疗原发性肝癌108例

陈 樱, 朱 俊, 张火俊, 张晓青, 居小萍, 卢明智, 刘永明, 曹洋森, 于春山, 王晓艳

陈樱, 张火俊, 张晓青, 居小萍, 卢明智, 刘永明, 曹洋森, 于春山, 王晓艳, 中国人民解放军第二军医大学附属长海医院放疗科 上海市 200433
朱俊, 张火俊, 中国人民解放军第二军医大学附属长海医院放射科 上海市 200433
朱俊, 江苏省如皋市城西医院 江苏省南通市 226500
陈樱, 住院医师, 主要从事射波刀在体部恶性肿瘤治疗中的临床应用与基础研究.
国家自然科学基金资助项目, No. 81171435
上海高校青年教师培养资助计划基金资助项目, No. 沪教委人201187
上海长海医院“1255”学科建设计划基金资助项目, No. CH125520800
作者贡献分布: 陈樱参与射波刀治疗、资料收集及论文撰写; 朱俊参与介入治疗、临床资料随访和收集、及论文撰写; 张火俊进行课题指导、介入治疗、射波刀治疗及论文审校; 张晓青、居小萍及卢明智参与射波刀治疗计划及临床随访; 刘永明、曹洋森及于春山参与射波刀治疗物理计划制定及实施; 王晓艳参与资料收集及统计分析.
通讯作者: 张火俊, 副教授, 副主任医师, 200433, 上海市长海路168号, 中国人民解放军第二军医大学附属长海医院放疗科.
chyyzhj@163.com
收稿日期: 2013-09-18 修回日期: 2014-02-23
接受日期: 2014-02-28 在线出版日期: 2014-05-18

Short-term effects of cyberknife combined with TACE for treatment of primary liver cancer

Ying Chen, Jun Zhu, Huo-Jun Zhang, Xiao-Qing Zhang, Xiao-Ping Ju, Ming-Zhi Lu, Yong-Ming Liu, Yang-Sen Cao, Chun-Shan Yu, Xiao-Yan Wang

Ying Chen, Huo-Jun Zhang, Xiao-Qing Zhang, Xiao-Ping Ju, Ming-Zhi Lu, Yong-Ming Liu, Yang-Sen Cao, Chun-Shan Yu, Xiao-Yan Wang, Department of Radiation Oncology, Shanghai Changhai Hospital, the Second Military Medical University, Shanghai 200433, China
Jun Zhu, Huo-Jun Zhang, Department of Radiology, Shanghai Changhai Hospital, the Second Military Medical University, Shanghai 200433, China
Jun Zhu, Chengxi Hospital, Rugao City, Jiansu Province, Nantong 226500, China
Supported by: the National Natural Science Foundation of China, No. 81171435; the Training Project for Young Teachers in Shanghai Colleges and Universities, No. 201187; and the 1255 Academic Discipline Project of Shanghai Changhai Hospital, No. CH125520800
Correspondence to: Huo-Jun Zhang, Department of Radiology, Shanghai Changhai Hospital, the Second Military Medical University, Shanghai 200433, 168 Changhai Road, China. chyyzhj@163.com
Received: 2013-09-18 Revised: 2014-02-23
Accepted: 2014-02-28 Published online: 2014-05-18

Abstract

AIM: To evaluate the short-term clinical effects and adverse reactions of cyberknife combined with transarterial chemoembolization (TACE) for the treatment of primary liver cancer.

METHODS: The medical records for 108 patients with primary liver cancer who received cyberknife and TACE between January 2012 and May 2013 were retrospectively reviewed. Patient demographics, tumor characteristics, treatment details and post-treatment complications were recorded for each patient.

RESULTS: There were 96 males and 12 females. Intra-arterial chemoembolization and cyberknife (DT 35-60 Gy/3-6 fraction/3-7 d) were performed successfully, resulting in a substantial reduction or complete disappearance of tumors in nearly all patients, with a total effective rate (CR + PR + SD) of 100%. No major complications were encountered.

CONCLUSION: Cyberknife combined with TACE for the treatment of primary liver cancer is effective with mild adverse reactions.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Primary liver cancer; Cyberknife; TACE

Chen Y, Zhu J, Zhang HJ, Zhang XQ, Ju XP, Lu MZ, Liu YM, Cao YS, Yu CS, Wang XY. Short-term effects of cyberknife combined with TACE for treatment of primary liver cancer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(14): 2039-2044 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2039.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i14.2039

摘要

目的: 观察射波刀联合经肝动脉化疗栓塞术(transarterial chemoembolization, TACE)治疗原发性肝癌的近期临床疗效和不良反应.

方法: 回顾性分析2012-01/2013-05采用TACE及射波刀联合治疗的108例肝癌患者的临床资

■背景资料
我国是肝癌的高发区, 不适合手术治疗的中晚期患者或术后复发的患者需依靠综合治疗. 经导管肝动脉化疗栓塞术(transcatheter arterial chemoembolization, TACE)是肝癌综合治疗的重要手段之一并得到了广泛应用, 但TACE仍然存在治疗不彻底、容易复发等不足. 近年来, 临床研究的方向之一是将其他一些治疗方法与TACE相结合以提高肝癌综合治疗疗效.

■同行评议者
麻勇, 副研究员, 哈尔滨医科大学附属第一医院肝脏外科

■研发前沿
TACE联合放疗以提高疗效近年来得到逐步地重视, 但普通放疗疗程长、定位欠精确、对肝功能的可能影响较大. 射波刀是一种新型的立体定向放射外科治疗系统, 其独有的呼吸同步追踪功能与金标植入相结合可以对肿瘤和治疗区进行准确定位追踪, 有效地克服了其他放疗技术的不足. 由于射波刀应用于临床的时间尚不长, 其联合TACE治疗肝癌的优缺点值得临床深入研究.

料, 并对其疗效和不良反应进行分析.

结果: 纳入本组分析的108例患者中男性96例, 女性12例, 男女比例8∶1; 患者年龄32-85岁(平均年龄52.6岁). 所有患者在射波刀治疗前接受过1-11次TACE治疗(平均2.3次), 末次TACE与射波刀治疗间隔14-84 d(平均32 d); 射波刀治疗剂量: DT 35-60 Gy/3-6 Fraction 3-7 d; 随访时间3-19 mo(平均12.8 mo). 随访期内, 完全缓解(complete response, CR)20例、部分缓解(partial response, PR) 70例、病灶稳定(stable disease, SD) 18例, 治疗近期有效率(CR+PR)83.3%, 临床受益率(CR+PR+SD) 100%; 108例患者中65例射波刀治疗前血清AFP>400 μg/L的病例治疗后1-12 wk AFP值下降>50%者42例, 其中降至正常范围者28例, 治疗过程中及治疗后无3级以上不良反应.

结论: 射波刀联合TACE术治疗原发性肝癌近期疗效明确, 且不良反应较轻, 是肝癌综合治疗的安全、有效模式, 其长期疗效及副反应需要进一步研究.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 原发性肝癌; 射波刀; TACE

核心提示: 经导管肝动脉化疗栓塞术(transcatheter arterial chemoembolization, TACE)是治疗肝脏恶性肿瘤的常用手段之一, 但单纯采用TACE只能使很少一部分肝癌得到根治, 而多数情况下肿瘤很难完全坏死或治疗后一段时间后便出现复发, 射波刀可以利用软件和硬件的优势有效地提高部分肝癌患者的综合治疗效果.

陈樱, 朱俊, 张火俊, 张晓青, 居小萍, 卢明智, 刘永明, 曹洋森, 于春山, 王晓艳. 射波刀联合TACE治疗原发性肝癌108例. 世界华人消化杂志 2014; 22(14): 2039-2044 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2039.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i14.2039

0 引言

我国是原发性肝癌(primary liver cancer, PLC)的高发区, 全球约一半以上的肝癌患者在中国. 早期肝癌的治疗以手术为主, 中晚期患者或术后复发的患者则有赖于其他一些综合治疗. 经导管肝动脉化疗栓塞术(transcatheter arterial chemoembolization, TACE)是肝癌综合治疗的重要手段之一并得到了广泛应用, 但TACE仍然存在治疗不彻底、容易复发等不足[1,2]. 因此, 将其他一些治疗方法与TACE相结合以提高肝癌综合治疗疗效得到越来越多的重视. TACE联合放疗是临床探索的方向之一[3,4]. 近年来, 射波刀做为体部立体定向放疗的先进技术在临床得到逐步推广, 但其与TACE联合治疗肝癌的研究尚少有报道[5,6]. 本文回顾性分析了射波刀联合TACE治疗原发性肝癌的临床价值, 报告如下.

1 材料和方法

1.1 材料 选择2012-01/2013-05在长海医院放疗科(射波刀中心)行射波刀治疗的原发性肝癌患者108例. 入组对象: 符合以下条件者纳入本文回顾性分析: (1)经病理或临床诊断为原发性肝癌并且影像学表现为结节型或块型. 临床诊断标准为: AFP≥400 μg/L, 能排除妊娠、生殖系统胚胎源性肿瘤、活动性肝病、转移性肝癌, CT或MRI检查中一种有肝癌特征的占位性病变者; AFP<400 μg/L, 能排除妊娠、生殖系统胚胎源性肿瘤、活动性肝病及转移性肝癌, 并有两种影像学检查有肝癌特征的占位性病变; (2)在射波刀治疗前至少进行过1次TACE治疗, 包括因TACE效果欠理想或TACE后患者及家属要求行射波刀治疗者; (3)射波刀治疗后随访期不低于3 mo, 随访期内至少有一次可评估的影像学检查(CT或MR); (4)射波刀治疗后未再采取手术、射频等可能局部根治的治疗方案, 也未口服疗效明确的分子靶向药物如索拉非尼等. 完全缓解(complete response, CR)20例、部分缓解(partial response, PR)70例、病灶稳定(stable disease, SD).

1.2 方法

1.2.1 分析内容: 包括一般临床资料、TACE治疗具体方法、射波刀治疗具体参数、临床实验室检查、影像学检查、治疗后不良反应及并发症等.

1.2.2 评价标准: 参照WHO制定的实体瘤疗效评价标准. 射波刀治疗后1-6 mo, CT或MR复查, 肿瘤完全消失者为CR, 肿瘤最大直径乘积缩小>50%者为PR, 缩小<50%、增大<25%为SD, 较治疗前肿瘤增大>25%为进展(progressive disease, PD). 射波刀治疗前影像学富血供病灶部分采用2008年美国肝病研究会及国家癌症协会杂志(AASLD-JNCI)修订版RECIST(mRECIST)标准判断疗效. 安全性评价参照WHO制定的不良反应分级标准.

2 结果

2.1 患者一般情况 2012-01/2013-05在长海医院放疗科接受射波刀治疗的各类原发性肝癌患者

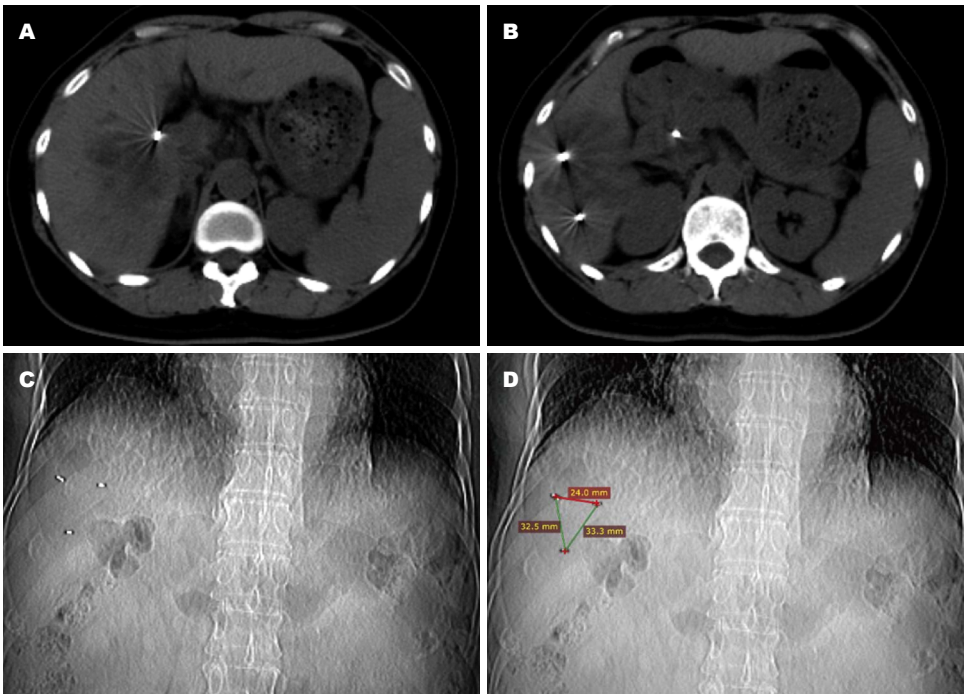


图 1 金标置放实例. A, B: 在肿瘤边缘2 cm内置放3枚金标; C, D: 相互之间距离不小于2 cm.

136例, 符合本研究纳入条件进行回顾性分析的患者108例. 其中男性96例、女性12例, 男女比例为8∶1; 年龄32-85岁, 平均52.6岁; 射波刀治疗前接受TACE治疗1-11次(平均2.3次); 接受射波刀治疗时肝功能Child分级A级100例, B级8例; 影像学分型均为结节型或肿块型, 可评估病灶数量1-3个; 所有患者在接受放疗时KPS评分均不低于70分.

2.2 治疗方法及参数

2.2.1 TACE术: 腹股沟穿刺点区消毒、局部麻醉后采用Seldinger技术经皮穿刺股动脉插管至腹腔动脉, 行腹腔干造影, 了解血管解剖和肿瘤供血等情况后超选至肿瘤供血动脉(其中29例患者采用3 F微导管进行荷瘤动脉超选择性插管)行灌注化疗和栓塞术. 化疗药物(2-3种联合用药): 吡柔比星20-40 mg, 5-氟尿嘧啶500-1500 mg, 羟基喜树碱10-30 mg, 奥沙利铂50-150 mg. 栓塞剂为超液化碘油5-14 mL(部分肿块型病例加用适量明胶海绵补充栓塞). 相邻两次TACE间隔时间为6-9 wk. 末次TACE与射波刀治疗间隔14-84 d, 平均32 d.

2.2.2 射波刀治疗: 108例患者中有76例在治疗前7-14 d于CT引导下在肝肿瘤附近3 cm范围内植入1-4枚金标(平均2.2枚)(图1), 治疗前CT平扫及增强定位, 层距1.5 mm, 使用G4型射波刀, TPS 4.0.2版本设计治疗计划, 治疗剂量: 35-60 Gy/3-6 Fx/3-7 d(其中96例采用5次分割), 处方剂量线范围为68.1%-82.3%. 植入金标的患者采用呼吸同步及金标追踪技术, 其余32例患者中12例采用脊柱追踪技术, 20例膈下病灶者采用XSIGHT-LUNG追踪方法.

2.2.3 临床其他治疗: 射波刀治疗期间针对不同患者予止吐、保肝、抑酸及胃黏膜保护剂等处理.

2.3 疗效及不良反应

2.3.1 疗效观察: 射波刀治疗前65例患者血清AFP>400 μg/L, 治疗后1-12 wk AFP值下降>50%者42例, 其中降至正常范围者28例, AFP值下降20%-50%者21例. 治疗后1-6 mo复查动态增强CT或MR, 按照疗效评价标准标准, 全组108例患者CR 20例, 其中包括经1-2次TACE治疗后因相对乏血供而介入效果欠佳的小肝癌5例(图2); PR 70例; SD 18例, 治疗CR+PR 83.3%, 临床受益率(CR+PR+SD)100%.

2.3.2 不良反应: 治疗期间54例(50%)患者出现一过性乏力, 63例(58.3%)出现1-2级胃肠道反应(恶心、呕吐、纳差、腹泻等), 经对症及支持治疗后症状在1-2 wk内明显缓解或消失; 39例患者出现Ⅰ-Ⅱ度骨髓抑制, 经口服或皮下应用升白药后恢复正常. 除5例患者因上述不良反应强烈要求暂停1-2 d治疗外其余病例均未影响正常治疗. 射波刀治疗后除11例患者肝功能一过性升高(8例转氨酶升高、3例总胆红素升高)外其余患

■相关报道

鉴于TACE治疗肝癌很难达到彻底控制肿瘤的效果, 很多学者近年来在积极尝试其他方法联合TACE以进一步提高肝癌综合治疗疗效, 比如TACE联合射频治疗、冷冻治疗、电化学治疗、无水乙醇消融等等, 取得了较好的临床效果. 放疗作为可能的手段之一与TACE联合治疗肝癌也得到了初步的研究, 调强放疗能提高肝癌的综合治疗疗效已得到初步肯定, 但近年来出现的以影像引导下精确放疗为代表的先进放疗技术如射波刀等在肝癌综合治疗过程中的作用尚未得到应有的充分研究.

■创新盘点

本回顾性研究基于较多病例数(108例)的随访发现射波刀做为一种先进的立体定向放疗技术联合TACE可以提高原发性肝癌的疗效, 部分患者中短期可以达CR的治疗效果, 而不良反应较轻, 说明射波刀联合TACE是治疗肝癌的有效手段, 但相关研究较少, 其长期疗效及联合治疗后可能产生的远期并发症尚需要进一步的研究.

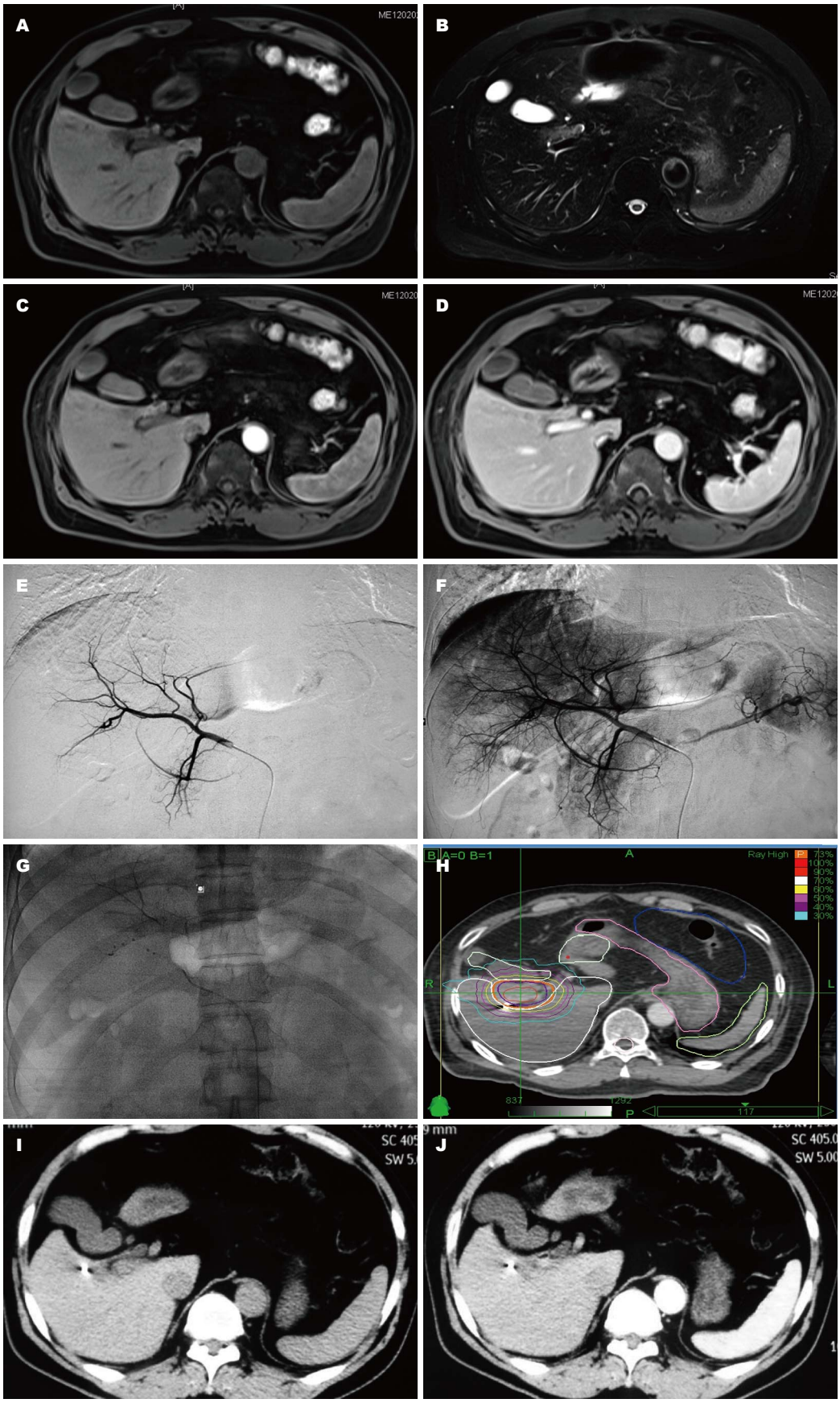


图 2 典型病例. 男, 62岁, 体检发现肝占位, AFP 980 μg/L. MR T1WI示肝右叶门脉右支前方近胆囊处肝实质异常信号影, 大小约7 mm×21 mm. A: T1WI为低信号; B: T2WI为高信号; C: 增强后动脉期明显强化; D: 门脉期强化退出; E: 行TACE治疗时造影示动脉早期肿瘤染色不明显; F: 动脉晚期隐约可见; G: 碘油沉积欠理想; H: 1 mo后因AFP下降不明显(730 ng/mL), 家属要求行射波刀治疗. 植入金标后射波刀计划: 9 Gy×5 Fx, 以73%等剂量线计算; I: 治疗后AFP进行性下降. 1年后AFP 3.6 ng/mL, CT平扫示原肿瘤消失, 局部肝组织明显萎缩; J: 增强后未见异常强化.

者肝功能治疗前后无显著变化, 无上消化道穿孔、出血或肝功能衰竭等严重并发症发生.

3 讨论

原发性肝癌在我国是常见恶性肿瘤之一, 自1976年Goldstein首先报道TACE治疗肝脏恶性肿瘤后逐步成为治疗肝癌的常用手段之一, 对部分中晚期患者及术后复发的患者采用TACE治疗已得到广泛的认可[7]. 但是, 单纯采用TACE只能使很少一部分肝癌得到根治, 而多数情况下肿瘤很难完全坏死或治疗后一段时间后便出现复发, 主要原因有: (1)肝癌供血动脉经TACE治疗后部分病灶易形成侧枝循环从而导致局部控制失败; (2)部分病灶栓塞剂(比如碘化油)用量不足, 经血流冲刷后肿瘤血管栓塞不彻底从而致局部活性残留或复发, 这种现象在肿瘤周边更常见; (3)部分病灶为相对乏血供, 即使采用微导管超选后加压栓塞的技术亦很难使碘化油在肿瘤内得到很好的聚集; (4)TACE治疗后会刺激EGFR的分泌从而导致肿瘤新生血管的形成[8].

鉴于TACE治疗的局限性, 越来越多的学者近年来在积极探讨其他方法联合TACE以提高肝癌综合治疗效果, 比如TACE联合射频治疗、冷冻治疗、电化学治疗、放疗(包括外照射及内照射)、无水乙醇消融等等, 取得了较好的临床效果[9,10].

射波刀, 又称“立体定位射波手术平台”, 曾被称为“网络刀”或“电脑刀”, 是一种新型的立体定向放射外科治疗系统, 由美国斯坦福大学John Alder教授发明, 属于影像引导下精确放射治疗, 于2001年获得FDA认证后逐步在世界各大医疗中心或医院得到推广应用. 射波刀是目前为止世界上唯一一套整合机器人技术和影像引导自动摆位的治疗系统, 他在影像引导系统的实时监控下, 将质量仅150 kg、能发出6 MV X线的微型医用直线加速器与具有六个自由度关节的机械手臂相结合, 根据立体定向原理, 使用大剂量、低分割(通常为1-5次)、窄束高能X射线准确聚焦照射靶区, 使之产生强烈局部放射生物学反应, 达到肿瘤消融的目的. 射波刀产生的X线能以12种不同直径(5-60 mm)、从100个节点、1200个方向中选择最合适的100-250个方向的射束聚焦照射肿瘤. 由于射束精准、分散, 高剂量的分布按肿瘤轮廓高度适形和高度均匀地涵盖治疗靶区, 并且靶区附近的射线剂量急速下降, 可以起到最大程度消灭肿瘤和最大限度保护周围正常组织(或危及器官)的作用, 具有很高的治疗增益比. 具有“三无”(无创、无痛、无血)、”三非”(非等中心、非共面、非聚焦)、”三精”(精确定位、精确引导、精确治疗)的特点, 安全、有效, 患者容易接受. 自射波刀应用临床后, 其优异的性能在很多实质性器官恶性肿瘤的治疗中得到了验证[11].

由于肝脏肿瘤随呼吸运动移位明显, 普通的放疗很难进行精确的定位和出束治疗, 而射波刀独有的呼吸同步追踪功能与金标植入相结合可以对肿瘤和治疗区进行准确定位追踪, 治疗过程中可以按照设定的频率自动对靶区移位作修正, 总体临床治疗精度可达0.95 mm[12]. 为了定位精确, 最好在肝脏肿瘤周围植入金标不少于3枚并且相互之间的距离不少于2 cm.

目前, 射波刀在原发性肝癌及转移性肝癌的治疗已得到认可, 但射波刀联合TACE治疗肝癌的成果尚少有报道[5]. 本研究表面, 射波刀和TACE联合能够起到优势互补的作用从而提升肝癌的综合治疗效能. 可能的主要原因是: (1)TACE治疗通过栓塞化疗可使肿瘤缩小、负荷下降, 缩小放疗范围; (2)TACE后由于碘油的沉积使得肿瘤靶区的边缘更加清晰, 靶区勾画更加精确. 对于发生肝内播散的肝癌患者, 由于播散病灶小, 在放射治疗时模拟CT机扫描很难发现, TACE后由于碘油沉积可避免在勾画靶区时遗漏这些病灶, 从而提高治疗效果, 当然对多个(3个以上)病灶进行射波刀治疗的临床经验尚很有限, 需要进一步探讨, 本组病例肝内病灶均在3个以内; (3)TACE治疗时通常将化疗药物与碘油混合振荡形成悬液后注入肿瘤供血动脉, 化疗药物能较长时间滞留于肿瘤中, 这一方面能持续发挥化疗药物的抗肿瘤作用, 同时介入治疗时常用的化疗药物如氟尿嘧啶类化疗药等能对放射治疗起增敏作用; 而化疗也可以使肿瘤细胞周期同步化, 有利于射线对肿瘤的杀灭[13]; (4)由于正常肝组织放疗耐受性差, 过量射线照射后易导致肝功能损害甚至肝纤维化, 常规外照射很难给予肝癌根治剂量, 仅能起到抑制肿瘤作用, 疗效不明显, 而射波刀由于具有在线校位、实时跟踪的特点, 对周围肝组织的影响小, 可以在充分保护肿瘤周围正常肝组织的前提下增加肿瘤的照射剂量, 提高治疗效果, 本组病例肿瘤照射的生物有效剂量BED除个别患者外均在80 Gy以上; (5)射波刀可以破坏肿瘤血管, 或可以降低

■应用要点

本文的研究结果对肝癌综合治疗提供了一个新的选择, 对一些TACE术后活性残留或乏血供肝癌患者可以有效提高治疗效果, 但射波刀设备昂贵、治疗费用亦较高, 在一定程度会影响其临床推广. 在实际治疗过程中, 适应症的掌握、治疗参数的优化、严重并发症的预防是需要高度注意的内容.

■同行评价
本文对肝癌综合治疗有一定临床指导意义.

TACE后门静脉供血及代偿性供血的几率从而降低TACE后复发概率; (6)虽然原发性肝癌尤其是肝细胞肝癌多为富血供肿瘤但仍有一部分病例相对乏血供而使介入治疗时碘油充盈不良影响疗效, 射波刀在这部分的病例应用可以明显提高肿瘤局部控制率[14-16], 本组有5例BCLC-I期的相对乏血供肝癌1-2次TACE后发现碘油沉积不理想及时联合射波刀取得了良好的效果; (7)肝癌的综合治疗有利于提高效果, 射波刀由于单次剂量大、治疗时间短(本组最长治疗时间为7 d, 绝大多数在5 d内), 一般不会在时间上影响其他治疗手段的应用; (8)射波刀治疗肝癌每次治疗时间在30-90 min之间, 治疗中采用真空垫等无创伤体位固定装置, 患者无特殊不适, 治疗依从性高, 不会对患者心理产生过大压力; (9)短期内反复多次进行TACE治疗无疑会对肝功能造成较大影响, 对一些多次TACE治疗后效果欠佳的结节性肝癌患者及时联合射波刀治疗可以避免不必要的肝功能损伤. 为了有利于肝功能恢复. 当然, TACE治疗后需要一段时间待肝功能恢复后再行射波刀治疗, 本组患者多在末次TACE结束后4 wk左右进行射波刀治疗.

本回顾性研究发现, 射波刀做为一种先进的立体定向放疗技术联合TACE可以提高原发性肝癌的疗效, 部分患者中短期可以达CR的治疗效果, 而不良反应较轻, 说明射波刀联合TACE是治疗肝癌的有效手段, 但其长期疗效及联合治疗后可能产生的远期并发症尚需要进一步研究.

4 参考文献

1 常宗宏, 汪泳, 吴汉平. 肝癌的综合治疗及肿瘤抗血管联合疗法. 世界华人消化杂志 2012; 20: 385-388
2 李臻, 张文广, 韩新巍. 原发性肝细胞癌介入治疗的现状与进展. 世界华人消化杂志 2011; 19: 221-226
3 Zhao JD, Liu J, Ren ZG, Gu K, Zhou ZH, Li WT, Chen Z, Xu ZY, Liu LM, Jiang GL. Maintenance of Sorafenib following combined therapy of three-dimensional conformal radiation therapy/intensity-modulated radiation therapy and transcatheter arterial chemoembolization in patients with locally advanced hepatocellular carcinoma: a phase I/II study. *Radiat Oncol* 2010; 5: 12 [PMID: 20149262 DOI: 10.1186/1748-717X-5-12]
4 Kong M, Hong SE, Choi WS, Choi J, Kim Y. Treatment outcomes of helical intensity-modulated radiotherapy for unresectable hepatocellular carcinoma. *Gut Liver* 2013; 7: 343-351 [PMID: 23710317 DOI: 10.5009/gnl.2013.7.3.343]
5 Dewas S, Bibault JE, Mirabel X, Fumagalli I, Kramar A, Jarraya H, Lacornerie T, Dewas-Vautravers C, Lartigau E. Prognostic factors affecting local control of hepatic tumors treated by Stereotactic Body Radiation Therapy. *Radiat Oncol* 2012; 7: 166 [PMID: 23050794 DOI: 10.1186/1748-717X-7-166]
6 Shen ZT, Wu XH, Li B, Wang L, Zhu XX. Preliminary efficacy of CyberKnife radiosurgery for locally advanced pancreatic cancer. *Chin J Cancer* 2010; 29: 802-809 [PMID: 20800022 DOI: 10.5732/cjc.010.10112]
7 Si Y, Hu X, Du H, Lou W, Zhang H, Cao F, Yu W, Wang W, Jin K. Transarterial chemoembolization for patients with unresectable hepatocellular carcinoma: a retrospective study of a 5-year experience in a single institution. *Hepatogastroenterology* 2013; 60: 1405-1408 [PMID: 23933931]
8 王滨, 徐辉, 曹贵文, 孙业全, 于德新, 宁厚法. 肝动脉化疗栓塞对肝癌肿瘤新生血管生成及血管内皮细胞生长因子表达的影响. 中华放射学杂志 2005; 39: 204-206
9 Liao M, Huang J, Zhang T, Wu H. Transarterial chemoembolization in combination with local therapies for hepatocellular carcinoma: a meta-analysis. *PLoS One* 2013; 8: e68453 [PMID: 23844203 DOI: 10.1371/journal.pone.0068453]
10 Ni JY, Liu SS, Xu LF, Sun HL, Chen YT. Meta-analysis of radiofrequency ablation in combination with transarterial chemoembolization for hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 3872-3882 [PMID: 23840128 DOI: 10.3748/wjg.v19.i24.3872]
11 Ding C, Solberg TD, Hrycushko B, Xing L, Heinzerling J, Timmerman RD. Optimization of normalized prescription isodose selection for stereotactic body radiation therapy: conventional vs robotic linac. *Med Phys* 2013; 40: 051705 [PMID: 23635253 DOI: 10.1118/1.4798944]
12 Ozhasoglu C, Saw CB, Chen H, Burton S, Komanduri K, Yue NJ, Huq SM, Heron DE. Synchrony--cyberknife respiratory compensation technology. *Med Dosim* 2008; 33: 117-123 [PMID: 18456163 DOI: 10.1016/j.meddos.2008.02.004]
13 Seong J, Kim SH, Suh CO. Enhancement of tumor radioresponse by combined chemotherapy in murine hepatocarcinoma. *J Gastroenterol Hepatol* 2001; 16: 883-889 [PMID: 11555102 DOI: 10.1046/j.1440-1746.2001.02533.x]
14 冷祝强, 梁赵玉, 石栅, 胡自省. 肝癌介入治疗放射治疗及综合治疗的疗效分析. 中华放射肿瘤学杂志 2000; 9: 99-101
15 赵景胜, 陈群, 向志碧, 涂向阳. 肝动脉栓塞化疗联合三维适形放疗治疗原发性肝癌的临床分析. 肿瘤基础与临床 2010; 23: 487-489
16 Zhou ZH, Liu LM, Chen WW, Men ZQ, Lin JH, Chen Z, Zhang XJ, Jiang GL. Combined therapy of transcatheter arterial chemoembolisation and three-dimensional conformal radiotherapy for hepatocellular carcinoma. *Br J Radiol* 2007; 80: 194-201 [PMID: 17038412 DOI: 10.1259/bjr/33521596]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年5月18日; 22(14): 2045-2048
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

妊娠合并急性胰腺炎的临床特点

喻 研, 但自力

喻研, 但自力, 华中科技大学同济医学院附属同济医院消化内科 湖北省武汉市 430030
喻研, 主治医师, 主要从事消化系统疾病的临床研究.
作者贡献分布: 但自力设计课题、提供病例及修改论文; 喻研调整课题、收集数据、统计分析及撰写论文.
通讯作者: 但自力, 主任医师, 430030, 湖北省武汉市解放大道1095号, 华中科技大学同济医学院附属同济医院消化内科.
dzlzg7061@qq.com
电话: 027-83663333
收稿日期: 2014-02-12 修回日期: 2014-03-25
接受日期: 2014-04-03 在线出版日期: 2014-05-18

Clinical characteristics of acute pancreatitis in pregnancy

Yan Yu, Zi-Li Dan

Yan Yu, Zi-Li Dan, Department of Gastroenterology, Tongji Hospital Affiliated to Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China
Correspondence to: Zi-Li Dan, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Tongji Hospital Affiliated to Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, 1095 Jiefang Road, Wuhan 430030, Hubei Province, China. dzlzg7061@qq.com
Received: 2014-02-12 Revised: 2014-03-25
Accepted: 2014-04-03 Published online: 2014-05-18

Abstract

AIM: To summarize the clinical characteristics of acute pancreatitis in pregnancy (APIP).

METHODS: Clinical data for 31 cases of APIP (group A) and 36 cases of acute pancreatitis (AP) in non-pregnant females (group B) in the same period were retrospectively analyzed to compare the etiology, clinical characteristics and treatment measures.

RESULTS: The great majority of APIP occured in the late trimester of pregnancy. The main etiologies in patients of groups A and B included hyperlipidemia (45.2% *vs* 22.2%, $P < 0.05$), biliary system diseases (22.6% *vs* 47.2%, $P < 0.05$) and binge overeating (19.4% i 2.7%, $P < 0.05$). The percentage of severe cases in group A was significantly higher than that in group B (45.2% *vs* 19.4%, $P < 0.05$). The incidences of shock, renal insufficiency, multiple organ failure, pancreatic pseudocyst, acute respiratory failure and pancreatic abscess in group A were significantly higher than those in group B (25.8% *vs* 8.3%, 22.6% *vs* 5.6%, 16.1% *vs* 2.8%, 16.1% *vs* 2.8%, 16.1% *vs* 2.8%, 9.7% *vs* 2.8%, $P < 0.05$ for all). The incidences of hypertriglyceridemia, hypocalcemia, anemia, and hyperglycemia in group A were also significantly higher than those in group B (45.2% *vs* 22.2%, 67.7% *vs* 36.1%, 64.5% *vs* 9.7%, 32.3% *vs* 11.1%, $P < 0.05$ for all). Somatostatin was given to 14 severe cases of APIP, of which 4 and 2 accepted continuous veno-venous hemofiltration (CVVH) because of hypertriglyceridemia and renal insufficiency, respectively. Babies of these pregnant women showed no obvious abnormality. In group A, 2 cases suffered from threatened abortion and gave up the babies, 12 cases underwent uterine-incision delivery, 6 cases had spontaneous delivery, and 1 case underwent cholecystectomy. After the delivery, the patients' conditions were improved. All babies and mothers were alive. In group B, 4 cases were operated because of gallstone pancreatitis and 2 cases died.

CONCLUSION: The great majority of APIP occurs in the late trimester of pregnancy. The major causes of APIP are hyperlipidemia and biliary system diseases. Severe cases are more common in APIP patients. Choosing the suitable time to use somatostatin and CVVH or to end the pregnancy can improve the prognosis of both infants and pregnant women in severe cases of APIP.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Acute pancreatitis; Pregnancy; Etiology; Treatment

Yu Y, Dan ZL. Clinical characteristics of acute pancreatitis in pregnancy. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(14): 2045-2048
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2045.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i14.2045

摘要

目的: 研究妊娠合并急性胰腺炎(acute pan-

■背景资料
妊娠合并急性胰腺炎(acute pancreatitis in pregnancy, APIP)是一种严重的妊娠并发症, 如果诊治不及时, 孕产妇及围产儿病死率高, 严重威胁母婴健康.

■同行评议者
郭晓钟, 教授, 沈阳军区总医院消化内科

■研发前沿
近年来的研究表明妊娠期女性生理机能的变化对胰腺炎的发生有促进作用, 同时胎儿的存在又给治疗增加了困难, 分析APIP的临床特点、治疗效果及预后对指导治疗有重要的意义.

creatitis in pregnancy, APIP)的临床特点以指导治疗.

方法: 收集我院同期31例APIP(A组)和36例未孕女性急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)(B组)的病例资料, 对比分析二者的病因、临床特征及治疗特点.

结果: 大多数APIP发生在妊娠晚期. A、B两组患者的病因分别为: 高脂血症(45.2% *vs* 22.2%)、胆系疾病(22.6% *vs* 47.2%)、暴饮暴食(19.4% *vs* 2.7%)(P<0.05). A组中重型胰腺炎的比例显著高于B组(45.2% *vs* 19.4%, P<0.05). A组中休克、肾功能不全、多器官功能衰竭、胰腺假性囊肿、急性呼吸衰竭和胰腺脓肿的发生率显著高于B组(25.8% *vs* 8.3%、22.6% *vs* 5.6%、16.1% *vs* 2.8%、16.1% *vs* 2.8%、16.1% *vs* 2.8%和9.7% *vs* 2.8%, P<0.05). A组高甘油三酯血症、低钙血症、贫血、高血糖的发生率显著高于B组(45.2% *vs* 22.2%、67.7% *vs* 36.1%、64.5% *vs* 9.7%、32.3% *vs* 11.1%, P<0.05). A组中14例重型AP患者使用生长抑素, 其中4例因高脂血症、2例因肾功能不全行连续性静脉-静脉血液滤过(continuous veno-venous hemofiltration, CVVH)治疗. 这些产妇所生的胎儿未见明显异常. A组中2例先兆流产后行人工流产, 12例行剖宫产, 6例顺产, 1例行胆囊切除术. 终止妊娠后患者的胰腺炎病情好转. A组孕妇和所有出生胎儿均存活. B组4例胆源性胰腺炎行手术. B组死亡2例, 余病例预后良好.

结论: APIP主要发生在妊娠晚期, 主要病因为高脂血症和胆系疾病, 其中重症型APIP比例显著高于非妊娠AP组. 对于重症APIP适时使用生长抑素、血液净化治疗及终止妊娠有利于改善母婴预后.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 急性胰腺炎; 妊娠; 病因; 治疗

核心提示: 妊娠合并急性胰腺炎主要发生在妊娠晚期, 主要病因为高脂血症和胆系疾病, 易重症化, 对于重症患者可以使用生长抑素和血液净化治疗, 适时终止妊娠有利于改善母婴预后.

■相关报道
最新的文献表明血液净化治疗能迅速有效地降低APIP患者的血甘油三酯水平, 减少相关致死性并发症的风险.

喻研, 但自力. 妊娠合并急性胰腺炎的临床特点. 世界华人消化杂志 2014; 22(14): 2045-2048 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2045.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i14.2045

0 引言

妊娠合并急性胰腺炎(acute pancreatitis in pregnancy, APIP)是一种严重的妊娠并发症, 如果诊治不及时, 孕产妇及围产儿病死率高, 严重威胁母婴健康. 妊娠使女性的生理机能发生很大变化的同时胎儿的存在又给治疗增加了困难, APIP的临床特点和治疗策略与非妊娠急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)相比有所不同, 目前相关报道较少. 本文旨在通过对比分析二者的临床特点为APIP的治疗提供理论依据.

1 材料和方法

1.1 材料 研究组(A组)为2005-01/2011-01武汉同济医院收治的31例APIP患者, 年龄20-40岁, 平均27.87岁±4.75岁. 发病时孕期小于12 wk 1例, 12-27 wk 3例, 28 wk以上24例, 产褥期3例. 对照组(B组)为36例同期住院的同年龄组非妊娠女性AP患者, 平均30.75岁±5.17岁. 所有患者均无心、肺、肝、肾及内分泌疾病史, A组无其他妊娠并发症. 两组患者的年龄无统计学意义(P>0.05).

1.2 方法 APIP诊断标准参照2013-04制定的中国急性胰腺炎诊治指南的标准[1]. 分析两组病例的病因种类, 轻、重症的构成比及并发症的发生率, 血液生化指标(如血常规、血糖、血脂、血清钙离子浓度), 药物、血液净化治疗和产科处理的效果和母婴预后的特点.

统计学处理 用SPSS13.0统计学软件进行分析, 采用χ^2检验和t检验, P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 病因 A组病因分别为: 高脂血症14例(45.2%), 胆系疾病7例(22.6%)(胆石症5例、胆囊蛔虫1例、胆囊炎1例)、暴饮暴食6例(19.4%), 不明诱因4例(12.9%). B组病因分别为: 胆系疾病17例(47.2%)(胆石症13例、胆囊炎4例), 高脂血症8例(22.2%), 饮酒5例(13.9%), 暴饮暴食1例(2.7%), 不明诱因5例(13.9%). 高脂血症、胆系疾病、暴饮暴食在两组中的构成比不同, 差异具有显著统计学意义(P<0.05).

2.2 临床特点 A组重型AP 14例, 轻型17例; B组重型AP 7例, 轻型29例, 两组比较P<0.05. A组并发症有: 休克25.8%(8/31)、肾功能不全22.6%(7/31)、多器官功能衰竭16.1%(5/31)、胰腺假性囊肿

表 1 两组异常指标的比较 (mean ± SD)

指标	A组	B组
血红蛋白(g/L)	99.5 ± 5.3	104 ± 5.5
血钙(mmol/L)	1.94 ± 0.16	1.94 ± 0.12
血糖(mmol/L)	14.5 ± 3.9	8.9 ± 2.4[a]
甘油三酯(mmol/L)	14.3 ± 4.5	10.7 ± 2.4[a]

[a]P<0.05 *vs* A组. A组: 研究组; B组: 对照组.

16.1%(5/31)、急性呼吸衰竭16.1%(5/31)和胰腺脓肿9.7%(3/31). B组并发症有: 休克8.3%(3/36)、肾功能不全5.6%(2/36)、多器官功能衰竭2.8%(1/36)、胰腺假性囊肿2.8%(1/36)、急性呼吸衰竭2.8%(1/36)和胰腺脓肿2.8%(1/36). 各并发症的发生率在两组间比较P<0.05.

2.3 实验室检查 A组高甘油三酯血症14例(45.2%)、低钙血症21例(67.7%)、贫血20例(64.5%)、高血糖10例(32.3%). B组高甘油三酯血症8例(22.2%)、低钙血症13例(36.1%)、贫血3例(9.7%)、高血糖4例(11.1%). 上述指标异常的发生率和异常绝对值在两组间的差异有显著统计学意义(P<0.05)(表1).

2.4 治疗方法和预后 B组常规给予禁食、胃肠减压、生长抑素、制酸剂、补液和对症支持治疗, 感染者给予抗菌药物治疗. A组给予抗生素(有感染征象者)和制酸剂, 14例重型AP患者加用生长抑素(施他宁), 其中4例因高脂血症、2例因肾功能不全行连续性静脉-静脉血液滤过治疗, 3例使用BiPAP呼吸机辅助通气. 此外, A组中2例患者先兆流产, 遂放弃胎儿后行内镜下逆行胰胆管造影术加胆管取石术, 病情稳定后行人工流产, 其中1例因合并胆囊炎随后择期行胆囊切除术; 18例孕晚期APIP患者适时终止妊娠(12例行剖宫产、6例顺产)后AP的病情明显减轻; 8例在AP好转后继续妊娠至足月再分娩. A组孕妇均存活, 出生胎儿均存活(Apgar评分8-10分), 其中使用过生长抑素和血液净化治疗的孕妇所产婴儿随访3-6 mo未发现其存在明显的发育畸形或生长异常. B组4例胆源性胰腺炎行手术. B组死亡2例(1例合并冠心病、1例并发多器官功能衰竭), 余病例预后良好.

3 讨论

本研究中APIP的主要病因为高脂血症, 其次为胆系疾病. APIP多发生在妊娠晚期, 其中重型APIP比例显著高于非妊娠AP组, 对于重型APIP使用生长抑素和血液净化治疗效果好, 且未发现其对胎儿存在不良影响. 适时终止妊娠有利于改善母婴预后.

本组资料表明APIP的首要病因是高脂血症(45.2%), 其次为胆系疾病(22.6%), 与Li等[2]报道一致, 而非妊娠组主要病因为胆系疾病. 由于妊娠期受激素的影响, 加上大量高脂、高糖饮食, 引起血脂及血液黏稠度升高, 微循环障碍, 从而导致高脂血症性胰腺炎的发生率有增加趋势[3,4]. 胆系疾病是普通AP的最常见的病因. 孕期雌激素水平增高使胆汁中胆固醇的浓度增高, 孕激素水平增高使胆囊排空时间延长, 进而促进胆固醇沉淀形成结石. 因此, 胆系疾病是APIP的第2大病因[5].

APIP多发生于妊娠晚期(71.4%, 10/14), 其中重型AP的比例较非妊娠组AP显著增高, 其休克、肾功能不全、多器官功能衰竭、胰腺假性囊肿和胰腺脓肿等并发症均较非妊娠组AP增多, 与文献[6-8]报道一致. 这可能与妊娠促进AP的病理生理过程有关: (1)妊娠期胎盘激素对平滑肌的抑制作用致使肠道平滑肌处于低动力状态, 致使肠道菌群移位和肠源性内毒素的吸收, 加重多器官功能障碍综合征; (2)妊娠期各器官负荷增加, 对损伤的耐受能力降低. 妊娠晚期腹腔压力增加, 导致肺容积缩小, 肾脏灌注减少, 更易并发呼吸衰竭和肾功能不全; (3)孕妇存在不同程度的贫血, 增大的子宫压迫胰腺, 加重了胰腺的缺血、缺氧, 促进了AP的发生和发展; (4)胎盘催乳素有明显的促脂肪分解作用, 甘油三酯分解释放大量游离脂肪酸, 引起胰腺小动脉的脂肪栓塞, 加重了胰腺的缺血坏死, 故胰腺假性囊肿的发生率增加[9].

出于对胎儿安全性的考虑, APIP患者的治疗有特殊性. 生长抑素能抑制促胰酶的分泌, 是治疗AP的重要药物. 对于普通AP常规使用生长抑素治疗. 天然生长抑素(施他宁)主要作用于胃肠道受体, 与中枢神经系统受体亲和力差, 而生长抑素衍生物(奥曲肽)主要作用于中枢神经系统受体. 考虑到二者均可通过胎盘屏障, 前者对中枢神经系统影响小, 而后者可能对胎儿有潜在的不良影响, 我们仅对14例重型APIP给予施他宁治疗, 结果显示其不仅起到了良好的治疗作用, 而且未发现其对新生儿有不良作用, 与国外报道一致[10,11]. 对于高脂血症性APIP可采用CVVH治疗迅速降低血脂水平, 减少相关致死性并发症的风险[12]. 本组4例高脂血症性APIP患者行CVVH后血脂水平迅速显著降低, 病情好转. 2

■创新盘点

本文将APIP和女性非妊娠期胰腺炎作对比分析, 发现前者的主要病因为高脂血症和胆系疾病, 相对于后者易重症化. 对于重症APIP可以使用生长抑素和血液净化治疗, 适时终止妊娠有利于改善母婴预后.

■名词解释

Apgar评分是临床评价新生儿出生时窒息程度的经典而简易的方法. 分别于胎儿出生后1、5和10 mim进行常规评分. 1 min评分反映窒息严重程度, 5、10 min评分除反映窒息严重程度外, 还可反映抢救效果及帮助判断预后. 连续静脉-静脉血液滤过(continuous veno-venous hemofiltration, CVVH)是在连续动脉-静脉血液滤过原理的基础上借助单针双腔管建立单静脉通道, 外加血泵驱动血液维持一定的血流量, 建立起来的一种持续性血液滤过疗法. 清除患者体内过多的水分和溶质, 减少血管通路的并发症.

■应用要点
对于重症APIP患者可以使用生长抑素和血液净化治疗，适时终止妊娠有利于改善母婴预后.

例并发肾功能不全APIP患者经血液净化治疗后多器官功能不全的情况有明显好转. CVVH有稳定内环境的作用, 能在早期清除过多的细胞因子和炎症介质, 显著减少肠道细菌易位和内毒素血症, 可能有利于减轻全身炎症反应, 改善心、肺、肾等器官功能[13]. 因此, 我们认为对重症APIP患者适时使用天然生长抑素和血液净化治疗能改善患者的预后.

AP产生的细胞因子和炎症介质可能影响胎儿的生长发育, 严重者出现休克、DIC和多器官功能衰竭可能导致胎儿宫内窘迫, 甚至宫内死亡[14]. 终止妊娠有利于AP病情的缓解, 孕妇分娩后血甘油三酯明显下降[15]. 对于妊娠晚期患者, 经评估认为胎儿出生后存活的可能性大, 即应果断终止妊娠; 孕早、中期患者应加强对胎儿的监测, 一旦发现胎儿死亡应及早采取措施排出死胎. 对有下列情况应尽快终止妊娠: (1)明显的流产或早产征象; (2)胎儿窘迫或死胎; (3)已到临产期[16]. 终止妊娠的方法应选择最快, 对母体影响最小的方法, 一般应选择剖宫产术. 本研究中有1例孕早期和1例孕中期重型APIP患者出现先兆流产后放弃胎儿, 经积极治疗后胰腺炎痊愈. 10例孕晚期重型APIP患者行急诊剖宫产, 6例孕晚期轻型APIP患者在胰腺炎好转后顺产, 胎儿娩出后产妇的急性AP的病情很快好转, 出生胎儿和APIP患者均存活且预后佳, 说明适时终止妊娠对APIP者有重要意义.

总之, APIP主要发生在妊娠晚期, 主要病因为高脂血症和胆系疾病, 易重症化, 对于重症患者可以使用生长抑素和血液净化治疗, 适时终止妊娠有利于改善母婴预后.

■同行评价
该文章通过对比分析APIP和非妊娠期女性急性胰腺炎的临床特点, 明确二者在病因构成、相关并发症和血液、生化指标中存在显著差异, 前者相对于后者易重症化. 对重症APIP使用生长抑素在短期内未发现其对胎儿有不良作用. 血液净化治疗和适时终止妊娠对改善母婴预后有重要的意义.

4 参考文献

1 中华医学会消化病学分会胰腺疾病学组, 中华胰腺病杂志编辑委员会, 中华消化杂志编辑委员会. 中国急性胰腺炎诊治指南(2013年, 上海). 中华消化杂志 2013; 33: 217-222
2 Li HL, Jiang YH, Wei Y, Zhao YY, Zhu X, Yao GQ. [Clinical analysis of acute hyperlipidemic pancreatitis during pregnancy and postpartum period]. *Beijing Daxue Xuebao* 2014; 46: 125-129 [PMID: 24535364]
3 张孝艳, 乔玉环, 郭瑞霞. 妊娠合并急性胰腺炎16例诊治体会. 实用医学杂志 2011; 27: 2480-2481
4 顾京红, 赵中辛. 妊娠期急性胰腺炎血脂代谢异常与临床发病特点相关性分析. 中华临床医师杂志(电子版) 2011; 5: 1173-1175
5 陈燕, 黄宗文. 妊娠合并急性胰腺炎临床进展. 中国误诊学杂志 2008; 8: 6821-6823
6 Nanda S, Gupta A, Dora A, Gupta A. Acute pancreatitis: a rare cause of acute abdomen in pregnancy. *Arch Gynecol Obstet* 2009; 279: 577-578 [PMID: 18726109 DOI: 10.1007/s00404-008-0755-8]
7 Gilbert A, Patenaude V, Abenhaim HA. Acute pancreatitis in pregnancy: a comparison of associated conditions, treatments and complications. *J Perinat Med* 2014 Feb 12. *[Epub ahead of print]* [PMID: 24519714 DOI: 10.1515/jpm-2013-0322]
8 Zhang DL, Huang Y, Yan L, Phu A, Ran X, Li SS. Thirty-eight cases of acute pancreatitis in pregnancy: a 6-year single center retrospective analysis. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci* 2013; 33: 361-367 [PMID: 23771661 DOI: 10.1007/s11596-013-1125-8]
9 张华, 漆洪波. 妊娠合并急性胰腺炎. 中国实用妇科与产科杂志 2011; 27: 730-732
10 Boulanger C, Vezzosi D, Bennet A, Lorenzini F, Fauvel J, Caron P. Normal pregnancy in a woman with nesidioblastosis treated with somatostatin analog octreotide. *J Endocrinol Invest* 2004; 27: 465-470 [PMID: 15279081]
11 Maffei P, Tamagno G, Nardelli GB, Videau C, Menegazzo C, Milan G, Calcagno A, Martini C, Vettor R, Epelbaum J, Sicolo N. Effects of octreotide exposure during pregnancy in acromegaly. *Clin Endocrinol* (Oxf) 2010; 72: 668-677 [PMID: 19769624 DOI: 10.1111/j.1365-2265.2009.03706.x]
12 Basar R, Uzum AK, Canbaz B, Dogansen SC, Kalayoglu-Besisik S, Altay-Dadin S, Aral F, Ozbey NC. Therapeutic apheresis for severe hypertriglyceridemia in pregnancy. *Arch Gynecol Obstet* 2013; 287: 839-843 [PMID: 23479052 DOI: 10.1007/s00404-013-2786-z]
13 Tang Y, Zhang L, Fu P, Kang Y, Liu F. Hemoperfusion plus continuous veno-venous hemofiltration in a pregnant woman with severe acute pancreatitis: a case report. *Int Urol Nephrol* 2012; 44: 987-990 [PMID: 21424372]
14 Vandenbroucke L, Seconda S, Lassel L, Le Bouar G, Poulain P. [Acute pancreatitis induced by major hypertriglyceridemia during pregnancy. A case report]. *J Gynecol Obstet Biol Reprod* (Paris) 2009; 38: 436-439 [PMID: 19477080 DOI: 10.1016/j.jgyn.2009.04.006]
15 韩红梅, 朴熙绪. 妊娠合并高脂血症性胰腺炎治疗进展. 世界华人消化杂志 2011; 19: 3623-3628
16 黄珍珍. 妊娠合并急性胰腺炎的诊治进展. 实用心脑肺血管病杂志 2011; 19: 695-697

编辑 郭鹏 电编 都珍珍

世界华人消化杂志 2014年5月18日; 22(14): 2049-2054
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

人类真核延伸因子1A2与生长因子受体结合蛋白2在胰腺癌组织中的表达及临床病理意义

周维霞, 蒋晓红, 杨 勇, 陈瑞东, 胡端敏

周维霞, 蒋晓红, 杨勇, 陈瑞东, 胡端敏, 苏州大学附属第二医院消化科 江苏省苏州市 215004
周维霞, 主管护师, 主要从事消化系肿瘤的分子病理诊断.
作者贡献分布: 研究过程和论文撰写由周维霞与蒋晓红完成; 文献检索和数据分析由杨勇与陈瑞东完成; 课题设计和审校由胡端敏完成.
通讯作者: 胡端敏, 副主任医师, 硕士生导师, 215004, 江苏省苏州市三香路1055号, 苏州大学附属第二医院消化科.
huduanmin@163.com
收稿日期: 2013-12-11 修回日期: 2014-03-02
接受日期: 2014-03-19 在线出版日期: 2014-05-18

Clinicopathologic significance of expression of EEF1A2 and GRB2 in pancreatic adenocarcinoma

Wei-Xia Zhou, Xiao-Hong Jiang, Yong Yang, Rui-Dong Chen, Duan-Min Hu

Wei-Xia Zhou, Xiao-Hong Jiang, Yong Yang, Rui-Dong Chen, Duan-Min Hu, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Soochow University, Suzhou 215004, Jiangsu Province, China
Correspondence to: Duan-Min Hu, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Soochow University, 1055 Sanxiang Road, Suzhou 215004, Jiangsu Provence, China. huduanmin@163.com
Received: 2013-12-11 Revised: 2014-03-02
Accepted: 2014-03-19 Published online: 2014-05-18

Abstract

AIM: To investigate the expression of eukaryotic elongation factor 1A2 (EEF1A2) and growth factor receptor-bound 2 (GRB2) in pancreatic adenocarcinoma (PA) and to analyze their clinicopathologic significance.

METHODS: Expression of EEF1A2 and GRB2 was examined by immunohistochemistry in 97 PA specimens and surrounding pancreatic tissues.

RESULTS: EEF1A2 expression was absent in normal pancreatic tissue. In contrast, EEF1A2 showed positive immunoreactivity in 77.8% (76/97) of PA cases. The increased eEF1A2 expression was significantly associated with the presence of nodal metastasis (χ^2 = 4.28, P = 0.039) and perineural invasion (χ^2 = 4.11, P = 0.043). The expression rate of GRB2 in 97 PA specimens and surrounding pancreatic tissues were 82.5% (80/97) and 30.2% (31/97), respectively. The expression level of GRB2 in PA was significantly higher than that in surrounding pancreatic tissues (χ^2 = 48.5, P < 0.001). The positive rate of GRB2 expression was significantly correlated with lymph node metastasis (χ^2 = 4.63, P = 0.031). There was a positive expression between the expression of EEF1A2 and that of GRB2 in PA (r_s = 0.451, P < 0.001).

CONCLUSION: The expression of GRB2 and EEF1A2 is closely correlated with the biological behavior of PA. The expression of GRB2 is significantly correlated with that of EEF1A2.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Pancreatic adenocarcinoma; EEF1A2; GRB2; Metastasis

Zhou WX, Jiang XH, Yang Y, Chen RD, Hu DM. Clinicopathologic significance of expression of EEF1A2 and GRB2 in pancreatic adenocarcinoma. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(14): 2049-2054 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2049.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i14.2049

摘要

目的: 探讨人类真核延伸因子1A2(eukaryotic elongation factor 1A2, EEF1A2)和生长因子受体结合蛋白2(growth factor receptor-bound 2, GRB2)在胰腺癌组织中的表达、相互关系及临床病理意义.

方法: 应用免疫组织化学方法检测97例胰腺癌及其周边胰腺组织中EEF1A2和GRB2蛋白表达情况.

结果: EEF1A2蛋白在胰腺癌周边组织中不

■背景资料
我们前期研究中发现生长因子受体结合蛋白2(growth factor receptor-bound2, GRB2)可能是人类真核延伸因子1A(eukaryotic elongation factor1A2, EEF1A2)促进胰腺癌发生、发展的关键分子. 为进一步明确EEF1A2和GRB2在胰腺癌病情发展中的作用, 本研究采用免疫组织化学方法检测了胰腺癌及周边组织中EEF1A2和GRB2的表达, 探讨二者与胰腺癌临床病理特点的关系.

■同行评议者
白雪巍, 副主任医师,哈尔滨医科大学

■研发前沿
EEF1A2可能通过GRB2的介导来促进胰腺癌生物学行为的恶性转化. 但EEF1A2和GRB2表达与胰腺癌临床病理特点的是否存在相关性, 目前尚未见报道.

表达, 但在77.8%(76/97)的胰腺癌组织中表达阳性. EEF1A2的异常表达与胰腺癌周边淋巴结转移(χ^2 = 4.28, P = 0.039)和神经浸润显著相关(χ^2 = 4.11, P = 0.043). GRB2蛋白在胰腺癌和周边胰腺组织中阳性表达率分别为82.5%(80/97)和30.2%(31/97), 胰腺癌组织中GRB2蛋白阳性率显著高于周边胰腺组织(χ^2 = 48.5, P<0.001). GRB2阳性表达率与淋巴结转移显著相关(χ^2 = 4.63, P = 0.031). 胰腺癌中EEF1A2和GRB2表达具有显著等级正相关(r_s = 0.451, P<0.001).

结论: EEF1A2和GRB2的表达与胰腺癌的生物学行为密切相关, 且两者之间的表达强度具有显著等级正相关.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 胰腺癌; 人类真核延伸因子1A2; 生长因子受体结合蛋白2; 转移

核心提示: 我们前期发现生长因子受体结合蛋白2(growth factor receptor-bound 2, GRB2)可能是真核延伸因子1A2(eukaryotic elongation factor 1A2, EEF1A2)促进胰腺癌发生、发展的关键分子. 本研究中我们进一步证实胰腺癌中EEF1A2和GRB2分子高表达, 二者与肿瘤的侵袭和转移关系密切, 故者EEF1A2和GRB2可作为胰腺癌预后判断的指标以及抑制肿瘤复发和转移的潜在靶点.

周维霞, 蒋晓红, 杨勇, 陈瑞东, 胡端敏. 人类真核延伸因子1A2与生长因子受体结合蛋白2在胰腺癌组织中的表达及临床病理意义. 世界华人消化杂志 2014; 22(14): 2049-2054 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2049.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i14.2049

0 引言

我国胰腺癌的发病率近年来逐年增加, 目前胰腺癌患者占所有癌症患者的2.3%, 是第6大癌症死亡原因[1]. 临床诊治中, 胰腺癌发病隐匿, 进展迅速, 预后极差, 其5年生存率仅为1%-3%[2]. 因此, 进一步积极深入探讨影响胰腺癌发生发展的机制将会为上述问题的解决提供良好的理论与实践依据. 人类真核延伸因子1A2(homo sapiens eukaryotic elongation factor 1A2, EEF1A2)直接与氨基酰-tRNA结合, 将其运至核糖体A位, 使肽链延长, 保证蛋白质合成的准确性和速度[3]. 传统观点认为*EEF1A2*是管家基因, 但我们的前期工作[4-8]提示EEF1A2的过度和异位表达参与了胰腺癌的发生、发展. 生长因子受体结合蛋白2(growth factor receptor-bound 2, GRB2)是位于细胞膜上的一种衔接蛋白, 承接细胞外信号向细胞内的传递, 在肿瘤发生[9], 侵袭和转移[10]过程中起重要作用. 我们最近的研究中发现[11]GRB2可能是EEF1A2促进胰腺癌发生、发展的关键分子. 为进一步明确EEF1A2和GRB2在胰腺癌病情发展中的作用, 本研究采用免疫组织化学方法检测了胰腺癌及周边组织中EEF1A2和GRB2的表达, 探讨二者与胰腺癌临床病理特点的关系.

1 材料和方法

1.1 材料 包含97例胰腺癌手术标本的组织芯片购自上海生物芯片有限公司. 其中男性59例, 女性38例, 年龄39-76岁, 平均年龄59岁. 术前未予放疗、化疗. 同一病灶的周边胰腺组织作为对照. 胰头及钩突部肿瘤68例, 胰体尾部肿瘤29例, 病理组织分型: 标本经病理证实为腺癌, 其中低分化腺癌27例, 高、中分化腺癌分别为23和47例. 病理分期采用国际抗癌联盟(UICC)2008年公布的胰腺癌TNM分期法, 其中Ⅰ期9例、Ⅱ期32例、Ⅲ期51例和Ⅳ5例(表1). EEF1A2和GRB2多克隆抗体(兔抗)购于Abcam公司, 链霉菌抗生物素蛋白-过氧化物酶免疫组化染色试剂盒采用武汉博士德生物工程有限公司产品, 免疫组织化学染色技术的具体操作步骤按照试剂盒要求进行.

1.2 方法 EEF1A2和GRB2蛋白均定位于细胞膜和细胞浆, 浅黄、棕黄、或更深的棕褐色的细小颗粒作为阳性染色. 采用3个参数[12](即染色强度、阳性细胞数和两者记分的和)半定量记数方法. 染色强度记分标准: 无着色为0分, 浅黄色为1分, 棕黄色为2分, 棕褐色为3分. 光镜下随机观察并记录5个高倍视野中染色阳性细胞的百分率, 记分标准: ≤10%为0分, 10%-25%为1分, 26%-50%为2分, ≥51%为3分. 染色强度记分与阳性细胞数记分之和为判断依据: 0-1分为(+), 2分为(++), 3-4分为(+++), 5-6分为(++++). 最终得分>2分判定为阳性结果.

统计学处理 应用SPSS11.0统计软件包进行统计分析, 组间采用χ^2检验, 两指标间采用有序分组资料的等级相关检验. P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 EEF1A2与GRB2在胰腺癌及周边组织中的表达情况 EEF1A2在97例胰腺癌组织中表达为

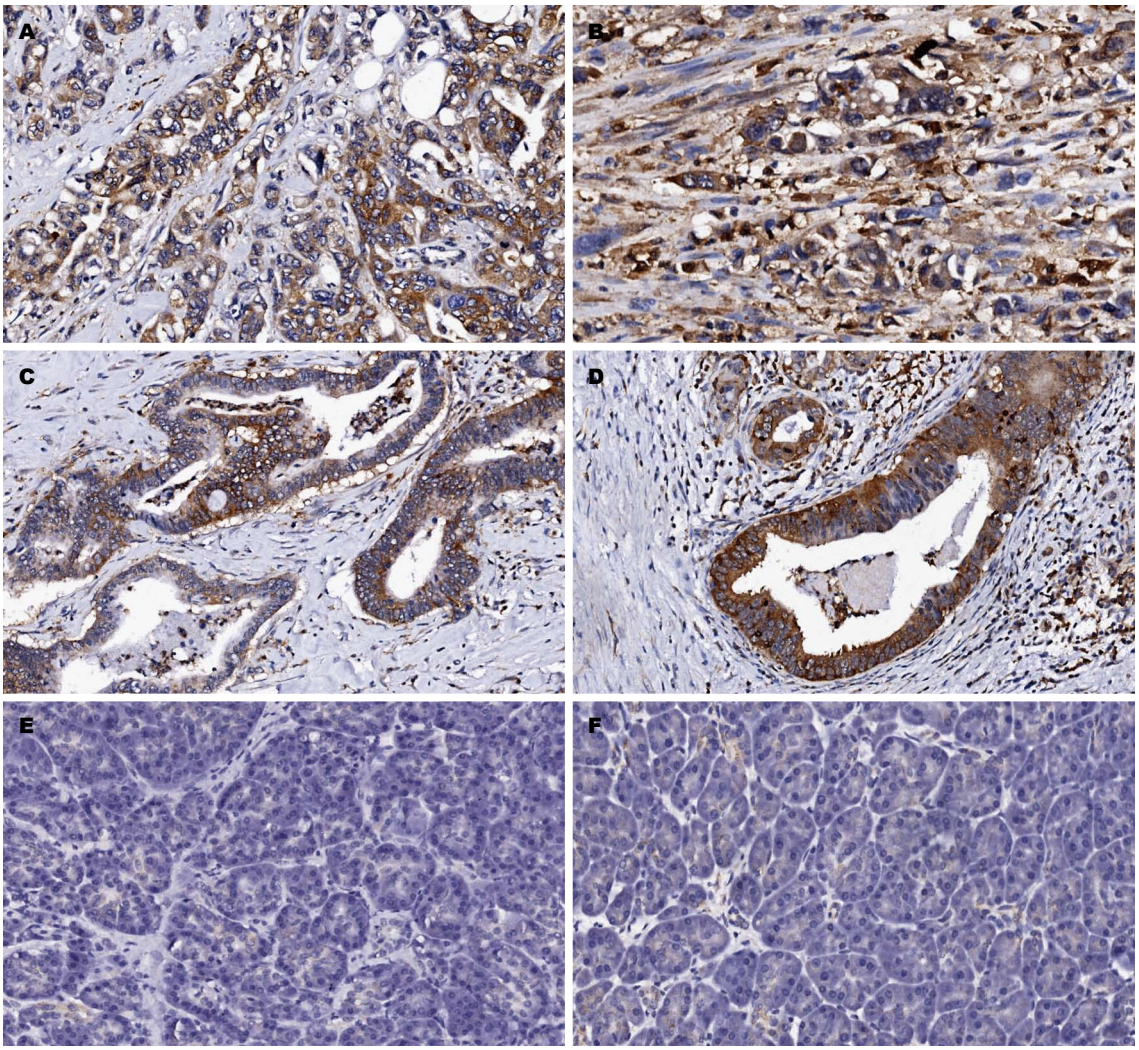


图 1 免疫组织化学检测EEF1A2及GRB2在胰腺癌及周边胰腺组织中的定位(×100). A: EEF1A2在低分化胰腺癌中表达阳性; B: GRB2在低分化胰腺癌中表达阳性; C: EEF1A2在高分化胰腺癌中表达阳性; D: GRB2在高分化胰腺癌中表达阳性; E: EEF1A2在正常胰腺组织中表达阴性; F: GRB2在正常胰腺组织中表达阴性. EEF1A2: 真核延伸因子1A; GRB2: 生长因子受体结合蛋白.

76例阳性、21例阴性, 阳性率为77.8%, EEF1A2在肿瘤细胞的胞膜及胞浆中表达(图1A, C), 间质细胞中无表达, EEF1A2的阳性染色分布异质性明显, 阳性染色的细胞常分布于深部浸润的癌巢, 尤其在浸润的前沿, 在肿瘤周围的正常胰腺(图1E)中未见EEF1A2阳性表达. GRB2在97例胰腺癌组织中表达为80例阳性, 有17例表达阴性, 阳性率为82.5%, 阳性染色主要见于癌细胞的细胞浆, 胞膜及癌间质组织(图1B, D), 在肿瘤周边的胰腺组织中, 有31例表达阳性, 66例为阴性(图1F), 阳性率为30.2%,经卡方检验显示胰腺癌组中GRB2阳性率显著高于癌周边组织(χ^2 = 48.5, P<0.001).

2.2 EEF1A2与GRB2表达与胰腺癌临床及病理特点的关系 EEF1A2与GRB2的阳性表达在各性别组和各年龄组之间无显著差异, EEF1A2表达在有无淋巴结转移(χ^2 = 4.28, P = 0.039)和有无神经累及(χ^2 = 4.11, P = 0.043)的胰腺癌间差异明显, 而与肿瘤大小、分级和TNM分期无显著相关(P>0.05). GRB2表达在伴有淋巴结转移的胰腺癌中明显高于无淋巴结转移组(χ^2 = 4.63, P = 0.031), 但在TNM分期之间, 有无神经累及的胰腺癌间, GRB2表达无显著性差异(P>0.05)(表1).

2.3 胰腺癌组织中EEF1A2与GRB2表达之间的关系 经等级相关检验表明胰腺癌组织中EEF1A2与GRB2表达具有显著正相关(r_s = 0.451, P<0.001)(表2).

3 讨论

胰腺癌是一种预后极差的恶性肿瘤, 远处转移是胰腺癌患者治疗失败和死亡的主要原因之一,

■相关报道
EEF1A2在肿瘤中呈异常表达, 可能具备癌基因的特征, 当其转录表达异常时可以导致肿瘤的发生. 但是, EEF1A2促进肿瘤细胞侵袭转移的分子机制目前仍不清楚,我们前期研究中发现GRB2可能是EEF1A2促进胰腺癌发生、发展的关键分子.

■创新盘点
本研究不仅发现胰腺癌组织中EEF1A2和GRB2蛋白存在高表达，且EEF1A2和GRB2与胰腺癌的侵袭和转移关系密切.

表 1 EEF1A2与GRB2表达与胰腺癌临床及病理特点的关系

	n	EEF1A2阳性	EEF1A2阴性	*P*值	GRB2阳性	GRB2阴性	*P*值
年龄(岁)				0.684			0.656
≤60	47	36(76.6)	11(23.4)		38(80.9)	9(19.1)	
>60	50	40(80.0)	10(20.0)		42(84.0)	8(16.0)	
性别				0.696			0.852
男	59	47(79.7)	12(20.3)		49(83.1)	10(16.9)	
女	38	29(76.3)	9(23.7)		31(81.6)	7(18.4)	
部位				0.491			0.592
胰头及钩突	68	52(76.5)	16(23.5)		57(83.8)	11(16.2)	
胰腺体尾部	29	24(82.8)	5(17.2)		23(79.3)	6(20.7)	
肿瘤大小(cm)				0.241			0.072
≤2	19	13(76.5)	6(23.5)		13(68.4)	6(31.6)	
>2	78	63(82.8)	15(17.2)		67(85.9)	11(14.1)	
肿瘤分级				0.215			0.378
低分化	23	15(65.2)	8(34.8)		17(73.9)	6(26.1)	
中分化	47	38(80.9)	9(19.1)		39(83)	8(17.0)	
高分化	27	23(85.2)	4(14.8)		24(88.9)	3(11.1)	
淋巴结转移				0.039			0.031
有	76	63(82.9)	13(17.1)		66(86.9)	10(13.2)	
无	21	13(61.9)	8(38.1)		14(66.7)	7(33.3)	
血管累及				0.397			0.445
有	34	25(73.5)	9(26.5)		27(79.4)	7(20.6)	
无	63	51(81.0)	12(19.0)		53(85.5)	10(14.5)	
神经累及				0.043			0.110
有	72	60(83.3)	12(16.7)		62(86.1)	10(13.9)	
无	25	16(64.0)	9(36.0)		18(72.0)	7(28.0)	
TNM 分期				0.091			0.191
Ⅰ	9	6(66.7)	3(33.3)		7(77.8)	2(22.2)	
Ⅱ	32	22(68.8)	10(31.3)		23(71.9)	9(28.1)	
Ⅲ	51	45(88.2)	6(11.8)		46(90.2)	5(9.8)	
Ⅳ	5	3(78.4)	2(21.6)		4(80.0)	1(20.0)	

EEF1A2: 真核延伸因子1A; GRB2: 生长因子受体结合蛋白.

表 2 胰腺癌组织EEF1A2和GRB2表达之间的关系 (*n*)

GRB2	EEF1A2				合计
	+	++	+++	++++	
+	3	2	1	1	7
++	1	6	2	1	10
+++	1	5	28	9	43
++++	1	2	20	14	37
合计	6	15	51	25	97

EEF1A2: 真核延伸因子1A; GRB2: 生长因子受体结合蛋白.

即使是肿瘤得到早期手术切除且切缘阴性的患者，其中的75%在5年内仍最终因远处转移而死亡[13]. 因此探明与胰腺癌生物学行为密切相关的蛋白分子将对患者的预后判断及抑制肿瘤进展的靶向治疗极其重要.

传统观点认为，*EEF1A2*仅是一个管家基因，在蛋白翻译过程中发挥重要作用[3]. 然而，最新的研究结果显示，EEF1A2在肿瘤中呈异常表达，可能具备癌基因的特征，当其转录表达异常时可以导致肿瘤的发生[14]. 本课题组前期工作显示，EEF1A2在正常胰腺组织中不表达，但在胰腺癌组织中表达水平明显上调，过表达EEF1A2可增强胰腺癌细胞的增殖能力和裸鼠体内移植瘤的生长[8]. 此外，我们发现上调EEF1A2的表达可促进胰腺癌细胞SW1990的运动和黏附能力，而特异性的siRNA靶向干扰EEF1A2可抑制胰腺癌细胞BxPC-3体外迁移和侵袭[4-6]. 因此，EEF1A2的异常表达不仅可导致肿瘤细胞增殖和发展，在肿瘤侵袭、转移过程中也发挥重要作用. 但

是EEF1A2表达与胰腺癌临床病理特点的是否存在相关性, 目前尚未见报道.

本研究的免疫组化结果显示, 伴有淋巴结转移的胰腺癌组织中EEF1A2表达明显高于无淋巴结转移的胰腺癌组织. 这一发现和最近的一项研究结果相符, Edmonds等[15]发现, EEF1A2在具有转移潜能的大鼠乳腺癌细胞中表达水平明显高于无转移能力的细胞. 随后的体外实验证实, 在乳腺癌BT549细胞中过表达EEF1A2可明显增强肿瘤细胞的迁移和侵袭能力; 相反, 在乳腺癌HCC1937细胞中沉默EEF1A2表达则可抑制细胞的侵袭能力[16]. 嗜神经性是胰腺癌的较为特异的临床特点, 很多患者在疾病早期就有内脏神经侵犯, 已有研究证实神经受累是胰腺癌术后复发转移的独立预测因子[17], 本研究中, 我们发现EEF1A2高表达与神经累及存在明显正相关. 这些结果提示EEF1A2参与了胰腺癌的侵袭、转移过程, 与患者的临床预后密切相关.

但是, EEF1A2促进肿瘤细胞侵袭转移的分子机制目前仍不清楚, 我们最近应用蛋白芯片技术证实[11], 在过表达EEF1A2之后, 与肿瘤密切相关的GRB2的表达明显增加. 进一步[4]我们使用特异性siRNA沉默Bxpc-3胰腺癌细胞的EEF1A2后, 发现GRB2的mRNA和蛋白水平相应明显下调. 在本研究中, 我们又发现胰腺癌组织中的EEF1A2与GRB2的表达呈显著正相关, 这些结果均提示EEF1A2与GRB2之间存在密切联系. GRB2蛋白与肿瘤细胞周期的调控, 细胞增殖的变化及细胞分化的改变密切相关, 直接参与乳腺癌、膀胱癌及白血病的发病、进展及转移过程[18,19]. 我们发现GRB2在伴有淋巴结转移的胰腺癌组中表达明显高于无淋巴结转移组, 这一结果提示GRB2蛋白参与了胰腺癌的转移和临床进展. 结合我们的前期发现, 干扰GRB2可使内源性高表达EEF1A2的胰腺癌BxPC-3运动能力明显减弱. 故GRB2可能是EEF1A2促进胰腺癌侵袭和转移的重要要分子.

总之, 本研究发现胰腺癌组织中EEF1A2和GRB2蛋白存在高表达, EEF1A2和GRB2与胰腺癌的侵袭和转移关系密切, 且二者在胰腺癌中的表达正相关, 二者可作为胰腺癌预后判断的指标以及抑制肿瘤复发和转移的潜在靶点.

■应用要点

EEF1A2和GRB2蛋白可能作为胰腺癌预后判断的指标以及抑制肿瘤复发和转移的潜在靶点.

4 参考文献

1 Guo X, Cui Z. Current diagnosis and treatment of pancreatic cancer in China. *Pancreas* 2005; 31: 13-22 [PMID: 15968242 DOI: 10.1097/01.mpa.0000168220.97967.d1]

2 Pannala R, Basu A, Petersen GM, Chari ST. New-onset diabetes: a potential clue to the early diagnosis of pancreatic cancer. *Lancet Oncol* 2009; 10: 88-95 [PMID: 19111249 DOI: 10.1016/S1470-2045(08)70337-1]

3 Lukash TO, Turkivska HV, Negrutskii BS, El'skaya AV. Chaperone-like activity of mammalian elongation factor eEF1A: renaturation of aminoacyl-tRNA synthetases. *Int J Biochem Cell Biol* 2004; 36: 1341-1347 [PMID: 15109577 DOI: 10.1016/j.biocel.2003.11.009]

4 许朝, 胡端敏, 诸琦. 靶向沉默人类真核翻译延长因子1A2可抑制胰腺癌细胞BxPC-3体外迁移和侵袭. 肿瘤 2012; 32: 567-571

5 黄佳, 黎曙明, 诸琦, 曹海霞, 章永平. 静默人类真核延伸因子1A2对胰腺癌裸鼠移植瘤生长的影响. 中华消化杂志 2012; 2: 98-102

6 黄佳, 诸琦, 曹海霞, 章永平. 靶向封闭EEF1A2对胰腺癌细胞凋亡的作用及其机制研究. 中华消化杂志 2010; 30: 606-609

7 曹海霞, 诸琦, 丁健青, 张愫, 姚玮艳, 钱爱华, 周琳, 章永平. EEF1A2基因对胰腺癌细胞生长和增殖的影响. 中华胰腺病杂志 2008; 08: 376-378

8 Cao H, Zhu Q, Huang J, Li B, Zhang S, Yao W, Zhang Y. Regulation and functional role of eEF1A2 in pancreatic carcinoma. *Biochem Biophys Res Commun* 2009; 380: 11-16 [PMID: 19138673 DOI: 10.1016/j.bbrc.2008.12.171]

9 项洪刚, 王强, 胡志前, 徐健, 王伟军, 卫子然. 人结直肠癌组织中EGFR/Grb2/p-mTOR/VEGF的表达及意义. 第二军医大学学报 2009; (7): 775-779

10 Xu XL, Wang X, Chen ZL, Jin M, Yang W, Zhao GF, Li JW. Overexpression of Grb2-associated binder 2 in human lung cancer. *Int J Biol Sci* 2011; 7: 496-504 [PMID: 21552417 DOI: 10.7150/ijbs.7.496]

11 胡端敏, 许朝, 诸琦. 生长因子受体结合蛋白2在人类真核翻译延长因子1A2促进胰腺癌发生发展中的作用. 中华消化杂志 2012; 32: 23-28

12 Kim HS, Lee SH, Do SI, Lim SJ, Park YK, Kim YW. Clinicopathologic correlation of beclin-1 expression in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Pathol Res Pract* 2011; 207: 247-252 [PMID: 21420796 DOI: 10.1016/j.prp.2011.02.007]

13 Neoptolemos JP, Stocken DD, Friess H, Bassi C, Dunn JA, Hickey H, Beger H, Fernandez-Cruz L, Dervenis C, Lacaine F, Falconi M, Pederzoli P, Pap A, Spooner D, Kerr DJ, Büchler MW. A randomized trial of chemoradiotherapy and chemotherapy after resection of pancreatic cancer. *N Engl J Med* 2004; 350: 1200-1210 [PMID: 15028824 DOI: 10.1056/NEJMoa032295]

14 Tomlinson VA, Newbery HJ, Wray NR, Jackson J, Larionov A, Miller WR, Dixon JM, Abbott CM. Translation elongation factor eEF1A2 is a potential oncoprotein that is overexpressed in two-thirds of breast tumours. *BMC Cancer* 2005; 5: 113 [PMID: 16156888 DOI: 10.1186/1471-2407-5-113]

15 Edmonds BT, Wyckoff J, Yeung YG, Wang Y, Stanley ER, Jones J, Segall J, Condeelis J. Elongation factor-1 alpha is an overexpressed actin binding protein in metastatic rat mammary adenocarcinoma. *J Cell Sci* 1996; 109 (Pt 11): 2705-2714 [PMID: 8937988]

16 Amiri A, Noei F, Jeganathan S, Kulkarni G, Pinke DE, Lee JM. eEF1A2 activates Akt and stimulates Akt-dependent actin remodeling, invasion and migration. *Oncogene* 2007; 26: 3027-3040 [PMID: 17130842 DOI: 10.1038/sj.onc.1210101]

17 Xu Q, Zhang TP, Zhao YP. Advances in early diagnosis and therapy of pancreatic cancer. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2011; 10: 128-135 [PMID: 21459718

■同行评价
本文学术价值好, 具有一定的指导意义.

DOI: 10.1016/S1499-3872(11)60021-0]
18 Lim SJ, Lopez-Berestein G, Hung MC, Lupu R, Tari AM. Grb2 downregulation leads to Akt inactivation in heregulin-stimulated and ErbB2-overexpressing breast cancer cells. *Oncogene* 2000; 19: 6271-6276 [PMID: 11175341 DOI: 10.1038/sj.onc.1204014]
19 Boerner JL, Danielsen AJ, Lovejoy CA, Wang Z, Juneja SC, Faupel-Badger JM, Darce JR, Maihle NJ. Grb2 regulation of the actin-based cytoskeleton is required for ligand-independent EGF receptor-mediated oncogenesis. *Oncogene* 2003; 22: 6679-6689 [PMID: 14555981 DOI: 10.1038/sj.onc.1206830]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

• 消息 •

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

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

世界华人消化杂志 2014年5月18日; 22(14): 2055-2058
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

腹腔镜辅助治疗巨大消化性溃疡穿孔53例

杨先智, 陈龙宇

杨先智, 陈龙宇, 贵州省遵义医学院第三附属医院胃肠外科 贵州省遵义市 563000
杨先智, 副主任医师, 主要从事胃肠疾病的研究.
作者贡献分布: 此课题由杨先智设计; 研究过程由杨先智实施完成; 数据分析及手术由杨先智与陈龙宇共同完成; 本论文写作由杨先智完成.
通讯作者: 杨先智, 副主任医师, 563002, 贵州省遵义市凤凰路98号, 贵州省遵义医学院第三附属医院胃肠外科.
wawayutt@qq.com
收稿日期: 2014-02-28 修回日期: 2014-03-27
接受日期: 2014-03-28 在线出版日期: 2014-05-18

Laparoscopic-assisted surgery for perforated peptic ulcer: Analysis of 53 cases

Xian-Zhi Yang, Long-Yu Chen

Xian-Zhi Yang, Long-Yu Chen, Department of Gastrointestinal Surgery, the Third Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, Zunyi 563000, Guizhou Province, China
Correspondence to: Xian-Zhi Yang, Associate Chief Physician, Department of Gastrointestinal Surgery, the Third Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, 98 Fenghuang Road, Zunyi 563000, Guizhou Province, China. wawayutt@qq.com
Received: 2014-02-28 Revised: 2014-03-27
Accepted: 2014-03-28 Published online: 2014-05-18

Abstract

AIM: To explore the effect of laparoscopic-assisted surgery for perforated peptic ulcer to provide evidence for the clinical treatment of such disease.

METHODS: One hundred and six patients with perforated peptic ulcer were enrolled in this study from February 2010 to October 2013 at our hospital. The patients were randomly assigned to receive traditional laparotomy (control group) or laparoscopic-assisted surgery (treatment group), with 53 patients in each group. The operative time, blood loss, flatus time and other perioperative indicators, as well as pain score, painkiller utilization and complication rate were recorded and compared between the two groups.

RESULTS: The treatment group had significantly lower postoperative blood loss, ambulation time, flatus time, hospitalization time and time to recovery of bowel sounds than the control group (42.0 mL ± 12.1 mL *vs* 156.0 mL ± 34.6 mL, 10.4 h ± 2.9 h *vs* 38.7 h ± 9.7 h, 16.8 h ± 2.3 h *vs* 40.6 h ± 6.9 h, 6.6 d ± 2.1 d *vs* 12.8 d ± 3.5 d, 18.4 h ± 5.6 h *vs* 45.6 h ± 7.7 h, $P < 0.05$). The pain scores on postoperative days 1, 2 and 7 were significantly lower in the treatment group than in the control group (3.1 ± 0.4 *vs* 5.3 ± 0.3, 2.4 ± 0.6 *vs* 4.4 ± 0.4, 1.6 ± 0.2 *vs* 3.2 ± 0.3, 11.3% *vs* 43.4%, $P < 0.05$). The incidences of wound infection and inflammation were significantly lower in the treatment group than in the control group ($P < 0.05$).

CONCLUSION: The effect of laparoscopic-assisted surgery is superior to that of traditional laparotomy in the management of perforated peptic ulcer.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Laparoscopic-assisted surgery; Laparotomy surgery; Perforated peptic ulcer

Yang XZ, Chen LY. Laparoscopic-assisted surgery for perforated peptic ulcer: Analysis of 53 cases. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(14): 2055-2058 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2055.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i14.2055

摘要

目的: 研究腹腔镜下辅助小切口治疗巨大消化性溃疡穿孔的临床效果, 为临床上该类疾病的治疗提供依据.

方法: 选择2010-02/2013-10于我院入院治疗的巨大消化性溃疡穿孔患者106例, 随机分为两组, 对照组采用传统的开腹修补术, 治疗组采用腹腔镜加辅助小切口修补术, 记录并比较两组患者手术时间、出血量、肛门排气时间等围手术期指标, 并比较疼痛评分、镇痛药的使用率以及并发症发生率.

结果: 治疗组患者手术中出血量、术后下床活动时间、肛门排气时间、住院时间以及肠

■背景资料
胃及十二指肠溃疡穿孔是常见的普外科急腹症. 随着腹腔镜器械的改进和操作技术的进步, 腹腔镜下溃疡穿孔修补术已经在外科急腹症方面开始广泛应用. 但在腹腔镜手术探查的过程中, 如果遇到巨大溃疡穿孔的患者, 很多术者都会放弃微创治疗, 选择中转开腹手术. 目前腹腔镜在急腹症外科方面得到了广泛的应用, 本文研究了巨大消化性溃疡穿孔的一种新手术方式.

■同行评议者
陈贻胜, 教授, 福建省立医院

■研发前沿
如何更好地应用腹腔镜辅助治疗外科急腹症是目前急腹症外科研究的热点之一.

鸣音恢复时间均明显少于对照组, 差异有统计学意义(42.0 mL±12.1 mL *vs* 156.0 mL±34.6 mL, 10.4 h±2.9 h *vs* 38.7 h±9.7 h, 16.8 h±2.3 h *vs* 40.6 h±6.9 h, 6.6 d±2.1 d *vs* 12.8 d±3.5 d, 18.4 h±5.6 h *vs* 45.6 h±7.7 h, $P<0.05$); 治疗组患者手术后1、3及7 d的疼痛评分明显低于对照组, 镇痛药物的使用率也明显低于对照组, 差异有统计学意义(3.1±0.4 *vs* 5.3±0.3, 2.4±0.6 *vs* 4.4±0.4, 1.6±0.2 *vs* 3.2±0.3, 11.3% *vs* 43.4%, $P<0.05$); 治疗组患者切口感染、炎性肠梗阻等并发症的发生率明显低于对照组, 差异有统计学意义($P<0.05$).

结论: 腹腔镜辅助小切口治疗巨大消化性溃疡穿孔的临床效果明显好于传统开腹手术, 创伤小, 并发症少, 患者的痛苦轻, 值得临床推广应用.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 腹腔镜; 开腹手术; 巨大溃疡

核心提示: 腹腔镜辅助小切口治疗巨大溃疡穿孔患者手术中出血量、术后下床活动时间、肛门排气时间、住院时间以及肠鸣音恢复时间、镇痛药物的使用率、切口感染、炎性肠梗阻等并发症均明显少于对照组.

杨先智, 陈龙宇. 腹腔镜辅助治疗巨大消化性溃疡穿孔53例. 世界华人消化杂志 2014; 22(14): 2055-2058 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2055.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i14.2055

0 引言

消化性溃疡穿孔是一种临床常见疾病, 治疗过程以手术治疗为主, 常规方法为开腹手术进行治疗[1]. 随着微创腹腔镜技术的发展, 采用腹腔镜手术治疗消化性溃疡穿孔开始广泛应用于临床[2]. 但在腹腔镜手术探查的过程中, 如果遇到巨大溃疡穿孔(指溃疡穿孔直径大于2.5 cm)的患者, 很多术者都会放弃微创, 选择中转开腹手术[3-5]. 经过临床摸索总结, 我们选择了腹腔镜辅助小切口修补治疗巨大消化性溃疡穿孔, 取得了较好的疗效, 现报道如下.

1 材料和方法

1.1 材料 选择2010-02/2013-10我院收治的巨大消化性溃疡穿孔患者106例, 其中男性66例, 女性40例, 年龄27-58岁, 平均年龄36.4岁±9.4岁. 将106例患者随机分为两组, 各53例, 两组患者的一般资料如表1所示, 无明显差异, 具有可比性($P>0.05$).

1.2 方法

1.2.1 手术: 采用气管插管全麻, 建立气腹, 插入腹腔镜, 吸净腹腔积液, 探查穿孔部位, 如果发现溃疡为巨大溃疡穿孔(溃疡穿孔直径>2.5 cm), 行腹腔镜下缝合修补困难者, 对照组选择采用常规手术方法; 选择经右上腹直肌切口约12 cm, 进行修补及腹腔冲洗, 同时放置隔下及盆腔引流管[6]. 治疗组选择腹腔镜加辅助小切口修补法; 在腹腔镜下用凡士林纱条暂时填塞穿孔处防止胃肠内容物持续流出, 然后在腹腔镜下用大量生理盐水冲洗腹腔, 冲洗干净后在腹壁上定位穿孔处的体表投影, 根据体表投影选择长约3-4 cm的上腹部横切口或斜切口, 在直视下行穿孔修补术. 修补完毕后常规缝合切口, 重新建立气腹, 腹腔镜下再次用适量盐水冲洗穿孔修补处及安放引流管. 手术结束后均常规采用抗溃疡药物进行治疗[7].

1.2.2 疗效判定标准: 记录并比较两组患者的手术时间、手术出血量、肛门排气时间、住院时间、肠鸣音恢复时间以及下床时间等围手术期指标; 同时比较手术后1、3和7 d的VAS评分及镇痛药物的使用率; 并比较炎性肠梗阻、腹腔残余感染等并发症的发生率. 其中疼痛判定标准采用VSA评分; 0分为无痛; 1-3分为轻度疼痛; 4-6分为中度疼痛; 7-10分为重度疼痛.

统计学处理 所有数据均采用SPSS 13.0进行分析, 计量数据采用mean±SD表示. 采用t检验, 计数资料采用χ^2检验. $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 两组患者围手术期指标比较 两组患者围手术期指标比较如表2所示, 治疗组患者手术出血量、肛门排气时间、住院时间、肠鸣音恢复时间以及下床活动时间均明显少于对照组, 差异有统计学意义($P<0.05$).

2.2 两组患者VAS疼痛评分比较 两组患者VAS疼痛评分比较如表3所示, 治疗组术后1、3以及7 d的VAS评分明显低于对照组, 两组比较差异明显, 有统计学意义($P<0.05$); 且治疗组患者镇痛药物的使用率为11.3%, 明显低于对照组43.4%, 差异有统计学意义($P<0.05$).

2.3 两组患者并发症比较 两组患者并发症比较如表4所示, 治疗组患者的并发症发生率为5.7%,

■创新盘点
本文研究了巨大消化性溃疡穿孔如何应用腹腔镜辅助小切口治疗减小患者的创伤.

表 1 两组患者一般资料比较

分组	胃溃疡n(%)	十二指肠溃疡n(%)	穿孔时间(h)	腹腔积液(mL)
治疗组	9(17.0)	44(83.0)	20.4 ± 6.9	398.6 ± 112.7
对照组	10(18.9)	43(81.1)	21.9 ± 5.9	408.2 ± 89.9

表 2 两组患者围手术期指标比较 (mean ± SD, n = 53)

分组	手术时间(min)	手术出血量(mL)	肛门排气时间(h)	住院时间(d)	肠鸣音恢复时间(h)	下床活动时间(h)
治疗组	45.9 ± 12.9	42.0 ± 12.1[a]	16.8 ± 2.3[a]	6.6 ± 2.1[a]	18.4 ± 5.6[a]	10.4 ± 2.9[a]
对照组	48.9 ± 23.4	156.0 ± 34.6	40.6 ± 6.9	12.8 ± 3.5	45.6 ± 7.7	38.7 ± 9.7

[a]P<0.05 *vs* 对照组.

表 3 两组患者VAS疼痛评分比较 [n = 53, n(%)]

分组	VAS疼痛评分			镇痛药物使用率
	术后1 d	术后3 d	术后7 d	
治疗组	3.1 ± 0.4[a]	2.4 ± 0.6[a]	1.6 ± 0.2[a]	6(11.3)[a]
对照组	5.3 ± 0.3	4.4 ± 0.4	3.2 ± 0.3	23(43.4)

[a]P<0.05 *vs* 对照组.

表 4 两组患者并发症比较n(%)

分组	切口感染	切口开裂	炎性肠梗阻	肠间隙脓肿	盆腔脓肿	肺部感染	总发生率 (%)
治疗组	0(0.0)	0(0.0)	1(1.9)	1(1.9)	1(1.9)	0(0.0)	5.7[a]
对照组	4(7.5)	1(1.9)	4(7.5)	3(5.7)	2(3.8)	3(5.7)	32.1

[a]P<0.05 *vs* 对照组.

对照组患者并发症为32.1%, 两组比较差异明显, 有统计学意义(P<0.05).

3 讨论

胃及十二指肠溃疡穿孔是常见的普外科急腹症. 随着腹腔镜器械的改进和操作技术的进步, 腹腔镜下溃疡穿孔修补术已经在外科急腹症方面开始广泛应用[8]. 但在腹腔镜手术探查的过程中, 如果遇到巨大溃疡穿孔的患者, 很多术者都会放弃微创治疗, 选择中转开腹手术[9].

本次课题专门研究了腹腔镜下辅助小切口行巨大消化疡穿孔修补术与传统开腹修补术的对比. 研究发现, 治疗组患者的出血量、术后下床活动时间、手术后1、3及7 d的疼痛评分明显低于对照组, 镇痛药物的使用率也明显低于对照组. 手术后并发症如切口感染、切口裂开及术后炎性肠梗阻及肺部感染及腹腔残余感染等等方面比较, 治疗组也有明显的优势. 分析原因, 可能与下列因素有关[10]. (1)治疗组患者因为在腹腔镜下已经行了彻底的冲洗, 仅仅需行缝合修补. 因此可以根据穿孔处的体表投影有针对性地选择上腹部较小的横或斜切口, 横、斜切口张力较小, 术后疼痛较轻, 从而导致呼吸功能受限不明显. 因此患者术后发生肺部感染的机会明显减低, 同时患者更愿意早期下床活动, 促进了肠功能的恢复; (2)治疗组患者因为在腹腔镜下冲洗干净后再行小切口直视下修补, 相当于把三类切口变成二类切口, 所以切口愈合情况明显优于对照组. 另外在腹腔镜直视下冲洗, 腹腔脓液冲洗得更加彻底, 发生腹腔残余感染的几率明显减低. 本手术的关键之处就是必须先在腹腔镜下行彻底的腹腔冲洗, 从而在行开

■同行评价
腹腔镜辅助小切口治疗巨大消化性溃疡穿孔的临床效果明显好于传统开腹手术, 创伤小, 并发症少, 患者的痛苦轻, 值得临床推广应用.

放式小切口修补术时能避免污染切口. 既往部分学者认为腹腔镜下行冲洗有一定的困难[11,12], 不如开腹手术彻底. 但本次研究发现治疗组术后发生腹腔残余感染明显少于对照组. 说明随着腹腔镜操作技术的进步和改进, 冲洗不彻底性的问题已经得到了很好的解决. 我们冲洗的经验是用生理盐水行持续的腹腔冲洗, 边冲边吸引, 可以利用五叶钳帮助暴露和翻动肠管以利用彻底冲洗, 吸引到最后少量腹腔积液的时候, 因为吸引管负压的关系, 经常导致肠管堵塞吸引管头部, 因此不能很好吸尽少许残余的冲洗液, 这时可在吸引管头部放置一小纱布, 用吸引头在小纱布上吸引可完全吸尽冲洗液[13,14]. 另外冲洗时一般在上腹部和膈下区域操作比较容易, 部分患者身高较高导致下腹部及盆腔距离操作孔较远, 尤其在盆腔等处不能行彻底的吸引, 此时可根据患者的情况在下腹部另建一5 mm的戳孔专门用于吸引和冲洗, 从而保证冲洗的彻底性, 避免腹腔残余感染的发生. 冲洗的另外一个关键是合理的戳孔建立[15]. 我们的经验是在脐部置入镜子后观察穿孔的部位, 然后分别在右中腹部腹直肌外缘及左侧上、下腹部腹直肌外缘处建立戳孔[16]. 因为不考虑行腹腔镜下修补, 戳空建立的原则就是方便彻底冲洗及术后利用戳空摆放引流管.

总之, 腹腔镜辅助下小切口手术修补巨大消化性溃疡穿孔具有明显的优势, 主要表现为创伤小, 疼痛轻, 恢复快. 并发症少等特点. 有一定临床推广应用价值.

4 参考文献

1 李小冬, 胡昇庠, 刘子君. 老年消化性溃疡穿孔患者腹腔镜下胃穿孔修补术与开腹手术比较. 中国老年学杂志 2012; 32: 3997-3998
2 丁杰, 廖国庆, 张忠民. 腹腔镜与开腹消化性溃疡穿孔修补术比较的Meta分析. 中华胃肠外科杂志 2011; 14: 785-789
3 黄时杰. 腹腔镜十二指肠溃疡穿孔非缝合修补术. 中国内镜杂志 2002; 8: 21-22
4 任骏, 吴彪, 龚昭. 胃穿孔腹腔镜修补术与开腹修补术术后胃肠动力恢复的对比研究. 腹腔镜外科杂志 2009; 14: 38-40
5 张东秀. 腹腔镜胃十二指肠溃疡穿孔修补术与开腹术疗效比较. 贵阳医学院学报 2013; 38: 657-659
6 郭久冰, 纪程宏, 徐文军, 颜松龄, 张道建, 陈刚, 王华斌. 腹腔镜下十二指肠球部溃疡穿孔修补术治疗体会(附58例报告). 临床消化病杂志 2009; 21: 76-77
7 吴志明, 娄建平, 孟兴成, 代明盛, 沈华强, 包百根. 腹腔镜与开腹胃十二指肠溃疡穿孔修补术的对比研究. 腹腔镜外科杂志 2007; 12: 12-13
8 李振洪, 李立志, 黄文文, 许景洪, 张涌泉, 甘雨. 腹腔镜胃十二指肠溃疡穿孔修补辅助H2受体拮抗剂治疗急性胃十二指肠溃疡穿孔. 腹腔镜外科杂志 2006; 11: 378-379
9 王秀文. 胃十二指肠溃疡急性穿孔42例联合治疗体会. 当代医学 2010; 15: 51-52
10 颜璟, 罗涛, 岳晓林, 吴艳军, 蔺原, 杨映弘 . 经脐单一部位腹腔镜手术治疗消化性溃疡穿孔. 中国微创外科杂志 2013, 13: 841-843.
11 陆光生, 张斌. 胃十二指肠溃疡穿孔治疗方法的对比分析. 山东医药 2012; 52: 70-72
12 周海华. 经腹腔镜消化性溃疡穿孔修补术临床应用价值. 现代医药卫生 2013; 29: 2325-2326
13 翁伟建, 林孝和, 李新华, 贾保全, 曹农, 杨伟林. 腹腔镜胃十二指肠溃疡穿孔修补的探讨. 局解手术学杂志 2004; 13: 378-379
14 蔡小勇, 陆文奇, 卢榜裕. 腹腔镜治疗外科急腹症122例临床分析. 中国微创外科杂志 2004; 4: 322-323
15 黄东. 腹腔镜手术治疗急性胃十二指肠溃疡穿孔60例分析. 中外医学研究 2011; 9: 140-141
16 王健, 张文伟, 林波, 陈浩, 黄滨, 阳峻, 江自卓, 曹天生. 腹腔镜消化性溃疡穿孔修补术的临床应用. 腹腔镜外科杂志 2012; 17: 50-52

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年5月18日; 22(14): 2059-2063
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

利多卡因联合帕瑞昔布在老年人腹腔镜结肠癌根治术中的应用

唐 珩, 张培俊, 李艳华, 马庆杰

唐珩, 张培俊, 李艳华, 马庆杰, 云南省第一人民医院麻醉科 云南省昆明市 650032
唐珩, 主治医师, 主要从事麻醉学的研究.
作者贡献分布: 此课题由唐珩设计; 临床研究部分由唐珩、张培俊及马庆杰操作完成; 实验研究所用试剂与分析工具由李艳华联系提供与唐珩完成; 数据分析由唐珩与张培俊共同完成; 本论文写作由唐珩完成.
通讯作者: 唐珩, 主治医师, 650032, 云南省昆明市金碧路157号, 云南省第一人民医院麻醉科. tangheng2320@aliyun.com
电话: 0871-63623857
收稿日期: 2014-02-14 修回日期: 2014-03-19
接受日期: 2014-03-31 在线出版日期: 2014-05-18

Application of lidocaine combined with parecoxib in elderly patients undergoing laparoscopic radical resection for colon cancer

Heng Tang, Pei-Jun Zhang, Yan-Hua Li, Qing-Jie Ma

Heng Tang, Pei-Jun Zhang, Yan-Hua Li, Qing-Jie Ma, Department of Anesthesiology, the First People's Hospital of Yunnan Province, Kunming 650032, Yunnan Province, China
Correspondence to: Heng Tang, Attending Physician, Department of Anesthesiology, the First People's Hospital of Yunnan Province, 157 Jinbi Road, Kunming 650032, Yunnan Province, China. tangheng2320@aliyun.com
Received: 2014-02-14 Revised: 2014-03-19
Accepted: 2014-03-31 Published online: 2014-05-18

Abstract

AIM: To evaluate the effect of lidocaine combined with parecoxib on postoperative recovery in elderly patients undergoing laparoscopic radical resection for colon cancer.

METHODS: Ninety patients undergoing elective laparoscopic radical resection for colon cancer, aged 65-85 yrs, were randomly divided into a lidocaine plus parecoxib (group Ⅰ) group and a control group (group Ⅱ). After intubation, the patients in group I were given parecoxib 40 mg and a bolus dose of intravenous lidocaine (1.0 mg/kg), followed by continuous infusion of lidocaine 0.5 mg/(kg•min) until the end of the operation. In the control group, normal saline was given at the same volume. Neuropsychological testing was performed with mini-mental state examination (MMSE) on the preoperative day, postoperative days 3 and 7. Venous blood samples were collected before induction (T0), the end of the operation (T1) and 24 h postoperatively. Serum level of S100β protein was measured. The score of pain was recorded within the first 24 h postoperatively. The adverse effects of general anesthesia, such as postoperative cognitive dysfunction (POCD), postoperative nausea and vomit (PONV) and sore throat, were observed. The time to recovery of gastrointestinal function, time in bed and time of hospital stay were compared between the two groups.

RESULTS: The incidence of POCD in group Ⅰ was significantly lower than that in group Ⅱ (3 d: 15.6% *vs* 35.6%, 7 d: 13.3% *vs* 33.3%, $P < 0.05$ for both). The effect of analgesia in group Ⅰ was significantly better than that in group Ⅱ in the first 12 h postoperatively (VAS score 1 h: 22 ± 3 *vs* 33 ± 7, 6 h: 19 ± 7 *vs* 30 ± 6, 12 h: 10 ± 1 *vs* 19 ± 1, $P < 0.05$ for all). Time in bed in group I was significantly shorter than that in group Ⅱ (1.61 d ± 0.34 d *vs* 2.91 d ± 0.54 d, $P < 0.05$).

CONCLUSION: Intravenous lidocaine combined with parecoxib can decrease the incidence of complications in elderly patients undergoing laparoscopic radical resection for colon cancer; hence, it is good for postoperative recovery.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Lidocaine; Parecoxib; Postoperative cognitive dysfunction; Analgesia

Tang H, Zhang PJ, Li YH, Ma QJ. Application of lidocaine combined with parecoxib in elderly patients undergoing laparoscopic radical resection for colon cancer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(14): 2059-2063 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2059.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i14.2059

摘要

目的: 评估静脉利多卡因联合帕瑞昔布对老

■背景资料
腹腔镜结肠癌根治术由于具有微创、安全、术后恢复快等优点, 目前已经广泛应用于临床. 但术后伤口疼痛和老年人全麻术后的一些并发症如术后认知功能障碍(postoperative cognitive dysfunction, POCD), 可能影响患者的术后恢复, 增加护理难度, 从而降低患者术后的生活质量. 本文试图探讨联合应用利多卡因和帕瑞昔布是否可以降低以上并发症, 从而改善老年患者术后的生活质量.

■同行评议者
刘海峰, 主任医师, 北京市武警总医院消化科

年全麻下行结肠癌手术患者全麻术后恢复的价值.

方法: 择期行结肠癌根治术的老年患者90例, 年龄65-85岁, 随机分为2组, 利多卡因联合帕瑞昔布组(Ⅰ组)和对照组(Ⅱ组), 每组45例. Ⅰ组在麻醉诱导插管后予帕瑞昔布40 mg静脉注射, 持续静脉输注利多卡因[负荷量1.0 mg/kg, 维持量0.5 mg/(kg•min)至术毕], 对照组则予等容量的生理盐水. 采用简易智能量表(mini-mental state examination)在术前1 d、术后3 d和7 d进行认知功能测定. 麻醉诱导前(T0)、术毕(T1)、术后24 h(T2)3个时间点抽取静脉血, 测定血清S100β蛋白含量. 记录术后24 h内两组患者不同时间视觉模拟镇痛评分(visual analgesia score, VAS)以评价术后镇痛效果. 观察术后认知功能障碍、恶心呕吐、咽痛等老年人较常见的全麻术后不良反应的发生情况并对两组患者术后胃肠功能恢复时间、下床活动时间、住院时间等进行比较.

结果: Ⅰ组患者术后认知功能障碍发生率较对照组下降(3 d: 15.6% *vs* 35.6%, 7 d: 13.3% *vs* 33.3%), 差异有统计学意义(P<0.05). Ⅰ组患者12 h内镇痛效果优于Ⅱ组(VAS 1 h: 22±3 *vs* 33±7, 6 h: 19±7 *vs* 30±6, 12 h: 10±1 *vs* 19±1, 均P<0.05), 下床活动时间早于Ⅱ组(1.61 d±0.34 d *vs* 2.91 d±0.54 d, P<0.05).

结论: 静脉利多卡因联合帕瑞昔布可以降低老年全麻下结肠癌根治术的术后不良反应发生率, 利于患者术后恢复.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 利多卡因; 帕瑞昔布; 术后认知功能障碍; 镇痛

核心提示: 利多卡因联合帕瑞昔布由于可以降低老年患者腹腔镜结肠癌根治术术后认知功能障碍的发生率, 明显减轻患者术后疼痛, 且不增加其他老年患者全麻术后并发症如术后恶心、呕吐的发生率, 使患者可以更早地下床活动, 改善了老年患者腹腔镜结肠癌根治术后的生活质量.

唐珩, 张培俊, 李艳华, 马庆杰. 利多卡因联合帕瑞昔布在老年人腹腔镜结肠癌根治术中的应用. 世界华人消化杂志 2014; 22(14): 2059-2063 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2059.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i14.2059

0 引言

腹腔镜结肠癌根治术由于具有微创、安全、术后恢复快等优点, 目前已经广泛应用于临床[1,2]. 但术后伤口疼痛和老年人全麻术后的一些并发症如术后认知功能障碍(postoperative cognitive dysfunction, POCD)可能影响患者的术后恢复, 增加护理难度, 从而降低患者术后的生活质量. 已经有研究证明利多卡因可以降低颅压, 防治中枢神经缺血性疾病, 对颅脑外伤的脑损伤有保护作用[3]. 亦有研究表明利多卡因可以改善老年髋关节手术术后早期认知功能[4]. 帕瑞昔布是高选择性环氧化酶2(cyclooxygenase 2, COX-2)抑制剂, 能同时抑制外周和中枢COX-2的表达, 有效抑制围术期炎症反应, 发挥良好的术后镇痛作用[5]. 本研究拟通过在老年全麻下行结肠癌手术中静脉应用利多卡因联合帕瑞昔布, 评估其对老年患者全麻术后恢复的价值.

1 材料和方法

1.1 材料 我院2011-01/2012-09择期全麻下行腹腔镜结肠癌根治术的患者90例, 年龄65-85岁, ASA Ⅰ-Ⅲ级. 术前均得到我院伦理委员会批准, 取得患者及家属的知情同意, 术前1 d经简易精神状态量表评分认知功能正常. 无神经系统和精神病史, 无长期服用镇静镇痛药, 无磺胺过敏, 无活动性消化道溃疡, 无严重心、肝、肺、肾功能障碍. 随机分为2组, 利多卡因联合帕瑞昔布组(Ⅰ组)和对照组(Ⅱ组), 每组45例, 2组患者在年龄、性别、体质量、手术时长、术中失血量等方面比较无统计学差异(P>0.05).

1.2 方法

1.2.1 认知功能测定: 术前1 d及术后3、7 d由1名不知患者分组的临床心理科医师对患者进行简易精神状态量表(mini-mental state examination, MMSE)评分, 术后MMSE得分降低值≥术前值的1个标准差即认为发生POCD, 术后MMSE得分降低值≥术前值的2个标准差为重度POCD.

1.2.2 麻醉: 所有患者免术前用药, 入手术室后开放外周静脉, 监测心电图、无创血压和脉搏血氧饱和度(SPO_2). 采用静脉复合麻醉, 静脉注射咪唑安定0.05 mg/kg, 舒芬太尼0.5 μg/kg, 维库溴胺0.1 mg/kg, 丙泊酚1.5 mg/kg麻醉诱导, 气管插管后机械通气. 术中均以瑞芬太尼0.1-0.3 μg/(kg•min), 异丙酚5-6 mg/(kg•h)维持麻醉, 必要时追加维库溴胺, 维持SPO_2在95%以上, 呼气末二氧化碳分压在35-40 mmHg, 脑电双频谱指数值40-60. 利多卡因联合帕瑞昔布组在麻醉诱导插

■研发前沿
老年POCD和术后镇痛是目前关于老年人术后恢复问题的研究热点, 目前临床上希望应用某些药物可以达到改善老年人术后认知功能, 减轻术后疼痛, 而不增加其他相关并发症的发生率, 从而达到改善老年患者术后生活质量的目的. 本文选择联合应用利多卡因和帕瑞昔布探讨以上问题.

■相关报道
相关研究表明, 感染和手术能引起炎症的细胞因子增加, 而炎症与认知功能下降相关, 老年人术后的早期炎症反应与POCD的发生有关, S100β蛋白可以作为评估老年患者肠癌手术后发生POCD的重要指标. 帕瑞昔布能有效抑制围术期炎症反应, 发挥良好的术后镇痛作用并可能降低POCD的发生率.

表 1 两组患者术后POCD、术后咽痛、恶心呕吐发生率比较 [n = 45, n(%)]

分组	术后3 d POCD	术后7 d POCD	术后7 d重度POCD	咽痛	恶心呕吐
Ⅰ组	7(16)	6(13)	2(4)	5(11)	6(13)
Ⅱ组	16(36)[a]	15(33)[a]	3(7)	9(20)	7(16)

[a]P<0.05 *vs* Ⅰ组. POCD: 术后认知功能障碍.

表 2 两组患者不同时间血清S100β蛋白水平的比较 (mean ± SD, μg/L)

分组	T0	T1	T2
Ⅰ组	0.135 ± 0.010	0.198 ± 0.012[d]	0.135 ± 0.010
Ⅱ组	0.134 ± 0.010	0.234 ± 0.013[bd]	0.137 ± 0.010[d]

[b]P<0.01 *vs* Ⅰ组; [d]P<0.01 *vs* T0.

表 3 两组患者不同时点VAS评分 [n = 45, mean ± SD, 分]

分组	术后1 h	术后6 h	术后12 h	术后24 h
Ⅰ组	22 ± 3	19 ± 7	10 ± 1	8 ± 1
Ⅱ组	33 ± 7[a]	30 ± 6[a]	19 ± 1[a]	10 ± 1

[a]P<0.05 *vs* Ⅰ组. VAS: 视觉模拟镇痛评分.

管后予静注帕瑞昔布40 mg, 负荷量利多卡因1.0 mg/kg, 此后予维持量利多卡因0.5 mg/(kg•min)至术毕. 对照组则输等容量的生理盐水. 术毕患者清醒拔除气管导管后送麻醉恢复室.

1.2.3 标本采集与检测及观察指标: 分别于术前(T0)、术毕(T1)、术后24 h(T2)3个时间点抽取静脉血, 血样离心后取血清, 采用酶联免疫吸附法测定血清S100β蛋白含量. 术前1 d及术后3、7 d MMSE评分. 术后1(出麻醉恢复室时)、6、12、24 h记录视觉模拟镇痛评分(visual analgesia score, VAS): 0分表示无痛, <30分为良好, 30-40分为基本满意, ≥50分为差, 100分为剧痛. 观察术后恶心呕吐、咽喉痛等不良反应. 比较两组患者术后胃肠功能恢复时间、下床活动时间、住院时间.

统计学处理 利用SPSS19.0统计软件. 计量资料以mean±SD表示, 采用t检验; 计数资料采用χ^2检验. P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 全麻术后并发症发生情况 Ⅰ组POCD发生率(3 d: 15.6%, 7 d: 13.3%)较对照组(3 d: 35.6%, 7 d: 33.3%)下降(P<0.05). 对照组术后7 d有3例重度POCD(发生率6.7%), 而Ⅰ组术后7 d有2例重度POCD(发生率4.4%), 两组术后7 d重度POCD发生率无统计学差异(P>0.05). 两组咽痛和术后恶心呕吐的发生率无统计学差异(P>0.05)(表1).

2.2 血清S100β蛋白含量 两组在T1时血清S100β蛋白含量与T0相比均增加(P<0.01), Ⅱ组在T2时血清S100β蛋白含量与T0相比增加(P<0.01). Ⅰ组在T1时血清S100β蛋白含量低于Ⅱ组(P<0.01)(表2).

2.3 患者术后不同时点VAS评分 Ⅰ组患者在术后1(出麻醉恢复室时)、6、12 h VAS评分均低于Ⅱ组(P<0.05)(表3).

2.4 术后两组胃肠功能恢复时间和住院时间比较 Ⅰ组患者术后下床活动时间较Ⅱ组缩短, 差异有统计学意义(P<0.05)(表4).

3 讨论

POCD好发于65岁以上老年人, 作为老年人术后较常见的中枢神经系统并发症, 对老年患者术后的生活质量有较大的影响, 近年来逐渐得到临床医生的重视. Moller等[6]的研究发现, 老年患者术后1 wk POCD发生率为25%, 3 mo为10%. POCD的确切病因不明, 近期有研究发现, 感染和手术能引起炎症细胞因子的增加, 而炎症与

■创新盘点
本文从在老年人腹腔镜结肠癌根治术中联合应用利多卡因和帕瑞昔布入手, 全面观察其改善老年人术后认知功能, 减轻术后疼痛的效果, 同时观察其是否增加其他相关并发症的发生率, 从而判断其能否达到改善老年患者术后生活质量的目的.

■应用要点
术中联合应用利多卡因和帕瑞昔布方法简单可行, 能改善老年人术后认知功能, 减轻术后疼痛, 同时不增加其他相关并发症的发生率, 从而达到改善老年患者术后生活质量的目的. 在临床上值得推广应用.

■名词解释
POCD: 老年人全麻术后常出现中枢神经系统的并发症, 表现为精神错乱、焦虑、人格改变及记忆受损. 这种麻醉手术后患者记忆力、抽象思维及定向力等方面的障碍, 同时伴有社会活动能力的减退, 即人格、社交能力及认知能力和技巧的变化称术后认知功能障碍.

表 4 术后两组胃肠功能恢复时间和住院时间比较 (n = 45, mean ± SD, d)

分组	胃肠功能恢复时间	术后下床活动时间	住院时间
Ⅰ组	2.15 ± 0.62	1.61 ± 0.34	5.08 ± 1.12
Ⅱ组	2.04 ± 0.49	2.91 ± 0.54[a]	5.34 ± 1.92

[a]P<0.05 *vs* Ⅰ组.

认知功能下降相关, 老年人术后的早期炎症反应与POCD的发生有关[7,8], 而内皮素生成失调在加重神经炎症反应和POCD的发生中起到重要的作用[9]. 利多卡因通过抑制交感肾上腺系统, 抑制应激反应和拮抗内皮素作用, 从而抑制脑炎症反应[10]. 有研究结果显示, 小剂量静脉注射利多卡因具有良好的消炎、镇痛及抗氧化作用, 且毒性小, 不良反应少[11]. 此外, 利多卡因能阻断Na^+、K^+、Ca^{2+}通道, 降低细胞内Na^+和Ca^{2+}浓度, 减少K^+外流, 改善脑血流, 以及抗氧自由基及膜稳定作用, 减轻缺血再灌注损伤, 发挥脑保护作用[12]. 作为选择性(COX-2)抑制剂, 近期研究对单独使用帕瑞昔布是否能降低POCD发生率仍存在争议, 但已经明确帕瑞昔布能降低患者术后早期炎症因子的释放[13,14]. 本研究中静脉利多卡因联合帕瑞昔布应用于老年全麻下行腹腔镜结肠癌根治术, 患者术后3 d和7 d POCD发生率较对照组显著下降可能与前述机制相关. 最近研究证实血清S100β蛋白可以作为评估老年患者肠癌手术后发生POCD的重要指标[15]. 本研究中, 术毕时两组患者血清S100β蛋白含量均较术前明显升高, 而利多卡因联合帕瑞昔布组血清S100β蛋白含量在术毕时显著低于对照组, 从另一方面证明利多卡因联合帕瑞昔布能改善老年患者腹腔镜结肠癌根治术术后的认知功能, 降低POCD发生率. 对于本文中两组患者术后7 d重度POCD发生率无差异, 作者认为可能与样本量不够大有关.

术后疼痛是影响患者术后恢复的另一大原因, 老年患者合并症较多, 更需要安全有效的术后镇痛. 帕瑞昔布起效快、镇痛效果确切, 可减少术后患者躁动, 目前广泛应用于术后镇痛[16]. 本文利多卡因联合帕瑞昔布组术后1、6、12 h内VAS评分均低于对照组, 取得了良好的术后镇痛效果, 在老年患者腹腔镜结肠癌根治术术后镇痛的应用中有很好的临床使用价值.

利多卡因联合帕瑞昔布由于可以降低老年患者腹腔镜结肠癌根治术术后认知功能障碍的发生率, 明显减轻患者术后疼痛, 且不增加其他老年患者全麻术后并发症如术后恶心、呕吐的发生率, 使患者可以更早地下床活动, 改善了老年患者腹腔镜结肠癌根治术后的生活质量.

总之, 术中静脉应用利多卡因联合帕瑞昔布可以降低老年全麻下结肠癌根治术的术后不良反应发生率, 利于患者术后恢复, 值得推广.

4 参考文献

1 范应方, 黄宗海, 方驰华. 手助腹腔镜结直肠癌根治术. 世界华人消化杂志 2004; 12: 2922-2923
2 马怀昌. 腹腔镜与开腹行右半结肠癌根治术的疗效对比. 河南科技大学学报(医学版) 2013; 31: 290-291
3 华震, 王东信, 吴新民, 王沛玉. 利多卡因对大鼠微栓栓塞致脑损伤的保护作用. 中华麻醉学杂志 2005; 25: 527-531
4 倪艳, 葛继荣, 王忠云. 静注利多卡因对老年患者术后早期认知功能的影响. 江苏医药 2010; 36: 2646-2647
5 王庆, 李真, 王志鹏, 崔灿. 帕瑞昔布钠在腹腔镜结肠癌根治术中的超前镇痛作用. 南方医科大学学报 2010; 30: 2556-2561
6 Moller JT, Cluitmans P, Rasmussen LS, Houx P, Rasmussen H, Canet J, Rabbitt P, Jolles J, Larsen K, Hanning CD, Langeron O, Johnson T, Lauven PM, Kristensen PA, Biedler A, van Beem H, Fraidakis O, Silverstein JH, Beneken JE, Gravenstein JS. Long-term postoperative cognitive dysfunction in the elderly ISPOCD1 study. ISPOCD investigators. International Study of Post-Operative Cognitive Dysfunction. *Lancet* 1998; 351: 857-861 [PMID: 9525362]
7 李颖川, 安一凡, 董维华, 周明. 老年患者全髋关节置换术后认知功能障碍与围术期炎性反应的相关性. 上海医学 2011; 34: 249-252
8 Ji MH, Yuan HM, Zhang GF, Li XM, Dong L, Li WY, Zhou ZQ, Yang JJ. Changes in plasma and cerebrospinal fluid biomarkers in aged patients with early postoperative cognitive dysfunction following total hip-replacement surgery. *J Anesth* 2013; 27: 236-242 [PMID: 23085747 DOI: 10.1007/s00540-012-1506-3]
9 Riedel B, Browne K, Silbert B. Cerebral protection: inflammation, endothelial dysfunction, and postoperative cognitive dysfunction. *Curr Opin Anaesthesiol* 2014; 27: 89-97 [PMID: 24300462 DOI: 10.1097/ACO.0000000000000032]
10 邹毅清, 聂海贵, 魏斌, 曾淑珍, 李小宝, 杨志星. 静脉输注利多卡因对腹部大手术炎症反应的影响. 现代中西医结合杂志 2009; 18: 3276-3277, 3292
11 Kang H, Kim BG. Intravenous lidocaine for effective pain relief after inguinal herniorrhaphy: a prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled study. *J Int Med Res* 2011; 39: 435-445

[PMID: 21672347]
12 李琪, 张俊峰. 利多卡因预处理对膝关节镜手术中止血带引起的脂质过氧化的影响. 上海医学 2013; 36: 301-303
13 赵璞, 何龙, 李志松, 张卫. 帕瑞昔布钠对老年患者膝关节置换术患者术后早期认知功能的影响. 中国老年学杂志 2012; 32: 4115-4117
14 李井柱, 李晓征, 王晓敏, 王明山, 于海芳, 时飞, 苗丹, 毕燕琳. 帕瑞昔布钠镇痛对老年急诊股骨头置换术患者神经系统的影响. 中华医学杂志 2013; 93: 2152-2154
15 林舜艳, 高巨, 尹正录, 戴载深, 徐少群. 老年肠癌患者术后认知功能障碍与血清S-100β蛋白关系及中医证型分布的研究. 广东医学 2011; 32: 1282-1284
16 余永华, 王琦, 姚尚龙. 帕瑞昔布钠与曲马多对七氟醚麻醉后苏醒期躁动的比较. 临床麻醉学杂志 2011; 27: 950-952

编辑 郭鹏 电编 都珍珍

■同行评价

本文提出利多卡因联合帕瑞昔布, 可以降老年患者POCD的发生率, 明显减轻患者术后疼痛, 不增加其他老年患者全麻术后并发症如术后恶心呕吐的发生率, 使患者可以更早地下床活动, 改善老年患者术后的生活质量, 同时此方法在临床老年手术中应用方法简便易行, 可行性高, 在临床手术中可以推广使用.

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费

本刊讯 为了方便作者来稿, 保证稿件尽快公平、公正的处理, 《世界华人消化杂志》编辑部研究决定, 从2011年开始对所有来稿不再收取审稿费. 审稿周期及发表周期不变. (《世界华人消化杂志》编辑部)

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com
世界华人消化杂志 2014年5月18日; 22(14): 2064-2068
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

胆囊结石与胆囊壁黏膜幽门螺杆菌定植的关系

王 炜, 朱建华, 韩 江, 吴 衍, 丁佩芬

■背景资料
胆囊结石的形成机制比较复杂, 目前认为可能与遗传、胆固醇及脂质代谢平衡紊乱、胆囊动力学异常、胆汁促一抗成核因子平衡紊乱以及细菌感染等有关. 自从在胆道系统检测出幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*), 其与胆囊结石形成的关系成为研究的热点.

王炜, 韩江, 吴衍, 上海市浦东新区周浦医院普通外科 上海市 201318
朱建华, 上海市浦东新区周浦医院急诊外科 上海市 201318
丁佩芬, 上海市浦东新区周浦医院病理科 上海市 201318
王炜, 主治医师, 主要从事肝胆胃肠外科的临床研究.
上海市卫生和计划生育委员会基金资助项目, No. 2010Y085
作者贡献分布: 课题的设计与论文写作由王炜与朱建华完成. 研究过程与数据分析由韩江与吴衍共同完成; 试剂的提供由丁佩芬完成.
通讯作者: 朱建华, 副主任医师, 201318, 上海市浦东新区周浦镇周园路1500号, 上海市浦东新区周浦医院急诊外科.
viviankent@163.com
电话: 021-68135590-2132
收稿日期: 2014-02-25 修回日期: 2014-03-31
接受日期: 2014-04-04 在线出版日期: 2014-05-18

Relationship between gallbladder stones and *Helicobacter pylori* colonization of the gallbladder mucosa

Wei Wang, Jian-Hua Zhu, Jiang Han, Yan Wu, Pei-Fen Ding

Wei Wang, Jiang Han, Yan Wu, Department of General Surgery, Zhoupu Hospital of Pudong New Area, Shanghai 201318, China
Jian-Hua Zhu, Department of Emergency Medicine, Zhoupu Hospital of Pudong New Area, Shanghai 201318, China
Pei-Fen Ding, Department of Pathology, Zhoupu Hospital of Pudong New Area, Shanghai 201318, China
Supported by: the Shanghai Municipal Health and Family Planning Commission Fund Project, No. 2010Y085
Correspondence to: Jian-Hua Zhu, Associate Chief Physician, Department of Emergency Medicine, Zhoupu Hospital of Pudong New Area, 1500 Zhouyuan Road, Zhoupu Town, Shanghai 201318, China. viviankent@163.com
Received: 2014-02-25 Revised: 2014-03-31
Accepted: 2014-04-04 Published online: 2014-05-18

Abstract

AIM: To investigate the relationship between gallbladder stones and *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) colonization of the gallbladder mucosa.

METHODS: *H. pylori* was detected in bile and gallbladder mucosa of 64 patients with gallbladder stones (experimental group) and 16 patients without gallbladder stones (control group). Polymerase chain reaction (PCR) was used to detect specific DNA fragments. Enzyme-linked immunoabsorbent assay (ELISA) was used to detect *H. pylori* IgG antibody. Immunohistochemistry was also used to detect *H. pylori* specific protein in gallbladder mucosa specimens.

RESULTS: ELISA analysis showed that the rate of *H. pylori* infection did not differ significantly between the experimental group and control group (48.44% *vs* 43.75%, $P < 0.05$). PCR analysis showed that the rate of *H. pylori* colonization of the gallbladder mucosa was significantly higher in the experimental group than in the control group (39.06% *vs* 12.50%, $P = 0.04$), but the rate of *H. pylori* in bile did not significantly between the two groups (59.38% *vs* 56.25%, $P < 0.05$). Immunohistochemistry analysis detected 19 positive cases in the experimental group and only 1 positive case in the control group.

CONCLUSION: *H. pylori* infection in the biliary tract does not play a major role in the process of gallbladder stone formation, but *H. pylori* colonization in the gallbladder mucosa is involved in the formation of gallstones.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: *Helicobacter pylori*; Gallbladder stones; Formation

Wang W, Zhu JH, Han J, Wu Y, Ding PF. Relationship between gallbladder stones and *Helicobacter pylori* colonization of the gallbladder mucosa. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(14): 2064-2068 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2064.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i14.2064

摘要

目的: 研究和探讨幽门螺旋杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)在胆囊壁黏膜中的定植与胆囊结石形成的相关性.

方法: 分别对结石性胆囊炎和非结石性胆囊切除患者的胆囊组织和胆汁进行幽门螺杆菌检测, 采用多聚酶链式反应检测幽门螺杆菌特异性DNA片段、酶联免疫吸附试验检测幽门

■同行评议者
陈进宏, 副主任医师, 复旦大学附属华山医院普外科

螺杆菌抗体蛋白IgG、并对两组胆囊黏膜标本行幽门螺杆菌免疫组织化学技术染色检测.

结果: 采用ELISA方法检测结石组和非结石组中*H. pylori*抗体蛋白, 结石组中48.44%阳性, 非结石组43.75%阳性, 两者之间无统计学差异. 采用PCR方法检测结石组和非结石组胆囊黏膜和胆汁标本中*H. pylori*特异性DNA片段, 胆囊黏膜中结石组25例阳性(39.06%), 非结石组2例阳性(12.50%), 两者之间有统计学差异($P = 0.04$); 而胆汁中结石组59.38%阳性, 非结石组56.25%阳性, 两者之间无统计学差异. 对两组胆囊黏膜标本行免疫组织化学检测, 结石组有19例阳性, 在胆囊黏膜腺腔中可见棒状、弯曲杆状或球形的菌体, 呈棕黄色或棕褐色. 而非结石组仅有1例检出.

结论: 胆道中*H. pylori*感染在胆囊结石形成的过程中不起主要作用, 而*H. pylori*在胆囊黏膜的定植则参与胆囊结石的形成.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 幽门螺旋杆菌; 胆囊结石; 成因

核心提示: 胆汁中的幽门螺旋杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)阳性率远远高于和胆囊黏膜的阳性率, 结石组和非结石组之间无统计学差异, 结石患者黏膜中*H. pylori*检出率高于非结石患者, 本课题认为胆道中*H. pylori*感染在胆囊结石形成的过程中不起主要作用, 而*H. pylori*在胆囊黏膜的定植则参与胆囊结石的形成.

王炜, 朱建华, 韩江, 吴衍, 丁佩芬. 胆囊结石与胆囊壁黏膜幽门螺杆菌定植的关系. 世界华人消化杂志 2014; 22(14): 2064-2068
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2064.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i14.2064

0 引言

胆囊结石是一种严重影响人民身体健康的常见病和多发病, 胆结石的形成机制比较复杂, 目前认为可能与遗传、胆固醇及脂质代谢平衡紊乱、胆囊动力学异常、胆汁促-抗成核因子平衡紊乱以及细菌感染等有关. 自从在胆道系统检测出幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)之后, 相关研究屡见报道, 但相关*H. pylori*在胆囊壁黏膜定植对胆囊结石的形成是否有影响鲜见报道, 为此, 我们观察了胆囊结石患者和非结石患者的胆囊组织、胆汁中的*H. pylori*感染情况, 探讨胆囊壁黏膜*H. pylori*定植对结石形成的影响.

1 材料和方法

1.1 材料 结石组: 收集我院普通外科2011-01/2013-06 64例因胆囊结石合并慢性胆囊炎择期行腹腔镜胆囊切除术(男性29例, 女性35例, 年龄26-80岁, 平均年龄57.6岁±9.47岁患者的胆囊壁、胆汁标本. 非结石组: 收集同期16例因非胆结石疾病行胆囊切除术(13例为胆囊胆固醇息肉, 2例为肝内胆管结石行肝切除及胆囊切除, 1例为胆囊癌)患者的胆囊组织、胆汁标本. 胆囊组织在手术室无菌条件下收集, 胆汁标本术中采用腹腔镜下穿刺吸引收集, 所有标本立即放置于液氮罐冻存, 并及时移送-80 ℃超低温冰箱中保存待测.

1.2 方法

1.2.1 胆汁抗*H. pylori*免疫球蛋白(*H. pylori* IgG)检测: 应用ELISA法, 上海研吉生物科技有限公司提供人*H. pylori* IgG试剂盒要求对胆汁进行*H. pylori* IgG检测, 胆汁标本在室温下解冻并确保样品均匀地充分解冻, 1∶1稀释后, 依照次序对应加入阴性、阳性对照液和待测样品于酶标板空白微孔中, 标记样本编号, 在对照孔和样品孔中加入酶标溶液, 混匀, 恒温孵育, 洗板, 加入底物, 孵育, 终止反应, 15 min内在波长450 nm的酶标仪上读取各孔的*A*值. 试验有效性: 阳性对照孔平均值≥1.00; 阴性对照平均值≤0.10. 临界值(CUT OFF)计算: 临界值 = 阴性对照孔平均值+0.15. 阴性判定: 样品A值<临界值(CUT OFF)者为人*H. pylori* IgG(Hp-IgG)阴性. 阳性判定: 样品A值≥临界值(CUT OFF)者为人*H. pylori* IgG(Hp-IgG)阳性.

1.2.2 胆囊黏膜和胆汁PCR检测: 采用*H. pylori* 16S rRNA、*H. pylori* Ure A两对不同引物, 从*H. pylori* 基因文库采用Primer 5.0自行设计, 引物序列如表1, 引物由中国科学院上海高等研究院协助合成纯化, 对所取标本进行PCR扩增, 扩增产物经凝胶电泳分析, 如果在电泳中出现与引物相符的DNA带, 可判断为阳性.

1.2.3 胆囊组织*H. pylori* 免疫组织化学检测: 采用PV9000免疫组织化学二步法对两组胆囊黏膜标本进行*H. pylori* 检测. 同时以PBS缓冲液代替一抗作阴性对照, 以胃溃疡患者胃黏膜*H. pylori* 阳性切片作为为阳性参照. 菌体位于胆囊黏膜腺腔中, 杆状、短杆状或球形, 染色呈棕黄色或棕褐色为阳性.

统计学处理 计数资料以率(%)表示, 数据输

■研发前沿
关于*H. pylori*与胆道结石的相关研究屡见报道, 但关于*H. pylori*在胆囊壁黏膜定植对胆囊结石的形成是否有影响鲜见报道.

■相关报道
Zhou等在2011年进行的一项Meta分析认为: 胆道系统*H. pylori*感染与胆结石形成有密切关系. 2013年Attaallah等的研究显示37%的胆结石患者的胆囊黏膜中有*H. pylori*定植.

■创新盘点

本课题研究通过ELISA、PCR、免疫组织化学(SP)等多种方法检测显示*H. pylori*存在与胆囊结石和非胆囊结石患者的胆道中, 其中胆汁中的阳性率远远高于和胆囊黏膜的阳性率, 结石组和非结石组胆道*H. pylori*感染之间无统计学差异, 而PCR基因检测显示结石患者黏膜中*H. pylori*特异基因检出率高于非结石患者(P<0.05), 免疫组织化学*H. pylori*染色也观察到类似结果, 因此本课题认为胆道中*H. pylori*感染在胆囊结石形成的过程中不起主要作用, 而*H. pylori*在胆囊黏膜的定植则参与胆囊结石的形成.

表 1 PCR引物表

引物名称		序列	扩增大小(bp)
H. pylori 16S rRNA	Hp1	5'-CTGGAGAGACTAAGCCCTCC-3'	109
	Hp2	5'-ATTACTGACGCTGATTGTGC-3'	
H. pylori Ure A	P1	5'-CGGGATCCAAGTTTCAACCATTAGGA-3'	675
	P2	5'-CGGAATTCTTAGTGTTTTTTGTGATC-3'	

H. pylori: 幽门螺杆菌.

表 2 胆汁中抗*H. pylori*免疫球蛋白IgG检测 (ELISA)

分组	胆汁中*H. pylori*检出		合计
	阳性	阴性	
结石组	31	33	64
非结石组	7	9	16
合计	38	42	80
χ^2值	0.11		
P值	0.74		

H. pylori: 幽门螺杆菌.

表 3 胆囊黏膜和胆汁标本中*H. pylori*特异性DNA片段检测(PCR)

分组	黏膜		合计	胆汁		合计
	阳性	阴性		阳性	阴性	
结石组	25	39	64	38	26	64
非结石组	2	14	16	9	7	16
合计	27	53	80	47	33	80
χ^2值	4.04			0.05		
P值	0.04			0.82		

H. pylori: 幽门螺杆菌.

入SPSS18.0进行统计分析, 采用χ^2检验, P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 检测

2.1.1 ELISA检测结石组和非结石组中*H. pylori*抗体蛋白: 结石组中48.44%阳性, 非结石组43.75%阳性, 两者之间无统计学差异(P>0.05)(表2).

2.1.2 PCR检测结石组和非结石组胆囊黏膜和胆汁标本中*H. pylori*特异性DNA片段(图1): 胆囊黏膜中结石组25例阳性(39.06%), 非结石组2例阳性(12.50%), 两者之间有统计学差异(P = 0.04); 而胆汁中结石组59.38%阳性, 非结石组56.25%阳性, 两者之间无统计学差异(P>0.05)(表3).

表 4 胆囊黏膜*H. pylori*定植免疫组织化学染色检测

分组	黏膜		合计
	阳性	阴性	
结石组	19	45	64
非结石组	1	15	16
合计	20	60	80
χ^2值	3.75		
P值	0.05		

H. pylori: 幽门螺杆菌.

表 5 两种胆汁*H. pylori*检测方法的差异

方法	胆汁		合计
	阳性	阴性	
ELISA	38	42	80
PCR	47	33	80
合计	85	75	160
χ^2值	2.03		
P值	0.15		

H. pylori: 幽门螺杆菌.

2.1.3 免疫组织化学对*H. pylori*的检测: 对两组胆囊黏膜标本行免疫组织化学检测, 结石组有19例阳性, 在胆囊黏膜腺腔中可见棒状、弯曲杆状或球形的菌体, 呈棕黄色或棕褐色(图2). 而非结石组仅有1例检出. 两者之间有一定的差异, P = 0.051, 结合PCR检测结果, 可以认为两组的检出率不同(表4).

2.2 3种检测方法*H. pylori*检测阳性率的比较 对3种方法检测数据行统计学分析, 均P>0.05, 无统计学意义, 表明检测方法的不同对结果的判定无差异(表5, 6).

3 讨论

H. pylori 是上消化道疾病的重要致病菌, 弯曲形、S形、螺旋形或棒状, 主要通过其产生的毒素蛋白

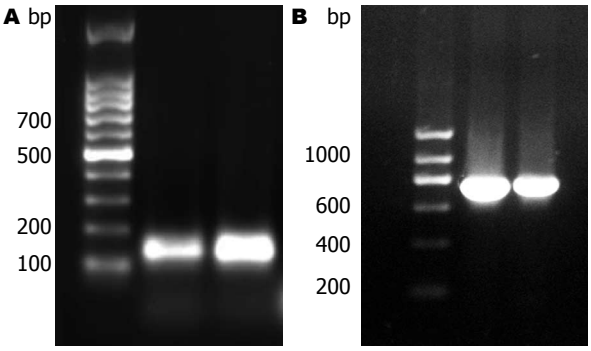


图 1 *H. pylori*特异基因片段PCR电泳图. A: 16S rRNA, Marker 100 bp; B: UreA, Marker 200 bp. *H. pylori*: 幽门螺杆菌.

■应用要点

胆结石的发病率逐年上升, 本研究结果可以为各级医院肝胆外科、普通外科临床治疗、预防胆囊结石, 降低医疗费用, 减轻广大患者痛苦与负担起到一定的借鉴作用, 并为相关研究提供理论参考.

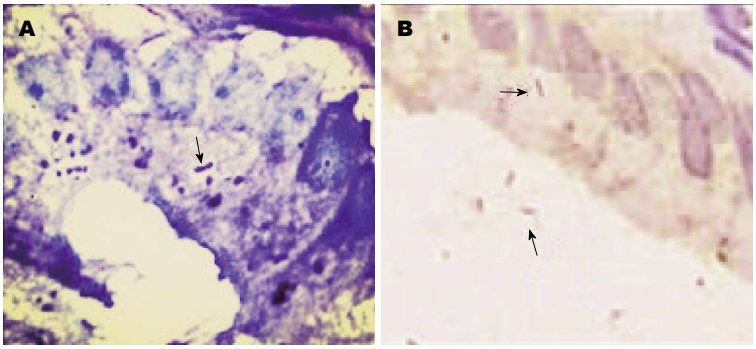


图 2 胆囊黏膜免疫组织化学染色(×400). A: 箭头所指为*H. pylori*, 在胆囊黏膜腺腔中可见棒状; B: 箭头所指为*H. pylori*, 在胆囊黏膜腺腔中可见弯曲杆状或球形的菌体. *H. pylori*: 幽门螺杆菌.

表 6 两种黏膜*H. pylori*检测方法差异

方法	黏膜		合计
	阳性	阴性	
PCR	27	53	80
免疫组织化学	20	60	80
合计	47	113	160
χ^2值	1.48		
*P*值	0.22		

H. pylori: 幽门螺杆菌.

如空泡毒素(VacA)与细胞毒素相关蛋白(CagA蛋白)和相关酶类如尿素酶、黏液酶和磷脂酶以及诱导的炎症反应造成黏膜屏障的损害[1-4]. *H. pylori* 具有鞭毛和黏附因子使其在黏性环境中表现出很强的移行能力和定植能力. 本研究采用ELISA方法在胆囊结石患者和非胆囊结石患者的胆囊胆汁中都发现了*H. pylori*, 前者阳性率为48.44%, 后者为43.75%, 说明*H. pylori*能在碱性的胆汁环境中存活. 这与Galdwell等[5]的研究结果基本相符. 由此可推测胆汁可能对*H. pylori*起到一个选择作用, 使那些能耐受胆盐的*H. pylori*被筛选存活下来, 说明胆汁对*H. pylori*的杀灭作用是相对的, 在某些情况下如胆道感染、Oddis括约肌功能紊乱, 螺杆菌可通过松弛Oddis括约肌逆行感染胆道. Zhou等[6]通过病理学研究认为胆囊黏膜中的*H. pylori*感染与胃中*H. pylori*存在密切相关, 也从另一个侧面证明了该观点.

本研究采用PCR方法检测发现, *H. pylori*存在于胆囊结石和非胆囊结石患者的胆道中, 胆汁中的阳性率远远高于胆囊黏膜的阳性率, 结石组和非结石组胆道(胆汁)*H. pylori*感染之间无统计学差异, 据此, 我们认为, 胆汁中*H. pylori*特异基因的检测结果与胆囊结石的形成无相关性. 同时, PCR基因检测显示结石患者黏膜中*H. pylori*特异基因检出率高于非结石患者($P<0.05$), 免疫组织化学*H. pylori*染色也观察到类似结果, 因此笔者认为, *H. pylori*在胆囊黏膜的定植参与胆囊结石的形成. Zhou等[7]在2011年进行的一项Meta分析认为: 胆道系统*H. pylori*感染与胆结石形成有密切关系. 2013年Attaallah等[8]的研究显示37%的胆结石患者的胆囊黏膜中有*H. pylori*定植也支持此观点. *H. pylori*在胆囊黏膜的定植可以引起急、慢性胆囊炎, 导致胆囊黏膜分泌紊乱, 胆囊运动功能障碍, 最终导致胆汁淤积、胆汁理化性质及成分的改变[9-11]. *H. pylori*在胆囊黏膜的定植致胆囊结石形成的机制可能涉及以下几个方面: (1)通过其CagA蛋白增加及磷脂酶A2活性增加促进胆固醇沉淀; (2)*H. pylori*在胆囊黏膜的定植破坏黏膜屏障, 诱导局部炎症反应, 粘蛋白表达增加, 与其他促成核因子共同导致促、抗成核因子失衡, 并形成一个色素核心,吸附沉积的钙盐和胆固醇; (3)*H. pylori*在胆囊黏膜定植损伤胆囊黏膜、破坏了胆囊黏膜功能, 促

■同行评价
该课题立题有一定的新颖性, 内容较为详实, 对同类研究有一定的参考价值.

使胆汁淤滞, 同时胆囊、胆管损伤后又利于其他细菌的侵袭, 共同促进结石形成[12-18].

总之, 本研究认为, 胆道中*H. pylori*感染在胆囊结石形成的过程中不起主要作用, 而*H. pylori*在胆囊黏膜的定植则参与胆囊结石的形成.

4 参考文献

1 秦俭, 韩天权, 蔡杏兴, 姜志宏, 杨小妹, 张宇, 杨士勇, 蒋兆彦, 张圣道. 一个大型胆囊结石病家系的遗传特征及流行病学分析. 中华流行病学杂志 2005; 26: 448-450

2 任建军, 牛剑祥, 王万祥, 孟兴凯. 综合性治疗措施对老年肝硬化合并胆囊结石患者的干预效果. 中国老年学杂志 2013; 33: 5533-5535

3 张雪梅, 刘丽娜, 马红霞, 高勇. 幽门螺杆菌、高胃泌素血症对结肠腺瘤形成的作用. 世界华人消化杂志 2010; 18: 1390-1394

4 张展, 刘志强, 郑鹏远, 唐芙爱. 外排泵抑制剂对幽门螺杆菌多重耐药性的影响. 世界华人消化杂志 2010; 18: 262-267

5 Caldwell MT, McDermott M, Jazrawi S, O'Dowd G, Byrne PJ, Walsh TN, Hourihane DO, Hennessy TP. Helicobacter pylori infection increases following cholecystectomy. *Ir J Med Sci* 1995; 164: 52-55 [PMID: 7890538 DOI: 10.1007/BF02968117]

6 Zhou D, Guan WB, Wang JD, Zhang Y, Gong W, Quan ZW. A comparative study of clinicopathological features between chronic cholecystitis patients with and without Helicobacter pylori infection in gallbladder mucosa. *PLoS One* 2013; 8: e70265 [PMID: 23936177 DOI: 10.1371/journal.pone.0070265]

7 Zhou D, Zhang Y, Gong W, Mohamed SO, Ogbomo H, Wang X, Liu Y, Quan Z. Are Helicobacter pylori and other Helicobacter species infection associated with human biliary lithiasis? A meta-analysis. *PLoS One* 2011; 6: e27390 [PMID: 22087306 DOI: 10.1371/journal.pone.0027390]

8 Attaallah W, Yener N, Ugurlu MU, Manukyan M, Asmaz E, Aktan AO. Gallstones and Concomitant Gastric Helicobacter pylori Infection. *Gastroenterol Res Pract* 2013; 2013: 643109 [PMID: 23762037 DOI: 10.1155/2013/643109]

9 Admirand WH, Small DM. The physicochemical basis of cholesterol gallstone formation in man. *J Clin Invest* 1968; 47: 1043-1052 [PMID: 5645851 DOI: 10.1172/JCI105794]

10 Bode G, Barth R, Song Q, Adler G. Phospholipase C activity of Helicobacter pylori is not associated with the presence of the cagA gene. *Eur J Clin Invest* 2001; 31: 344-348 [PMID: 11298782 DOI: 10.1046/j.1365-2362.2001.00814.x]

11 陈东风, 胡辂, 易萍, 刘为纹, 房殿春, 曹红. 幽门螺杆菌对体外原代培养的人胆囊上皮细胞损伤作用. 世界华人消化杂志 2004; 12: 1835-1839

12 Vilkin A, Nudelman I, Morgenstern S, Geller A, Bar Dayan Y, Levi Z, Rodionov G, Hardy B, Konikoff F, Gobbic D, Niv Y. Gallbladder inflammation is associated with increase in mucin expression and pigmented stone formation. *Dig Dis Sci* 2007; 52: 1613-1620 [PMID: 17385041 DOI: 10.1007/s10620-006-9162-9]

13 孙登群, 孟翔凌, 龚仁华, 王敬民. 胆囊动力学变化对胆囊结石形成的作用. 中华消化外科杂志 2009; 8: 228-299

14 张万星, 郭怀斌, 曹月敏, 王兰辉, 彭彦辉, 孟惠彦. 胆囊幽门螺杆菌感染与胆囊壁胆囊收缩素受体mRNA表达的关系. 中华实验外科杂志 2006; 23: 931-933

15 宋敏, 吴杰, 王萍, 黄晓东, 邓昊. 幽门螺杆菌与原发性胆总管结石形成的关系. 广东医学 2011; 32: 607-609

16 于岚, 何小东, 武峤, 刘卫, 洪涛. 胆囊结石相关危险因素的探讨. 中华肝胆外科杂志 2011; 17: 711-713

17 崔鸿斌, 李培武, 王秉钧, 魏丽娜. 内镜与腹腔镜联合治疗胆囊结石合并胆总管结石的疗效. 中国老年学杂志 2012; 32: 721-722

18 吴波, 郑长青. 幽门螺杆菌、胃肠激素与糖尿病胃轻瘫的关系. 世界华人消化杂志 2010; 18: 1616-1619

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年5月18日; 22(14): 2069-2072
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

小组心理干预对妊娠期糖尿病患者焦虑抑郁情绪及妊娠结局的影响

杜 献, 阮淑萍, 朱剑峰

杜献, 浙江省温岭市妇幼保健院妇产科 浙江省温岭市 317500
阮淑萍, 浙江省温岭市妇幼保健院内科 浙江省温岭市 317500
朱剑峰, 浙江省嘉兴市嘉善县中医医院消化科 浙江省嘉兴市 314100
杜献, 主管护师, 主要从事妇产科临床护理工作.
作者贡献分布: 此课题由杜献设计; 研究过程由杜献与阮淑萍完成; 数据分析由阮淑萍完成; 写作由杜献、阮淑萍及朱剑峰完成.
通讯作者: 杜献, 主管护师, 317500, 浙江省温岭市城东街道下保路102号, 浙江省温岭市妇幼保健院妇产科. duxianyisheng@163.com
收稿日期: 2014-02-28 修回日期: 2014-04-03
接受日期: 2014-04-09 在线出版日期: 2014-05-18

Influence of group psychological intervention on anxiety, depression and pregnancy outcomes in primiparous women

Xian Du, Shu-Ping Ruan, Jian-Feng Zhu

Xian Du, Department of Gynaecology and Obstetrics, Wenling Women's and Children's Hospital, Wenling 317500, Zhejiang Province, China
Shu-Ping Ruan, Department of Internal Medicine, Wenling Women's and Children's Hospital, Wenling 317500, Zhejiang Province, China
Jian-Feng Zhu, Department of Gastroenterology, TCM Hospital of Jiashan, Jiaxing 314100, Zhejiang Province, China
Correspondence to: Xian Du, Charge Nurse, Department of Gynaecology and Obstetrics, Wenling Women's and Children's Hospital, 102 Xiabao Road, Wenling 317500, Zhejiang Province, China. duxianyisheng@163.com
Received: 2014-02-28 Revised: 2014-04-03
Accepted: 2014-04-09 Published online: 2014-05-18

Abstract

AIM: To analyze the influence of group psychological intervention on anxiety, depression and pregnancy outcomes in primiparous women.

METHODS: Eighty primiparous women who accepted regular inspection and delivered at our hospital from January 2011 to January 2013 were randomly divided into either a control group or an observation group. The control group was given regular health education, while the observation group was given group psychological intervention. The anxiety, depression and pregnancy outcome between the two groups were compared.

RESULTS: The scores of anxiety and depression in the observation group were significantly lower than those in the control group (33.01 ± 3.51 *vs* 43.83 ± 3.04, t = 26.74, P < 0.05; 31.83 ± 6.22 *vs* 39.71 ± 4.37, t = 15.31, P < 0.05). The pregnancy outcomes in the observation group were better than those in the control group (10.00% *vs* 47.50%, P < 0.05).

CONCLUSION: Group psychological intervention can improve anxiety, depression and pregnancy outcomes in primiparous women.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Group psychological intervention; Gestational diabetes mellitus; Anxiety; Depression; Pregnancy outcome

Du X, Ruan SP, Zhu JF. Influence of group psychological intervention on anxiety, depression and pregnancy outcomes in primiparous women. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(14): 2069-2072 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2069.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i14.2069

摘要

目的: 探讨小组心理干预对改善妊娠期糖尿病患者焦虑抑郁情绪和妊娠结局的影响.

方法: 选取2011-01/2013-01在我院就诊的妊娠期糖尿病患者80例, 应用随机数字表法将患者分成观察组和对照组, 观察组施以小组心理干预, 而对照组仅施以常规健康教育, 对比分析两组患者的焦虑、抑郁结果的评价得分以及妊娠结局的结果.

结果: 观察组患者焦虑和抑郁评分明显低于对照组(33.01±3.51 *vs* 43.83±3.04, t = 26.74, P<0.05)(31.83±6.22 *vs* 39.71±4.37, t = 15.31, P<0.05), 同时较对照组, 母婴结局也相对较差(10.00% *vs* 47.50%, P<0.05).

结论: 将小组心理干预的方法应用于妊娠糖

■背景资料
妊娠期糖尿病是指在原有糖尿病的基础上出现合并妊娠症, 或者是妊娠前为隐性糖尿病、妊娠后逐渐发展为糖尿病的情况, 属高危妊娠, 对母体及胎儿有较大危害, 临床过程较为复杂, 母婴死亡率较高, 如控制不良可导致母婴不良妊娠结局. 随着社会经济的发展, 人们生活方式的改变, 晚婚晚育的女性比例逐渐增高, 妊娠糖尿病发病率有上升趋势, 由于患者对病情的不了解, 孕妇常常产生抑郁焦虑情绪, 严重危害着胎儿的正常发育, 因此必须引起足够重视.

■同行评议者
郝丽萍, 副教授, 华中科技大学同济医学院公共卫生学院营养与食品卫生学系

■研发前沿
随着人们生活方式的改变妊娠期糖尿病发病率有逐年增高的趋势，由于患者处于妊娠期，活动的不方便以及对病情的不了解，患者极易出现焦虑、抑郁情绪，严重危害着孕妇以及胎儿的健康发育.

尿病患者的护理之中，可以有效降低孕妇焦虑抑郁的发生率，减少产科并发症及围产儿并发症出现的概率，值得进一步推广.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 小组心理干预; 妊娠糖尿病; 焦虑; 抑郁; 妊娠结局

核心提示: 由本研究结果可知，干预期结束后，两组患者的焦虑和抑郁测评得分情况较干预前都有所降低，但经过小组心理干预的观察组患者的状况明显优于使用常规手段的对照组，说明小组心理干预对抑制患者妊娠糖尿病患者的焦虑抑郁情况效果更好；而在妊娠结局方面，观察组产生妊娠并发症的患者只有4例，而对照组却高达19例，发生率几乎是观察组的5倍，妊娠糖尿病患者一般伴有严重的心理压力，这种不良情绪可以导致生长激素、胰高血糖素、去甲肾上腺素等应激性激素分泌增加，继而引起血糖增高，极易导致产生妊娠高血压综合征等并发症，严重危害孕妇自身以及胎儿的健康发育，而小组心理干预以“自我认知疗法”和“身心语法”为基础，结合“道德体谅模式”，指导患者以正确的视角面对各种问题，以积极的心态面对疾病，增加的治疗动机，有效地降低孕妇产生妊娠并发症的概率.

杜献，阮淑萍，朱剑峰. 小组心理干预对妊娠期糖尿病患者焦虑抑郁情绪及妊娠结局的影响. 世界华人消化杂志 2014; 22(14): 2069-2072 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2069.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i14.2069

0 引言

妊娠期糖尿病(gestational diabetes mellitus, GDM)是指在原有糖尿病的基础上出现合并妊娠症，或者是妊娠前为隐性糖尿病、妊娠后逐渐发展为糖尿病的情况，属高危妊娠，对母体及胎儿有较大危害，临床过程较为复杂，母婴死亡率较高，如控制不良可导致母婴不良妊娠结局[1,2]. 随着社会经济的发展，人们生活方式的改变，晚婚晚育的女性比例逐渐增高，妊娠糖尿病发病率有上升趋势，由于患者对病情的不了解，孕妇常常产生抑郁焦虑情绪，严重危害着胎儿的正常发育，因此必须引起足够重视[3,4]. 为了降低孕妇分娩时的风险，保证胎儿的正常健康发育，我院尝试将小组心理干预的手段应用于对妊娠期糖尿病患者的护理之中，取得理想效果，现总结如下.

1 材料和方法

1.1 材料 选择2011-01/2013-01于我院就诊的妊娠期糖尿病患者80例，经过检查，患者均符合《妊娠合并糖尿病临床诊断与治疗推荐指南(草案)》诊断标准，应用随机数字表法将患者分成观察组和对照组，其中观察组孕妇年龄最大29岁，最小23岁，平均年龄25.03岁±2.43岁，孕次最多3次，最少1次，其中高中以下学历14例，高中15例，高中以上11例；对照组孕妇年龄最大29岁，最小23岁，平均年龄24.62岁±2.71岁，孕次为1-3次，其中高中以下学历13例，高中17例，高中以上10例，两组孕妇在年龄、职业、学历、病情等一般资料方面均无明显差异(P>0.05)，具有可比性，患者无精神病史和言语障碍者.

1.2 方法 首先将此次研究方案报送医疗道德委员会批准，所有参与此次研究的患者、医生以及护理人员均签署自愿书，保证此次研究室所有参与者真实自愿. 在此基础上，将患者按照随机原则分成观察组和对照组，对照组施以常规健康教育以及治疗方法，观察组在常规治疗以及教育的基础上施以小组心理干预的手段，其中，具体小组心理干预手段如下.

1.2.1 小组心理干预步骤：对护理人员和患者进行分组，每组10人，其中每组孕妇7人，护理人员3人，每次小组活动应在护理人员的组织指导下进行，地点在我院的患者活动中心，室内配备了多媒体影音播放装置，座椅成圆形排列，每次时间从下午15点开始，16点结束，定期在每周日举行，干预期为5 mo，初步分为5个阶段，并确定每个阶段的主题，定期合理的对孕妇进行指导干预. 我院在查阅大量文献的基础上，并咨询相关心理辅导专家，结合我院实际情况，以团体辅导中的“身心语法”和“自我认知法”为基础[5]，结合德育模式中的“体谅模式”，制定了小组心理干预的具体实施步骤，具体主题、目标、内容如下表1所示.

1.2.2 小组心理干预的注意事项：我院在此次研究中，将小组心理干预的时间固定在每周周末下午15-16点，时长约为60 min，在日常护理中，护理人员要留心患者在平时生活的细微表情变化，以微笑表情对患者进行服务，以此拉近医患之间的距离，尽早建立信任感；协助患者进行日常适当的行为活动，多聆听患者倾诉，了解目前所担忧的问题，并给予适当的安慰和开导，以此产生共鸣，力求通过共情的方式准确定位组内每位患者的心理症结所在，为小组心理干预的第三阶段(探索阶段)奠定基础.

加强对本组患者的安全健康教育，每天护理人员都要对患者的身体状况，了解患者的病情，向患者讲述妊娠糖尿病的病因以及注意事项，

表 1 小组心理干预护理阶段步骤、目标

阶段	时长	主题	目标	内容
初始阶段	2 wk	心心相印	互相认识小组成员, 做到初步了解, 引起孕妇心理共鸣, 初步建立成员间的信任感.	参与的护理人员介绍本次小组心理干预的活动目的, 激发小组成员兴趣, 相互自我介绍, 留下联系方式.
过渡阶段	4 wk	守望相助	通过第一阶段的小组成员介绍, 初步了解成员间所存在的问题, 互相鼓舞小组成员之间的情绪, 同舟共济.	以“身心语法”为基础, 建立每个小组的留言册, 鼓励每位成员将自己目前的问题以匿名的方式写在留言册上, 如时机成熟可以鼓励成员大胆的对自己目前存在的焦虑和担心问题进行当面表达; 然后结合德育中的”体谅模式”为基础, 以”角色扮演”的方式, 首先由成员对患者所出问题进行安慰劝解, 使每位成员有机会参与到心理的解决中, 深入患者内心, 做到感同身受, 最后由护理人员进行总结、开导安慰,
探索阶段	6 wk	心灵探索	了解成员出现情绪问题的根本原因所在, 在护理人员的指导下, 通过小组成员的共同的探讨, 进一步认识每位成员的心理问题, 增进成员间的感情.	结合”自我认知法”, 通过上一阶段的扮演不同角色, 通过亲身感受, 小组成员已经体会到不良情绪产生的原因, 然后护理人员要以专业的角度对成员所出现问题进行指导, 劝解, 了解心理问题出现的症结所在, 并向小组成员传授学习恰当的沟通技巧, 心理咨询师引导、总结.
活动阶段	6 wk	同心同德	力求使每位成员初步学会如何管理自我情绪.	通过案例、视屏等手段, 护理人员要对组员进行情绪管理干预, 使组员领悟到遇事时的不良情绪反应.
结束阶段	2 wk	拥抱明天	通过观看专题片, 看到自身的价值, 增强战胜病魔的信心, 对自己以及孩子的明天增强信心.	小组成员谈谈参与此次心理干预的感受, 以及结合自己实际, 总结自己笑对人生的技巧.

表 2 两组患者术前术后焦虑、抑郁情况比较 (n = 40)

分组	焦虑自评量表		抑郁自评量表	
	干预前	干预后	干预前	干预后
观察组	51.83 ± 3.74	33.01 ± 3.51	47.33 ± 5.91	31.83 ± 6.22
对照组	50.81 ± 3.13	43.83 ± 3.04	46.83 ± 6.11	39.71 ± 4.37
t值	2.46	26.74	0.91	15.31
P值	>0.05	<0.01	>0.05	<0.05

以此消除患者对病情本身的焦虑, 根据每位患者的具体状况, 有针对性的缓解患者心理疑虑, 有效配合患者的常规治疗.

1.2.3 观察指标: 采用国际上流行的焦虑自评量表(self-rating anxiety scale, SAS)和抑郁自评量表(self-rating depression scale, SDS)对分别对两组患者进行干预前和干预后进行测评, 得分以(平均值±标准差)表示, 将测评得粗分×1.25 = 标准分, 标准分≥50分者即可以确定为焦虑状态或抑郁状态[6]; 对于妊娠结局方面, 妊娠糖尿病患者极易产生一些并发症, 例如妊高症、羊水过多、巨大儿、产后出血等症状, 因此, 将这四种并发症作为观察指标作为对于小组心理干预治疗妊娠糖尿病效果指标[4].

统计学处理 采用SPSS17.0统计软件进行数据分析, SAS与SDS评分以mean±SD表示, 计量资料进行t检验, 4个观察指标用百分数表示, 采计数资料进行χ^2检验, P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 两组患者干预前后焦虑、抑郁情况对比 在干预前后分别对两组患者进行焦虑抑郁情况调查, 经过研究发现, 观察组患者的心理焦虑、抑郁得分明显低于对照组, 可以看出小组心理干预较常规健康教育方法对患者的心理焦虑、抑郁有更好的抑制作用(表2).

2.2 两组患者妊娠结局比较 经过此次研究, 施以小组心理干预的观察组患者在妊娠糖尿病患者出现并发症例数明显低于施以常规对照组患者, 两组患者具有明显性差异(P<0.01)(表3).

■相关报道
有研究表明妊娠糖尿病孕妇较正常孕妇更担心胎儿的健康, 更容易产生抑郁焦虑等不良情绪.

■同行评价
本文设计合理, 具有一定借鉴价值.

表 3 两组患者干预后妊娠结局情况比较 (n = 40)

分组	妊高症	羊水过多	巨大儿	产后出血	合计	χ^2	P值
观察组	1	2	0	1	4	14.60	<0.01
对照组	6	5	4	4	19		

3 结果

随着人们生活方式的改变妊娠期糖尿病发病率有逐年增高的趋势, 由于患者处于妊娠期, 活动的不方便以及对病情的不了解, 患者极易出现焦虑、抑郁情绪, 严重危害着孕妇以及胎儿的健康发育. 有研究表明妊娠糖尿病孕妇较正常孕妇更担心胎儿的健康, 更容易产生抑郁焦虑等不良情绪, 我院此次研究将小组心理干预应用于对妊娠糖尿病的护理中, 效果显著. 由本研究结果可知, 干预期结束后, 两组患者的焦虑和抑郁测评得分情况较干预前都有所降低, 但经过小组心理干预的观察组患者的状况明显优于使用常规手段的对照组, 说明小组心理干预对抑制患者妊娠糖尿病患者的焦虑抑郁情况效果更好; 而在妊娠结局方面, 观察组产生妊娠并发症的患者只有4人, 而对照组却高达19人, 发生率几乎是观察组的5倍, 妊娠糖尿病患者一般伴有严重的心理压力, 这种不良情绪可以导致生长激素、胰高血糖素、去甲肾上腺素等应激性激素分泌增加, 继而引起血糖增高, 极易导致产生妊娠高血压综合征等并发症, 严重危害孕妇自身以及胎儿的健康发育, 而小组心理干预以“自我认知疗法”和“身心语法”为基础, 结合“道德体谅模式”, 指导患者以正确的视角面对各种问题, 以积极的心态面对疾病, 增加的治疗动机, 有效地降低孕妇产生妊娠并发症的概率[6-9].

小组心理干预是一种团体心理干预形式, 在团体情境下, 借助团体的力量和护理人员的心理咨询技术, 使团体成员自知并自助, 借以次达到消除症状、改善适应、发展人格的目的[8,9]. 我院在此次研究中, 以自我认知疗法和身心语法为基础, 而德育可以培养人正确的思想观和意识, 结合我院的实际情况, 将心理团辅和德育模式创造性的结合起来, 制定出我院特色的小组心理干预方式, 尤其是通过心理角色扮演, 可以让每位患者了解自己以及他人, 同时也为患者提供了一次心理交流, 学会管理自我情绪, 处理自己生活中情绪问题的机会, 为进行常规治疗提供思想保障.

小组心理干预是一个有组织复杂的过程, 需要专门的护理人员进行定期组织, 策划[10-16]; 其次小组心理干预不是一成不变的, 应该根据患者的具体情况, 不断充实和丰富干预护理内容, 确保小组心理干预可以持续成为一种有效地预防围产期疾病消除患者不良情绪的手段.

4 参考文献

1 邹丹, 金丰梅. 早期护理干预对妊娠期糖尿病妊娠结局的影响. 临床护理杂志 2013; 11: 12-14
2 林苑, 钟红珠, 李卓华. 妊娠期糖代谢异常对妊娠结局的影响. 中国现代医生 2010; 48: 26-27
3 赖爱如, 苏凤笑, 袁笑玲. 浅谈综合护理干预对妊娠糖尿病孕期的血糖和负性情绪的影响. 国际医药卫生导报 2013; 19: 2619-2620
4 陈国新, 周善明. 果糖胺及糖化血红蛋白在妊娠糖尿病诊断中的临床应用. 中国现代医生 2010; 48: 78-79
5 于丽月, 王爱民. 高龄妊娠糖尿病病人的心理问题及护理. 全科护理 2011; 9: 76-78
6 张林, 李子明. 妊娠期糖尿病病人常见心理问题及干预研究进展. 护理研究 2010; 24: 1317-1320
7 刘小玲, 董振银. 身心语法程序和团体辅导改善孕产妇心理状况的对照研究. 中国初级卫生保健 2011; 25: 63-64
8 周艳瑢. 护理干预对初产妇焦虑和分娩质量的影响. 中国医药导报 2010; 7: 161-162
9 王小霞. 针对性心理干预对初产妇产后焦虑抑郁的影响研究. 中国现代医生 2010; 49: 63-64
10 贺美玲, 隆春玲. 小组心理干预对空巢老年人焦虑抑郁情绪的影响. 中华护理杂志 2013; 48: 450-452
11 明雅焜, 李丽芳, 梅晓芳, 黄娟苗. 开设妊娠期糖尿病护理专科门诊的实践与体会. 现代临床护理 2010; 11: 61-62, 66
12 曾雅畅, 李慕军. 格列本脲治疗妊娠期糖尿病临床进展. 中国实用妇科与产科杂志 2013; 18: 590-594
13 张娅, 徐先明. 妊娠期糖尿病病因学研究进展. 中国实用妇科与产科杂志 2013; 21: 299-302
14 尹月娥, 郭霞, 王金华, 高儒. 孕产期全程护理对流动人口妊娠期糖尿病影响的研究. 当代医学 2010; 23: 1-2
15 徐莉辉. 妊娠期糖尿病120例临床分析. 当代医学 2011; 13: 2-3
16 张敏. 妊娠期糖尿病的护理. 中国实用医药 2013; 8: 233-234

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年5月18日; 22(14): Ⅰ-Ⅴ
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

《世界华人消化杂志》投稿须知

《世界华人消化杂志》为保证期刊的学术质量, 对所有来稿均进行同行评议, 是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊2012年版)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》收录的学术期刊.

1 投稿总则

1.1 性质 《世界华人消化杂志(*World Chinese Journal of Digestology*, *WCJD*, ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569)》是一份同行评议和开放获取期刊(Open Access Journal, OAJ), 创始于1993-01-15, 旬刊, 每月8、18和28号出版. 《世界华人消化杂志》编辑委员会成员, 由483位专家组成, 分布在30个省市、自治区和特别行政区.

《世界华人消化杂志》的首要任务是出版胃肠病学, 肝病学, 消化系内镜学, 消化系外科学, 消化系肿瘤学, 消化系影像学, 消化系介入治疗, 消化系病理学, 消化系感染学, 消化系药理学, 消化系病理生理学, 消化系病理学, 消化系循证医学, 消化系管理学, 胰腺病学, 消化系检验医学, 消化系分子生物学, 消化系免疫学, 消化系微生物学, 消化系遗传学, 消化系转化医学, 消化系诊断学, 消化系治疗学和糖尿病等领域的原始创新性文章, 综述文章和评论性的文章. 最终目的是出版高质量的文章, 提高期刊的学术质量, 使之成为指导本领域胃肠病学和肝病学实践的重要学术性期刊, 提高消化系疾病的诊断和治疗水平.

《世界华人消化杂志》由百世登出版集团有限公司(Baishideng Publishing Group, BPG)主办和出版的一份印刷版, 电子版和网络版三种版本的学术类核心期刊, 由北京百世登生物医学科技有限公司生产制作, 所刊载的全部文章存储在《世界华人消化杂志》网站上. OAJ最大的优点是出版快捷, 一次性缴纳出版费, 不受版面和彩色图片限制, 作者文章在更大的空间内得到传播, 全球读者免费获取全文PDF版本, 网络版本和电子期刊. 论文出版后, 作者可获得高质量PDF, 包括封面、编委会成员名单、目次、正文和封底, 作为稿酬, 样刊两本. BPG拥有专业的编辑团队, 涵盖科学编辑、语言编辑和电子编辑.目前编辑和出版42种临床医学OAJ期刊, 其中英文版41种, 具备国际一流的编辑与出版水平.

《世界华人消化杂志》被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊 2012年版)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》, 《Chemical Abstracts》, 《EMBASE/Excerpta Medica》, 《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录. 《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号. 《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学研究领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊.

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

2 撰稿要求

2.1 总体标准 文稿撰写应遵照国家标准GB7713科学技术报告、学位论文和学术论文的编写格式, GB6447文摘编写规则, GB7714文后参考文献著录规则, GB/T 3179科学技术期刊编排格式等要求; 同时遵照国际医学期刊编辑委员会(International Committee of Medical Journal Editors)制定的《生物医学期刊投稿的统一要求(第5版)》(Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals). 见: *Ann Intern Med* 1997; 126: 36-47.

2.2 名词术语 应标准化, 前后统一, 如原词过长且多次出现者, 可于首次出现时写出全称加括号内注简称, 以后直接用简称. 医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准, 药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准, 国家食品药品监督管理局批准的新药, 采用批准的药名; 创新性新药, 请参照我国药典委员会的“命名原则”, 新译名词应附外文. 公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称), 如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD50, HBsAg, HCV

《世界华人消化杂志》英文摘要被《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录.

RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等. 为减少排印错误, 外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上. 中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者, 直接采用原有英语词, 如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词, 如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者, 宜用汉语拼音, 如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤). 通常应小写.

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

2.4 计量单位 采用国际单位制并遵照有关国家标准, GB3100-3102-93量和单位. 原来的“分子量”应改为物质的相对分子质量. 如 30 kD改为M_r 30 000或30 kDa(M大写斜体, r小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即A_r(A大写斜体, r小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u(小写正体). 计量单位在+、－及-后列出. 在±前后均要列出, 如37.6 ℃±1.2 ℃, 45.6岁±24岁, 56.4 d±0.5 d. 3.56±0.27 pg/ml应为3.56 ng/L±0.27 ng/L. BP用kPa(mmHg), RBC数用1×10^{12}/L, WBC数用1×10^{9}/L, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L. M_r明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示. 1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸. 长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm×6 cm×4 cm. 生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO_2结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L. 年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁. 例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把1×10^{-3} g与5×10^{-7} g之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm. 国际代号不用于无数字的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d. 在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg•d), 且在整篇文章内应统一. 单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs. 半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L乙醇; 5% CO_2, 50 mL/L CO_2; 1∶1 000肾上腺素, 1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg, 改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm = 45×10^{-6}; 离心的旋转频率(原称转速)用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示.

2.5 统计学符号 (1)*t*检验用小写*t*; (2)*F*检验用英文大写*F*; (3)卡方检验用希文小写χ^2; (4)样本的

相关系数用英文小写r; (5)自由度用希文小写υ; (6)样本数用英文小写n; (7)概率用英文斜体大写P. 在统计学处理中在文字叙述时平均数±标准差表示为mean±SD, 平均数±标准误为mean±SE. 统计学显著性用$^{a}P<0.05$, $^{b}P<0.01$($P>0.05$不注). 如同一表中另有一套P值, 则$^{c}P<0.05$, $^{d}P<0.01$; 第三套为$^{e}P<0.05$, $^{f}P<0.01$等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字, 如1 000-1 500 kg, 3.5 mmol/L±0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6 347意指6 000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的mean±SD应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3 614.5 g±420.8 g, SD的1/3达一百多g, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6 kg±0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm±0.27 cm, 其SD/3 = 0.09 cm, 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位. 有效位数以后的数字是无效的, 应该舍. 末尾数字, 小于5则舍, 大于5则进, 如恰等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 末尾时只可1次完成, 不得多次完成. 例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该23.48→23.5→24. 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写. 如1985年4月12日, 可写作1985-04-12; 1985年4月, 写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止, 写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止, 写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30. 百分数的有效位数根据分母来定: 分母≤100, 百分数到个位; 101≤分母≤1 000, 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1 486 800.475 65. 完整的阿拉伯数字不移行!

2.7 标点符号 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律用逗号分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末. 标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU. 外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体.

3 稿件格式

3.1 题名 简明确切地反映论文的特定内容, 鲜明而有特色, 阿拉伯数字不宜开头, 不用副题名, 一般20个字. 避免用“的研究”或“的观察”等非特定词.

3.2 作者 论文作者的署名，按照国际医学杂志编辑委员会(ICMJE, International Committee of Medical Journal Editors)作者资格标准执行. 作者标准为: (1)对研究的理念和设计、数据的获得、分析和解读做出重大贡献; (2)起草文章, 并对文章的重要的知识内容进行批评性修改; (3)接受对准备发表文章的最后一稿. 作者应符合条件1, 2, 3, 对研究工作有贡献的其他人可放入志谢中. 作者署名的次序按贡献大小排列, 多作者时姓名间用逗号, 如是单名, 则在姓与名之间空1格(正文和参考文献中不空格). 《世界华人消化杂志》要求所有署名人写清楚自己对文章的贡献. 世界华人消化杂志不设置共同第一作者和共同通信作者.

3.3 单位 作者后写单位的全称空1格后再写省市及邮政编码. 格式如: 张旭晨, 梅立新, 承德医学院病理教研室 河北省承德市 067000

3.4 第一作者简介 格式如: 张旭晨, 1994年北京中医药大学硕士, 讲师. 主要从事消化系统疾病的病理研究.

3.5 作者贡献分布 格式如: 陈湘川与庞丽娟对此文所作贡献两均等; 此课题由陈湘川、庞丽娟、陈玲、杨兰、张金芳、齐妍及李洪安设计; 研究过程由陈玲、杨兰、张金芳、蒋金芳、杨磊、李锋及曹秀峰操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由曹秀峰提供; 数据分析由陈湘川、杨兰及庞丽娟完成; 本论文写作由陈湘川、庞丽娟及李洪安完成.

3.6 同行评议者 为了确保刊出文章的质量, 本刊即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名, 职称, 机构的名称与文章一同在脚注出版. 格式如: 房静远, 教授, 上海交通大学医学院附属医院仁济医院, 上海市消化疾病研究所.

《世界华人消化杂志》编辑部, 100025, 北京市朝阳区, 东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893, Email: wcjd@wjgnet.com; http://www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》自2006-01-01起改为旬刊发行, 每月8、18、28日出版.

3.7 基金资助项目 格式如: 国家自然科学基金资助项目, No. 30224801

3.8 通讯作者 格式如: 通讯作者: 黄缘, 教授, 330006, 江西省南昌市民德路1号, 南昌大学第二附属医院消化内科, 江西省分子医学重点实验室. huang9815@yahoo.com

电话: 0351-4078656 传真: 0351-4086337

收稿日期: 修回日期:

3.9 英文摘要

题名 文章的题名应言简意赅, 方便检索, 英文题名以不超过10个实词为宜, 应与中文题名一致.

作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名, 后姓; 首字母大写, 双名之间用半字线“-”分开, 多作者时姓名间加逗号. 格式如: “潘伯荣”的汉语拼写法为“Bo-Rong Pan”.

单位 先写作者, 后写单位的全称及省市邮政编码. 例如: Xu-Chen Zhang, Li-Xin Mei, Department of Pathology, Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China

基金资助项目 格式如: Supported by National Natural Science Foundation of China, No.30224801

通讯作者 格式如: Correspondence to: Dr. Lian-Sheng Ma, Taiyuan Research and Treatment Center for Digestive Diseases, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China. wcjd@wjgnet.com

收稿及修回日期 格式如: Received: Revised:

摘要 包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致.

3.10 中文摘要 必须在300字左右, 内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的), 方法(必须包括材料或对象. 应描述课题的基本设计, 双盲、单盲还是开放性, 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度. 研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征. 如研究对象是患者, 应阐明其临床表现, 诊断标准. 如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不良反应而中途停止研究), 结果(应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确、具体, 所列数据经用何种统计学方法处理; 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值; 概率写*P*, 后应写出相应显著性检验值), 结论(全文总结, 准确无误的观点及价值).

3.11 正文标题层次 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献. 序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文. 正文内序号连排用(1), (2), (3). 以下逐条陈述.

0 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系.

1 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验. 对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可.

2 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论.

3 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾.

图表的数量要精选. 表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容. 表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出. 图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出. 同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述. 如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化. A: …; B: …; C: …; D: …; E: …; F: …; G: …. 曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号. 统计学显著性用: $^{a}P<0.05$, $^{b}P<0.01$($P>0.05$不注). 如同一表中另有一套*P*值, 则$^{c}P<0.05$, $^{d}P<0.01$; 第3套为$^{e}P<0.05$, $^{f}P<0.01$. *P*值后注明何种检验及其具体数字, 如$P<0.01$, $t = 4.56$ *vs* 对照组等, 注在表的左下方. 表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐. “空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等. 表图勿与正文内容重复. 表图的标目尽量用*t*/min, *c*/(mol/L), *p*/kPa, *V*/mL, *t*/℃表达.

志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐.

4 参考文献 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序. 提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码. 文中如列作者姓名, 则需在“Pang等”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在该论述的句末右上

角注码号. 如马连生[1]报告……, 潘伯荣等[2-5]认为……; PCR方法敏感性高[6-7]. 文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]. 所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed,《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献. 期刊: 序号, 作者(列出全体作者). 文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID和DOI编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部),书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页.

5 网络版的发表前链接 本刊即将开始实行网络版的每篇文章上都有该文发表前纪录的链接, 包括首次提交的稿件, 同行评议人报告, 作者给审稿人回信和作者修回稿, 以PDF格式上传. 读者可以针对论文、审稿意见和作者的修改情况发表意见, 指出问题与不足; 作者也可以随时修改完善自己发表的论文, 使文章的发表成为一个编者、同行评议者、读者、作者互动的动态过程.

4 写作格式实例

4.1 述评写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/sp.asp

4.2 研究原著写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjyz.asp

4.3 焦点论坛写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/jdlt.asp

4.4 文献综述写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/wxzs.asp

4.5 研究快报写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjkb.asp

4.6 临床经验写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/lcjy.asp

4.7 病例报告写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/blbg.asp

5 投稿方式

接受在线投稿, 不接受其他方式的投稿, 如E-mail、打印稿. 在线投稿网址: http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx. 无法在线提交的通过submission@wjgnet.com, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893寻求帮助. 投稿须知下载网址http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.pdf. 审稿过程平均时间需要14-28天. 所有的来稿均经2-3位同行专家严格评审, 2位或以上通过为录用, 否则将退稿或修改后再审.

6 修回稿须知

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

6.2 稿件修改 来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删节时, 本刊编辑部将把退修稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改, 而作者必须于15天内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期寄回, 所造成的问题由作者承担责任.

6.3 版权 本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负. 作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期): 起止页码. 如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有.

《世界华人消化杂志》编辑部

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号

远洋国际中心D座903室

电话: 010-5908-0035

传真: 010-8538-1893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

http: //www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》坚持开放获取(open access, OA)的出版模式, 编辑出版高质量文章, 努力实现编委、作者和读者利益的最大化, 努力推进本学科的繁荣和发展, 向专业化、特色化和品牌化方向迈进.

世界华人消化杂志 2014年5月18日; 22(14): I
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

2014年国内国际会议预告

2014-03-12/15
2014年亚太肝病研究协会肝病周(APASL)
会议地点: 澳大利亚
联系方式: http://apasl2014.com/

2014-04-05/09
2014年美国癌症研究协会大会(AACR)
会议地点: 美国
联系方式: http://www.aacr.org/home/scientists/meetings--workshops/meetings--workshops-calendar.aspx

2014-04-09/13
2014年第49届欧洲肝病研究协年会(EASL)
会议地点: 英国
联系方式: http://www.easl.eu/_the-international-liver-congress/general-information

2014-04-18/05-20
2014中国超声医学学术大会
会议地点: 北京市
联系方式: http://www.cuda.org.cn/new/meeting

2014-04-26/27
中华医学会临床药学分会2014年全国学术会议
会议地点: 成都市
联系方式: http://www.cncscp.org/

2014-05-04/06
2014年美国消化疾病周(DDW)
会议地点: 美国
联系方式: http://www.ddw.org/attendees/faqs

2014-05-16/18
2014第七届世界癌症大会
会议地点: 南京市
联系方式: http://www.bitlifesciences.com/cancer2014/cn/meeting.asp

2014-05-23/24
第六届药源性疾病与安全用药中国论坛-消化系统与肝病药物专题研讨会
会议地点: 北京市
联系方式: adrhuiyi@126.com

2014-05-30/06-03
2014年美国临床肿瘤协会年会(ASCO)
会议地点: 美国
联系方式: http://www.asco.org/meetings/calendar-events

2014-06-04/07
2014年第20届国际肝移植协会年会(ILTS)
会议地点: 英国
联系方式: http://www.ilts.org/meetings/

2014-06-09/12
2014年第47届欧洲儿科胃肠病, 肝病和营养学协会大会(ESPGHAN)
会议地点: 以色列
联系方式: http://www.espghan2014.org/

2014-06-18/21
2014年欧洲胃肠与腹部放射学协会肝部成像研讨会(ESGAR)
会议地点: 奥地利
联系方式: http://www.esgar.org/files/File/ESGAR14

2014-06-25/28
2014年世界胃肠癌大会(WGIC)
会议地点: 西班牙
联系方式: http://worldgicancer.com/WCGI

2014-06-25/28
2014年第14届欧洲内窥镜手术协会国际大会(EAES)
会议地点: 法国
联系方式: hdimcs@163.com

2014-06-27/28
2014中华医学会肝病与代谢学术研讨会
会议地点: 上海市
联系方式: lilyjia@163.com

2014-07-26/31
2014年世界移植大会
会议地点: 美国
联系方式: http://www.wtc2014.org/

2014-07-28/30
第3届国际肠胃病学与泌尿学大会
会议地点: 美国
联系方式: http://www.omicsgroup.com/gastroenterology-urology-conference-2014/registration.php

2014-09-05/07
2014年第8届国际肝癌协会大会(ILCA)
会议地点: 日本
联系方式: http://www.ilca2014.org/

2014-09-26/30
2014年欧洲临床肿瘤协会年会(ESMO)
会议地点: 西班牙
联系方式: http://www.esmo.org/

2014-10-18/22
2014年第22届欧洲联合胃肠病学周(UEG)
会议地点: 奥地利
联系方式: http://www.ueg.eu/week/past-future/future-ueg-week/

世界华人消化杂志 2014年5月18日; 22(14): I
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

志谢世界华人消化杂志编委

本期文章审稿中(包括退稿), 我刊编委付出了宝贵的时间和大量的精力, 提高了《世界华人消化杂志》的学术质量, 在此表示衷心感谢!

白爱平 副教授
江西省南昌大学第一附属医院消化病研究所

白雪 副主任医师
中国人民解放军北京军区总医院普通外科

陈云昭 副教授
新疆石河子大学医学院/一附院病理科

程树群 副教授
中国人民解放军第二军医大学东方肝胆外科医院综合治疗三科

崔莲花 副教授
青岛大学医学院公共卫生系

段义农 教授
南通大学医学院病原生物学系

范学工 教授
中南大学湘雅医院感染病科

戈之铮 教授
上海交通大学医学院附属仁济医院消化科

顾国利 副主任医师
中国人民解放军空军总医院普通外科

何松 教授
重庆医科大学附属第二医院消化内科

侯风刚 副主任医师
上海中医药大学附属市中医医院肿瘤科

江学良 教授
中国人民解放军济南军区总医院消化科

金瑞 教授
首都医科大学附属北京佑安医院消化科

李革 副教授
延边大学附属医院

李涛 副主任医师
北京大学人民医院肝胆外科

李瑜元 教授
广州市第一人民医院内科

刘超 教授
中山大学孙逸仙纪念医院(附属第二医院)肝胆胰外科

刘丽江 教授
江汉大学医学院病理学

刘亮 副主任医师
复旦大学胰腺癌研究所, 复旦大学附属肿瘤医院胰腺肝胆外科

禄韶英 博士
西安交通大学医学院第一附属医院普外科

吕云福 教授
海南省人民医院外一科

毛高平 教授
中国人民解放军空军总医院

莫发荣 副教授
广西医科大学组织学与胚胎学教研室

倪润洲 教授
南通大学附属医院消化内科

钱林学 主任医师
首都医科大学附属北京友谊医院

施诚仁 教授
上海交通大学医学院附属新华医院小儿外科

石毓君 副研究员
四川大学华西医院移植工程与移植免疫实验室

宋振顺 教授
西京医院肝胆外科

谭学瑞 教授
汕头大学医学院第一附属医院内科

汤朝晖 副主任医师
上海交大医学院附属新华医院普外科

汤华 研究员
重庆医科大学感染性疾病分子生物学重点实验室

王道荣 主任医师
江苏省苏北人民医院胃肠外科

世界华人消化杂志
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

《中文核心期刊要目总览》收录证书

《中文核心期刊要目总览》入编通知

尊敬的主编先生/女士：

我们谨此郑重通知：依据文献计量学的原理和方法，经研究人员对相关文献的检索、统计和分析，以及学科专家评审，贵刊《**世界华人消化杂志**》入编《中文核心期刊要目总览》2011 年版（即第六版）之 **临床医学/特种医学类** 的核心期刊。该书由北京大学出版社出版。书中按《中国图书馆分类法》的学科体系，列出了 73 个学科的核心期刊表，并逐一对核心期刊进行了著录。著录项目包括：题名、并列题名、主办单位、创刊时间、出版周期、学科分类号、ISSN 号、CN 号、邮发代号、编辑部地址、邮政编码、电话、网址、电子邮箱、内容简介等。

评选核心期刊的工作，是运用科学方法对各种刊物在一定时期内所刊载论文的学术水平和学术影响力进行综合评价的一种科研活动，研究工作量浩大。北京地区十几所高校图书馆、中国科学院国家科学图书馆、中国社会科学院文献信息中心、中国人民大学书报资料中心、中国学术期刊（光盘版）电子杂志社、中国科学技术信息研究所、北京万方数据股份有限公司、国家图书馆等相关单位的百余名专家和期刊工作者参加了研究。

课题组对核心期刊的评价理论、评价方法等问题进行了深入研究，进一步改进了核心期刊评价方法，使之更趋科学合理，力求使评价结果符合客观实际。对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被索量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web 下载量等 9 个评价指标，选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到 60 余种，统计到的文献数量共计 221177 余万篇次，涉及期刊 14400 余种。参加核心期刊评审的学科专家达 8200 多位。经过定量筛选和专家定性评审，从我国正在出版的中文期刊中评选出 1982 种核心期刊。

需要特别指出的是，该研究成果只是一种参考工具书，主要是为图书情报界、出版界等需要对期刊进行评价的用户提供参考，例如为各图书情报部门的中文期刊采购和读者导读服务提供参考帮助等，不应作为评价标准。谨此说明。

顺颂

撰安

《中文核心期刊要目总览》2011 年版编委会

代章：

2012 年 1 月



百世登

Baishideng®

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



ISSN 1009-3079



© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

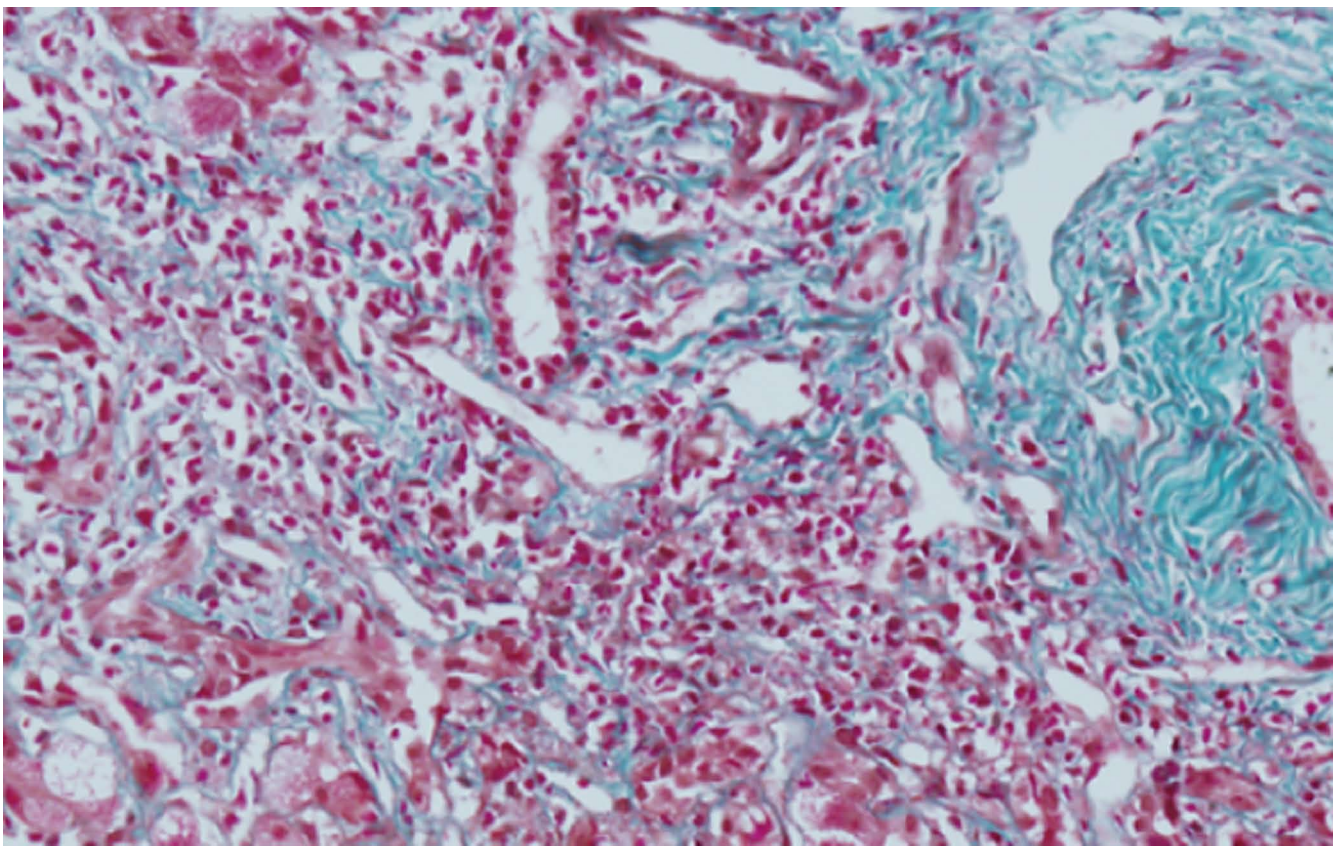
ISSN 1009-3079 (print)
ISSN 2219-2859 (online)

世界华人消化杂志®

WORLD CHINESE JOURNAL OF DIGESTOLOGY

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2014 年 5 月 28 日　　第 22 卷　　第 15 期　(Volume 22 Number 15)



15/2014

《世界华人消化杂志》是一份同行评议性的旬刊，是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊 2012年版)》和《中文核心期刊要目总览(2011年版)》收录的学术类期刊.《世界华人消化杂志》的英文摘要被《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录.

ISSN 1009-3079
9 771009 307056 15>

世界华人消化杂志 www.wjgnet.com 二零一四年五月二十八日 第二十二卷 第十五期

世界华人消化杂志®

编辑委员会

2012-01-01/2014-12-31

wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

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

总顾问

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

名誉主编

潘伯荣教授

主编

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

编委

消化内科学

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

消化外科学

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

世界华人消化杂志®

编辑委员会

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

消化感染病学

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

消化中医药学

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

消化肿瘤学

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

消化影像学

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

消化内镜及介入治疗学

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

消化中西医结合学

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

消化基础研究

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

消化病理学

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

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目　次 ●　2014 年 5 月 28 日　第 22 卷　第 15 期　(总第455期)

述　评

2073 质子泵抑制剂与酸相关性疾病
李浩, 施芳红, 刘菲, 陈浩, 王永庆, 龚晓健, 魏继福

基础研究

2081 Hepal-6细胞热休克后裂解蛋白致敏的树突状细胞瘤苗对肝细胞癌瘤内$CD25^{+}Foxp3^{+}$ Treg细胞的影响
李日伦, 周爽, 秦杰, 梁春敏, 罗国容

2091 早期生活应激所致功能性慢性内脏痛对成年后大鼠抑郁样行为和下丘脑室旁核促肾上腺皮质激素释放激素表达的影响
喻乐, 花璐, 陈自洋, 花嵘, 张咏梅

临床研究

2100 泛素调节因子在人肝纤维化过程中的表达及意义
王标钰, 张法灿, 张国

2108 GPC3与肝癌细胞增殖的相关性
李海荣, 黄兰姗, 陈 罡, 陆会平, 冯振博

文献综述

2116 肝癌免疫逃逸与免疫治疗的研究进展
胡高裕, 黄赞松

2122 体外循环心脏术后胃肠道并发症的研究进展
赵志宇, 宋兵

2128 结直肠癌的表观遗传学
剧宏燕, 柴秀坤, 白文元

研究快报

2134 ERK1/2通路对Genistein与5-FU诱导的人肝癌细胞周期阻滞的影响
刘丹, 赵忠新, 迟大鹏, 梅庆步, 于海涛, 岳丽玲, 王玉, 陈萍, 郑立红, 王秀华, 王钰粟

2140 人*Cdc25C*基因克隆及其原核表达载体的构建与表达
卓少元, 陈承晓, 钟卫干, 农蔚霞, 黄天明, 马步国, 莫发荣

临床经验

2145 磁共振扩散加权成像在评估食管癌放射治疗后生存状态中的价值
刘辉, 时高峰, 李如迅, 贾丽涛, 翟英敏, 邵娴

2150 多潘立酮联合中药自拟和胃方对糖尿病胃轻瘫患者治疗的效果
谢英姿, 张茂华

2155 荧光定量PCR法在胃癌血清miR-21检测中的应用
朱伦, 杨少芳, 余算, 郑阿迈, 徐荣伟

2159 聚乙二醇干扰素α-2a联合六味五灵片治疗HBeAg阳性慢性乙型肝炎38例
刘方军, 刘智惠

2163 TIPS手术治疗肝硬化消化系出血232例
程双平, 薛红利, 曾维政, 秦建平, 蒋明德

2169 三维重建技术在精准肝切除中的临床应用
王松平, 李建生, 马金良, 芙卫东, 葛勇胜, 余继海

2175 腹腔镜下胆囊切除患者住院期间发生心肌梗死的影响因素
仇奕然, 张海燕

2179 胰十二指肠切除术后肠内外联合营养与完全胃肠外营养的临床疗效比较
李忠, 马荣强

2183 慢性胰腺炎手术和内镜治疗疗效比较的系统评价
杨骥, 黄强, 林先盛, 刘臣海, 谢放, 李瑞阳

2190 腹腔镜手术在急性胆源性胰腺炎EST失败后的应用
魏晓平, 胡明道, 杨万雄, 李伟, 周健, 田大广

2194 食物特异性IgG抗体检测在儿童慢性消化系统疾病中的应用价值
章幽芳, 黄清选

2198 结直肠切除吻合术行胃肠减压的必要性
李忠, 张云, 樊振涛

2202 结肠癌患者预后临床病理的多因素分析
张宝昕, 潘宏达, 高兆亚, 顾晋, 赵军

2208 经肛型肠梗阻减压管治疗结直肠癌梗阻
曹峰瑜, 吴彪

2213 便通胶囊联合莫沙必利治疗老年痔患者术后便秘的临床疗效
韩柯, 向前
2217 幽门螺杆菌阳性消化性溃疡的治疗及护理效果
俞惠敏, 诸景辉

附　录
Ⅰ-Ⅴ 《世界华人消化杂志》投稿须知
Ⅰ 2014年国内国际会议预告

志　谢
Ⅰ 志谢世界华人消化杂志编委

消　息
2099《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版)
2115《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊
2149 中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》影响因子0.873
2212《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号
2216《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费

封面故事
王标钰, 张法灿, 张国. 泛素调节因子在人肝纤维化过程中的表达及意义. 世界华人消化杂志 2014; 22(15): 2100-2107
http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2100.asp
http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2100

本期责任人
编务 李香; 送审编辑 鲁亚静, 郭鹏; 组版编辑 鲁亚静; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 郭鹏; 形式规范审核 编辑部主任 田滢; 最终清样审核总编 马连生

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平　题写封面刊名
陈可冀　题写版权刊名

(旬刊)

创　刊 1993-01-15
改　刊 1998-01-25
出　版 2014-05-28
原刊名 新消化病学杂志

期刊名称
世界华人消化杂志

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

主编
程英升, 教授, 200233, 上海市, 上海交通大学附属第六人民医院放射科
党双锁, 教授, 710004, 陕西省西安市, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科
江学良, 教授, 250031, 山东省济南市, 中国人民解放军济南军区总医院消化科
刘连新, 教授, 150001, 黑龙江省哈尔滨市, 哈尔滨医科大学第一临床医学院普外科
刘占举, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院消化内科
吕宾, 教授, 310006, 浙江省杭州市, 浙江中医药大学附属医院(浙江省中医院)消化科
马大烈, 教授, 200433, 上海市, 中国人民解放军第二军医大学附属长海医院病理科
王俊平, 教授, 030001, 山西省太原市, 山西省人民医院消化科
王小众, 教授, 350001, 福建省福州市, 福建医科大学附属协和医院消化内科
姚登福, 教授, 226001, 江苏省南通市, 南通大学附属医院临床医学研究中心
张宗明, 教授, 100016, 北京市, 清华大学第一附属医院消化医学中心

编辑部
田滢, 主任
《世界华人消化杂志》编辑部
100025, 北京市朝阳区东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室
电话: 010-59080035　手机: 13901166126
传真: 010-85381893
E-mail: wcjd@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com

出版
百世登出版集团有限公司
Baishideng Publishing Group Inc
8226 Regency Drive, Pleasanton, CA 94588, USA
Fax: +1-925-223-8242
Telephone: +1-925-223-8243
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊 2012年版)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》, 《Chemical Abstracts》, 《EMBASE/Excerpta Medica》, 《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录.

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

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

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

定价
每期90.67元 全年36期3264.00元

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

World Chinese Journal of Digestology

May 2014 Contents in Brief Volume 22 Number 15

EDITORIAL

2073 H^+/K^+-ATPase inhibitors and acid-related disorders
Li H, Shi FH, Liu F, Chen H, Wang YQ, Gong XJ, Wei JF

BASIC RESEARCH

2081 Effect of administration of BMDC vaccine sensitized by heat shocked hepal-6 cell proteins on intratumoral $CD25^+Foxp3^+$ Tregs in mouse hepatocellular carcinoma
Li RL, Zhou S, Qin J, Liang CM, Luo GR

2091 Effect of functional chronic visceral pain caused by neonatal colorectal distension on depression-like behavior and expression of CRH in the paraventricular nucleus of adult male rats
Yu L, Hua L, Chen ZY, Hua R, Zhang YM

CLINICAL RESEARCH

2100 Significance of expression of Smad ubiquitination regulatory factors in liver fibrosis
Wang BY, Zhang FC, Zhang G

2108 Correlation between GPC3 expression and proliferation of hepatocellular carcinoma cells
Li HR, Huang LS, Chen G, Lu HP, Feng ZB

REVIEW

2116 Study progress in immune escape mechanism and immunotherapy for primary hepatocellular carcinoma
Hu GY, Huang ZS

2122 Gastrointestinal complications following cardiac surgery with cardiopulmonary bypass
Zhao ZY, Song B

2128 Epigenetics of colorectal cancer
Ju HY, Chai XK, Bai WY

RAPID COMMUNICATION

2134 Role of ERK1/2 pathway in genistein and 5-FU-induced cell cycle arrest in human hepatoma cells
Liu D, Zhao ZX, Chi DP, Mei QB, Yu HT, Yue LL, Wang Y, Chen P, Zheng LH, Wang XH, Wang YS

2140 Cloning and prokaryotic expression of human Cdc25C
Zhuo SY, Chen CX, Zhong WG, Nong WX, Huang TM, Ma BG, Mo FR

CLINICAL PRACTICE

2145 Value of MR-DWI imaging in evaluation of living status of patients with esophageal cancer after radiotherapy
Liu H, Shi GF, Li RX, Jia LT, Zhai YM, Shao X

2150 Heweifang combined with domperidone for treatment of diabetic gastroparesis
Xie YZ, Zhang MH

2155 Clinical significance of quantitative PCR detection of serum miR-21 in patients with gastric cancer
Zhu L, Yang SF, Yu S, Zheng AM, Xu RW

2159 PEG-IFN-α-2a combined with Liuweiwuling tablets for treatment of patients with HBeAg positive hepatitis B
Liu FJ, Liu ZH

2163 TIPS for treatment of gastrointestinal bleeding in patients with liver cirrhosis: Analysis of 232 cases
Cheng SP, Xue HL, Zeng WZ, Qin JP, Jiang MD

2169 Clinical application of three-dimensional reconstruction in precise hepatectomy
Wang SP, Li JS, Ma JL, Jia WD, Ge YS, Yu JH

2175 Risk factors for myocardial infarction in inpatients after laparoscopic cholecystectomy
Qiu YR, Zhang HY

2179 Clinical efficacy of enteral nutrition combined with parenteral nutrition versus total parenteral nutrition in patients after pancreaticoduodenectomy
Li Z, Ma RQ

2183 Endoscopic versus surgical treatment of chronic pancreatitis: A systematic review
Yang J, Huang Q, Lin XS, Liu CH, Xie F, Li RY

2190 Laparoscopic cholecystectomy and laparoscopic common bile duct exploration in the treatment of acute biliary pancreatitis after failure of endoscopic sphincterotomy
Wei XP, Hu MD, Yang WX, Li W, Zhou J, Tian DG

2194 Value of food-specific IgG antibody detection in children with chronic digestive system diseases
Zhang YF, Huang QX

2198 Necessity of gastrointestinal decompression after colorectal resection and anastomosis
Li Z, Zhang Y, Fan ZT

2202 Multivariate analysis of prognostic factors for patients with colon carcinoma
Zhang BX, Pan HD, Gao ZY, Gu J, Zhao J

2208 Transanal ileus tube decompression for treatment of bowel obstruction due to colorectal cancer
Cao FY, Wu B

2213 Curative effect of Biantong capsules combined with mosapride in treatment of constipation after hemorrhoid surgery in elderly patients
Han K, Xiang Q

	2217 Therapeutic and nursing effects of *Helicobacter pylori* positive peptic ulcer *Yu HM, Zhu JH*
APPENDIX	I – V Instructions to authors of *World Chinese Journal of Digestology* I Meeting events calendar in 2014
ACKNOWLEDGMENT	I Acknowledgments to reviewers of *World Chinese Journal of Digestology*
COVER	*Wang BY, Zhang FC, Zhang G.* Significance of expression of Smad ubiquitination regulatory factors in liver fibrosis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(15): 2100-2107 http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2100.asp http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2100
RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE	Assistant Editor: *Xiang Li* Review Editor: *Ya-Jing Lu, Peng Guo* Electronic Page Editor: *Ya-Jing Lu* English Language Editor: *Tian-Qi Wang* Editor-in-Charge: *Peng Guo* Proof Editor: *Ying Tian* Layout Editor: *Lian-Sheng Ma*

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

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993
Renamed on January 25, 1998
Publication date May 28, 2014

NAME OF JOURNAL
World Chinese Journal of Digestology

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

EDITOR-IN-CHIEF
Ying-Sheng Cheng, Professor, Department of Radiology, Sixth People's Hospital of Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200233, China
Shuang-Suo Dang, Professor, Department of Infectious Diseases, the Second Affiliated Hospital of Medical School of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, Shaanxi Province, China
Xue-Liang Jiang, Professor, Department of Gastroenterology, General Hospital of Jinan Military Command of Chinese PLA, Jinan 250031, Shandong Province, China
Lian-Xin Liu, Professor, Department of General Surgery, the First Clinical Medical College of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China
Zhan-Ju Liu, Professor, Department of Gastroenterology, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China
Bin Lv, Professor, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310006, Zhejiang Province, China
Da-Lie Ma, Professor, Department of Pathology, Changhai Hospital, the Second Military Medical University of Chinese PLA, Shanghai 200433, China
Jun-Ping Wang, Professor, Department of Gastroenterology, People's Hospital of Shanxi, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China
Xiao-Zhong Wang, Professor, Department of Gastroenterology, Union Hospital, Fujian Medical University, Fuzhou 350001, Fujian Province, China
Deng-Fu Yao, Professor, Clinical Research Center, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China
Zong-Ming Zhang, Professor, Department of General Surgery, Digestive Medical Center, the First Affiliated Hospital, School of Medicine, Tsinghua University, Beijing 100016, China

EDITORIAL OFFICE
Ying Tian, Director
World Chinese Journal of Digestology
Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China
Telephone: +86-10-59080035 13901166126
Fax: +86-10-85381893
E-mail: wcjd@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com

PUBLISHER
Baishideng Publishing Group Inc
8226 Regency Drive, Pleasanton, CA 94588, USA
Fax: +1-925-223-8242
Telephone: +1-925-223-8243
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com

PRINT SUBSCRIPTION
RMB 90.67 Yuan for each issue
RMB 3264 Yuan for one year

COPYRIGHT
© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. Articles published by this Open Access journal are distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-commercial License, which permits use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited, the use is non commercial and is otherwise in compliance with the license.

SPECIAL STATEMENT
All articles published in journals owned by the Baishideng Publishing Group (BPG) represent the views and opinions of their authors, and not the views, opinions or policies of the BPG, except where otherwise explicitly indicated.

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

世界华人消化杂志 2014年5月28日; 22(15): 2073-2080
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

述评 EDITORIAL

质子泵抑制剂与酸相关性疾病

李 浩, 施芳红, 刘 菲, 陈 浩, 王永庆, 龚晓健, 魏继福

李浩, 刘菲, 陈浩, 王永庆, 魏继福, 江苏省人民医院药学部临床药理实验室 江苏省南京市 210029
李浩, 上海交通大学医学院附属上海儿童医学中心药剂科 上海市 200127
施芳红, 上海交通大学医学院附属上海仁济医院药剂科 上海市 200127
龚晓健, 中国药科大学药理教研室 江苏省南京市 210009
魏继福, 研究员, 博士生导师, 主要从事药学与分子生物学研究及药物一期临床研究.
国家自然科学基金资助项目, Nos. 30972822, 81273274, 81273593
科技重大专项“呼吸病新药临床评价研究技术平台建设”基金资助项目, No. 2011ZX09302-003-02
作者贡献分布: 李浩与施芳红主要完成论文的写作; 刘菲与陈浩提供文献的检索和筛选; 王永庆与龚晓健对论文进行审校; 魏继福设计论文的整体结构和思路.
通讯作者: 魏继福, 研究员, 210029, 江苏省南京市鼓楼区广州路300号, 江苏省人民医院药学部临床药理实验室.
weijifu@hotmail.com
电话: 025-68136984
收稿日期: 2013-12-13 修回日期: 2014-04-10
接受日期: 2014-04-17 在线出版日期: 2014-05-28

H^+/K^+-ATPase inhibitors and acid-related disorders

Hao Li, Fang-Hong Shi, Fei Liu, Hao Chen, Yong-Qing Wang, Xiao-Jian Gong, Ji-Fu Wei

Hao Li, Fei Liu, Hao Chen, Yong-Qing Wang, Ji-Fu Wei, Research Division of Clinical Pharmacology, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China
Hao Li, Department of Pharmacy, Shanghai Children's Medical Center, Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai 200127, China
Fang-Hong Shi, Department of Pharmacy, Renji Hospital, Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai 200127, China
Xiao-Jian Gong, Department of Pharmacology, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, Jiangsu Province, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, Nos. 30972822, 81273274 and 81273593; National Major Scientific, Technological Special Project for "Significant New Drugs Development", No. 2011ZX09302-003-02
Correspondence to: Ji-Fu Wei, Researcher, Research Division of Clinical Pharmacology, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, 300 Guangzhou Road, Gulou District, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China. weijifu@hotmail.com
Received: 2013-12-13 Revised: 2014-04-10
Accepted: 2013-04-17 Published online: 2014-05-28

Abstract
H^+/K^+-ATPase inhibitors, which inhibit gastric acid secretion, are a known class of pharmaceutical agents generally used for the treatment of gastric acid-related diseases including peptic ulcer disease, functional dyspepsia and gastroesophageal reflux disease. This paper reviews the recent progress in research of H^+/K^+-ATPase inhibitors and their applications in gastric acid-related diseases.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: H^+/K^+-ATPase inhibitors; Acid-related disorders

Li H, Shi FH, Liu F, Chen H, Wang YQ, Gong XJ, Wei JF. H^+/K^+-ATPase inhibitors and acid-related disorders. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(15): 2073-2080
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2073.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2073

摘要
质子泵抑制剂主要作用于胃H^+/K^+-ATP酶, 从而达到抑制胃酸的目的. 临床上主要用于治疗胃酸分泌过多而引发的疾病, 如胃溃疡、十二指肠溃疡、功能性消化不良和胃食管反流病等. 本文针对质子泵抑制剂的研究进展及其在酸相关性疾病治疗中的应用进行综述.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 质子泵抑制剂; 酸相关性疾病

核心提示: 新一代质子泵抑制剂较第一代质子泵抑制剂起效快, 个体差异少, 在治疗酸相关性疾病中具有良好的应用前景. 钾竞争性酸阻滞剂虽然还未在国内广泛用于临床, 但其良好的稳定性和快速的体内作用使其具有良好的开发前景.

李浩, 施芳红, 刘菲, 陈浩, 王永庆, 龚晓健, 魏继福. 质子泵抑制剂与酸相关性疾病. 世界华人消化杂志 2014; 22(15): 2073-2080
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2073.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2073

0 引言
质子泵(proton pump), 即H^+/K^+-ATP酶(H^+/K^+-

■背景资料
质子泵抑制剂是一类作用于胃H^+/K^+-ATP酶, 抑制胃酸分泌的药物. 其在临床上主要用于酸相关性疾病的治疗.

■同行评议者
刘占举, 教授, 同济大学附属上海市第十人民医院; 汤静, 主管药师, 上海交通大学附属第一人民医院药学部

■研发前沿
目前研究热点集中在新一代质子泵抑制剂如具有光学特异性或受代谢酶影响较小的新型药物. 钾竞争性酸阻滞剂随表现出良好的抑酸效果, 但尚缺乏足够的临床数据.

ATPase), 是一种结合在细胞膜表面的, 利用ATP水解产生的能量驱动细胞膜两侧离子交换(质子、氯离子和钾离子)的P型阳离子转运体[1]. 质子泵主要存在于胃壁细胞和肾脏, 其功能各不相同. 肾脏的质子泵主要负责酸化尿液和重吸收钾[2]. 而人体内主要的质子泵存在于胃壁细胞分泌小管的细胞膜上, 其借助ATP降解提供的能量进行H^+、K^+交换, 特异性地将H^+泵入胃腔, 酸化胃内容物, 形成胃内高酸状态[3].

质子泵抑制剂(H^+/K^+-ATPase inhibitors, proton pump inhibitors, PPIs), 包括不可逆性抑制质子泵的药物如替莫拉唑(timoprazole, TMZ)、奥美拉唑(omeprazole, OMZ)、兰索拉唑(lansoprazole, LSZ)、雷贝拉唑(rabeprazole, RBZ)等和可逆性抑制质子泵的钾离子竞争性拮抗剂(the K^+-competitive acid pump antagonists, P-CABs/APAs). 目前, 质子泵抑制剂主要用于治疗与胃酸分泌过多有关的疾病.

1 质子泵抑制剂的种类及其发展

20世纪初, 消化性溃疡和幽门螺杆菌(*Helicobactor pylori*, *H. pylori*)的致病作用与胃酸分泌过多之间的关系被得到证实. 在组胺2受体阻断剂如西咪替丁上市前, 胃酸分泌过多一直无法得到有效地治疗. 组胺2受体阻断剂虽然可以有效的抑制胃酸分泌, 但此类药物无法防止溃疡复发, 使得患者需长期维持药物治疗, 造成绝大多数患者产生药物耐受. 20世纪初期, 胃食管反流病(gastroesophogeal reflux disease, GERD)的发病率急剧增加. 此类疾病的发病机制与胃酸分泌过多密切相关. 然而组胺受体拮抗剂并不能有效的治疗此类疾病. 1975年, 第一个以H^+/K^+-ATP酶为作用靶点的化合物问世. 其利用胃酸激活成活性化合物后, 与H^+/K^+-ATP酶共价结合, 抑制胃酸分泌. 1983年, 由TMZ修饰后得到的衍生物OMZ, 率先应用于临床研究中, 并取得了惊人的疗效. 1989年后, OMZ被广泛的用于治疗胃酸相关性疾病. 随之而来的是其他几个质子泵抑制剂包括LSZ、泮托拉唑、RBZ等[1]. 然而, 这些化合物血浆半衰期相对较短, 且需要在酸性条件下激活, 存在一定的局限性. 因此, 一种全新的质子泵抑制剂, K^+竞争性质子泵拮抗剂面世. 此类化合物不依赖于酸活化, 直接与质子泵结合, 更加快速有效的抑制胃酸分泌. 虽然此类药物与不可逆抑制的质子泵抑制剂相比, 作用时间较短, 与质子泵结合是可逆的, 需在血浆中维持一定的浓度, 才能确保其有效的作用于质子泵[1]. 但是其在酸性环境中稳定, 可以制成缓释制剂延长药物的释放时间, 以减少每日的给药次数, 因此有良好的应用前景.

1.1 不可逆性质子泵抑制剂 TMZ及其衍生物吡考拉唑(picoprazole)于1978年问世. 其高度特异的作用于质子泵, 且不受细胞外分泌物(如组胺、胃泌素或乙酰胆碱)或细胞内分泌物(如双丁酰环磷腺苷)的影响[4]. 替莫拉唑除具有良好的抑制胃酸分泌的作用外, 还可抑制甲状腺中的碘化物的积累[5]. 由于替莫拉唑有引发甲状腺相关不良反应发生的风险, 替莫拉唑并没有在临床上得到广泛的应用.

第一代质子泵抑制剂包括OMZ、LSZ和泮托拉唑. OMZ为单烷氧基吡啶化合物, 是由美国食品和药物管理局(Food and Drugs Administration, FDA)批准的第一个用于临床的苯并咪唑类衍生物. 其口服生物利用度为30%-40%左右[6]. 与OMZ相比, LSZ在吡啶环4位侧链导入氟原子(F3)后, 以三氟乙氧基为取代基, 其口服生物利用度较OMZ提高了30%左右[7]. 但Krupa等[8]研究表明, 老年患者使用LSZ可能出现低镁血症, 存在一定的安全隐患. 泮托拉唑吡啶环的4-甲氧基和3-甲氧基使其在中性pH环境中更加稳定, 且与质子泵结合具有更高的选择性[9]. 但Binnetoğlu等[10]研究发现, 泮托拉唑在治疗上消化道出血的过程中会导致血小板的减少, 不建议长期使用. 第一代PPI主要通过肝脏内的细胞色素P450(cytochrome P450, CYP450)的同工酶CYP2C19和CYP3A4代谢[4]. 根据人体内CYP2C19和CYP3A4基因分型及其表达酶活性的高低, 不同个体之间存在超快代谢者(ultra metabolizers, URMs)、纯合子强代谢者(homozygote extensive metabolizers, HomEMs)、杂合子强代谢者(heterozygous extensive metabolizers, HetEMs)和弱代谢者(poor metabolizers, PMs)四种类型[11,12]. 由于第一代质子泵抑制剂的代谢与CYP2C19基因分型及其表达酶活性的高低密切相关, 导致临床上不同患者使用质子泵抑制剂后其血药浓度存在巨大差异, 致使患者间抑酸效果不一, 且容易导致药物相互作用. 此外, 第一代质子泵抑制剂不能持续性的抑制胃酸, 需要在多次给药后才能发挥最大抑酸作用, 且易出现夜间“酸突破”. 因此第一代质子泵抑制剂有待进一步改善.

新一代质子泵抑制剂在不同程度上克服了

第一代质子泵抑制剂的某些缺陷, 具有抑酸作用起效快、昼夜均可维持较高的抑酸水平、个体差异小、不良反应少且与其他药物之间较少发生相互影响. 雷贝拉唑作为新一代质子泵抑制剂的代表药, 可作用于H^+/K^+-ATP酶的4个部位, 具有起效快、作用持久、抑酸强度高等特点[13]. 埃索美拉唑是第一个具有单一S型异构体的光学特异的质子泵抑制剂. 由于其特殊的光学特性, 其更多地由CYP3A4代谢, 对CYP2C19依赖性小, 且半衰期较混合型长, 故血浆中活性药物浓度高而持久, 药物之间相互影响小, 具有良好的药效学特征[14]. Cardile等[15]证实, 埃索美拉唑可以安全有效地用于儿童GERD的治疗, 良好的控制反酸情况的发生, 但埃索美拉唑并不能显著改善新生儿GERD患者的体征和症状[16]. 之后上市的右兰索拉唑同样具有单一的光学特异性, 并较兰索拉唑有更为良好的药效学特征. Wu等[17]研究发现, 右兰索拉唑30 mg治疗GERD的疗效优于埃索美拉唑20 mg或40 mg, 且可以同时缓解胃灼热和酸反流症状[18]. 莱米诺拉唑除具有抗胃酸作用外, 还具有良好的胃黏膜保护作用[19]. 艾普拉唑对CYP2C19的依赖性小, 起效快, 且半衰期更长, 可持续抑酸及控制夜间酸分泌[20,21]. 临床上常用的几种不可逆质子泵抑制剂的作用特点如表1[22-25].

1.2 可逆性质子泵抑制剂 钾竞争性酸阻滞剂是一类新型质子泵抑制剂, 其通过竞争性抑制K^+进入壁细胞, 进而抑制H^+/K^+交换. 钾竞争性酸阻滞剂是一类亲脂性的弱碱性化合物, 且在酸性条件下有良好的稳定性, 解离常数较高(pKa约等于6.0), 与质子泵以非共价键结合, 属于可逆性质子泵抑制剂[26]. 目前, 钾竞争性酸阻滞剂主要包括咪唑吡啶(如SCH28080、AZD0865、BY841)和邻苯二甲酰磺胺嘧啶或喹啉衍生物(如SKF-96067、SKF-97574). 钾竞争性酸阻滞剂不依赖于酸活化, 可以直接作用于质子泵, 因此能够快速起效, 且在1 h内就能达到最大效果. 通过药代动力学研究发现, 该类药物血药浓度与口服给药剂量线性相关, 表明该类药物可以比较容易地达到最佳抑酸状态[27]. SCH28080是首个钾竞争性酸阻滞剂, 由于其存在严重的肝细胞毒性而终止了临床试验. 虽然soraprazan较埃索美拉唑抑酸作用强大持久[28], 但在经过二期临床研究后, soraprazan相关研究于2007年被终止. 目前, AZD-0865和Revaprazan等[29]已进入临床研究阶段, 且Revaprazan已在韩国获准上市. Lee等[30]研究证实, Revaprazan除具有良好的抑酸效果外, 还可以抑制*H. pylori*引起的环氧合酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)表达而达到良好的抗炎作用(表2).

2 质子泵抑制在酸相关疾病中的应用

酸相关疾病(acid related disorders, ARDs)是指由于胃酸分泌过多或与胃酸敏感有关的胃肠道疾病, 其主要包括消化性溃疡(peptic ulcer diseas, PUD)、GERD和功能性消化不良(functional dyspepsia, FD)[31,32]. 胃酸分泌由壁细胞分泌小管膜上的H^+/K^+-ATP酶(质子泵)参与完成[1]. *H. pylori*感染、十二指肠液反流、胃排空迟缓、长期服用非甾体抗炎药、不良生活习惯如吸烟、嗜酒等因素可使胃酸分泌增加, 从而导致食管、胃及十二指肠黏膜的损害[33]. 其中, *H. pylori*感染是消化性溃疡、慢性胃炎及胃癌的主要致病因素. *H. pylori*感染后, 可通过多重途径导致患者胃酸分泌量增加. *H. pylori*尿素酶分解尿素产生氨, 致使局部pH升高, 导致胃酸对胃泌素的反馈抑制作用受到干扰[33]. *H. pylori*感染使得D细胞旁分泌生长抑素减少, 减弱由生长抑素对G细胞产生的抑制作用, 致使G细胞敏感性增强[33]. 因此, *H. pylori*感染后患者血清胃泌素水平升高, 从而促进胃酸分泌. 胃酸在局部组织集聚使得pH值降低, 影响细胞内许多代谢酶的功能, 引起能量生成障碍, 细胞膜的主动转运过程失常, 致使细胞变性坏死. 此外, H^+过多, 还能刺激肥大细胞, 引起组胺分泌, 组胺通过旁分泌作用于壁细胞使胃酸分泌进一步增高, 且组胺还可刺激局部组织, 引起毛细血管扩张, 通透性增加, 最终导致黏膜充血水肿、出血、糜烂甚至溃疡的发生.

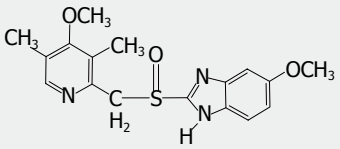
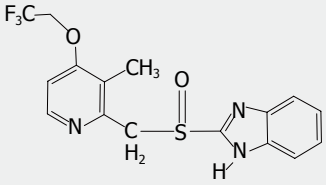
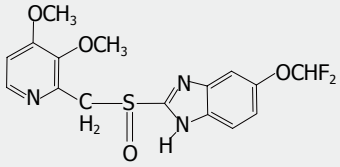
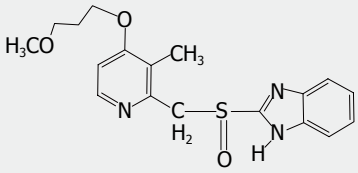
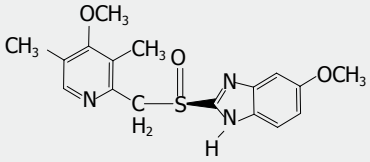
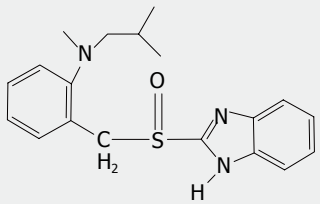
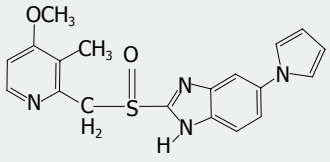
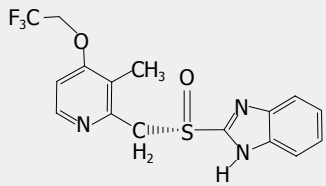
目前, 酸相关性疾病的治疗主要包括祛除病因、保护胃黏膜及抗酸治疗3个方面[33,34]. 减少服用胃黏膜刺激性药物、养成良好的生活习惯、戒除烟酒等可以减少酸相关性疾病的发生. 对于由*H. pylori*感染而导致的酸相关性疾病, 应当根除感染的*H. pylori*. 目前, 临床上治疗*H. pylori*多采用PPIs联合两种抗生素或铋剂联合两种抗生素方法治疗. 而非*H. pylori*感染而导致的酸相关性疾病主要采用抗酸治疗[35]. 根据抗酸药物作用机制的不同, 抗酸药物主要包括制酸剂和抑酸剂两类. 制酸剂主要是指能够中和胃酸的碱性药物, 如氢氧化铝凝胶、胃达喜、小苏打等. 应用后可迅速升高胃内pH值以减轻

■相关报道
张培培等在《质子泵抑制剂研究新进展》一文中对质子泵抑制剂的分子作用机制、药理作用和药动学特性及其影响因素做系统的综述.

■创新盘点

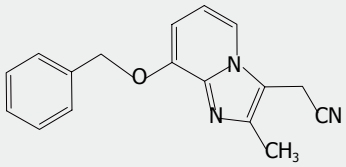
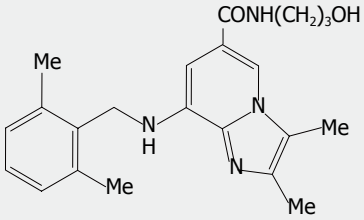
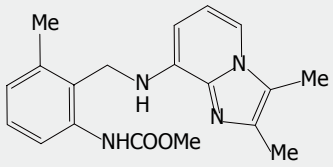
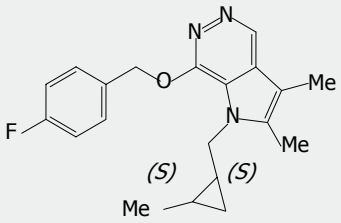
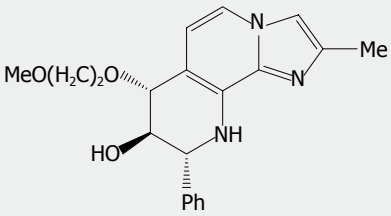
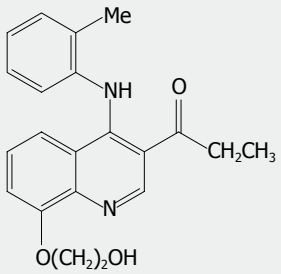
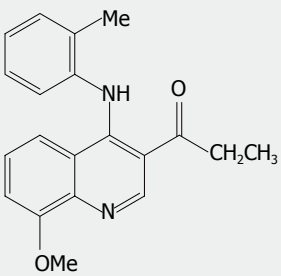
本文系统地介绍了质子泵抑制剂的发展史、目前的研究状况及临床上最新的试验结果.

表 1 临床上常用的几种不可逆性质子泵抑制剂

中文名	英文名	结构式	$t_{1/2}$(h)	T_{max}(h)	首次上市时间, 国家	是否收载于药典
奥美拉唑	Omeprazole		0.5–1.2	1–4	1988–10, 瑞士、德国	CP、USP、EP、BP、JP
兰索拉唑	Lansoprazole		0.9–2.1	1.2–2.1	1992–11, 日本	USP、EP、BP
泮托拉唑	Pantoprazole		0.8–2.0	2–4	1995–10, 德国	USP、EP、BP
雷贝拉唑	Rabeprazole		0.6–1.4	3–5	1998–3, 日本	JP
埃索美拉唑	Esomeprazole		1.3–1.6	1.0–3.5	2000–9, 英国	USP、EP、BP
莱米诺拉唑	laminoprazole		2.5	1–2	2000–12, 日本	否
艾普拉唑	Ilaprazole		4.3	4–5	2008–3, 中国	否
右兰索拉唑	Dexlansoprazole		1.0–2.0	1.0–2.0	2009–1, 美国	否

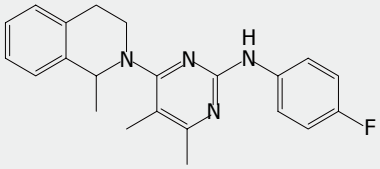
$t_{1/2}$: 半衰期; T_{max}: 达峰时间; USP: 美国药典USP35–NF30; EP: 欧洲药典7.0; BP: 英国药典BP2012; CP: 中国药典2010; JP: 日本药典JP16.

表 2 代表性钾竞争性酸阻滞剂

名称/代号	结构式	研发小组	现阶段情况	备注
SCH-28080		A Schering-Plough group	Phase Ⅰ后停止研发	肝细胞毒性
AZD-0865		AstraZeneca	Phase Ⅱb(美国)	临床试验阶段
Pumaprazole/ BY-841		The Byk Gulden group	Phase Ⅱ后停止研发	原因不详
CS-526		The Sankyo/Ube group	Phase Ⅰ后停止研发	原因不详
Soraprazan/ BY-359		An Altana group	Ⅱb期后停止研发	对化合物改进
SKF-96067		The SK&F group	Ⅱ/Ⅲ期后停止研发	原因不详
SKF-97574		The SK&F group	Ⅱ期后停止研发	原因不详

■应用要点
本文可以对临床用药给予一定的参考价值, 对于刚入门的读者也有很好的帮助.

■同行评价
本文对临床用药有一定指导价值.

Revaprazan		The Yuhan group	II 期(美国)	原因不详

临床症状. 但这类药物不能有效地阻断胃酸分泌, 需长期服用, 顾临床应用有限[36]. 抑酸剂主要包括胃泌素受体抑制剂、胆碱能受体抑制剂、H2受体抑制剂和PPI[1]. 胃泌素受体抑制剂如丙谷胺, 直接作用于胃泌素受体, 但其与受体结合的特异性不强, 抑酸作用较弱, 临床上很少应用. 胆碱能受体抑制剂能够抑制壁细胞膜上的M受体结合有效地抑制胃酸分泌, 且可阻断消化系平滑肌M受体, 解除平滑肌痉挛, 缓解疼痛. 但其对受体所在组织器官的选择性不强, 因而可导致较多的不良反应. 新一代胆碱能受体抑制剂哌仑西平(prenzepine)可选择性作用于胃肠平滑肌M受体, 因而不良反应相对较少, 具有较好的临床应用前景. H2受体抑制剂, 如尼替丁、法莫替丁、尼扎替丁及罗沙替丁等, 仅阻断组胺驱动的酸分泌, 抑酸作用因其他酸分泌刺激通路的存在而被削弱, 容易产生耐受性, 且由于其对组织胺其他型受体也有一定的作用, 故可引起较多的不良反应[33]. PPI是目前抑酸作用最强的一类药物. 自1988年第一个PPI OMZ问世以来, PPI已在临床上得到了广泛的应用. PPI是一类弱碱性的脂溶性药物, 在酸性环境下与H^+结合成离子状态并得以活化, 其次磺酰基团与质子泵的巯基进行不可逆的结合, 形成二硫键, 从而使质子泵永久性的失活, 达到强大的抑酸效果[1]. 第一代PPI如OMZ、泮托拉唑及LSZ主要通过肝脏CYP2C19代谢, 常出现用药的个体差异, 且与其他药物有交互影响[11]. 新一代PPI雷贝拉唑少依赖CYP2C19酶代谢, 因而个体差异较少, 与其他药物极少发生相互作用. 且在高酸和低酸环境下都能快速起效, 作用更稳定, 不良反应少, 且具有体外抗*H. pylori*活性, 直接攻击*H. pylori*, 非竞争的不可逆地抑制*H. pylori*尿素酶. 故具有良好的临床应用前景[1]. Haddad等[37]通过对1-11岁的GERD患儿给予RBZ研究发现, RBZ可以在24 wk内安全有效地用于儿童GERD的治疗.

质子泵抑制剂在治疗十二指肠溃疡[38]、胃部*H. pylori*感染[39]、GERD[40]、胃炎[41]、上消化道出血[42]等疾病中均有应用. 对于由*H. pylori*感染而引发的ARDs, 临床上推荐的治疗方法包括: (1)以质子泵抑制剂为主加用抗生素的联合疗法, 如采用PPI、阿莫西林、克拉霉素治疗2 wk, 之后连续服用PPI 4 wk, 总疗程为6 wk的治疗方案[43]; (2)以质子泵抑制剂、铋剂连用抗生素的三联疗法; (3)以质子泵抑制剂、铋剂、甲硝唑加抗生素的四联疗法. 其中, 四联疗法中常用的抗生素有阿莫西林、克拉霉素、左氧氟沙星、甲硝唑、四环素和呋喃唑酮6种, 根据患者自身情况可以结合不同的PPI给予诊疗方案[44]. Ren等[45]通过对PPI结合5-HT二联疗法与单独使用PPI治疗GERD的研究结果表明, 二联疗法产生不良反应的几率高于单独使用PPI, 且疗效与单独使用PPI并没有显著的提高. López-Alvarenga等[46]研究表明, 泮托拉唑-镁制剂可以安全有效的缓解GERD引起的食管内外症状. 对于患有PUD和GERD的老年患者, Haddad等[37]研究结果建议采用埃索美拉唑治疗.

3 结论

H^+/K^+-ATP酶是调节胃酸分泌的关键酶. 质子泵抑制剂可作用于H^+/K^+-ATP酶而达到抑制胃酸分泌的作用. 质子泵抑制剂在临床上使用时间长达20年, 且不良反应相对较少[47], 长期使用不会对胃部产生刺激而引起胃萎缩等情况的发生[48], 但长期使用质子泵抑制剂可能引起如骨折、呼吸系统感染、自发性腹膜炎、艰难梭杆菌感染等情况的发生[49,50]. 其相对良好的安全性和强大的抑制胃酸分泌的作用使其成为治疗酸相关性疾病最常使用的药物. 相信随着研究的深入, 质子泵抑制剂将具有更加广泛的应用前景.

4 参考文献

1 Li H, Meng L, Liu F, Wei JF, Wang YQ. H+/K+-ATPase inhibitors: a patent review. *Expert Opin Ther Pat* 2013; 23: 99-111 [PMID: 23205582]
2 Kone BC. Renal H,K-ATPase: structure, function and regulation. *Miner Electrolyte Metab* 1996; 22: 349-365 [PMID: 8933506]
3 梁小燕, 高青. 质子泵抑制剂的研发进展. 医学综述 2007; 13: 245-247

4 Sachs G, Shin JM, Vagin O, Lambrecht N, Yakubov I, Munson K. The gastric H,K ATPase as a drug target: past, present, and future. *J Clin Gastroenterol* 2007; 41 Suppl 2: S226-S242 [PMID: 17575528]
5 Zhang ML, Sugawa H, Mori T. Inhibition of thyrocyte iodide uptake by H+K+ ATPase inhibitor, timoprazole. *Endocr J* 1995; 42: 489-496 [PMID: 8556055]
6 Lindberg P, Brändström A, Wallmark B, Mattsson H, Rikner L, Hoffmann KJ. Omeprazole: the first proton pump inhibitor. *Med Res Rev* 1990; 10: 1-54 [PMID: 2404184]
7 Nagaya H, Satoh H, Maki Y. Possible mechanism for the inhibition of acid formation by the proton pump inhibitor AG-1749 in isolated canine parietal cells. *J Pharmacol Exp Ther* 1990; 252: 1289-1295 [PMID: 2156997]
8 Krupa LZ, Fellows IW. Lansoprazole-induced hypomagnesaemia. *BMJ Case Rep* 2014; 2014 [PMID: 24414180 DOI: 10.1136/bcr-2012-006342]
9 Kohl B, Sturm E, Senn-Bilfinger J, Simon WA, Krüger U, Schaefer H, Rainer G, Figala V, Klemm K. (H+,K+)-ATPase inhibiting 2-[(2-pyridylmethyl) sulfinyl]benzimidazoles. 4. A novel series of dimethoxypyridyl-substituted inhibitors with enhanced selectivity. The selection of pantoprazole as a clinical candidate. *J Med Chem* 1992; 35: 1049-1057 [PMID: 1313110]
10 Binnetoğlu E, Akbal E, Sen H, Güneş F, Erbağ G, Aşık M, Bozkurt N, Uludağ A, Tekin M, Tekin SZ. Pantoprazole-induced thrombocytopenia in patients with upper gastrointestinal bleeding. *Platelets* 2014 Feb 10. *[Epub ahead of print]* [PMID: 24512269]
11 张培培, 王永庆, 龚晓健. 质子泵抑制剂研究新进展. 药学进展 2011; 35: 487-495
12 李浩, 施芳红, 王德旺, 王永庆, 魏继福. 质子泵抑制剂在呼吸系统疾病和抗病毒领域的应用. 药学与临床研究 2013; 21: 539-543
13 Marelli S, Pace F. Rabeprazole for the treatment of acid-related disorders. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2012; 6: 423-435 [PMID: 22928894 DOI: 10.1586/egh.12.18]
14 Sahara S, Sugimoto M, Uotani T, Ichikawa H, Yamade M, Iwaizumi M, Yamada T, Osawa S, Sugimoto K, Umemura K, Miyajima H, Furuta T. Twice-daily dosing of esomeprazole effectively inhibits acid secretion in CYP2C19 rapid metabolisers compared with twice-daily omeprazole, rabeprazole or lansoprazole. *Aliment Pharmacol Ther* 2013; 38: 1129-1137 [PMID: 24099474 DOI: 10.1111/apt.12492]
15 Cardile S, Romano C. Clinical utility of esomeprazole for treatment of gastroesophageal reflux disease in pediatric and adolescent patients. *Adolesc Health Med Ther* 2012; 3: 27-31 [PMID: 24600284]
16 Davidson G, Wenzl TG, Thomson M, Omari T, Barker P, Lundborg P, Illueca M. Efficacy and safety of once-daily esomeprazole for the treatment of gastroesophageal reflux disease in neonatal patients. *J Pediatr* 2013; 163: 692-698. e1-e2 [PMID: 23800403 DOI: 10.1016/j.jpeds.2013.05.007]
17 Wu MS, Tan SC, Xiong T. Indirect comparison of randomised controlled trials: comparative efficacy of dexlansoprazole vs. esomeprazole in the treatment of gastro-oesophageal reflux disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2013; 38: 190-201 [PMID: 23718547 DOI: 10.1111/apt.12349]
18 Peura DA, Pilmer B, Hunt B, Mody R, Perez MC. Distinguishing the impact of dexlansoprazole on heartburn vs. regurgitation in patients with gastro-oesophageal reflux disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2013; 38: 1303-1311 [PMID: 24118079 DOI: 10.1111/apt.12504]
19 Okabe S, Shimosako K, Amagase K. Pharmacological regulation of gastric acid secretion in the apical membrane of parietal cells; a new target for antisecretory drugs. *J Physiol Pharmacol* 2001; 52: 639-656 [PMID: 11787764]
20 Seo KA, Lee SJ, Kim KB, Bae SK, Liu KH, Kim DH, Shin JG. Ilaprazole, a new proton pump inhibitor, is primarily metabolized to ilaprazole sulfone by CYP3A4 and 3A5. *Xenobiotica* 2012; 42: 278-284 [PMID: 22022918 DOI: 10.3109/00498254.2011.622416]
21 de Bortoli N, Martinucci I, Giacchino M, Blandizzi C, Marchi S, Savarino V, Savarino E. The pharmacokinetics of ilaprazole for gastro-esophageal reflux treatment. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 2013; 9: 1361-1369 [PMID: 23802731 DOI: 10.1517/17425255.2013.813018]
22 Lind T, Rydberg L, Kylebäck A, Jonsson A, Andersson T, Hasselgren G, Holmberg J, Röhss K. Esomeprazole provides improved acid control vs. omeprazole In patients with symptoms of gastro-oesophageal reflux disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2000; 14: 861-867 [PMID: 10886041]
23 Stedman CA, Barclay ML. Review article: comparison of the pharmacokinetics, acid suppression and efficacy of proton pump inhibitors. *Aliment Pharmacol Ther* 2000; 14: 963-978 [PMID: 10930890]
24 Shi S, Klotz U. Proton pump inhibitors: an update of their clinical use and pharmacokinetics. *Eur J Clin Pharmacol* 2008; 64: 935-951 [PMID: 18679668 DOI: 10.1007/s00228-008-0538-y]
25 Shin JM, Kim N. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of the proton pump inhibitors. *J Neurogastroenterol Motil* 2013; 19: 25-35 [PMID: 23350044 DOI: 10.5056/jnm.2013.19.1.25]
26 Sachs G, Shin JM, Hunt R. Novel approaches to inhibition of gastric acid secretion. *Curr Gastroenterol Rep* 2010; 12: 437-447 [PMID: 20924727 DOI: 10.1007/s11894-010-0149-5]
27 Maradey-Romero C, Fass R. New and Future Drug Development for Gastroesophageal Reflux Disease. *J Neurogastroenterol Motil* 2014; 20: 6-16 [PMID: 24466441]
28 Simon WA, Herrmann M, Klein T, Shin JM, Huber R, Senn-Bilfinger J, Postius S. Soraprazan: setting new standards in inhibition of gastric acid secretion. *J Pharmacol Exp Ther* 2007; 321: 866-874 [PMID: 17369284]
29 Kim HK, Park SH, Cheung DY, Cho YS, Kim JI, Kim SS, Chae HS, Kim JK, Chung IS. Clinical trial: inhibitory effect of revaprazan on gastric acid secretion in healthy male subjects. *J Gastroenterol Hepatol* 2010; 25: 1618-1625 [PMID: 20880169 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2010.06408.x]
30 Lee JS, Cho JY, Song H, Kim EH, Hahm KB. Revaprazan, a novel acid pump antagonist, exerts anti-inflammatory action against Helicobacter pylori-induced COX-2 expression by inactivating Akt signaling. *J Clin Biochem Nutr* 2012; 51: 77-83 [PMID: 22962522 DOI: 10.3164/jcbn.11-94]
31 Majumdar SR, Soumerai SB, Farraye FA, Lee M, Kemp JA, Henning JM, Schrammel P, LeCates RF, Ross-Degnan D. Chronic acid-related disorders are common and underinvestigated. *Am J Gastroenterol*

2003; 98: 2409-2414 [PMID: 14638341]
32 Chiba T, Malfertheiner P, Satoh H. Proton Pump Inhibitors: A Balanced View. *Front Gastrointest Res* 2013; 32: 77-83 [DOI: 10.1159/000350633]
33 许天波, 柯美云. 酸相关疾病治疗研究进展. 中国医药导刊 2003; 5: 101-103
34 刘伟, 钟良, 孙大裕. 酸相关疾病治疗药物的研究进展. 临床消化病杂志 2006; 18: 318-318
35 万国兰. 消化性溃疡的药物治疗及进展. 中国医药导报 2007; 4: 5-6
36 杨波, 王国清. 抗酸药研究进展. 沈阳药科大学学报 2001; 18: 148-151
37 Haddad I, Kierkus J, Tron E, Ulmer A, Hu P, Silber S, Sloan S, Leitz GJ. Maintenance of Efficacy and Safety of Rabeprazole in Children With Endoscopically Proven GERD. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2014; 58: 510-517 [PMID: 24164904]
38 Li XB, Ge ZZ, Chen XY, Liu WZ. Duodenal gastric metaplasia and Helicobacter pylori infection in patients with diffuse nodular duodenitis. *Braz J Med Biol Res* 2007; 40: 897-902 [PMID: 17653441]
39 Gisbert JP. Potent gastric acid inhibition in Helicobacter pylori eradication. *Drugs* 2005; 65 Suppl 1: 83-96 [PMID: 16335862]
40 Horn J. The proton-pump inhibitors: similarities and differences. *Clin Ther* 2000; 22: 266-280; discussion 265 [PMID: 10963283]
41 Bergman MP, Amedei A, D'Elios MM, Azzurri A, Benagiano M, Tamburini C, van der Zee R, Vandenbroucke-Grauls CM, Appelmelk BJ, Del Prete G. Characterization of H+,K+-ATPase T cell epitopes in human autoimmune gastritis. *Eur J Immunol* 2003; 33: 539-545 [PMID: 12645953]
42 Elphick DA, Riley SA. Omeprazole before endoscopy in patients with gastrointestinal bleeding. N *Engl J Med* 2007; 357: 303; author reply 304 [PMID: 17634470]
43 刘莉, 王芳, 洪喆, 吴琦, 於健. 以雷贝拉唑和兰索拉唑为基础的三联疗法治疗复发性消化性溃疡的疗效比较. 中国临床医学 2010; 17: 513-514
44 周丽雅, 闫秀娥. 含铋剂四联疗法治疗幽门螺杆菌感染药物选择. 中国实用内科杂志 2013; 33: 185-185
45 Ren LH, Chen WX, Qian LJ, Li S, Gu M, Shi RH. Addition of prokinetics to PPI therapy in gastroesophageal reflux disease: A meta-analysis. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 2412-2419 [PMID: 24605040]
46 López-Alvarenga JC, Orr W, Vargas-Romero JA, Remes-Troche JM, Morales-Arámbula M, Soto-Pérez JC, Mateos-Pérez G, Sobrino-Cossío S, Teramoto-Matsubara O, López-Colombo A, Orozco-Gamiz A, Saez-Ríos A, Arellano-Plancarte A, Chiu-Ugalde J, Tholen A, Horbach S, Lundberg L, Fass R. Relief of Night-time Symptoms Associated With Gastroesophageal Reflux Disease Following 4 Weeks of Treatment With Pantoprazole Magnesium: The Mexican Gastroesophageal Reflux Disease Working Group. *J Neurogastroenterol Motil* 2014; 20: 64-73 [PMID: 24466446 DOI: 10.5056/jnm.2014.20.1.64]
47 Martín de Argila C. Safety of potent gastric acid inhibition. *Drugs* 2005; 65 Suppl 1: 97-104 [PMID: 16335863]
48 Eslami L, Nasseri-Moghaddam S. Meta-analyses: does long-term PPI use increase the risk of gastric premalignant lesions? *Arch Iran Med* 2013; 16: 449-458 [PMID: 23906249 DOI: 10.13168/AIM.004]
49 张增珠, 李刚, 陈集志, 熊贤兵, 王丹辉. 质子泵抑制剂长期用药的临床风险. 中国药物警戒 2013; 10: 663-665
50 王安起. 质子泵抑制剂不良反应文献分析. 中国药物警戒 2013; 10: 683-686

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年5月28日; 22(15): 2081-2090
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

基础研究 BASIC RESEARCH

Hepal-6细胞热休克后裂解蛋白致敏的树突状细胞瘤苗对肝细胞癌瘤内CD25$^+$Foxp3$^+$ Treg细胞的影响

李日伦, 周 爽, 秦 杰, 梁春敏, 罗国容

李日伦, 罗国容, 广西医科大学组织胚胎学教研室 广西壮族自治区南宁市 530021
周爽, 秦杰, 梁春敏, 复旦大学上海医学院解剖与组织胚胎学系 上海市 200032
李日伦, 博士研究生, 讲师, 主要从事肿瘤分子生物学的研究.
国家自然科学基金青年基金资助项目, No. 30500280
国家自然科学基金面上基金资助项目, No. 30871312
作者贡献分布: 李日伦、周爽、秦杰、梁春敏及罗国容对此文均有贡献; 此课题由李日伦在梁春敏与罗国容的指导下设计; 研究过程主要由李日伦操作完成并得到周爽与秦杰的协助; 研究所用试剂及资金主要由梁春敏提供; 数据分析由李日伦完成; 本论文写作由李日伦完成并得到罗国容与梁春敏的指导.
通讯作者: 罗国容, 教授, 530021, 广西壮族自治区南宁市双拥路22号, 广西医科大学组织胚胎学教研室.
grongluo@yahoo.com
电话: 0771-5351365
收稿日期: 2014-03-11 修回日期: 2014-04-08
接受日期: 2014-04-18 在线出版日期: 2014-05-28

Effect of administration of BMDC vaccine sensitized by heat shocked hepal-6 cell proteins on intratumoral CD25$^+$Foxp3$^+$ Tregs in mouse hepatocellular carcinoma

Ri-Lun Li, Shuang Zhou, Jie Qin, Chun-Min Liang, Guo-Rong Luo

Ri-Lun Li, Guo-Rong Luo, Department of Histology and Embryology, Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China
Shuang Zhou, Jie Qin, Chun-Min Liang, Department of Anatomy and Histology and Embryology, Shanghai Medical College Fudan University, Shanghai 200032, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, Nos. 30500280 and 30871312
Correspondence to: Guo-Rong Luo, Professor, Department of Histology and Embryology, Guangxi Medical University, 22 Shuangyong Road, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. grongluo@yahoo.com
Received: 2014-03-11 Revised: 2014-04-08
Accepted: 2014-04-18 Published online: 2014-05-28

Abstract

AIM: To determine whether the bone marrow derived dendritic cell (BMDC) vaccine sensitized by heat shocked hepal-6 cell proteins affects the infiltration of intratumoral CD25$^+$Foxp3$^+$ Tregs in a mouse hepatocellular carcinoma (HCC) model.

METHODS: In the presence of GM-CSF and IL-4, BMDCs were induced *in vitro*. BMDCs were sensitized by heat shocked hepal-6 cell proteins to generate a vaccine for HCC. The expression of CD11c, CCR7, CD80 and CD86 on these sensitized BMDCs were analyzed by FACS. The anti-tumor effect of this vaccine was evaluated using a mouse HCC model established by subcutaneous injection of Hepal-6 cells. Eight days later, the tumor-bearing mice were divided into four groups, which underwent intratumoral injection of BMDCs sensitized by heat shocked hepal-6 cell proteins, serum-free culture medium, BMDCs without sensitization and BMDCs sensitized by unheated hepal-6 cell proteins (once every 7 days, 2 times altogether), respectively. Nine days after final administration, the mice were sacrificed and the tumor samples were taken for immunofluorescence staining for CD8$^+$ cells and intratumoral CD25$^+$Foxp3$^+$ Tregs.

RESULTS: Light microscopy and scanning electron microscopy showed that BMDCs propagated in the presence of GM-CSF and IL-4 displayed the typical morphological characteristics of dendritic cells. Immunocytochemical staining showed that they expressed the dendritic cell marks including CD11c, CCR7, CD80 and CD86. Compared with the controls (BMDCs without sensitization or sensitized by unheated hepal-6 cells proteins), the BMDCs sensitized by heat shocked hepal-6 cells proteins showed increased expression of CD11c (67.2 ± 4.49 *vs* 52.4 ± 5.20, 58.4 ± 4.43), CCR7 (65.4 ± 5.34 *vs* 45.9 ± 5.04, 57.0 ± 3.46), CD80 (62.9 ± 4.69 *vs* 46.9 ± 4.75, 54.4 ± 3.47) and CD86 (73.3 ± 3.58 *vs* 60.1 ± 2.98, 63.7 ± 3.10) (P < 0.01 for all). Compared with the controls, the mice administrated with the BMDC vaccine sensitized by heat shocked Hepal-6 cell proteins showed increased CD8$^+$ T cells (55.0 ± 4.11 *vs* 38.2 ± 3.34, 44.6 ± 4.29, 45.6 ± 4.92, P < 0.01 for all) and decreased intratumoral CD25$^+$Foxp3$^+$ Tregs (0.37 ± 0.028 *vs* 1.31 ± 0.020, 0.77 ± 0.057, 0.57 ± 0.062, P < 0.05 for all).

■背景资料
肿瘤微环境是肿瘤发生和发展的重要环境, 也是肿瘤免疫耐受的主要因素. 肿瘤免疫耐受主要表现为抗原缺失、CD25$^+$Foxp3$^+$ T细胞增多和树突状细胞(dendritic cells, DCs)功能下降等. 因此, 寻求免疫原强的抗原有效促进DCs成熟与抗原呈递能力, 减弱CD25$^+$Foxp3$^+$细胞功能, 促进CD8$^+$ T细胞的增殖和活化是肿瘤免疫治疗的研究热点.

■同行评议者
代智, 副研究员, 复旦大学附属中山医院肝癌研究所

■研发前沿
肿瘤裂解物、肿瘤细胞裂解蛋白、肿瘤RNA、细胞因子等致敏或基因修饰DCs等制作抗肿瘤疫苗是肿瘤免疫治疗的重要手段. 但迄今还未找到理想的刺激DCs成熟的抗原物质, 因此DCs疫苗的开发仍是探索的主要方向.

CONCLUSION: Heat shocked hepal-6 cell protein sensitization can upregulate the expression of CD11c, CCR7, CD80 and CD86 on BMDCs *in vitro*. Administration with this BMDC vaccine can increase $CD8^+$ T cells and decrease intratumoral $CD25^+Foxp3^+$ Tregs in HCC mice.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Heat shocked hepal-6 cell protein; Bone marrow derived dendritics cells; $CD8^+$ T cells; $CD25^+Foxp3^+$ Tregs; Hepatocellular carcinoma

Li RL, Zhou S, Qin J, Liang CM, Luo GR. Effect of administration of BMDC vaccine sensitized by heat shocked hepal-6 cell proteins on intratumoral $CD25^+Foxp3^+$ Tregs in mouse hepatocellular carcinoma. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(15): 2081-2090 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2081.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2081

摘要

目的: 观察注射Hepal-6细胞热休克后裂解蛋白致敏的骨髓来源树突状细胞(bone marrow derived dendritic cells, BMDCs)瘤苗对小鼠肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)瘤内$CD25^+$叉头盒转录因子P3(forkhead box p3, Foxp3)$^+$调节T淋巴细胞(regulatory T cells, Tregs)浸润的影响.

方法: 在粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(granulocyte-macrophage colony stimulating factor, GM-CSF)和白介素-4(interleukin-4, IL-4)诱导下体外扩增BMDCs, 使用Hepal-6细胞热休克后裂解蛋白体外致敏BMDCs制备瘤苗, 荧光免疫化学染色和FACS检测致敏前后BMDCs CD11c、CCR7、CD80和CD86的表达变化. 使用Hepal-6细胞皮下注射的方法制备小鼠(C57BL/6J)HCC模型, 成瘤小鼠分组注射Hepal-6细胞热休克后裂解蛋白致敏的BMDCs瘤苗(足垫部和瘤内, 每7 d注射1次, 共2次), 并另设对照(空白对照组、BMDCs组和Hepal-6细胞裂解蛋白组). 在治疗结束后9 d获取组织标本, 免疫荧光组织化学染色和FACS检测瘤苗注射后肿瘤内$CD8^+$ T细胞和$CD25^+Foxp3^+$ Tregs细胞的浸润情况.

结果: 光镜和扫描电镜显示: GM-CSF和IL-4在体外诱导扩增的BMDCs具有树突状细胞特征性的形态特征, 且免疫细胞化学染色显示: 该细胞表达CD11c, CCR7, CD80和CD86. 使用Hepal-6细胞热休克后裂解蛋白致敏的BMDCs组, 与对照组(BMDCs组和Hepal-6细胞裂解蛋白组)相比该组细胞CD11c(67.2±4.49 *vs* 52.4±5.20, 58.4±4.43, $P<0.01$), CCR7(65.4±5.34 *vs* 45.9±5.04, 57.0±3.46, $P<0.01$), CD80(62.9±4.69 *vs* 46.9±4.75, 54.4±3.47, $P<0.01$)和CD86(73.3±3.58 *vs* 60.1±2.98, 63.7±3.10, $P<0.01$)的表达均明显增高. 使用Hepal-6细胞热休克后裂解蛋白致敏的BMDCs瘤苗为HCC荷瘤小鼠进行注射治疗, 治疗后的检测结果显示: 该组小鼠瘤内$CD8^+$ T细胞的浸润明显高于对照组(空白对照组、BMDCs组和Hepal-6细胞裂解蛋白组)(55.0±4.11 *vs* 38.2±3.34, 44.6±4.29, 45.6±4.92, $P<0.01$), 而同时瘤内$CD25^+Foxp3^+$ Tregs细胞的浸润则明显低于相应对照组(0.37±0.028 *vs* 1.31±0.020, 0.77±0.057, 0.57±0.062, $P<0.05$).

结论: 使用Hepal-6细胞热休克后裂解蛋白致敏的BMDCs瘤苗进行治疗, 可增强HCC小鼠瘤内$CD8^+$ T细胞的浸润, 并同时减少$CD25^+Foxp3^+$ Tregs细胞的浸润, 该瘤苗具有抗肿瘤免疫效果.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: Hepal-6细胞热休克后裂解蛋白; 骨髓来源树突状细胞; $CD8^+$ T细胞; $CD25^+Foxp3^+$ Treg细胞; 肝细胞癌

核心提示: 肿瘤免疫耐受是肿瘤免疫治疗的瓶颈, 而$CD4^+CD25^+Foxp3^+$ T细胞在肿瘤内的浸润是构成瓶颈的关键因素之一. 尽管不同形式的抗原刺激DCs制备的疫苗有一定的抗肿瘤效应但效果不理想, 抗原的免疫原性是影响疫苗效果的关键因素之一. 本研究利用Hepal-6细胞热休克后的裂解蛋白结合了肿瘤细胞裂解蛋白全抗原性和热休克后免疫原性增强的优势, 在体外有较强致敏DCs成熟的作用, 在体内能活化和促进$CD8^+$T细胞迁移入肿瘤灶, 减少$CD4^+CD25^+Foxp3^+$ T细胞在瘤内的浸润, 有较强的抗肿瘤效应.

李日伦, 周爽, 秦杰, 梁春敏, 罗国容. Hepal-6细胞热休克后裂解蛋白致敏的树突状细胞瘤苗对肝细胞癌瘤内$CD25^+Foxp3^+$ Treg细胞的影响. 世界华人消化杂志 2014; 22(15): 2081-2090 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2081.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2081

0 引言

肿瘤是严重威胁人类健康和生命的常见疾病. 肿瘤发生、发展的原因复杂, 研究表明, 肿瘤宿主体内普遍存在由肿瘤细胞相关抗原、肿瘤浸

润淋巴细胞(tumor-infiltrating lymphocytes, TILs)和细胞因子等组成的免疫耐受微环境[1]. 调节T淋巴细胞(regulatory T cells, Tregs)是TILs的成员之一[2], 肿瘤患者外周血和肿瘤灶CD4$^+$CD25$^+$叉头盒转录因子P3(forkhead box p3, Foxp3)$^+$ Tregs浸润普遍增多[3-5]. Tregs可抑制辅助T淋巴细胞-1(T helper type 1, Th1)增殖, 下调Th1细胞介导的抗肿瘤免疫[6,7]. 因此, 提高肿瘤的免疫原性、促进免疫系统抗肿瘤排斥反应是肿瘤免疫治疗的重要手段. 肿瘤免疫治疗的关键一环是促进树突状细胞(dendritic cells, DCs)的成熟与提高其抗原呈递能力[8]. DCs是功能强大的专职抗原呈递细胞[8], 利用肿瘤或肿瘤细胞裂解物[9,10]、肿瘤RNA[11]和细胞因子[12]等致敏的DCs瘤苗已对一些肿瘤取得免疫治疗效果. 研究已证实, 肿瘤细胞裂解蛋白具有全抗原性, 致敏的DCs能活化宿主体内多克隆T细胞产生抗肿瘤免疫效应[9,10]. 肿瘤细胞热休克后产生大量具有强抗原性的热休克蛋白(heat shocked protein, HSP), 如HSP70和HSP90等, 具有提高细胞抗原性的作用[13]. 本研究结合肿瘤细胞裂解蛋白的全抗原性和热休克后抗原性提高的双重优点, 利用Hepal-6细胞热休克后裂解蛋白体外致敏BMDCs制成瘤苗, 每隔7 d足垫部和瘤内注射HCC小鼠共2次, 另设空白组、BMDCs组、Hepal-6细胞裂解蛋白致敏BMDCs组为对照. 治疗结束后第9 d处死各组小鼠, FACS检测肿瘤组织内CD8$^+$T细胞及CD25$^+$ Foxp3$^+$细胞浸润的改变.

1 材料和方法

1.1 材料 6-8周龄C57BL/6J近交系♀小鼠从中国科学院上海实验动物中心购买; Hepal-6为小鼠来源的肝癌细胞株(ATCC CRL-1830), 由复旦大学附属中山医院肝癌研究所保存并提供; 高糖DMEM、RPMI 1640、胰蛋白酶(trypsin)-EDTA、胎牛血清(heat-inactivated fetal calf serum)购自GIBCOL公司; 培养板和离心管、细胞培养瓶从Corning Corstar公司购买; PE-conjugated rat anti mouse CD11c(N418)、CCR7(4B12), FITC-conjugated rat anti mouse CD80(16-10A1)、CD86(GL1)、FITC-conjugated rat anti mouse CD25(PC61.5)、PE-conjugated rat anti mouse Foxp3(FJK16s)、FITC-conjugated rat anti mouse CD8、affinity purified rat anti mouse CD25 (PC61.5)、affinity purified rabbit anti mouse Foxp3 (NRRF-30)购自eBioScience公司; FITC-conjugated goat anti rat IgG、Cy3-conjugated goat anti rabbit IgG购自KPL公司; Mouse CD4$^+$ CD25$^+$ Regulatory T cell Isolation Kit购自Miltenyi Biotec公司.

1.2 方法

1.2.1 Hepal-6细胞培养和传代: (1)从液氮罐取出Hepal-6 细胞冻存管快速放入37 ℃无菌双蒸水液化后, 吸出冻存液放入DMEM: RPMI 1640 = 1∶1混合培养液(10%胎牛血清)600 r/min离心6 min; (2)将细胞放入盛有DMEM : RPMI 1640 = 1∶1混合培养液(10%胎牛血清)培养瓶, 5%CO_2、37 ℃饱和湿度培养箱培养; (3)显微镜下观察贴壁生长的细胞基本铺满瓶底时倒弃培养液, 加入0.25%的胰蛋白酶室温消化后, 600 r/min离心6 min, 重悬细胞. 按1.0×10^5/mL细胞浓度分瓶加入DMEM∶RPMI 1640 = 1∶1混合培养液(10%胎牛血清)继续培养, 根据细胞生长情况和培养液颜色变化更换培养液.

1.2.2 Hepal-6肿瘤模型的制作: (1)Hepal-6细胞传代3次后收集对数生长期细胞, 0.25%的胰蛋白酶-EDTA消化, 600 r/min离心6 min, 重悬并调整细胞浓度为2×10^7/mL; (2)按实验分组要求取C57BL/6J小鼠乙醚轻微麻醉后, 每只右肩胛区皮下1次性接种0.2 mL浓度为2×10^7/mL的Hepal-6细胞, 按正常条件饲养, 在接种第7-8 d小鼠右肩胛区可触及直径约5-7 mm的肿瘤.

1.2.3 两步法免疫磁珠体外分离小鼠肿瘤CD4$^+$CD25$^+$ T细胞: 参考试剂盒操作: (1)成瘤12 d摘荷瘤小鼠肿瘤, 1×PBS碾磨肿瘤组织后, 4 ℃、1000 r/min离心10 min; (2)细胞混匀, 加入9 mL双蒸水5-7 s后, 迅速加入1 mL 10×PBS终止破膜, 1×PBS重悬细胞; (3)加台盼蓝染液显微镜下观察和计数细胞, 细胞活力>90%时继续后续步骤; (4)去除非CD4$^+$ T细胞: 将细胞1000 r/min 4 ℃离心10 min, 每10^{7}细胞加40 μL PBA和10 μL cook-tail-Biotin antibody混匀细胞, 4 ℃孵育15 min; 加30 μL PBA、20 μL Anti-Biotin MicroBeads和10 μL CD25-PE antibody再次混匀细胞, 4 ℃避光孵育20 min; 加入1 mL PBA, 1000 r/min 4 ℃离心10 min后加500 μLPBA混匀; 加2 mL PBA润洗LD柱中后1次性加入上述500 μL细胞悬液, 收集流出物即为CD4$^+$ T细胞; (5)标记分离的CD4$^+$CD25$^+$ T细胞: 将收集的CD4$^+$ T细胞1000 r/min 4 ℃离心10 min, 90 μL PBA和10 μL Anti-PE MicroBeads混匀细胞; 4 ℃避光孵育20 min后加2 mL PBA 1000 r/min 4 ℃离心10 min后

■相关报道

研究表明, 肿瘤细胞裂解蛋白具有全抗原性, 能刺激多个T细胞表位而活化多克隆T细胞, 热休克蛋白(heat shocked protein, HSP)在多数肿瘤不同程度表达异常, HSP能将与其结合的多肽通过内源性途径经MHC-Ⅰ类分子而引起特异的CD8$^+$ T细胞反应. 因此, 利用肿瘤细胞裂解蛋白的全抗原性和HSP或HSP-肽结合物免疫原性强的联合作用有可能刺激更强的抗仲瘤免疫反应.

■创新盘点
DCs疫苗的制备多用单一抗原或单个基因修饰, 抗瘤效果不理想. 本研究利用肿留裂解蛋白的全抗原性结合肿瘤细胞热休克后HSP表达上调, 免疫原性增强的优点以制备免疫效果更强的DCs疫苗.

加500 μL PBA重悬细胞; 用500 μL PBA润洗MS柱后, 将上述500 μL细胞悬液1次性加入MS柱中, 流出的为$CD4^+CD25^-$ T细胞, 留在MS柱中的为$CD4^+CD25^+$ T细胞.

1.2.4 $CD25^+$和$Foxp3^+$抗体免疫荧光法双标分离的$CD4^+CD25^+$ T细胞: (1)将分离的$CD4^+CD25^+$ T细胞制作细胞涂片自然干燥后冷丙酮固定20 min, 1×PBS漂洗3次; (2)0.1%Triton-X-100室温下处理10 min, 1×PBS漂洗3次, 山羊血清室温封闭30 min; (3)滴加兔抗小鼠Foxp3单克隆抗体, 大鼠抗小鼠CD25抗体4 ℃孵育过夜后1×PBS漂洗3次; (4)滴加Cy3-羊抗兔IgG, FITC-羊抗大鼠IgG室温避光孵育2 h, 加入1∶1000稀释的DAPI液, 室温避光孵育, 1×PBS漂洗3-4次后磷酸甘油封片送至中科院上海细胞研究所行激光共聚焦显微镜拍照.

1.2.5 Hepal-6细胞热休克与蛋白的提取: (1)将传3代的Hepal-6细胞换培养液后继续培养12 h; (2)先将培养箱在5%CO_2环境下缓慢升温至42 ℃, 放入细胞热休克1 h后立即取出在5%CO_2、37 ℃培养箱中恢复6 h取出细胞, 细胞刷小心刮取瓶底细胞, 1×PBS洗涤3次; (3)双蒸水重悬细胞至-80 ℃冰箱冻融3次后研磨细胞, 将细胞研磨液14000 r/min、4 ℃离心30 min, 小心吸取蛋白上清, 即为总蛋白, 分装在-80 ℃冰箱保存. BCA法测定蛋白质的浓度.

1.2.6 BMDCs的诱导培养: (1)处死6-8周龄C57BL/6J小鼠, 取股骨剔除所附肌肉, 用1次性注射器在1×PBS中冲出骨髓至股骨发白; (2)收集细胞悬液, 1000 r/min离心10 min, 加9 mL双蒸水约5-10 s破除红细胞后随即加1 mL 10×PBS中止; (3)细胞过滤后1000 r/min 离心10 min, 细胞计数后调整细胞浓度至2×10^6/mL. 以2×10^6细胞/孔接种到含重组小鼠GM-CSF(20 ng/mL)和IL-4(10 ng/mL)的24孔培养板, 5%CO_2、37 ℃培养, 隔天半量换培养液并补足细胞因子继续培养.

1.2.7 BMDCs的鉴定: (1)相差显微镜观察并拍照培养BMDCs集落的大小、数量和突起等; (2)收集培养9 d的BMDCs, 1×PBS 1000 r/min离心10 min洗涤3次. 部分送复旦大学上海医学院电镜室扫描电镜拍照, 部分制成细胞涂片; (3)冷丙酮固定细胞涂片20 min后一部分HE染色并拍照, 一部分用于荧光免疫组织化学检测CD11c、CCR7、CD80、CD86的表达.

1.2.8 Hepal-6细胞热休克后裂解蛋白致敏BMDCs: (1)将培养5 d的BMDCs半量换培养液并调整细胞浓度至2×10^6/mL, 5%CO_2、37 ℃培养箱培养24 h后分3组: BMDCs对照组、Hepal-6细胞裂解蛋白BMDCs对照组、脂多糖(lipopolysaccharides, LPS)(200 ng/mL)刺激对照组和Hepal-6细胞热休克后裂解蛋白BMDCs实验组. 每组设6复孔; (2)BMDCs对照组每孔加入等体积的1×PBS; Hepal-6细胞裂解蛋白BMDCs对照组每孔加入1.5 μg Hepal-6细胞裂解蛋白; Hepal-6细胞热休克后裂解蛋白BMDCs组每孔加入1.5 μg Hepal-6细胞热休克后裂解蛋白; (3)各孔培养液均调至1 mL, 5%CO_2、37 ℃培养12 h后, 收集各组细胞并调整细胞浓度至2×10^7/mL.

1.2.9 FACS分析Hepal-6细胞热休克后裂解蛋白致敏前后BMDCs的CD11c、CCR7、CD80、CD86表达: (1)将收集的各组BMDCs各分装5个EP管, 2000 r/min离心3 min; (2)各EP单独加500 μL含PE-大鼠抗小鼠CCR7、CD11c单克隆抗体, FITC-大鼠抗小鼠CD80、CD86单克隆抗体, 4 ℃避光孵育40 min; (3)1×PBS, 2000 r/min离心3 min, 洗2次加500 μL Flow Cytometry Staining Buffer重悬混匀, 上机检测, 用随机所带流式分析软件分析实验数据.

1.2.10 Hepal-6细胞热休克后裂解蛋白致敏BMDCs注射荷瘤小鼠: 接种8 d后成瘤小鼠随机分4组. (1)荷瘤对照组: 每只小鼠瘤内和足垫部各注射0.1 mL 1×PBS; (2)对照BMDCs组每只小鼠瘤内和足垫部各注射0.1 mL浓度为2×10^7/mL的BMDCs; (3)Hepal-6细胞裂解蛋白致敏BMDCs组: 每只小鼠瘤内和足垫部各注射0.1 mL浓度为2×10^7/mL的Hepal-6细胞裂解蛋白致敏BMDCs; (4)Hepal-6细胞热休克后裂解蛋白致敏BMDCs组: 每只小鼠瘤内和足垫部各注射0.1 mL浓度为2×10^7/mL的Hepal-6细胞热休克后裂解蛋白致敏BMDCs, 各组每7 d注射1次, 共2次.

1.2.11 FACS分析小鼠肿瘤$CD8^+$T细胞和$CD25^+Foxp3^+$T细胞的浸润: (1)治疗9 d后, 处死各组小鼠, 取肿瘤组织并辗碎, PBS冲洗成细胞悬液1000 r/min离心10 min; (2)加9 mL双蒸水轻摇5-8 min破除红细胞膜迅速加1 mL 10×PBS终止, 1000 r/min离心10 min; (3)细胞计数, 调细胞浓度至1×10^6/mL; (4)将各组细胞2000 r/min离心3 min, 分别加100 μL Flow Cytometry Staining Buffer后各加入: FITC-大鼠抗小鼠CD8抗体、PE-大鼠抗小鼠$Foxp3^+$抗体和FITC-大鼠抗小鼠CD25抗体混匀, 4 ℃避光孵育40 min; (5)1 mL 1

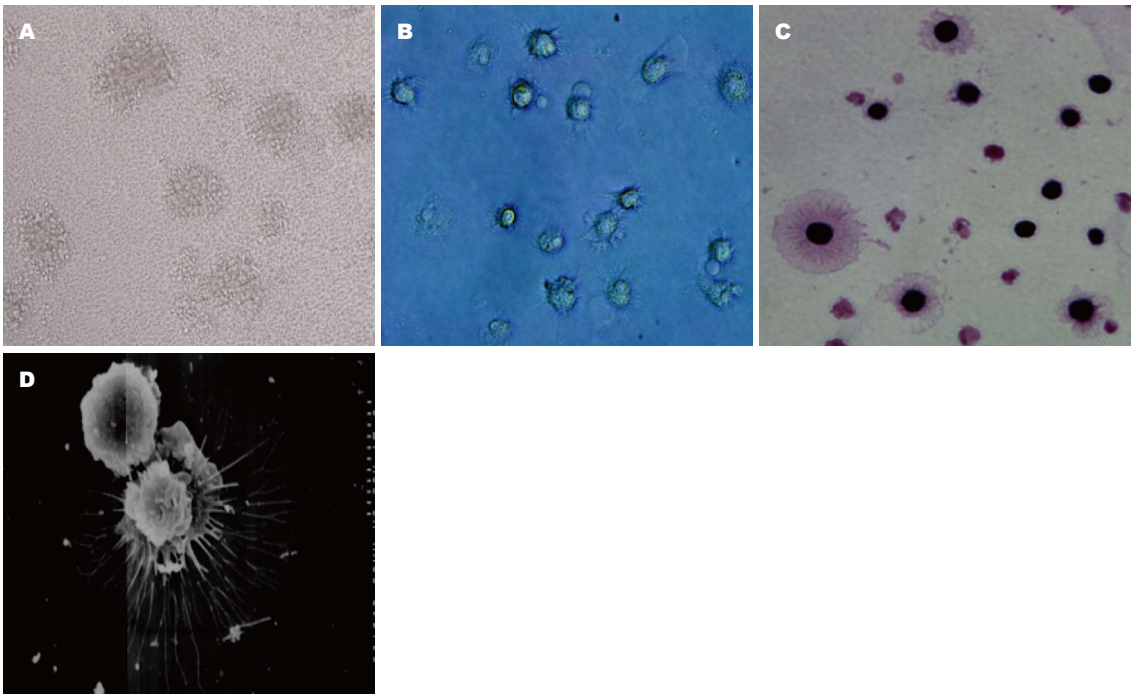


图 1 显微镜下观察BMDCs的形态. A: 树突状细胞集落(×200); B: 树突状细胞(×400); C: 树突状细胞HE染色(×400); D: 树突细胞扫描电镜(×7000). BMDCs: 骨髓来源树突状细胞.

表 1 Hepal-6细胞热休克后裂解蛋白致敏BMDCs后, CD11c、CCR7、CD80和CD86表达细胞计数 (n = 6, mean ± SD, %)

分组	CD11c$^+$	CCR7$^+$	CD80$^+$	CCR86$^+$
BMDCs对照组	52.4 ± 5.20^b	46.9 ± 5.04^b	46.9 ± 4.75^b	60.1 ± 2.98^b
Hepal-6细胞裂解蛋白BMDCs对照组	58.4 ± 4.42^b	57.0 ± 3.46^b	54.4 ± 3.47^b	63.7 ± 3.10^b
LPS对照组	64.6 ± 3.86	64.3 ± 6.42	56.9 ± 4.06^a	67.4 ± 2.08^b
Hepal-6细胞热休克后裂解蛋白BMDCs实验组	67.2 ± 4.49	65.4 ± 5.34	62.9 ± 4.69	73.3 ± 3.58

^aP<0.05, ^bP<0.01 *vs* Hepal-6细胞热休克后裂解蛋白BMDCs实验组. BMDCs: 骨髓来源树突状细胞; LPS: 脂多糖.

×PBS, 2000 r/min离心3 min洗涤2次后, 各加500 μL Flow Cytometry Staining Buffer重悬混匀, 上机检测, 用随机所带流式分析软件分析实验数据.

统计学处理 实验数据以mean±SD表示, 组间差异采用SPSS16.0统计软件进单因素方差分析, 若方差齐性, 两两比较采用LSD法, 若方差不齐, 采用Games-Howell检验分析. P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 体外扩增BMDCs的鉴定 显微镜下观察可见: GM-CSF和IL-4体外诱导的C57BL/6J小鼠BMDCs在第3天形成明显的集落, 第6天集落增大, 并释放出较多的BMDCs, 第9、12天集落释放的BMDCs数量更多, 集落松散变小. HE染色显示第9天的BMDCs有明显树突状突起, 扫描电镜可见多数次级分支(图1), 荧光免疫细胞化学染色显示: BMDCs表达CD11c、CCR7、CD80和CD86(图2).

2.2 Hepal-6细胞热休克后裂解蛋白致敏前后BMDCs CD11c、CCR7、CD80和CD86的表达变化 FACS分析显示(表1, 图3): Hepal-6细胞热休克后裂解蛋白致敏的BMDCs上调了CD11c、CCR7、CD80和CD86的表达, 与BMDCs对照组和Hepal-6细胞裂解蛋白对照组相比差异具有统计学意义(P<0.01). 尽管LPS刺激同样可以上调BMDCs CD11c、CCR7、CD80和CD86的表达(与Hepal-6细胞裂解蛋白组相比, P<0.05), 但Hepal-6细胞热休克后裂解蛋白致敏的BMDCs比LPS组具有更高的CD80和CD86表达, 且两组之间的差异具有统计学意义(CD80: P<0.05, CD86: P<0.01).

■应用要点

Hepal-6细胞热休克后裂解蛋白体外对骨髓来源树突状细胞(bone marrow derived dendritic cells, BMDCs)有较强的致敏作用, 致敏的BMDCs在体内能促进小鼠肝细胞癌肿瘤灶内CD8$^+$ T细胞的增殖和活化, 减少CD4$^+$CD25$^+$Foxp3$^+$ T细胞的浸润, 对肝癌的免疫治疗有参考作用.

■同行评价
文章新颖性突出，对读者有一定的参考价值.

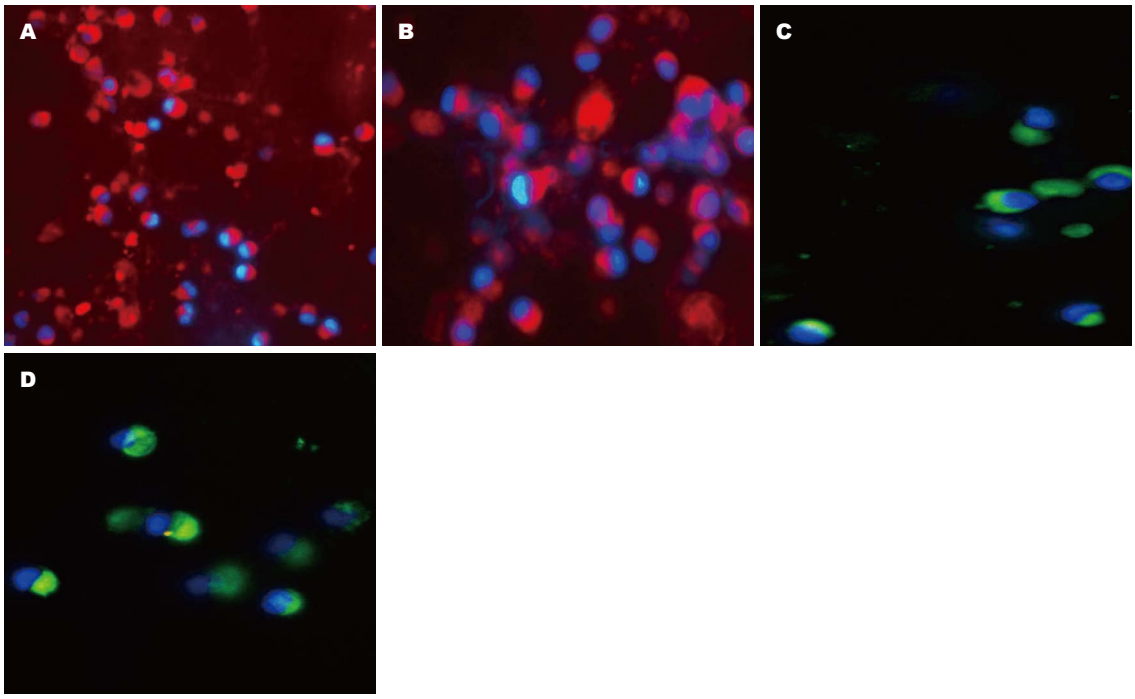


图 2 荧光免疫组织化学检测CD11c、CCR7、CD80和CD86在BMDCs的表达. A: CCR7(PE × 200); B: CD11c(PE × 400); C: CD80(FITC × 400); D: CD86(FITC × 400). BMDCs: 骨髓来源树突状细胞.

表 2 Hepal-6细胞热休克后裂解蛋白致敏BMDCs治疗后, $CD8^+$细胞和$CD25^+Foxp3^+$细胞在瘤体内的浸润计数 ($n = 6$, mean ± SD, %)

分组	$CD8^+$	$CD25^+Foxp3^+$
空白对照组	38.2 ± 3.34[b]	1.31 ± 0.202[b]
BMDCs对照组	44.6 ± 4.29[b]	0.77 ± 0.057[b]
Hepal-6细胞裂解蛋白BMDCs对照组	45.6 ± 4.92[b]	0.57 ± 0.062[a]
Hepal-6细胞热休克后裂解蛋白BMDCs实验组	55.0 ± 4.11	0.37 ± 0.028

[a]$P<0.05$, [b]$P<0.01$ *vs* Hepal-6细胞热休克后裂解蛋白BMDCs实验组. BMDCs: 骨髓来源树突状细胞.

2.3 注射Hepal-6细胞热休克后裂解蛋白致敏的BMDCs瘤苗对HCC荷瘤小鼠瘤内$CD8^+$ T细胞和$CD25^+Foxp3^+$ Tregs细胞浸润的影响

在对HCC模型小鼠运用瘤苗进行治疗后的第9天(图4), 针对瘤内$CD8^+$ T细胞和$CD25^+Foxp3^+$Tregs细胞浸润情况的FACS检测显示(表2, 图5): 与空白对照组、BMDCs对照组和Hepal-6细胞裂解蛋白致敏BMDCs对照组比, Hepal-6细胞热休克后裂解蛋白致敏的BMDCs组呈现增强的$CD8^+$ T细胞瘤内浸润($P<0.01$), 但该组瘤内$CD25^+Foxp3^+$ Tregs细胞的浸润则明显减少($P<0.01$或$P<0.05$).

3 讨论

肿瘤微环境的免疫耐受表现包括抗原缺失、免疫抑制细胞增多[3]、DCs抗原提呈能力下降等[14-17]. 因此, 有效的抗瘤免疫治疗首先要有强免疫原刺激DCs成熟, 促进其抗原呈递能力. 其次是成熟的DCs在荷瘤宿主体内能促进免疫效应$CD4^+$ T细胞、$CD8^+$ T细胞的增殖和活化, 抑制和减少Tregs等免疫抑制细胞在瘤内的浸润. Tregs是以免疫抑制为主要功能的T细胞, 表达CD25[18]和Foxp3分子[19], Foxp3的是Tregs活化与功能成熟的标志[20], Foxp3表达能复苏休眠状态的Tregs, 提高其增殖潜能[21]. $CD25^+Foxp3^+$ Tregs在多种肿瘤浸润[22], 且与结肠癌[23,24]、结直肠癌[25]、胃癌[26]、头颈癌[27,28]、淋巴瘤[29]、宫颈癌[4]、卵巢癌[30]和肺癌[31]等预后相关. 肿瘤浸润的$CD25^+Foxp3^+$ Tregs抑制$CD4^+$ T细胞、$CD8^+$ T细胞的活化、增殖和细胞因子的分泌[32], 抑制自然杀伤细胞(natural killer, NK)细胞和DCs的成熟[33], 抑制B细胞的增殖和抗体产生[34]. $CD25^+Foxp3^+$ Tregs的免疫抑制机制主要是细胞直接

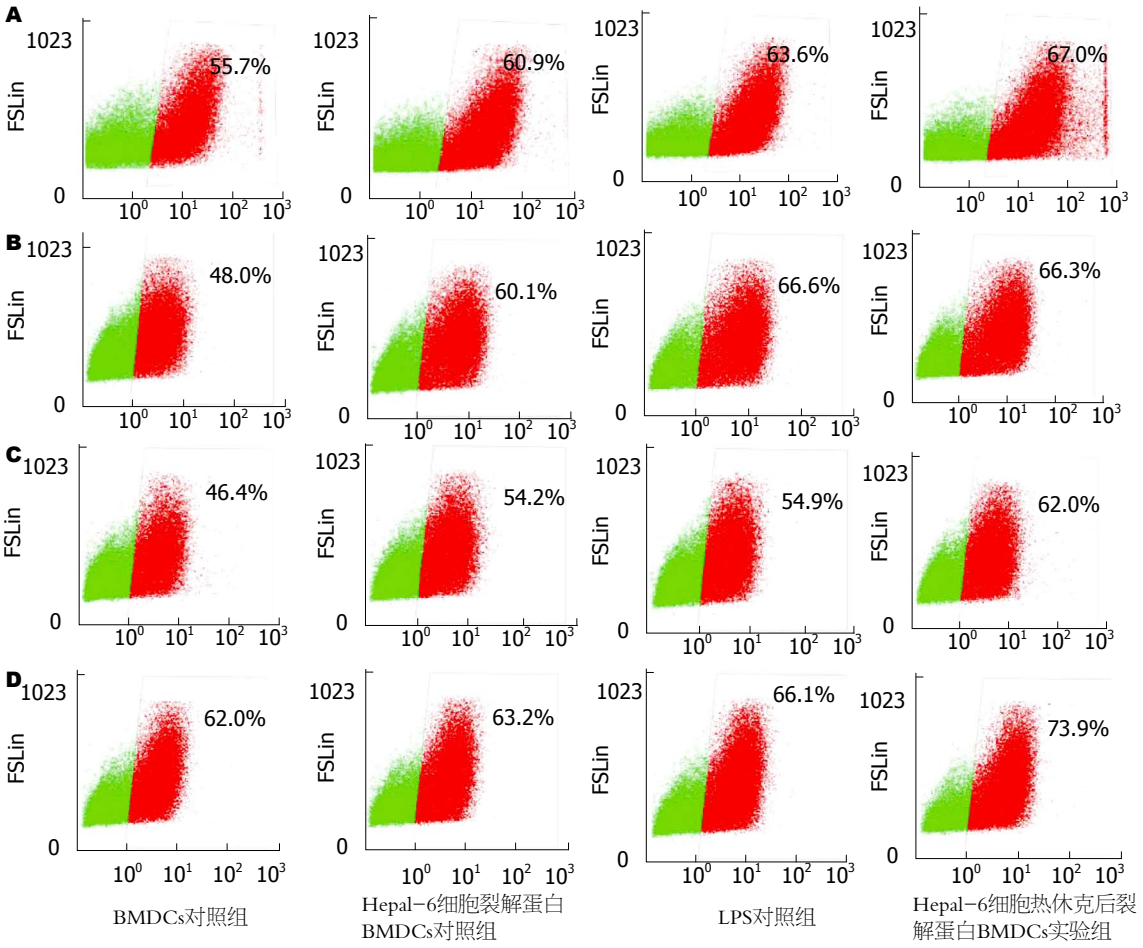


图 3 FACS法检测Hepal-6细胞热休克后裂解蛋白致敏BMDCs后CD11c、CCR7、CD80和CD86的表达. A: CD11c; B: CCR7; C: CD80; D: CD86. BMDCs: 骨髓来源树突状细胞; LPS: 脂多糖.

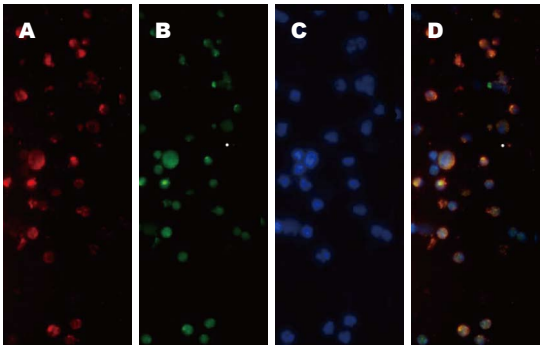


图 4 荧光免疫组织化学双标瘤内浸润CD25$^+$Foxp3$^+$细胞. A: Foxp3$^+$细胞(PE×200); B: CD25$^+$细胞(FITC×200); C: 细胞核(DAPI×200); D: CD25$^+$Foxp3$^+$细胞(merg×200).

接触的细胞毒T细胞相关抗原4(cytotoxic T lymphocyte antigen-4, CTLA-4)途径[35,36]和细胞因子白介素-10(interleukin-10, IL-10)[37]、转化生长因子-β1(transforming growth factor-β1, TGF-β1)途径[38].

本实验免疫荧光组织化学双标法显示Hepal-6细胞建立的HCC小鼠瘤内有CD25$^+$Foxp3$^+$ Tregs浸润(图4), 提示CD25$^+$Foxp3$^+$ Tregs与小鼠HCC关系密切. 实验诱导的BMDCs在显微镜下具有典型的DCs集落和树突, 表达CCR7、CD11c、CD80和CD86分子. Hepal-6细胞热休克后裂解蛋白致敏BMDCs实验组上调CD11c、CCR7、CD80 、CD86的表达(P<0.01); DCs成熟刺激物质LPS对照组BMDCs的CD11c、CCR7、CD86的表达也上调(P<0.05), 实验组CD80(P<0.05)、CD86(P<0.01)表达高于LPS组, 提示Hepal-6细胞热休克后裂解蛋白具有较强的刺激BMDCs成熟能力. 致敏后的BMDCs瘤苗足垫部和瘤体内注射治疗HCC小鼠后, 明显下调CD25$^+$Foxp3$^+$ Tregs(P<0.05), 但上调CD8$^+$ T细胞在瘤体内的浸润(P<0.01). 提示瘤苗对瘤体CD8$^+$ T细胞的浸润有增强作用, 但对CD25$^+$Foxp3$^+$ Tregs浸润有抑制作用. Hepal-6细胞热休克后裂解蛋白对BMDCs的成熟刺激以及疫苗对瘤体CD25$^+$Foxp3$^+$ Tregs和CD8$^+$ T细胞浸润的影响可能与以下机制有关: Hepal-6热休克后裂解蛋白的

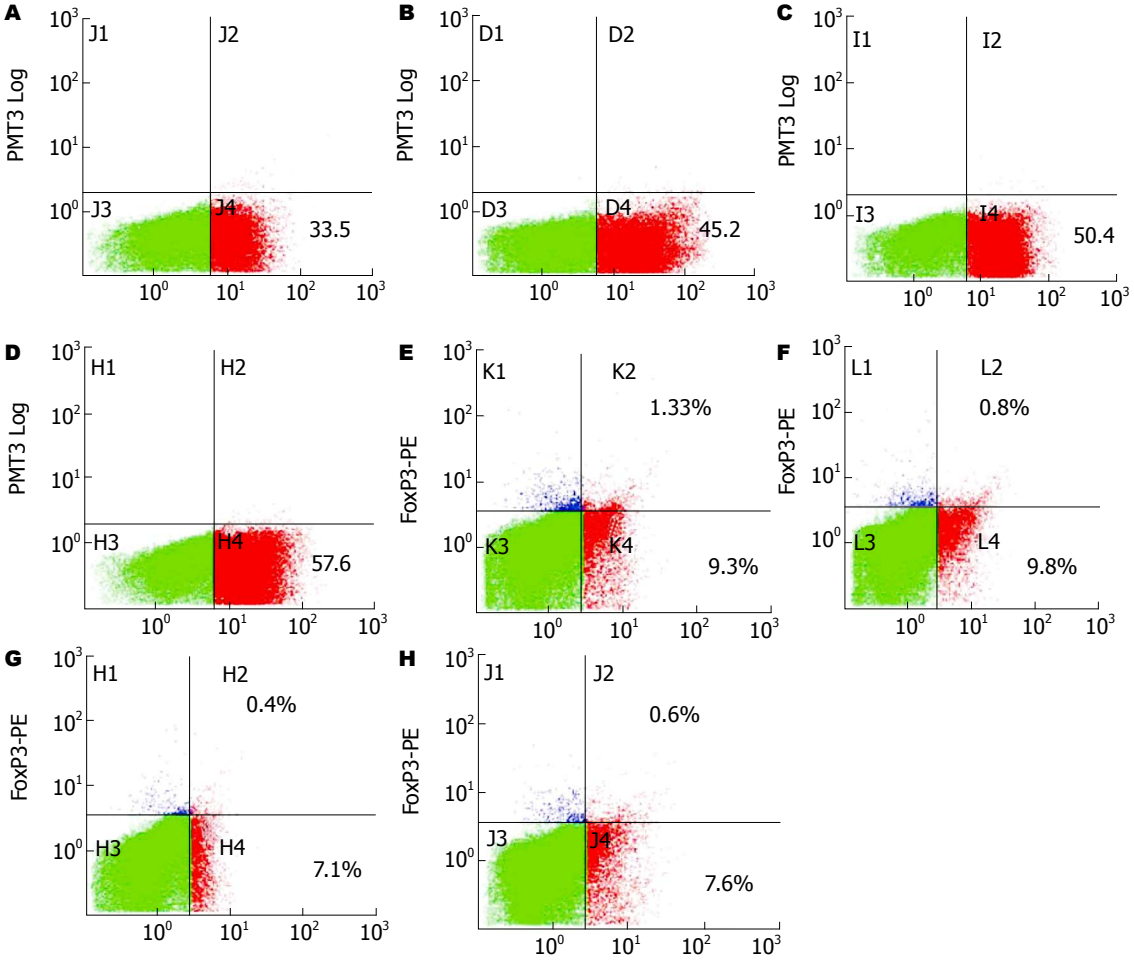


图 5 FACS法检测治疗后CD8$^+$细胞和CD25$^+$Foxp3$^+$细胞在瘤内的浸润. A-D: CD8$^+$细胞; E-H: CD25$^+$Foxp3$^+$细胞; A, E: 空白对照组; B, F: BMDCs对照组; C, H: Hepal-6细胞裂解蛋白致敏BMDCs对照组; D, G: Hepal-6细胞热休克后裂解蛋白致敏BMDCs实验组. BMDCs: 骨髓来源树突状细胞.

多种抗原成分被BMDCs捕获并被处理, 以MHC-Ⅱ类分子或抗原肽表达于细胞膜[39-41], HSPs、HSPs-抗原肽复合物与BMDCs表面的CD40、CD91结合被内化促进BMDCs成熟为DCs(mature dendritic cells, mDCs)[42]. mDCs上调表达CCR7、CD80和CD86分子[39], CCR7与次级淋巴组织趋化因子(secondary lymphoid chemokin, SLC)结合后一方面提高DCs的趋化迁移能力有利于抗原递呈, 另外一方面在宿主体内趋化周围淋巴器官的CD4$^+$ T细胞、CD8$^+$ T细胞迁移入肿瘤发挥抗瘤作用[43]. mDCs在体内能促进CD8$^+$ T细胞的归巢和活化[44-46], 下调TGF-β、IL-10表达抑制CD25$^+$Foxp3$^+$ Tregs的增殖和功能[9,10,12,18,19], 减弱Foxp3$^+$ Tregs的免疫抑制作用[38].

总之, Hepal-6细胞热休克后裂解蛋白体外能促进BMDCs的成熟, 疫苗注射治疗后能抑制CD25$^+$Foxp3$^+$ Tregs但增强CD8$^+$ T细胞在HCC小鼠肿瘤的浸润, 改善免疫环境, 促进肿瘤免疫排斥, 有明显的抗肿瘤效应, 但疫苗的作用机制还要有待实验进一步阐明.

4 参考文献

1 Zou W. Immunosuppressive networks in the tumour environment and their therapeutic relevance. *Nat Rev Cancer* 2005; 5: 263-274 [PMID: 15776005 DOI: 10.1038/nrc1586]
2 Gajewski TF, Meng Y, Harlin H. Immune suppression in the tumor microenvironment. *J Immunother* 2006; 29: 233-240 [PMID: 16699366 DOI: 10.1097/01.cji.0000199193.29048.56]
3 Esendagli G, Bruderek K, Goldmann T, Busche A, Branscheid D, Vollmer E, Brandau S. Malignant and non-malignant lung tissue areas are differentially populated by natural killer cells and regulatory T cells in non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 2008; 59: 32-40 [PMID: 17825949 DOI: 10.1016/j.lungcan.2007.07.022]
4 Jordanova ES, Gorter A, Ayachi O, Prins F, Durrant LG, Kenter GG, van der Burg SH, Fleuren GJ. Human leukocyte antigen class I, MHC class I chain-related molecule A, and CD8+/regulatory T-cell ratio: which variable determines survival of cervical cancer patients? *Clin Cancer Res* 2008; 14: 2028-2035 [PMID:

18381941 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-07-4554]
5 Anz D, Mueller W, Golic M, Kunz WG, Rapp M, Koelzer VH, Ellermeier J, Ellwart JW, Schnurr M, Bourquin C, Endres S. CD103 is a hallmark of tumor-infiltrating regulatory T cells. *Int J Cancer* 2011; 129: 2417-2426 [PMID: 21207371 DOI: 10.1002/ijc.25902]
6 Chaput N, Louafi S, Bardier A, Charlotte F, Vaillant JC, Ménégaux F, Rosenzwajg M, Lemoine F, Klatzmann D, Taieb J. Identification of CD8+CD25+Foxp3+ suppressive T cells in colorectal cancer tissue. *Gut* 2009; 58: 520-529 [PMID: 19022917 DOI: 10.1136/gut.2008.158824]
7 Nomura T, Sakaguchi S. Naturally arising CD25+CD4+ regulatory T cells in tumor immunity. *Curr Top Microbiol Immunol* 2005; 293: 287-302 [PMID: 15981485 DOI: 10.1007/3-540-27702-1_13]
8 Palucka K, Banchereau J. Cancer immunotherapy via dendritic cells. *Nat Rev Cancer* 2012; 12: 265-277 [PMID: 22437871 DOI: 10.1038/nrc3258]
9 Fields RC, Shimizu K, Mulé JJ. Murine dendritic cells pulsed with whole tumor lysates mediate potent antitumor immune responses in vitro and in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95: 9482-9487 [PMID: 9689106 DOI: 10.1073/pnas.95.16.9482]
10 Geiger J, Hutchinson R, Hohenkirk L, McKenna E, Chang A, Mulé J. Treatment of solid tumours in children with tumour-lysate-pulsed dendritic cells. *Lancet* 2000; 356: 1163-1165 [PMID: 11030299 DOI: 10.1016/S0140-6736(00)02762-8]
11 林嘉盈, 李晓艳. Hep-2细胞总RNA转染树突状细胞诱发抗喉癌特异性免疫效应的研究. 现代肿瘤医学 2010; 18: 2308-2312
12 Ueno H, Schmitt N, Klechevsky E, Pedroza-Gonzalez A, Matsui T, Zurawski G, Oh S, Fay J, Pascual V, Banchereau J, Palucka K. Harnessing human dendritic cell subsets for medicine. *Immunol Rev* 2010; 234: 199-212 [PMID: 20193020 DOI: 10.1111/j.0105-2896.2009.00884.x]
13 Okamoto M, Tazawa K, Kawagoshi T, Maeda M, Honda T, Sakamoto T, Tsukada K. The combined effect against colon-26 cells of heat treatment and immunization with heat treated colon-26 tumour cell extract. *Int J Hyperthermia* 2000; 16: 263-273 [PMID: 10830588 DOI: 10.1080/026567300285277]
14 Diamond MS, Kinder M, Matsushita H, Mashayekhi M, Dunn GP, Archambault JM, Lee H, Arthur CD, White JM, Kalinke U, Murphy KM, Schreiber RD. Type I interferon is selectively required by dendritic cells for immune rejection of tumors. *J Exp Med* 2011; 208: 1989-2003 [PMID: 21930769 DOI: 10.1084/jem.20101158]
15 Fuertes MB, Kacha AK, Kline J, Woo SR, Kranz DM, Murphy KM, Gajewski TF. Host type I IFN signals are required for antitumor CD8+ T cell responses through CD8{alpha}+ dendritic cells. *J Exp Med* 2011; 208: 2005-2016 [PMID: 21930765 DOI: 10.1084/jem.20101159]
16 Chang LL, Wang SW, Wu IC, Yu FJ, Su YC, Chen YP, Wu DC, Kuo CH, Hung CH. Impaired dendritic cell maturation and IL-10 production following H. pylori stimulation in gastric cancer patients. *Appl Microbiol Biotechnol* 2012; 96: 211-220 [PMID: 22526791 DOI: 10.1007/s00253-012-4034-z]
17 Ananiev J, Gulubova MV, Manolova IM. Prognostic significance of CD83 positive tumor-infiltrating dendritic cells and expression of TGF-beta 1 in human gastric cancer. *Hepatogastroenterology* 2011; 58: 1834-1840 [PMID: 22086706 DOI: 10.5754/hge10320]
18 Baecher-Allan C, Brown JA, Freeman GJ, Hafler DA. CD4+CD25high regulatory cells in human peripheral blood. *J Immunol* 2001; 167: 1245-1253 [PMID: 11466340]
19 Lal G, Bromberg JS. Epigenetic mechanisms of regulation of Foxp3 expression. *Blood* 2009; 114: 3727-3735 [PMID: 19641188 DOI: 10.1182/blood-2009-05-219584]
20 Ziegler SF, Buckner JH. FOXP3 and the regulation of Treg/Th17 differentiation. *Microbes Infect* 2009; 11: 594-598 [PMID: 19371792 DOI: 10.1016/j.micinf.2009.04.002]
21 Lin W, Haribhai D, Relland LM, Truong N, Carlson MR, Williams CB, Chatila TA. Regulatory T cell development in the absence of functional Foxp3. *Nat Immunol* 2007; 8: 359-368 [PMID: 17273171 DOI: 10.1038/ni1445]
22 Mougiakakos D, Choudhury A, Lladser A, Kiessling R, Johansson CC. Regulatory T cells in cancer. *Adv Cancer Res* 2010; 107: 57-117 [PMID: 20399961 DOI: 10.1016/S0065-230X(10)07003-X]
23 Erdman SE, Poutahidis T. Roles for inflammation and regulatory T cells in colon cancer. *Toxicol Pathol* 2010; 38: 76-87 [PMID: 20019355 DOI: 10.1177/0192623309354110]
24 Sinicrope FA, Rego RL, Ansell SM, Knutson KL, Foster NR, Sargent DJ. Intraepithelial effector (CD3+)/regulatory (FoxP3+) T-cell ratio predicts a clinical outcome of human colon carcinoma. *Gastroenterology* 2009; 137: 1270-1279 [PMID: 19577568 DOI: 10.1053/j.gastro.2009.06.053]
25 Frey DM, Droeser RA, Viehl CT, Zlobec I, Lugli A, Zingg U, Oertli D, Kettelhack C, Terracciano L, Tornillo L. High frequency of tumor-infiltrating FOXP3(+) regulatory T cells predicts improved survival in mismatch repair-proficient colorectal cancer patients. *Int J Cancer* 2010; 126: 2635-2643 [PMID: 19856313 DOI: 10.1002/ijc.24989]
26 Kashimura S, Saze Z, Terashima M, Soeta N, Ohtani S, Osuka F, Kogure M, Gotoh M. CD83(+) dendritic cells and Foxp3(+) regulatory T cells in primary lesions and regional lymph nodes are inversely correlated with prognosis of gastric cancer. *Gastric Cancer* 2012; 15: 144-153 [PMID: 22083420 DOI: 10.1007/s10120-011-0090-9]
27 Badoual C, Hans S, Rodriguez J, Peyrard S, Klein C, Agueznay Nel H, Mosseri V, Laccourreye O, Bruneval P, Fridman WH, Brasnu DF, Tartour E. Prognostic value of tumor-infiltrating CD4+ T-cell subpopulations in head and neck cancers. *Clin Cancer Res* 2006; 12: 465-472 [PMID: 16428488 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-05-1886]
28 Carreras J, Lopez-Guillermo A, Fox BC, Colomo L, Martinez A, Roncador G, Montserrat E, Campo E, Banham AH. High numbers of tumor-infiltrating FOXP3-positive regulatory T cells are associated with improved overall survival in follicular lymphoma. *Blood* 2006; 108: 2957-2964 [PMID: 16825494 DOI: 10.1182/blood-2006-04-018218]
29 Gjerdrum LM, Woetmann A, Odum N, Burton CM, Rossen K, Skovgaard GL, Ryder LP, Ralfkiaer E. FOXP3+ regulatory T cells in cutaneous T-cell lymphomas: association with disease stage and survival. *Leukemia* 2007; 21: 2512-2518 [PMID: 17713545 DOI: 10.1038/sj.leu.2404913]
30 Milne K, Alexander C, Webb JR, Sun W, Dillon K, Kalloger SE, Gilks CB, Clarke B, Köbel M, Nelson

BH. Absolute lymphocyte count is associated with survival in ovarian cancer independent of tumor-infiltrating lymphocytes. *J Transl Med* 2012; 10: 33 [PMID: 22369276 DOI: 10.1186/1479-5876-10-33]
31 Petersen RP, Campa MJ, Sperlazza J, Conlon D, Joshi MB, Harpole DH, Patz EF. Tumor infiltrating Foxp3+ regulatory T-cells are associated with recurrence in pathologic stage I NSCLC patients. *Cancer* 2006; 107: 2866-2872 [PMID: 17099880 DOI: 10.1002/cncr.22282]
32 Nishikawa H, Jäger E, Ritter G, Old LJ, Gnjatic S. CD4+ CD25+ regulatory T cells control the induction of antigen-specific CD4+ helper T cell responses in cancer patients. *Blood* 2005; 106: 1008-1011 [PMID: 15840697 DOI: 10.1182/blood-2005-02-0607]
33 Ralainirina N, Poli A, Michel T, Poos L, Andrès E, Hentges F, Zimmer J. Control of NK cell functions by CD4+CD25+ regulatory T cells. *J Leukoc Biol* 2007; 81: 144-153 [PMID: 16959895 DOI: 10.1189/jlb.0606409]
34 Tiemessen MM, Jagger AL, Evans HG, van Herwijnen MJ, John S, Taams LS. CD4+CD25+Foxp3+ regulatory T cells induce alternative activation of human monocytes/macrophages. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104: 19446-19451 [PMID: 18042719 DOI: 10.1073/pnas.0706832104]
35 Fallarino F, Grohmann U, You S, McGrath BC, Cavener DR, Vacca C, Orabona C, Bianchi R, Belladonna ML, Volpi C, Santamaria P, Fioretti MC, Puccetti P. The combined effects of tryptophan starvation and tryptophan catabolites down-regulate T cell receptor zeta-chain and induce a regulatory phenotype in naive T cells. *J Immunol* 2006; 176: 6752-6761 [PMID: 16709834]
36 Misra N, Bayry J, Lacroix-Desmazes S, Kazatchkine MD, Kaveri SV. Cutting edge: human CD4+CD25+ T cells restrain the maturation and antigen-presenting function of dendritic cells. *J Immunol* 2004; 172: 4676-4680 [PMID: 15067041]
37 Kryczek I, Wei S, Zou L, Zhu G, Mottram P, Xu H, Chen L, Zou W. Cutting edge: induction of B7-H4 on APCs through IL-10: novel suppressive mode for regulatory T cells. *J Immunol* 2006; 177: 40-44 [PMID: 16785496]
38 Wan YY, Flavell RA. The roles for cytokines in the generation and maintenance of regulatory T cells. *Immunol Rev* 2006; 212: 114-130 [PMID: 16903910 DOI: 10.1111/j.0105-2896.2006.00407.x]
39 Jin P, Han TH, Ren J, Saunders S, Wang E, Marincola FM, Stroncek DF. Molecular signatures of maturing dendritic cells: implications for testing the quality of dendritic cell therapies. *J Transl Med* 2010; 8: 4 [PMID: 20078880 DOI: 10.1186/1479-5876-8-4]
40 Banchereau J, Steinman RM. Dendritic cells and the control of immunity. *Nature* 1998; 392: 245-252 [PMID: 9521319 DOI: 10.1038/32588]
41 Shen Z, Reznikoff G, Dranoff G, Rock KL. Cloned dendritic cells can present exogenous antigens on both MHC class I and class II molecules. *J Immunol* 1997; 158: 2723-2730 [PMID: 9058806]
42 Singh-Jasuja H, Hilf N, Arnold-Schild D, Schild H. The role of heat shock proteins and their receptors in the activation of the immune system. *Biol Chem* 2001; 382: 629-636 [PMID: 11405225 DOI: 10.1515/BC.2001.074]
43 Sallusto F, Lanzavecchia A. Understanding dendritic cell and T-lymphocyte traffic through the analysis of chemokine receptor expression. *Immunol Rev* 2000; 177: 134-140 [PMID: 11138771 DOI: 10.1034/j.1600-065X.2000.17717.x]
44 Seki I, Suzuki M, Miyasaka N, Kohsaka H. Expression of CD45 isoforms correlates with differential proliferative responses of peripheral CD4+ and CD8+ T cells. *Immunol Lett* 2010; 129: 39-46 [PMID: 20093141 DOI: 10.1016/j.imlet.2009.12.020]
45 Kalinski P, Urban J, Narang R, Berk E, Wieckowski E, Muthuswamy R. Dendritic cell-based therapeutic cancer vaccines: what we have and what we need. *Future Oncol* 2009; 5: 379-390 [PMID: 19374544 DOI: 10.2217/fon.09.6]
46 Mempel TR, Bauer CA. Intravital imaging of CD8+ T cell function in cancer. *Clin Exp Metastasis* 2009; 26: 311-327 [PMID: 18665448 DOI: 10.1007/s10585-008-9196-9]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



世界华人消化杂志 2014年5月28日; 22(15): 2091-2099
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

基础研究 BASIC RESEARCH

早期生活应激所致功能性慢性内脏痛对成年后大鼠抑郁样行为和下丘脑室旁核促肾上腺皮质激素释放激素表达的影响

喻 乐, 花 璐, 陈自洋, 花 嵘, 张咏梅

喻乐, 花璐, 陈自洋, 张咏梅, 江苏省麻醉学重点实验室 江苏省徐州市 221004
花嵘, 中国人民解放军第九七医院急诊科 江苏省徐州市 221004
喻乐, 在读硕士, 主要从事麻醉与镇痛的基础与临床的研究.
国家自然科学基金资助项目, No. 81171041
江苏省自然科学基金资助项目, No. BK2011197
江苏省高校自然科学研究重大基金资助项目, No. 13KJA320001
江苏省2012年度普通高校研究生科研创新计划基金资助项目, No. XYYC-1214
作者贡献分布: 此课题由喻乐与张咏梅设计; 研究过程喻乐、花璐、陈自洋及花嵘操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由张咏梅提供; 数据分析由喻乐与花璐完成; 本论文写作由喻乐与张咏梅完成
通讯作者: 张咏梅, 教授, 221004, 江苏省徐州市铜山路209号, 江苏省麻醉学重点实验室. zhangym700@163.com
电话: 0516-83262683
收稿日期: 2014-03-07 修回日期: 2014-04-02
接受日期: 2014-04-09 在线出版日期: 2014-05-28

Effect of functional chronic visceral pain caused by neonatal colorectal distension on depression-like behavior and expression of CRH in the paraventricular nucleus of adult male rats

Le Yu, Lu Hua, Zi-Yang Chen, Rong Hua, Yong-Mei Zhang

Le Yu, Lu Hua, Zi-Yang Chen, Yong-Mei Zhang, Department of Anesthesia Physiology, Xuzhou Medical College; Jiangsu Province Key Laboratory of Anesthesiology, Xuzhou 221004, Jiangsu Province, China
Rong Hua, Department of Emergency Medicine, the 97th Hospital of PLA, Xuzhou 221004, Jiangsu Province, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81171041; the Natural Science Foundation of Jiangsu Province, No. BK2011197; the Key Subject of Colleges and Universities Natural Science Foundation of Jiangsu Province, No. 13KJA320001; the University Graduate Student Science and Technology Innovation Project of Jiangsu Province, No. XYYC-1214
Correspondence to: Yong-Mei Zhang, Professor, Department of Anesthesia Physiology, Xuzhou Medical College Jiangsu Province Key Laboratory of Anesthesiology, 209 Tongshan Road, Xuzhou 221004, Jiangsu Province, China. zhangym700@163.com
Received: 2014-03-07 Revised: 2014-04-02
Accepted: 2014-04-09 Published online: 2014-05-28

Abstract

AIM: To investigate the effect of functional chronic visceral pain caused by neonatal colorectal distension (CRD) on depression-like behavior and expression of corticotropin releasing hormone (CRH) in the paraventricular nucleus (PVN) of adult male rats, and to explore the underlying mechanism.

METHODS: Neonatal male rats were randomly divided into two groups (n = 10 for each), a sham operation group and a CRD group. The CRD group was given colorectal distension twice daily on postnatal days 8, 10, and 12. Abdominal withdrawal reflex (AWR) scores, pain threshold, and external oblique discharge amplitude were used to test visceral hypersensitivity during postnatal weeks 8-10. Open field test, sucrose preference test and forced swim test were used to test depression-like behavior during postnatal weeks 10-12. After behavior tests, HE staining was used to detect pathological changes of the colorectal tissue. Immunofluorescence was used to detect the expression of CRH in the PVN. Radioimmunoassay was used to detect the level of cortisol in blood.

RESULTS: Colorectal distension resulted in chronic visceral hypersensitivity without pathological changes in the colorectal tissue. Rats with functional chronic visceral pain caused by early-life stress exhibited depression-like behavior. The expression of CRH in the PVN and the level of CORT in blood of CRD rats increased compared with control rats.

CONCLUSION: Rats with functional chronic visceral pain caused by early-life stress show depression-like behavior, and the underlying mechanism may be related to increased expression of CRH in the PVN and dysfunction of the HPA axis.

■背景资料
早期生活负性事件包括童年虐待等是成年后抑郁发生的高危因素. 而抑郁是慢性疼痛常见的伴随症状, 导致严重的疾病负担. 慢性功能性内脏痛大鼠是否伴有抑郁样行为及其机制尚不确切. 早期生活应激所致功能性慢性内脏痛模型的建立, 为进一步研究人类功能性慢性内脏痛伴发抑郁的发展机制以及治疗提供契机.

■同行评议者
王小众, 教授, 福建医科大学附属协和医院消化内科

■研发前沿
近年来，早期生活应激能够增加成年后各种精神疾病障碍和行为问题的发生，引起人们的广泛关注. 有调查显示抑郁患者的边缘区域包括下丘脑和海马有功能改变，表现为促肾上腺皮质激素释放激素(corticotropin releasing hormone, CRH)分泌过多，HPA轴功能活跃. 对于早期生活应激所致的功能性慢性内脏痛大鼠是否伴发抑郁及是否影响室旁核内促肾上腺皮质激素释放激素(corticotropin releasing hormone, CRH)表达，未见报道.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Functional chronic visceral pain; Colorectal distension; Early-life stress; Depression; Corticotropin releasing hormone

Yu L, Hua L, Chen ZY, Hua R, Zhang YM. Effect of functional chronic visceral pain caused by neonatal colorectal distension on depression-like behavior and expression of CRH in the paraventricular nucleus of adult male rats. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(15): 2091-2099 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2091.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2091

摘要

目的: 观察大鼠新生期经历直结肠扩张所致功能性慢性内脏痛对成年后大鼠抑郁样行为及下丘脑室旁核(corticotropin releasing hormone, PVN)内促肾上腺皮质激素释放激素(corticotropin releasing hormone, CRH)表达的影响，探讨早期生活应激所致的功能性慢性内脏痛大鼠伴发抑郁样行为的可能作用机制.

方法: 将新生期♂SD大鼠20只，随机分成2组(n = 10): 假手术(Sham)组，新生期结直肠扩张(colorectal distension, CRD)组. CRD组大鼠出生后第8、10、12天，每天给予两次结直肠扩张，成年后即出生后第8-10周，检测腹壁撤退反射(abdominal withdrawal reflex, AWR)评分、痛阈以及腹外斜肌放电幅度，出生后第10-12周检测旷场实验、糖水偏好及强迫游泳等抑郁样行为变化，行为学检测后取结肠进行HE染色观察组织病理变化，取血浆检测皮质酮(cortisol, CORT)水平，取脑PVN进行荧光检测CRH表达水平.

结果: (1)大鼠新生期经历直结肠扩张，成年后痛阈值下降，AWR评分、腹外斜肌放电幅度增高(P<0.05, P<0.05)，结直肠组织均未见明显病理改变; (2)与Sham组相比，CRD组大鼠在5 min旷场实验中的穿格子线数、直立次数和总运动距离明显减少(均P<0.05)，总休息时间明显增多(P<0.05)，糖水消耗率下降(P<0.05)，强迫游泳过程中不动时间增加(P<0.05); (3)与Sham组相比较，CRD组大鼠血浆中CORT的水平增高(P<0.05)，PVN内CRH表达也增加(P<0.05).

结论: 早期生活应激致功能性慢性内脏痛大鼠有抑郁样行为改变，其机制可能与PVN内CRH表达增加，HPA轴功能失调有关.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 功能性慢性内脏痛; 直结肠扩张; 早期生活应激; 抑郁; 促肾上腺皮质激素释放激素

核心提示: 下丘脑室旁核内促肾上腺皮质激素释放激素(corticotropin releasing hormone)表达增加，下丘脑-腺垂体-肾上腺轴(hypothalamic-pituitary-adrenal)轴功能失调可能是早期生活应激致功能性慢性内脏痛大鼠内脏痛觉过敏和伴抑郁样行为改变的共同的病理生理机制.

喻乐，花璐，陈自洋，花嵘，张咏梅. 早期生活应激所致功能性慢性内脏痛对成年后大鼠抑郁样行为和下丘脑室旁核促肾上腺皮质激素释放激素表达的影响. 世界华人消化杂志 2014; 22(15): 2091-2099 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2091.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2091

0 引言

功能性慢性内脏痛是一种以腹痛或腹部不适，伴或不伴排便习惯改变为特征的胃肠功能性疾病，症状至少持续3 mo，但结肠组织未见明显病理学变化，其发病机制复杂，可能与包括心理因素、胃肠道异常运动与分泌、内脏高敏感性在内的中枢和外周因素有关[1-3]. 目前新生期直结肠扩张模型是国内外公认的比较理想的功能性慢性内脏痛模型之一. 大量的研究和分析[4-6]已证实，早期生活应激包括童年虐待、忽视、母婴分离等是成年后抑郁发生的高危因素. 而抑郁等精神障碍是慢性疼痛常见的伴随症状，导致严重的疾病负担，严重影响患者的生活质量[7,8]. 早期生活应激所致的功能性慢性内脏痛大鼠是否伴发抑郁样行为及其作用机制尚不确切. 本研究通过观察大鼠新生期经历直结肠扩张所致功能性慢性内脏痛对成年后大鼠抑郁样行为及下丘脑室旁核(corticotropin releasing hormone, PVN)内促肾上腺皮质激素释放激素(corticotropin releasing hormone, CRH)表达的影响，探讨早期生活应激所致的功能性慢性内脏痛大鼠伴发抑郁样行为的可能作用机制.

1 材料和方法

1.1 材料 新生第8天♂SD大鼠，由徐州医学院实验动物中心提供. 新生大鼠与母鼠同笼直到28 d，鼠乳喂养. 母婴分离后，每5只子鼠1笼，保持室温23 ℃±1 ℃及12 h/12 h明/暗光照，能够自由取食和进水. 随后大鼠正常饲养到第8周进行下述各项实验. 采用随机数字表法，将大鼠随机

分为2组(n = 10): 假手术组(Sham组)、新生期结直肠扩张组(colorectal distension, CRD组). 兔抗大鼠CRH(abcam公司, 美国); Alexa 594驴抗兔IgG(Life Technologies公司, 美国); 血浆皮质酮放射免疫试剂盒(北京华英生物技术研究所, 中国); 人血管成形气囊20.0 mm×3.0 mm(美国); BL-420E+多道生理记录仪(成都泰盟公司, 中国); 荧光显微镜(Olympus IX-81, 日本); 旷场箱及强迫游泳圆筒(上海软隆公司, 中国).

1.2 方法

1.2.1 功能性慢性内脏痛模型的建立: 参照文献[9]通过新生期反复CRD的方法制备功能性慢性内脏痛模型: 新生大鼠于出生后第8、10、12天, 每天上午固定时间给予两次结直肠扩张, 将直径3 mm, 长20 mm的血管成形气囊从肛门插入至清醒新生大鼠的降结肠, 用0.3 mL水扩张产生60 mmHg的压力在结肠内留置1 min后, 将其减压退出, 间隔30 min后重复扩张1次. Sham组大鼠除未进行结直肠扩张外, 其他操作均与CRD组一致.

1.2.2 行为学测定: (1)AWR评分: 按Al-Chaer等[9]报道的方法, 大鼠在实验前18 h禁食不禁水, 用乙醚或氟烷麻醉后, 将未充气的球囊涂石蜡油后插入结直肠内, 用胶布将肛门外导管固定于大鼠尾根部, 导管经三通连接注射器和血压计, 大鼠放置在20 cm×6 cm×8 cm的有机玻璃箱内观察, 约30 min大鼠完全适应后开始实验. 分别采用20、40、60、80 mmHg 4个压力, 每次扩张持续20 s, 刺激间隔4 min, 采用单盲法, 取3次评分之均值. AWR的评分标准[10]为: 0分: 无明显行为变化; 1分: 大鼠身体不动或仅有简单的头部运动; 2分: 腹部肌肉开始收缩; 3分: 下腹壁抬离箱底或明显收缩变平; 4分: 腹壁拱起或伴身体、骨盆躬起; (2)AWR方法测定痛阈: 球囊放置过程同前, 通过注射器持续、缓慢加压, 每10 mmHg为一压力梯度, 每个压力停留10 s, 间隔4 min, 以肉眼观察出现明显的下腹壁抬离箱底或明显收缩变平(AWR 3分)时的最小压力值为痛阈.扩张压力范围在10-80 mmHg之间; 每只大鼠重复3次, 取平均值; (3)腹外斜肌放电的测量: 参照文献[9,11], 前述方法置入球囊后, 将大鼠固定于手术台上, 用1%左右的氟烷维持麻醉, 并随时通过测量疼痛反应调整气体麻醉机内氟烷的流量, 使大鼠不发生自主活动, 却有疼痛反应存在. 将银丝双极电极插入腹股沟韧带上方、距中线1.5 cm的一侧腹外斜肌上, 待适应15 min后, 对清醒大鼠予以结直肠扩张, 压力梯度分别为20、40、60、80 mmHg, 每次加压10 s, 刺激间隔4 min. 用BL-420E+生物机能实验系统记录在不同压力的结直肠扩张刺激下大鼠腹外斜肌的放电活动变化. 记录参数设置: 高频滤过2 kHz, 时间常数0.001 s, 采样频率为40 Hz, 灵敏度500 μV, 扫描速度250 ms/div; (4)旷场实验: 参照文献[12], 旷场为100 cm×100 cm×50 cm黑色聚碳酸酯板围成方箱, 计算机Anymaze软件将其底部平分为25个方格, 实验时手提大鼠尾巴将其轻轻放在箱底中心方格内, 记录大鼠5 min的旷场行为, 如穿格子线数, 直立次数, 总运动距离和总休息时间. 每次观察结束后清洗方箱内壁及底面, 以免上次余留的信息(如动物的大、小便、气味)影响下次测试结果; (5)糖水偏好实验: 参照文献[12,13], 将大鼠单笼饲养, 分别给予一瓶1%蔗糖溶液, 一瓶自来水后适应48 h, 禁水禁食24 h后进行糖水偏好实验. 每只大鼠同时给予事先称重的两瓶水, 1瓶为1%蔗糖溶液, 1瓶为自来水, 为避免大鼠喜好饮一侧水, 应定期倒换两水瓶位置, 1 h后取走进行称量, 每只大鼠糖水消耗率 = 糖水消耗量/(糖水消耗量+普通自来水消耗量)×100%; (6)强迫游泳实验: 参照文献[12,14], 将大鼠放入直径18 cm, 水深(30-40 cm)的圆筒中, 水温23℃±1℃, 记录大鼠5 min不动的时间(动物四肢不动漂浮于水面, 仅头部露出水面呼吸). 每次测试完毕后, 缸中的水需要倒掉并清洗干净后再开始下1次测试.

1.2.3 结直肠组织病理学检查: 第12周, 经组织灌注固定后, 取大鼠距肛门10 cm处降结肠作标本. 切片由徐州医学院附属医院病理科专家诊断, 观察指标为结直肠局部组织有无损伤及炎症等异常改变.

1.2.4 血浆糖皮质激素水平的测定: 静脉取血, 枸橼酸钠抗凝, 分离血浆, 以二氯甲烷提取, 放射免疫法测定血浆皮质酮含量(ng/mL).

1.2.5 免疫荧光染色法检测PVN内CRH: 第12周大鼠经心脏组织灌注固定取脑固定, 沉糖脱水后脑组织冠状冰冻连续切片(厚度30 μm), PBS漂洗, 用含有0.3%Triton X-100的10%驴血清室温封闭2 h, 加入兔抗大鼠CRH抗体(1∶200), 4 ℃孵育24 h, PBS漂洗, 暗室内加入Alexa 594驴抗兔IgG(1∶200), 室温孵育2 h, PBS漂洗, 贴片、封片, 共聚焦显微镜下观察拍片、计数.

统计学处理 实验数据以mean±SD表示, 采用SPSS13.0统计学软件进行数据分析, 两组

■相关报道

有研究显示功能性慢性内脏痛患者在肠动力、内脏敏感性和HPA轴的功能等方面呈现出典型改变, 这些改变同时也是慢性应激相关精神疾病的共同特征. 以地塞米松评价下丘脑反馈抑制CRH的研究显示, 约1/2的重度抑郁患者其正常皮质激素抑制反应丧失.

■创新盘点

哺乳动物在神经发育的可塑阶段, 基因与环境(应激)相互作用有可能影响幼年神经发育. 利用新生期经历直结肠扩张模拟早期生活应激建立功能性慢性内脏痛模型, 有助于我们从脑-肠轴的角度探讨早期生活应激所致的功能性慢性内脏痛大鼠伴发抑郁可能作用机制.

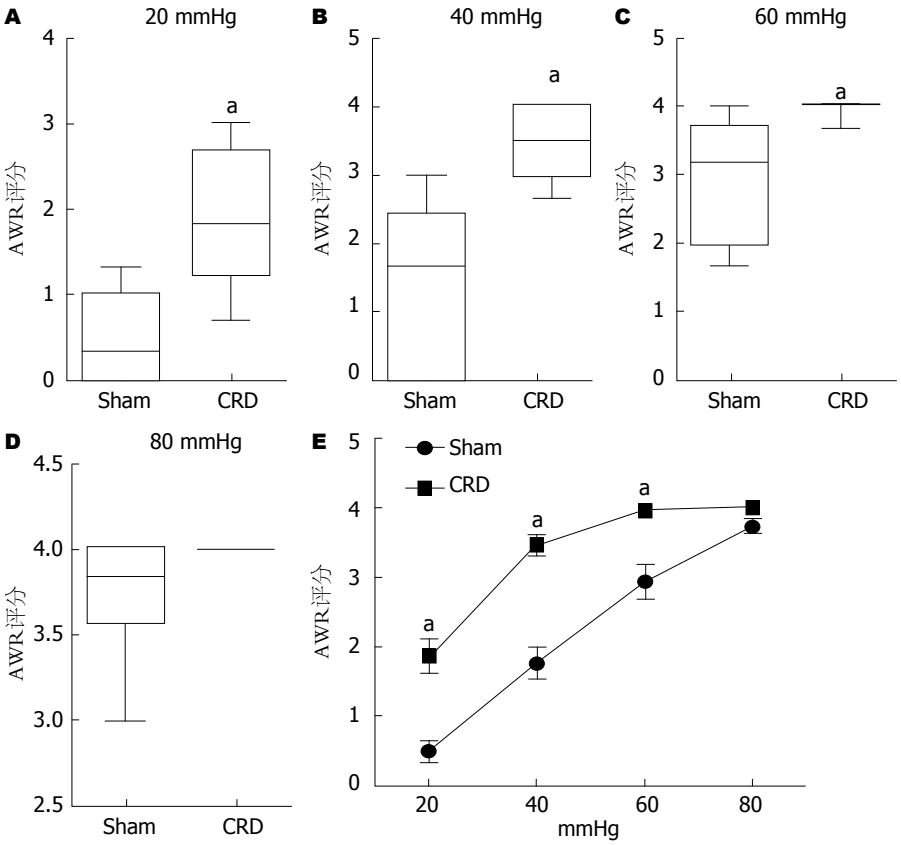


图 1 大鼠新生期经历直结肠扩张对成年后AWR评分的影响. A: 两组大鼠在20 mmHg直结肠扩张压力刺激下AWR评分; B: 两组大鼠在40 mmHg直结肠扩张压力刺激下AWR评分; C: 两组大鼠在60 mmHg直结肠扩张压力刺激下AWR评分; D: 两组大鼠在80 mmHg直结肠扩张压力刺激下AWR评分; E: 两组大鼠随着扩张压力刺激的不断增加AWR评分的变化变化趋势. 该箱图中箱体代表四分位距, 中间黑线代表中位数, 上下短线代表5%到95%的可信区间. $^{a}P<0.05$ *vs* Sham组大鼠. Sham组: 假手术组; CRD组: 新生期结直肠扩张组.

间比较采用成组*t*检验, $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 大鼠新生期经历CRD成年后对AWR评分、痛阈及腹外斜肌放电幅度的影响 与Sham组相比较, 在20、40和60 mmHg扩张压力刺激下, CRD组大鼠的AWR评分和腹外斜肌放电幅度增加($P<0.05$, $P<0.05$), 在80 mmHg压力刺激下两组大鼠的AWR评分和腹外斜肌放电幅度无显著差异($P>0.05$, $P>0.05$), 而且随着扩张压力刺激的不断增加, 从20-80 mmHg, 两组大鼠的AWR评分和腹外斜肌放电幅度均越来越高(图1, 2). 与Sham组相比较, CRD组大鼠的痛阈明显降低($P<0.05$)(图3).

2.2 大鼠新生期经历CRD成年后结直肠组织病理变化情况 常规病理切片光镜下: 两组大鼠结直肠组织结构完整, 排列整齐, 黏膜表面光滑, 固有层内肠腺规则; 胞质呈嗜酸性红染, 胞核为圆形或椭圆形, 染成均匀的蓝黑色, 形态规则, 大小较为一致, 核仁清晰可见; 周围间质无明显水肿, 未见中性粒细胞、单核细胞、巨噬细胞浸润(图4).

2.3 大鼠新生期经历CRD成年后抑郁样行为变化情况 与Sham组相比, CRD组大鼠在5 min旷场实验中的穿格子线数、直立次数和总运动距离明显减少(均$P<0.05$), 总休息时间明显增多($P<0.05$)(图5), 糖水消耗率下降($P<0.05$)(图6), 强迫游泳过程中不动时间增加($P<0.05$)(图7).

2.4 大鼠新生期经历CRD成年后血浆糖皮质激素水平变化情况及下丘脑室旁核内CRH的表达情况 与Sham组相比较, CRD组大鼠血浆中CORT的水平增高($P<0.05$)(图8), 免疫荧光结果显示, 下丘脑PVN内CRH表达也增加($P<0.05$)(图9).

3 讨论

人的大脑在6-19岁期间处于快速发育和优化阶段, 这种神经发育的可塑性最终决定成年后的脑高级功能[15,16]. 因此, 基因与环境(应激)相互

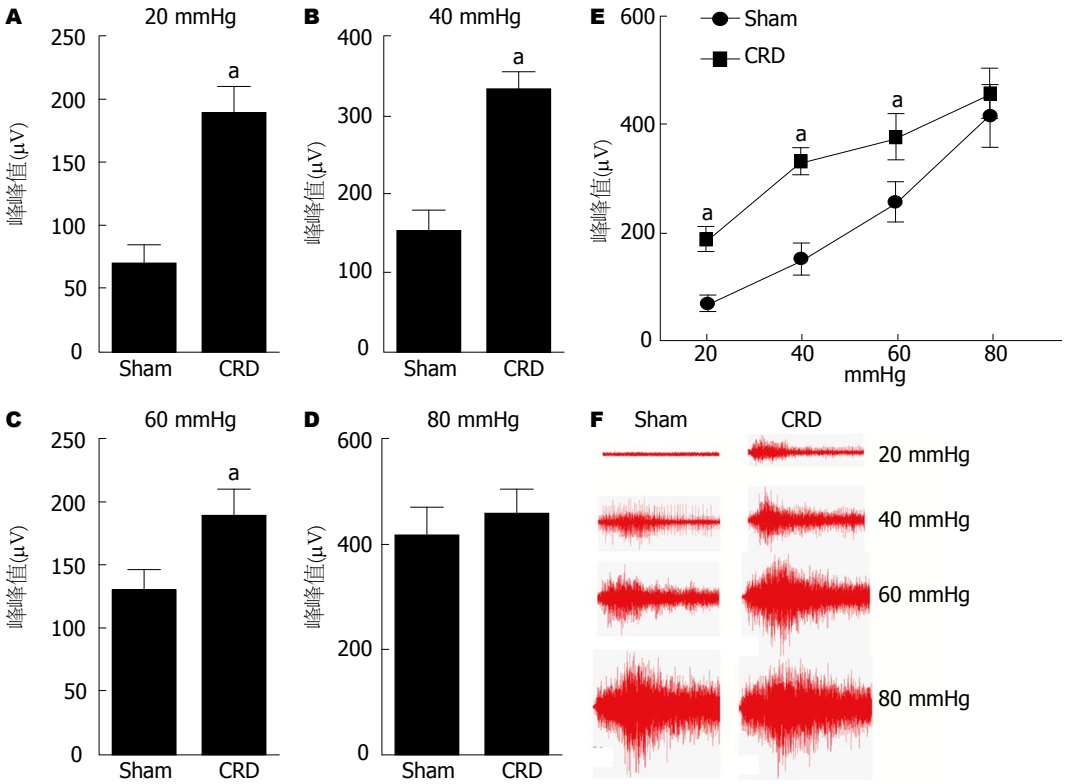


图 2　大鼠新生期经历直结肠扩张对成年后腹外斜肌放电幅度的影响. A: 两组大鼠在20 mmHg直结肠压力扩张刺激下腹外斜肌放电情况; B: 两组大鼠在40 mmHg直结肠压力扩张刺激下腹外斜肌放电情况; C: 两组大鼠在60 mmHg直结肠压力扩张刺激下腹外斜肌放电情况; D: 两组大鼠在80 mmHg直结肠压力扩张刺激下腹外斜肌放电情况; E: 两组大鼠随着扩张压力刺激的不断增加AWR评分的变化变化趋势; F: 两组大鼠在不同压力刺激下腹外斜肌放电情况的典型肌电图. $^{a}P<0.05$ *vs* Sham组大鼠. Sham组: 假手术组; CRD组: 新生期结直肠扩张组.

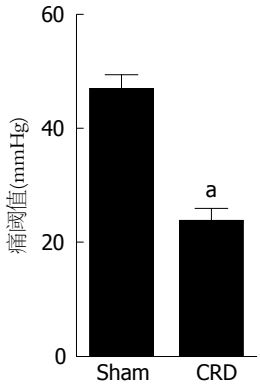


图 3　大鼠新生期经历直结肠扩张对成年后痛阈的影响. $^{a}P<0.05$ *vs* Sham组大鼠. Sham组: 假手术组; CRD组: 新生期结直肠扩张组.

作用有可能影响幼年神经发育, 最终导致成年后抑郁的发生. 早期生活应激事件, 如童年受虐待、失去父母、被忽视等不良事件可影响结直肠动力并引起内脏痛觉过敏, 增加成年后腹痛相关功能性肠病发生的危险性[17]. 而抑郁精神障碍是慢性疼痛常见的伴随症状, 导致严重的疾病负担, 影响患者的生活质量. 本研究通过对大鼠新生期进行反复的结直肠扩张建立功能性慢性内脏痛模型, 观察大鼠成年后抑郁样行为变化及下丘脑PVN内CRH表达的情况, 探讨早期生活应激所致的功能性慢性内脏痛大鼠伴发抑郁的可能作用机制, 为临床上多途径预防和治疗功能性慢性内脏痛提供可靠的依据, 改善患者的生活质量.

本研究观察到新生期经历直结肠扩张的CRD组大鼠与Sham组大鼠相比较, 成年后的痛阈值降低, AWR评分和腹外斜肌放电幅度增加, 结直肠组织无明显病理学改变, 说明我们的功能性慢性内脏痛模型的建立是比较稳定的. 旷场实验, 糖水偏好实验及强迫游泳实验是衡量啮齿类动物抑郁样行为的良好指标[12,18]. 本研究中CRD组大鼠较Sham组大鼠在旷场实验中的穿格子线数和直立次数均减少, 总休息时间增加, 总运动距离减少, 提示CRD组大鼠的自主行动和对外界的空间探索行为明显减少, 兴趣淡漠. 糖水消耗率是目前动物实验中快感缺失的评价指标, 快感缺失指的是体验快乐的能力下降, 被认为是抑郁症的核心症状. 糖水偏好实验中CRD组大鼠的糖水消耗率减少, 提示CRD组大

■应用要点

本研究的实验结果对早期生活应激所致的功能性慢性内脏痛大鼠成年后伴发抑郁等精神障碍的病理生理机制有了进一步的认识, 为临床上采取积极有效的防治措施, 减少早期不良生活经历所造成的危害提供有力的依据.

■同行评价
本研究通过动物实验证实早期生活应激致功能性慢性内脏痛可引发成年后大鼠抑郁行为，可能通过下丘脑室旁核CRH起作用，对IBS的认识有一定意义.

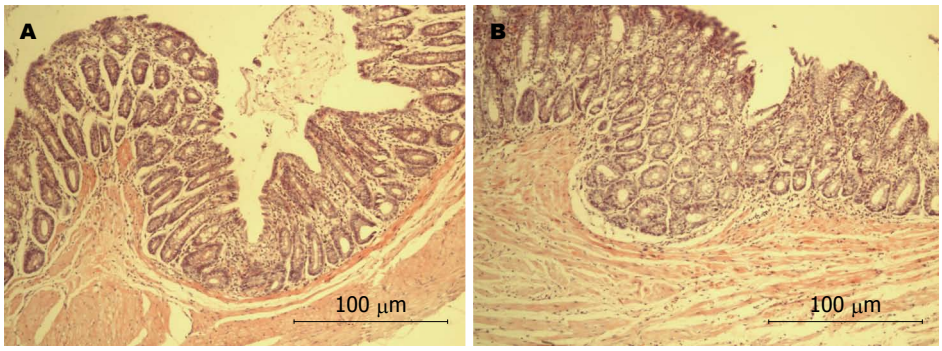


图 4 大鼠新生期经历直结肠扩张成年后结肠组织病理结果. A: Sham组; B: CRD组. Sham组: 假手术组; CRD组: 新生期结直肠扩张组.

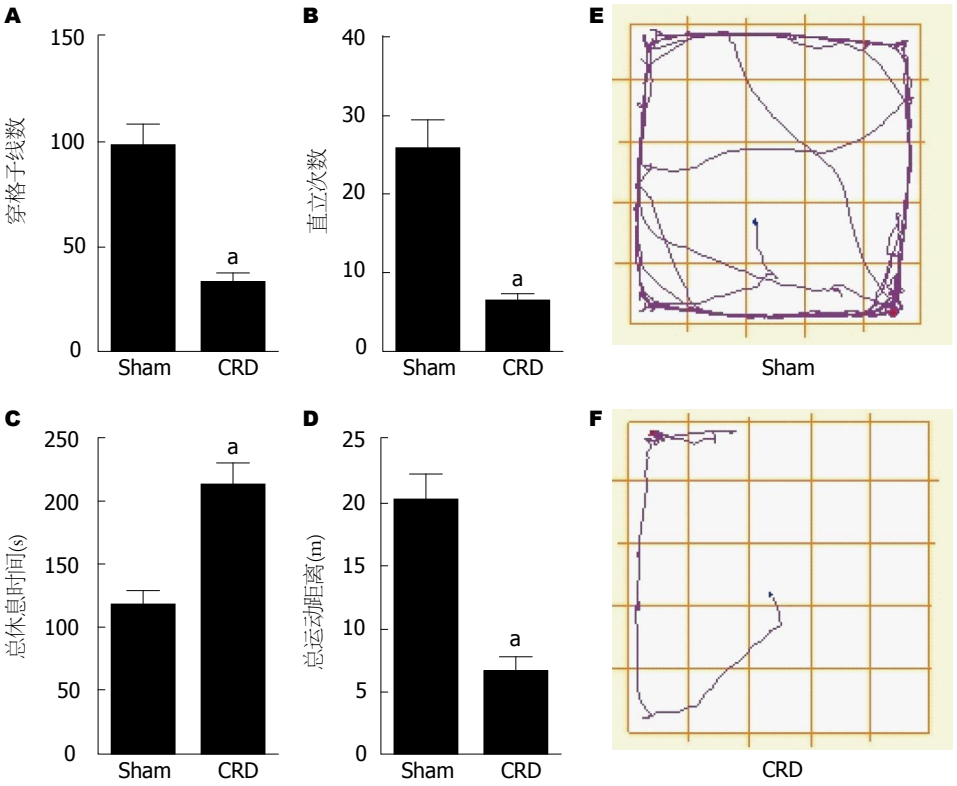


图 5 大鼠新生期经历直结肠扩张成年后5 min旷场实验结果. A: 穿格子线数; B: 直立次数; C: 总休息时间; D: 总运动距离; E, F: 典型轨迹图. $^aP<0.05$ *vs* Sham组大鼠. Sham组: 假手术组; CRD组: 新生期结直肠扩张组.

鼠抑郁症状明显. 强迫游泳是模拟行为绝望而设计的, 动物经历一段时间的挣扎后就会由试图逃脱不断游泳的积极状态变为仅保持头部浮出水面停止游泳的消极状态, 抑郁的动物出现消极状态早, 不动时间就会增加. 本研究中CRD组大鼠较Sham组大鼠游泳不动时间增加, 提示CRD大鼠的消极沮丧情绪. 以上研究结果均说明, 早期生活应激所致的功能性慢性内脏痛大鼠伴有抑郁样行为表现.

目前, 功能性慢性内脏痛的发病机制尚不清楚. 有研究显示功能性慢性内脏痛患者在肠动力、内脏敏感性和HPA轴的功能等方面呈现出典型改变[19,20], 这些改变同时也是慢性应激相关精神疾病的共同特征[21,22]. CRH是HPA轴的重要调节肽, 下丘脑接受刺激后释放CRH, 刺激垂体ACTH的释放, 使血浆中糖皮质激素CORT水平增高. 慢性疼痛状态下, 长时间持续应激会破坏HPA轴的反馈机制, 通过HPA轴, 大脑和外周的糖皮质激素受体下调可能诱导更高水平的糖皮质激素产生, 最终导致HPA轴功能失调. 本研究证实了大鼠新生期经历反复的结直肠扩张, 成年后血浆中的CORT水平增高, PVN内CRH表达增加, 这些都有可能最终导致HPA轴功能失调, 内脏痛觉高敏. 本研究的实验结果提示下丘脑

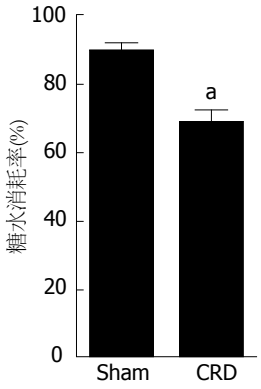


图 6　大鼠新生期经历直结肠扩张成年后糖水偏好试验中1%蔗糖消耗率. $^{a}P<0.05$ *vs* Sham组大鼠. Sham组: 假手术组; CRD组: 新生期结直肠扩张组.

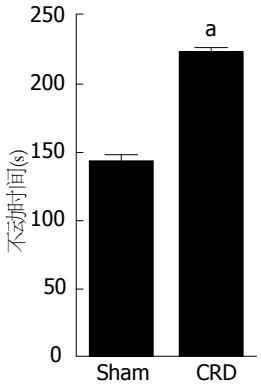


图 7　大鼠新生期经历直结肠扩张成年后强迫游泳实验中不动时间情况. $^{a}P<0.05$ *vs* Sham组大鼠. Sham组: 假手术组; CRD组: 新生期结直肠扩张组.

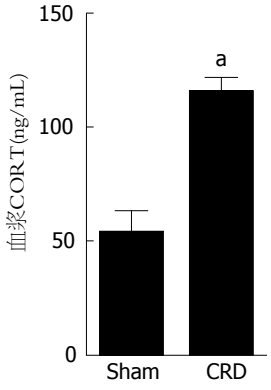


图 8　大鼠新生期经历直结肠扩张成年后血浆CORT水平变化情况. $^{a}P<0.05$ *vs* Sham组大鼠. Sham组: 假手术组; CRD组: 新生期结直肠扩张组.

PVN内CRH神经元敏化可能参与早期生活应激所致的功能性慢性内脏痛大鼠内脏痛觉高敏的形成与维持.

早期生活应激能够增加成年后各种精神疾病障碍和行为问题的发生, 有研究显示早期发育阶段的应激能够引起成年后HPA轴功能对应激

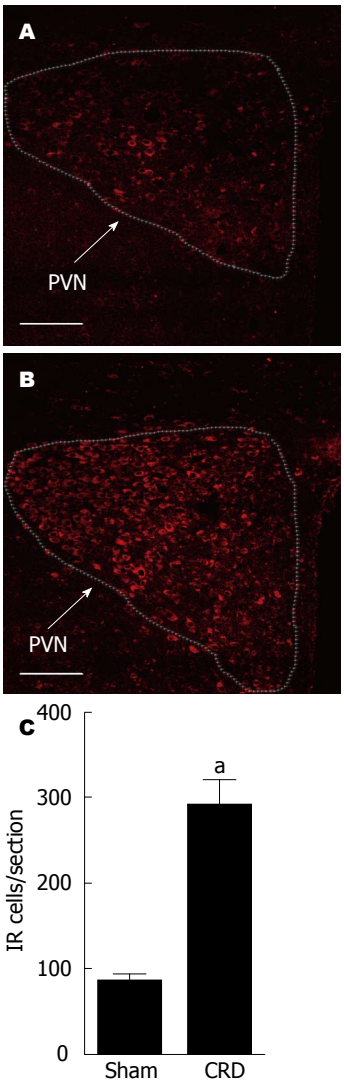


图 9　大鼠新生期经历直结肠扩张成年后下丘脑室旁核内CRH的表达情况. A: Sham组大鼠室旁核内CRH的表达情况; B: CRD组大鼠室旁核内CRH的表达情况, 两组大鼠相比较. $^{a}P<0.05$ *vs* Sham组大鼠. Sham组: 假手术组; CRD组: 新生期结直肠扩张组. PVN: 下丘脑室旁核.

反应的持续改变, 最终引起抑郁易感性增加[23-26]. 在神经内分泌系统中, 一方面, HPA轴的激活为交感神经反应提供了能量基础; 另一方面, HPA轴和交感肾上腺系统与脑的周边、皮质系统相互作用, 提高了觉醒、处境评估和认知性能[27]. 在应激反应下, HPA轴会调节神经递质的释放、交感肾上腺的活动、体循环中糖皮质激素的含量, 从而控制交感神经反应和躯体症状. 而在慢性应激反应下, 多重信息会作用于神经中枢系统, 可能会扰乱HPA轴的负反馈, 从而出现焦虑、抑郁和慢性疼痛等情况[28,29]. 调查[26]显示抑郁患者的边缘区域包括下丘脑和海马有功能改变, 表现为CRH分泌过多, HPA轴功能活跃. 以地塞米松评价下丘脑反馈抑制CRH的研究[30]显示,

约1/2的重度抑郁患者其正常皮质激素抑制反应丧失. 长期高水平糖皮质激素对中枢神经系统级心脏均有负面影响. 就本研究来分析, 可能是早期生活应激所致的功能性慢性内脏痛诱导了抑郁精神障碍的发生, 而抑郁又促进了功能性慢性内脏痛的发生发展及维持, 而HPA轴功能紊乱可能是早期生活应激所致的功能性慢性内脏痛大鼠伴发抑郁精神障碍的原因, 也有可能是慢性疼痛和抑郁共同的神经生理机制[31].

总之, 本研究的实验结果对早期生活应激所致的功能性慢性内脏痛大鼠成年后伴发抑郁等精神障碍的病理生理机制有了进一步的认识, 为临床上采取积极有效的防治措施, 减少早期不良生活经历所造成的危害提供有力的依据.

4 参考文献

1 Austin PD, Henderson SE. Biopsychosocial assessment criteria for functional chronic visceral pain: a pilot review of concept and practice. *Pain Med* 2011; 12: 552-564 [PMID: 21143765 DOI: 10.1111/j.1526-4637.2010.01025.x]

2 Anand P, Aziz Q, Willert R, van Oudenhove L. Peripheral and central mechanisms of visceral sensitization in man. *Neurogastroenterol Motil* 2007; 19: 29-46 [PMID: 17280584]

3 Feng B, La JH, Schwartz ES, Gebhart GF. Irritable bowel syndrome: methods, mechanisms, and pathophysiology. Neural and neuro-immune mechanisms of visceral hypersensitivity in irritable bowel syndrome. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2012; 302: G1085-G1098 [PMID: 22403791 DOI: 10.1152/ajpgi.00542.2011]

4 Jumper SA. A meta-analysis of the relationship of child sexual abuse to adult psychological adjustment. *Child Abuse Negl* 1995; 19: 715-728 [PMID: 7552840]

5 Paolucci EO, Genuis ML, Violato C. A meta-analysis of the published research on the effects of child sexual abuse. *J Psychol* 2001; 135: 17-36 [PMID: 11235837]

6 Schmidt MV, Wang XD, Meijer OC. Early life stress paradigms in rodents: potential animal models of depression? *Psychopharmacology* (Berl) 2011; 214: 131-140 [PMID: 21086114 DOI: 10.1007/s00213-010-2096-0]

7 Ataoğlu E, Tiftik T, Kara M, Tunç H, Ersöz M, Akkuş S. Effects of chronic pain on quality of life and depression in patients with spinal cord injury. *Spinal Cord* 2013; 51: 23-26 [PMID: 22547044 DOI: 10.1038/sc.2012.51]

8 Greenberg EN. The consequences of chronic pain. *J Pain Palliat Care Pharmacother* 2012; 26: 64-67 [PMID: 22448948 DOI: 10.3109/15360288.2011.650359]

9 Al-Chaer ED, Kawasaki M, Pasricha PJ. A new model of chronic visceral hypersensitivity in adult rats induced by colon irritation during postnatal development. *Gastroenterology* 2000; 119: 1276-1285 [PMID: 11054385]

10 Ren TH, Wu J, Yew D, Ziea E, Lao L, Leung WK, Berman B, Hu PJ, Sung JJ. Effects of neonatal maternal separation on neurochemical and sensory response to colonic distension in a rat model of irritable bowel syndrome. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2007; 292: G849-G856 [PMID: 17110521]

11 杨燕珍, 吴斌, 张睿, 卓玲, 陈兢芳, 林国威, 林春. 腹外斜肌放电测量在幼鼠内脏痛觉高敏感模型评价中的应用. 中国当代儿科杂志 2008; 10: 637-641

12 Beaugé LA, DiPolo R. Sidedness of the ATP-Na+-K+ interactions with the Na+ pump in squid axons. *Biochim Biophys Acta* 1979; 553: 495-500 [PMID: 222318 DOI: 10.1007/978-1-61779-458-2_7]

13 Sarkisova KY, Kuznetsova GD, Kulikov MA, van Luijtelaar G. Spike-wave discharges are necessary for the expression of behavioral depression-like symptoms. *Epilepsia* 2010; 51: 146-160 [PMID: 19674046 DOI: 10.1111/j.1528-1167.2009.02260.x]

14 Yazir Y, Utkan T, Aricioglu F. Inhibition of neuronal nitric oxide synthase and soluble guanylate cyclase prevents depression-like behaviour in rats exposed to chronic unpredictable mild stress. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2012; 111: 154-160 [PMID: 22385503 DOI: 10.1111/j.1742-7843.2012.00877.x]

15 Shaw P, Greenstein D, Lerch J, Clasen L, Lenroot R, Gogtay N, Evans A, Rapoport J, Giedd J. Intellectual ability and cortical development in children and adolescents. *Nature* 2006; 440: 676-679 [PMID: 16572172]

16 Bilbo SD, Schwarz JM. The immune system and developmental programming of brain and behavior. *Front Neuroendocrinol* 2012; 33: 267-286 [PMID: 22982535 DOI: 10.1016/j.yfrne.2012.08.006]

17 卓玲, 吴斌. 新生期母婴分离对大鼠的远期影响. 国际儿科学杂志 2008; 35: 130-134

18 王丹. 抑郁症动物模型及行为学评价. 西安文理学院学报(自然科学版) 2012; (2): 51-53

19 Cervero F, Jänig W. Visceral nociceptors: a new world order? *Trends Neurosci* 1992; 15: 374-378 [PMID: 1279857]

20 Mayer EA, Collins SM. Evolving pathophysiologic models of functional gastrointestinal disorders. *Gastroenterology* 2002; 122: 2032-2048 [PMID: 12055608]

21 Clarke G, Quigley EM, Cryan JF, Dinan TG. Irritable bowel syndrome: towards biomarker identification. *Trends Mol Med* 2009; 15: 478-489 [PMID: 19811951 DOI: 10.1016/j.molmed.2009.08.001]

22 Gros DF, Antony MM, McCabe RE, Swinson RP. Frequency and severity of the symptoms of irritable bowel syndrome across the anxiety disorders and depression. *J Anxiety Disord* 2009; 23: 290-296 [PMID: 18819774 DOI: 10.1016/j.janxdis.2008.08.004]

23 Tofoli SMC, Baes CVW, Martins CMS, Juruena M. Early life stress, HPA axis, and depression. *Psychol Neurosci* 2011; 4: 229-234 [DOI: 10.3922/j.psns.2011.2.008]

24 Juruena MF. Early-life stress and HPA axis trigger recurrent adulthood depression. *Epilepsy Behav* 2013 Nov 19. *[Epub ahead of print]* [PMID: 24269030 DOI: 10.1016/j.yebeh.2013.10.020]

25 Heim C, Newport DJ, Mletzko T, Miller AH, Nemeroff CB. The link between childhood trauma and depression: insights from HPA axis studies in humans. *Psychoneuroendocrinology* 2008; 33: 693-710 [PMID: 18602762 DOI: 10.1016/j.psyneuen.2008.03.008]

26 Baes CV, Tofoli SMD, Martins CMS, Juruena MF. Assessment of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity: glucocorticoid receptor and mineralocorti-

coid receptor function in depression with early life stress - a systematic review. *Acta Neuropsychiatr* 2012; 24: 4-15 [DOI: 10.1111/j.1601-5215.2011.00610.x]
27 Lilly MP, Gann DS. The hypothalamic-pituitary-adrenal-immune axis. A critical assessment. *Arch Surg* 1992; 127: 1463-1474 [PMID: 1365694]
28 Pariante CM, Lightman SL. The HPA axis in major depression: classical theories and new developments. *Trends Neurosci* 2008; 31: 464-468 [PMID: 18675469 DOI: 10.1016/j.tins.2008.06.006]
29 Blackburn-Munro G. Hypothalamo-pituitary-adrenal axis dysfunction as a contributory factor to chronic pain and depression. *Curr Pain Headache Rep* 2004; 8: 116-124 [PMID: 14980146]
30 Carroll BJ, Cassidy F, Naftolowitz D, Tatham NE, Wilson WH, Iranmanesh A, Liu PY, Veldhuis JD. Pathophysiology of hypercortisolism in depression. *Acta Psychiatr Scand Suppl* 2007; (433): 90-103 [PMID: 17280575]
31 刘义, 高静方. 抑郁与慢性疼痛相关的神经生物学共同机制研究进展. 精神医学杂志 2010; 23: 155-157

编辑 田滢 电编 鲁亚静

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版)

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

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

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

世界华人消化杂志 2014年5月28日; 22(15): 2100-2107
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

泛素调节因子在人肝纤维化过程中的表达及意义

王标钰, 张法灿, 张 国

■背景资料
肝纤维化是肝脏对各种原因所导致的肝损害时细胞外基质合成、降解与沉积不平衡而引起的病理过程, 涉及复杂的细胞及分子机制. 其中, 转化生长因子β1(transforming growth factor-β1, TGF-β1)/Smad信号通路可能是慢性乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染导致肝纤维化重要机制.

王标钰, 张法灿, 张国, 广西壮族自治区人民医院消化内科 广西壮族自治区南宁市 530021
王标钰, 住院医师, 广西医科大学在读硕士研究生, 主要从事慢性肝病的研究.
广西壮族自治区卫生厅重点科研课题基金资助项目, No. 桂卫重200958号
作者贡献分布: 王标钰与张法灿对此文所做贡献均等; 课题由王标钰、张法灿与张国设计; 研究过程由王标钰与张国操作完成; 研究所用试剂及分析工具由张法灿提供; 数据分析由王标钰与张国完成; 本论文写作由王标钰完成.
通讯作者: 张法灿, 主任医师, 530021, 广西壮族自治区南宁市桃源路6号, 广西壮族自治区人民医院消化内科.
zhangfacan@126.com
电话: 0771-2186869
收稿日期: 2014-02-18 修回日期: 2014-03-25
接受日期: 2014-04-03 在线出版日期: 2014-05-28

Significance of expression of Smad ubiquitination regulatory factors in liver fibrosis

Biao-Yu Wang, Fa-Can Zhang, Guo Zhang

Biao-Yu Wang, Fa-Can Zhang, Guo Zhang, Department of Gastroenterology, the People's Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China
Supported by: the Key Research Funded Projects from Department of Public Health of Guangxi Zhuang Autonomous Region, No. 200958
Correspondence to: Fa-Can Zhang, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the People's Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, 6 Taoyuan Road, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. zhangfacan@126.com
Received: 2014-02-18 Revised: 2014-03-25
Accepted: 2014-04-03 Published online: 2014-05-28

Abstract

AIM: To observe the expression of Smad ubiquitination regulatory factor (Smurf)1, Smurf2, Smad3 and Smad7 proteins in liver fibrosis and to evaluate their interactions.

METHODS: Immunohistochemistry was applied to detect the expression of Smurf1, Smurf2, Smad3 and Smad7 in 9 normal liver tissue samples and 38 chronic HBV infection tissue samples.

RESULTS: Smurf1, Smurf2, Smad3 and Smad7 showed widespread expression in the liver parenchymal cells and nonparenchymal cells. Compared with normal liver tissue, the positive rates of Smad3 and Smurf2 expression increased significantly (66.7% *vs* 100%, 66.7% *vs* 92.1%, $P < 0.01$ for both) and the positive rate of Smad7 expression decreased significantly in liver fibrosis (77.8% *vs* 39.5%, $P < 0.01$), although the positive rate of Smurf1 expression had no significant change (77.8% *vs* 63.2%, $P > 0.05$). There were significant positive correlations between Smad3 and Smurf2 expression and the degree of fibrosis ($P < 0.01$ for both). Smad7 expression was negatively correlated with the degree of fibrosis ($P < 0.01$). There was no significant correlation between Smurf1 expression and liver fibrosis ($P > 0.05$). Smurf2 expression was positively correlated with Smad3 expression ($P < 0.01$) and negatively with Smad7 expression ($P < 0.01$). There was no significant relationship between Smurf1 and Smurf2, Smad3, Smad7 expression ($P > 0.05$ for all). There was a negative correlation between expression of Smad3 and that of Smad7 ($P < 0.01$).

CONCLUSION: The increase of Smad3 signal and decrease of Smad7 signal may lead to the development of liver fibrosis, and Smurf2 may play a bidirectionally regulatory role in the progression of liver fibrosis.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Liver fibrosis; Smurf; Signal transduction

Wang BY, Zhang FC, Zhang G. Significance of expression of Smad ubiquitination regulatory factors in liver fibrosis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(15): 2100-2107
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2100.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2100

摘要

目的: 观察Smurf1、Smurf2、Smad3和Smad7蛋白在人肝纤维化组织中的表达, 探讨四者的相互关系及介导的信号传导在肝纤维化发生中的作用机制.

方法: 采用免疫组织化学法测定9例正常肝组

■同行评议者
庄林, 主任医师, 昆明市第三人民医院肝病科

织和38例慢性乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染者肝组织中Smurf1、Smurf2、Smad3和Smad7的表达情况.

结果: Smurf1、Smurf2、Smad3和Smad7在肝内实质细胞及非实质细胞均可见广泛表达. 与正常肝相比, 肝纤维化组Smad3、Smurf2的阳性表达率显著增加(66.7% *vs* 100%、66.7% *vs* 92.1%, $P<0.01$、$P<0.01$), Smad7阳性表达率显著降低(77.8% *vs* 39.5%, $P<0.01$); 而Smurf1阳性表达率无显著变化(77.8% *vs* 63.2%, $P>0.05$), 差异无统计学意义. Smad3、Smurf2与纤维化程度呈显著正相关($P<0.01$、$P<0.01$); Smad7与纤维化程度呈显著负相关($P<0.01$); Smurf1与肝纤维化无显著相关性($P>0.05$). Smurf2与Smad3呈显著正相关($P<0.01$), 与Smad7呈显著负相关($P<0.01$); Smurf1与Smurf2、Smad3、Smad7均无相关性(均$P>0.05$); Smad3与Smad7呈负相关($P<0.01$).

结论: Smad3信号增强及Smad7信号缺失可能导致肝纤维化发展, Smurf2在肝纤维化进展中可能发挥双向调节作用.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 肝纤维化; Smurf; 信号传导

核心提示: Smad泛素化调节因子(smad ubiquitination regulatory factor, Smurf)参与了转化生长因子β1(transforming growth factor-β1)/Smad信号通路的调节, Smurf2在肝纤维化进展中发挥双向调节作用, 但其对信号通路的促进作用可能远大于抑制作用, 最终促进肝纤维化的进展.

王标钰, 张法灿, 张国. 泛素调节因子在人肝纤维化过程中的表达及意义. 世界华人消化杂志 2014; 22(15): 2100-2107
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2100.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2100

0 引言

目前认为肝纤维化发生时细胞外基质(extracellular matrix, ECM)主要来源于活化的肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC), 而转化生长因子β1(transforming growth factor-β1, TGF-β1)则是导致肝纤维化最重要的细胞因子之一[1]. 转化生长因子β超家族信号传导因子(drosophila mothers against decapentaplegic protein, Smad)蛋白做为TGF-β1下游信号因子, 在TGF-β1/Smad信号通路中发挥着重要作用. Smad泛素化调节因子-2(smad ubiquitination regulatory factor2, Smurf2)是E3泛素链接酶中的一种, 在TGF-β1/Smad信号通路起着重要的调控作用[2-4]. 我们对慢性乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染者进行肝纤维化分级, 然后用免疫组织化学法检测Smurf1、Smurf2、Smad3和Smad7在人正常肝组织及肝纤维化组织中的表达, 探讨四者的相互关系及介导的信号在纤维化发生中的作用.

■研发前沿
目前研究多集中在对TGF-β信号传导通路底物及受体的调节上, Smad3和Smad7受泛素化调节因子(Smurf)的调节, 但Smurf对Samd的调节是否影响到肝纤维化的过程目前仍未解决.

1 材料和方法

1.1 材料 收集2006-01/2012-12广西壮族自治区人民医院38例诊断明确的慢性HBV感染者病理存档肝穿标本(肝纤维化分级为S1-4期), 男性32例, 女性6例, 年龄39.18岁±9.60岁. 另9例因外伤及良性肿瘤手术切除而收集的正常肝组织来自广西医科大学一附院. 本研究经过广西壮族自治区人民医院伦理委员会同意. 所有标本均经过40 g/L甲醛固定, 石蜡包埋, 3 μm连续切片, 主要试剂Smad3、Smad7、Smurf1、Smurf2购自美国圣克鲁斯(Santa Cruz)公司, 辣根过氧化物酶标记二抗购自美国赛信通(Cell Signaling Technology)公司及中衫金桥公司.

1.2 方法

1.2.1 肝标本病理学检查: 肝组织石蜡切片, 常规作HE染色及Masson染色观察组织学情况, 并由两名资深病理科专家做出组织学诊断.

1.2.2 采用免疫组织化学染色二步法: 石腊切片常规脱腊至水, 用0.01 mol/L的柠檬酸缓冲液煮沸后高压修复抗原10 min, 3%H_2O_2修复内原性过氧化物酶10 min, 自然然冷却室温后分别滴加Smad3、Smad7、Smurf1及Smurf2一抗4 ℃孵育过夜; PBS冲洗3 min×5次, 再依次滴加辣根过氧化物酶标记二抗, 37 ℃水浴箱孵育30 min; PBS冲洗3 min×5次, 最后DAB显色约3 min, 苏木素复染1 min, 1%盐酸乙醇分化2 s, 氨水反蓝. 常规乙醇脱水、中性树胶封片, 光镜下观察并分析Smurf1、Smurf2、Smad3和Smad7蛋白表达情况. Smurf1、Smurf2、Smad3和Smad7抗体稀释度均为1∶100. 用PBS代替一抗作阴性对照. 免疫组织化学结果判定: 采用双盲法观察结果, 每例肝组织标本在高倍镜下选取5个视野, 评分标准参照文献[5], 根据组织切片中阳性细胞百分比和着色强度进行半定量分级评分. 阳性细胞百分比≤10%为0分, 11%-25%为1分,

■相关报道
2012年Zhang等研究发现, Smurf2在儿童增生性瘢痕的成纤维细胞中表达逐渐增加, 参与了增生性瘢痕的进展. 研究表明调高Smurf2的表达能使细胞对TGF-β更加敏感, 产生更为有效的信号.

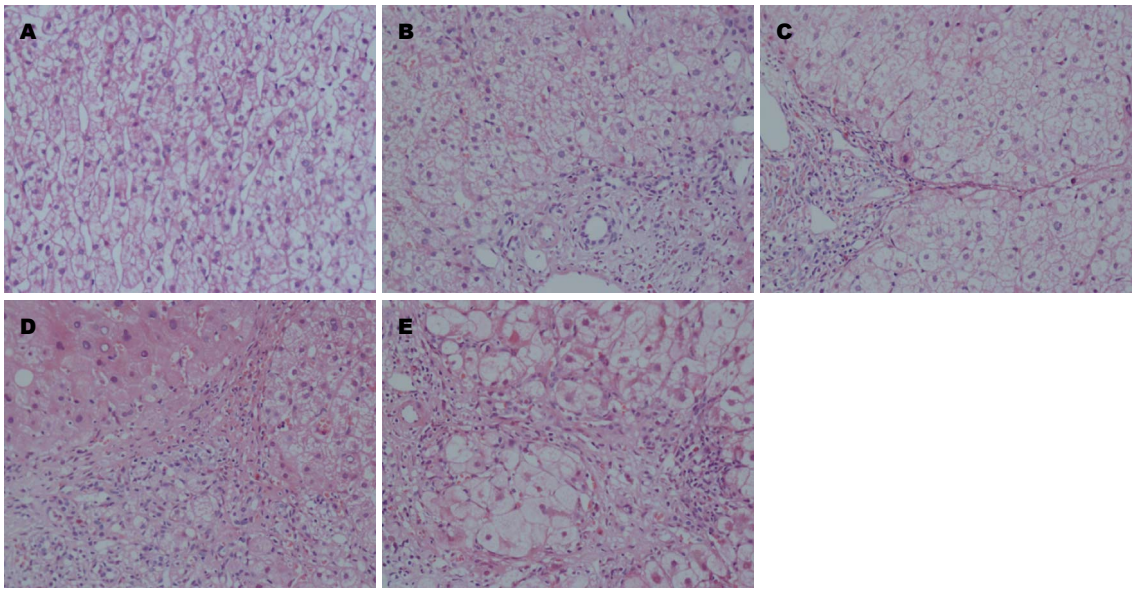


图 1 肝组织HE染色(×200). A: 正常肝组织; B: S1级; C: S2级; D: S3级; E: S4级.

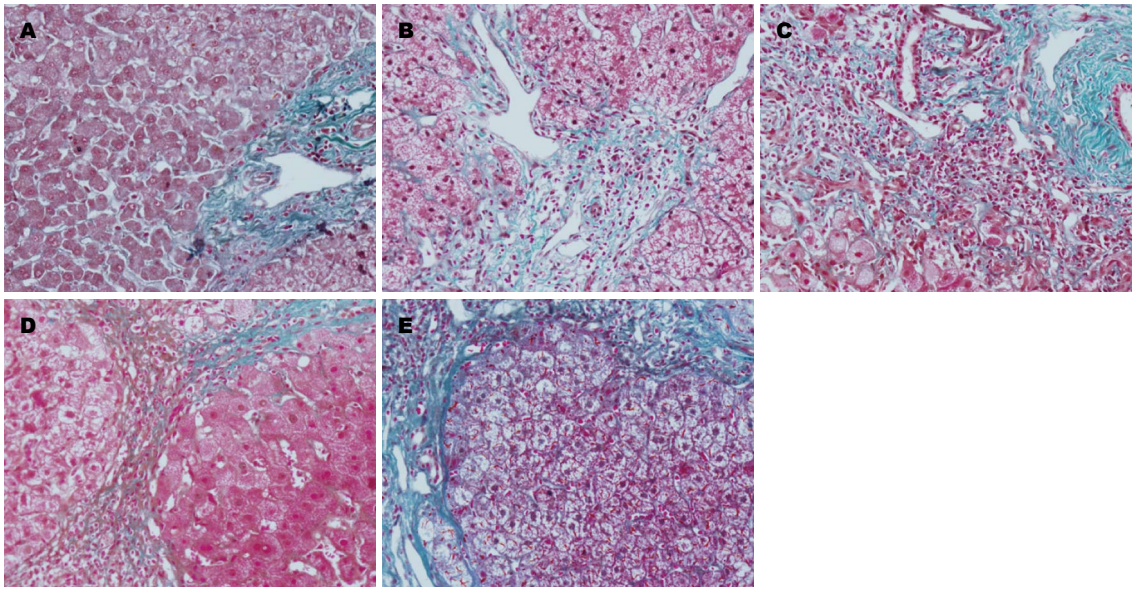


图 2 肝组织Masson染色(×200). A: 正常肝组织; B: S1级; C: S2级; D: S3级; E: S4级.

26%-50%为2分, 51%-75%为3分, ≥76%为4分; 不着色为0分, 浅黄色为1分, 黄色为2分, 棕黄色为3分. 取上述两项分值乘积作为总积分: 0分为阴性, 1-4为弱阳性(+), 6-8分为阳性(++), 9-12分为强阳性(+++).

统计学处理 应用SPSS17.0软件对数据进行处理, 纤维化组与正常对照组Smurf1、Smurf2、Smad3和Smad7蛋白两两比较用秩和检验, Smurf1、Smurf2、Smad3和Smad7与肝纤维化等级相关性用Spearman相关性分析, Smurf1、Smurf2、Smad3和Smad7相互关系进行Spearman相关性分析, $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 肝组织观察 正常肝组织HE染色显示, 肝小叶结构正常, 肝细胞索以肝小叶中央静脉为中心呈放射状有序排列, 无明显炎性细胞浸润和细胞变性、坏死; 肝纤维化组织HE可见不同程度的变性、坏死及淋巴细胞浸润(图1). 正常肝Masson染色仅见汇管区有少量的纤维组织; 肝纤维化组织S1级可见汇管区纤维化扩大, 局限窦周及小叶内纤维化, S2级可见有纤维间隔形成, S3级纤维间隔伴小叶结构紊乱, S4级呈早期肝硬化表现(图2).

2.2 肝组织Smurf1、Smurf2、Smad3和Smad7的

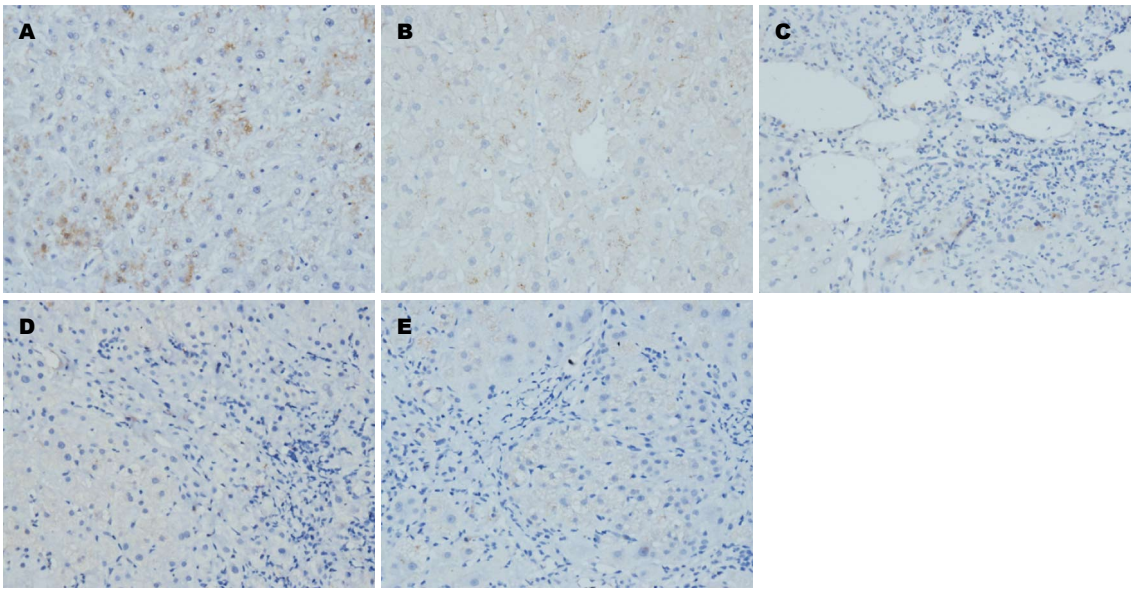


图 3 Smad7在人正常肝及肝纤维化组织中的表达(×200). A: 正常肝组织; B: S1级; C: S2级; D: S3级; E: S4级.

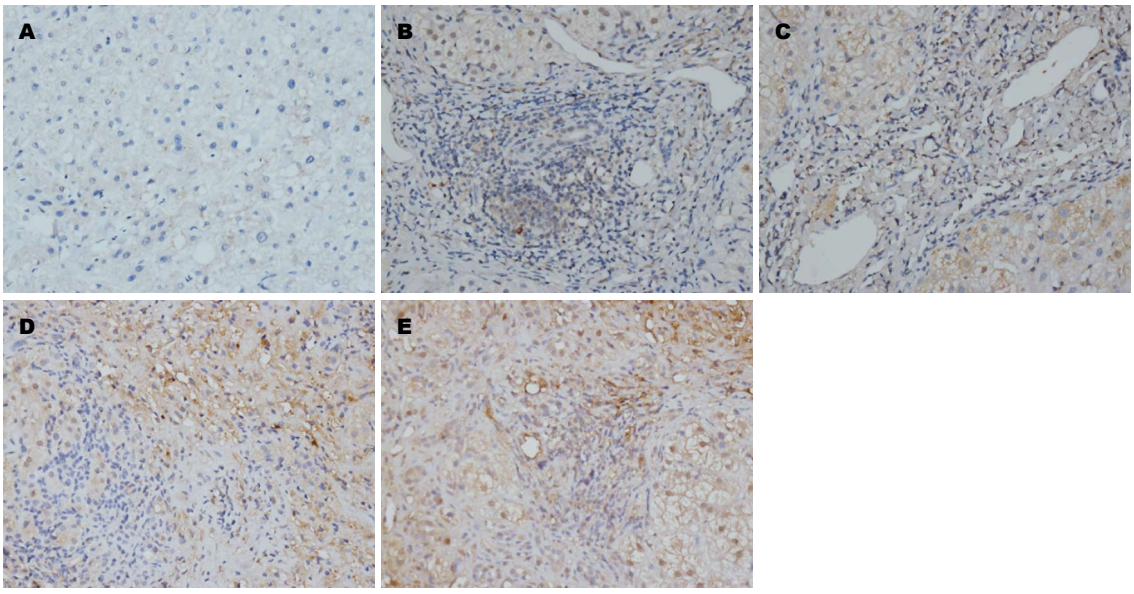


图 4 Smad3在人正常肝及肝纤维化组织中的表达(×200). A: 正常肝组织; B: S1级; C: S2级; D: S3级; E: S4级.

表达 表达呈黄色及棕黄色, 在正常肝组织中主要分布在肝实质细胞胞质及肝星状细胞中, 汇管区及肝窦diss间隙亦可见少量弱阳性表达, 也可出现阴性表达. 与正常肝组织相比, Smad7表达明显减少, 主要分布在少数肝实质细胞胞质中, 较多表达为阴性(图3); Smad3、Smurf2表达明显增多, 主要分布在汇管区、纤维间隔及中央静脉周围的成纤维细胞、肝星状细胞及淋巴细胞, 肝实质细胞细胞质内亦可见弥漫性弱阳性表达(图4, 5). Smurf1表达与正常肝组织比较, 变化不显著, 主要在纤维间隔成纤维细胞、肝星状细胞及淋巴细胞及肝实质细胞细胞质内表达(图6). 与正常肝相比, 肝纤维化组Smad3、Smurf2表达显著增加(Z = -3.110、 Z = -2.716, P<0.01、 P<0.01), (表1, 2), Smad7表达显著降低(Z = -2.899, P<0.01), (表3); 而Smurf1表达无显著变化(Z = -1.399, P>0.05), (表4), 差异无统计学意义.

2.3 Smurf1、Smurf2、Smad3和Smad7与肝纤维化相关性分析 Smad3、Smurf2与纤维化程度呈显著正相关(r = 0.627、r = 0.652, P<0.01、P<0.01), (表1, 2, 图4, 5); Smad7与纤维化程度呈显著负相关(r = -0.488, P<0.01), (表3, 图3); Smurf1与肝纤维化无显著相关性(r = -0.064, P>0.05), (表4, 图6).

■创新盘点
目前Smurf1在人肝纤维化组织中表达情况尚未见相关报道, 本研究通过检测Smurf1、Smurf2、Smad3和Smad7的表达情况, 利于更全面的探讨泛素化调节因子对Samd的调节及对肝纤维化的影响.

■应用要点
TGF-β1/Smad信号通路可能是慢性HBV感染导致肝纤维化的重要机制, Smurf2对信号通路传导发挥促进作用, 如果对通路中的信号分子施加干预或许能延缓肝纤维化的进展.

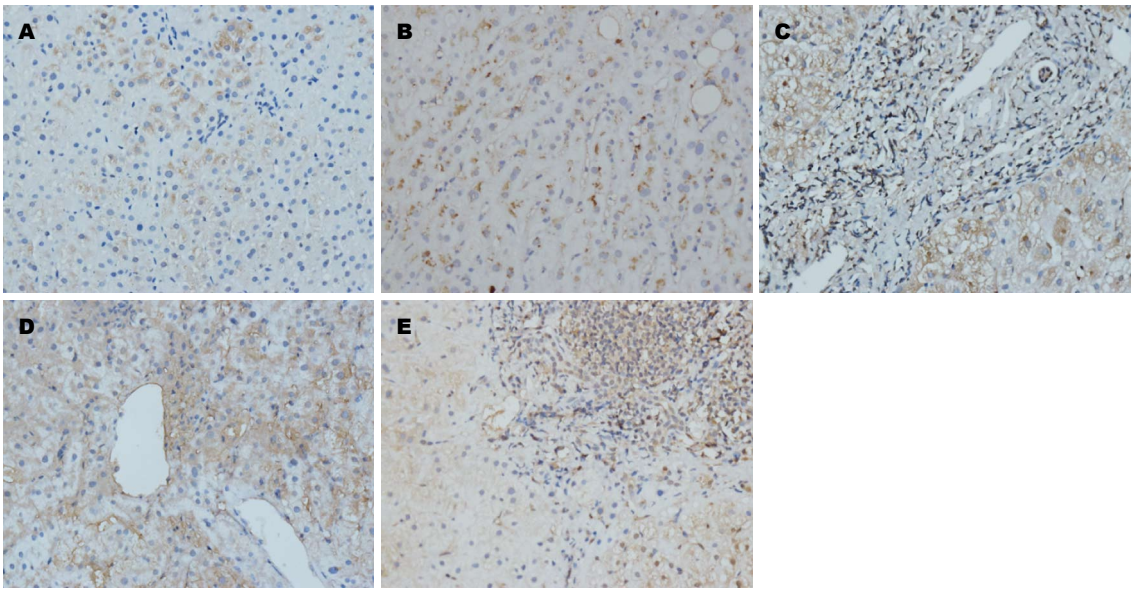


图 5 Smurf2在人正常肝及肝纤维化组织中的表达(×200). A: 正常肝组织; B: S1级; C: S2级; D: S3级; E: S4级.

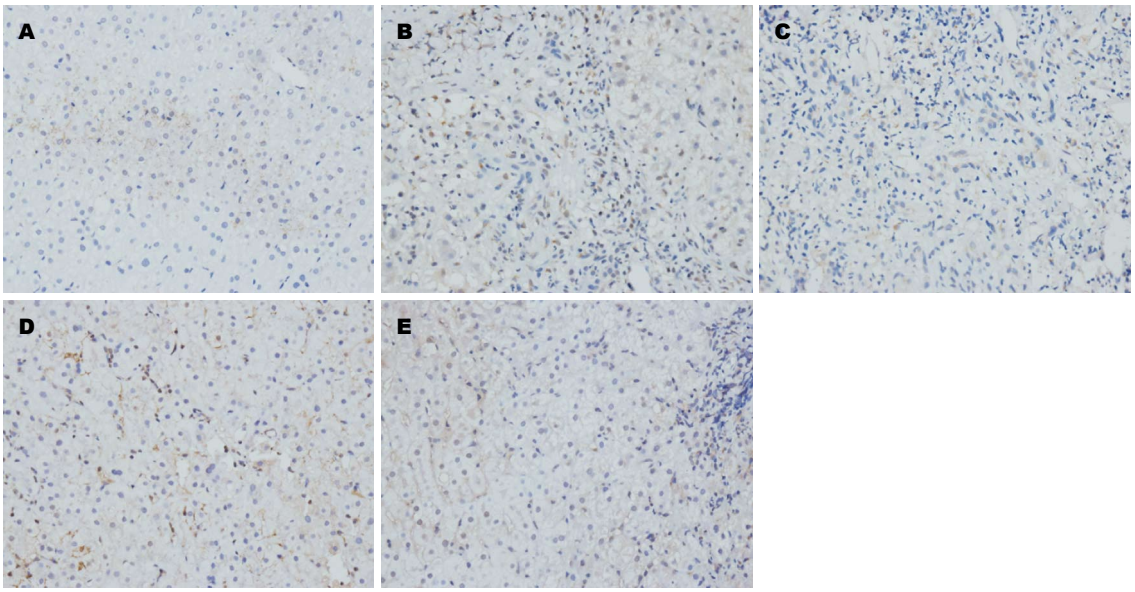


图 6 Smurf1在人正常肝及肝纤维化组织中的表达(×200). A: 正常肝组织; B: S1级; C: S2级; D: S3级; E: S4级.

2.4 Smurf1、Smurf2、Smad3和Smad7的相互关系 Smurf2与Smad3呈显著正相关(r = 0.523, P<0.01), 与Smad7呈显著负相关(r = -0.447, P<0.01); Smurf1与Smurf2、Smad3、Smad7无相关性(r = -0.008、r = -0.053、 r = 0.219, P>0.05); Smad3与Smad7呈负直线相关(r = -0.389, P<0.01).

3 讨论

TGF-β1是引起肝纤维化最有效的细胞因子, 通过促进ECM的产生和沉积引起肝纤维化的发生, 其中TGF-β1/Smad信号传导通路是促进ECM生成的重要途径[6]. ECM主要来源于活化的肝星状细胞, 而肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)的活化和增殖是肝纤维化发展的中心环节[7], TGF-β1可通过与其唯一的底物Smads结合发挥生物效应, 从而刺激HSC的活化和增殖[8]. 现在许多研究都集中在TGF-β信号传导通路, 特别是其底物及受体的调节[9-12]. 我们的研究显示, 在肝纤维化组织中Smad3大量表达在肝汇管区、纤维间隔的肝星状细胞及成纤维细胞中, 说明TGF-β1信号传导活跃导致了HSC大量活化. 根据其Smads在TGF-β信号传导中功能不同分为3类: (1)受体调节性Smads(R-Smads): 其中Smad2、3直接参与TGF-β信号传导; (2)通用

表 1 Smad3在人正常肝及肝纤维化组织中的表达

分组	n	表达强度			
		–	+	++	+++
正常肝	9	3	3	3	0
S1	13	0	6	5	2
S2	9	0	2	5	2
S3	9	0	0	7	2
S4	7	0	0	2	5

表 2 Smurf2在人正常肝及肝纤维化组织中的表达

分组	n	表达强度			
		–	+	++	+++
正常肝	9	3	5	1	0
S1	13	3	7	3	0
S2	9	0	4	4	1
S3	9	0	1	7	1
S4	7	0	1	3	3

表 3 Smad7在人正常肝及肝纤维化组织中的表达

分组	n	表达强度			
		–	+	++	+++
正常肝	9	2	3	4	0
S1	13	5	8	0	0
S2	9	6	3	0	0
S3	9	6	3	0	0
S4	7	6	1	0	0

表 4 Smurf1在人正常肝及肝纤维化组织中的表达

分组	n	表达强度			
		–	+	++	+++
正常肝	9	2	4	3	0
S1	13	5	7	1	0
S2	9	4	5	0	0
S3	9	4	2	3	0
S4	7	1	6	0	0

■同行评价

本文有科学性、创新性和可读性, 可以在一定程度上地反映我国胃肠病学临床和基础研究先进水平.

性Smads(Co-Smad), 主要是Smad4; (3)抑制性Smads(I-Smads), 包括Smad6、7, 其中Smad7对TGF-β1/Smad信号传导进行负调控. 目前认为TGF-β1主要通过受体及其下游信号分子Smads完成信号通路的传导. TGF-β首先与受体复合物中的Ⅱ型受体结合, 然后磷酸化并激活Ⅰ型受体中的丝氨酸/苏氨酸激酶, 活化的Ⅰ型受体可磷酸化R-Smads, R-Smads可与Smad4形成复合物, 穿梭入细胞胞核内调节基因表达[13].

Smurf是E3泛素连接酶HECT家族中的成员之一, 其中Smurf2在调节TGF-β1/Smad过程中扮演着重要角色. 研究发现Smurf2可以通过降解TGF-βⅠ型及Ⅱ受体抑制TGF-β信号通路的转导[2]. Smurf2除了对TGF-β受体的降解外, 还选择性地与Smad2和Smad3直接结合, 泛素化降解Smad2及Smad3[14], 从而减弱TGF-β信号. 此外, 其可与Smad7形成Smad7-Smurf2复合物再与TGF-β受体结合, 最终共同降解Smad7和TGF-β受体[15-17]. Smurf1则可以通过Smad7与TGF-β受体结合, 最终导致Smad7和TGF-β受体的共同降解[18]. Tahashi等[19]研究发现, 在肝纤维化大鼠模型中, 急性肝损时TGF-β可快速诱导Smad7表达, Smad7可使HSC内TGF-β/Smad信号转导通路呈现平衡状态, 不致于产生过多的胶原蛋白; 但在HSC转化为肌成纤维细胞(myofibroblast, MFB)后便失去了TGF-β诱导Smad7表达上调的敏感性, 结果导致R-Smad持续磷酸化且无法被Smad7抑制, R-Smad信号下转, 又介导HSC向MFB转化并分泌大量TGF-β, 继续激活ECM的转录, 引起ECM大量堆积, 最终造成恶性循环. 我们的研究显示在肝纤维化组织中, Smad7表达随着肝纤维化程度加重逐减少, Smad3表达逐渐增多, 由此可见, Smad7表达的缺失导致其对TGF-β1/Smad信号负调控失灵, 而Smad3持续表达则导致了信号传导增强, 最终促进了肝纤维化的发生及发展. Latella等[20]发现Smad3缺陷转基因小鼠较野生型小鼠而言, 因为缺失Smad3信号分子而不易出现肝纤维化.

本研究表明在正常肝组织中Smurf1、Smurf2、Smad3和Smad7均有表达, 但在肝纤维化组中Smurf2、Smad3表达显著升高, 而Smad7表达显著下降. Smad3随着肝纤维化程度加重, 表达进行性增加, 与肝纤维化程度呈显著正相关(P<0.01), 而做为下游信号分子的Smad3表达越多, 说明TGF-β1信号通路传导越激烈, 从而刺激肝星状细胞的活化和增殖, 转化为肌成纤维细胞, 进而导致肝纤维化的进展. Smurf2与肝纤维化程度呈显著正相关(P<0.01), Tan等[21]研究发现在小鼠肾纤维化中Smurf2的表达增高, 上调Smurf2的表达能够显著增强Smad核转录共抑制因子SnoN(ski-related novel protein n, SnoN)的降解, 而SnoN的降解又会进一步刺激TGF-β

信号[22], 这可能是Smurf2与纤维化程度呈显著正相关的原因之一. Zhang等[23]研究也有类似发现, Smurf2在儿童增生性瘢痕的成纤维细胞中表达逐渐增加, 参与了增生性瘢痕的进展. Smurf2与Smad3呈显著正相关(P<0.01), 研究表明调高Smurf2的表达能使细胞对TGF-β更加敏感, 产生更为有效的信号[24]. 根据Smurf2对TGF-β1/Smad信号通路的促进作用, 因此可以解释Smurf2与Smad3的正相关关系. Smurf2与Smad7呈显著负相关(P<0.01), 是因为Smurf2对Smad7也具有降解作用, Fukasawa等[25]在单侧输尿管闭塞的模型实验中证实了Smurf2降解Smad7的作用, Smurf2表达越多对Smad7的降解越大, 故二者呈现负相关. 然而Smurf2选择性的降解Smad7必然会导致信号通路的增强[26]. 这对于抑制信号通路的传导, 延缓肝纤维化的进展是不利的. 可见, Smurf2在TGF-β1/Smad信号传导中发挥双向调节的作用, 但对信号通路的促进作用可能远大其抑制作用, 最终导致肝纤维化的发展. Smad7与肝纤维化程度呈显著负相关(P<0.01), 与Smad3呈负直线相关(P<0.01), 说明Smad7表达缺失导致了其对信号通路抑制作用的减弱, 而通路信号的持续下传又必然导致Smad3表达的大量增加. Smurf1与肝纤维化无显著相关性(P>0.05), Smurf1与Smurf2、Smad3、Smad7亦无相关性(P>0.05), Smurf1虽可通过对Smad7和TGF-β受体进行降解调节信号传导, 但有研究表明[27-30]Smurf1主要通过对Smad1、Smad5泛素化降解参与BMP信号通路的调节. 因此, 其在肝纤维化发展中究竟发挥多大作用仍需进一步研究. 我们认为TGF-β1/Smad信号通路可能是慢性HBV感染导致肝纤维化的重要机制, 如果对通路中的信号分子施加干预或许能延缓肝纤维化的进展. 张国等[31]发现活血软坚方可能通过非特异性作用干扰转化生长因子和Smad的功能来发挥抗纤维化的作用. 这为慢性HBV感染后肝纤维化的防治提供一新途径.

4 参考文献

1 Gressner AM, Weiskirchen R. Modern pathogenetic concepts of liver fibrosis suggest stellate cells and TGF-beta as major players and therapeutic targets. *J Cell Mol Med* 2006; 10: 76-99 [PMID: 16563223]

2 Fukasawa H, Yamamoto T, Fujigaki Y, Misaki T, Ohashi N, Takayama T, Suzuki S, Mugiya S, Oda T, Uchida C, Kitagawa K, Hattori T, Hayashi H, Ozono S, Kitagawa M, Hishida A. Reduction of transforming growth factor-beta type II receptor is caused by the enhanced ubiquitin-dependent degradation in human renal cell carcinoma. *Int J Cancer* 2010; 127: 1517-1525 [PMID: 20073064 DOI: 10.1002/ijc.25164]

3 Dabydeen SA, Meneses PI. Smurf2 alters BPV1 trafficking and decreases infection. *Arch Virol* 2011; 156: 827-838 [PMID: 21318310 DOI: 10.1007/s00705-011-0924-0]

4 Lönn P, Morén A, Raja E, Dahl M, Moustakas A. Regulating the stability of TGFbeta receptors and Smads. *Cell Res* 2009; 19: 21-35 [PMID: 19030025 DOI: 10.1038/cr.2008.308]

5 Hietbrink F, Koenderman L, Rijkers G, Leenen L. Trauma: the role of the innate immune system. *World J Emerg Surg* 2006; 1: 15 [PMID: 16759367 DOI: 10.1186/1749-7922-1-15]

6 Cutroneo KR. TGF-beta-induced fibrosis and SMAD signaling: oligo decoys as natural therapeutics for inhibition of tissue fibrosis and scarring. *Wound Repair Regen* 2007; 15 Suppl 1: S54-S60 [PMID: 17727468 DOI: 10.1111/j.1524-475X.2007.00226.x]

7 Popov Y, Schuppan D. Targeting liver fibrosis: strategies for development and validation of antifibrotic therapies. *Hepatology* 2009; 50: 1294-1306 [PMID: 19711424 DOI: 10.1002/hep.23123]

8 Kisseleva T, Brenner DA. Role of hepatic stellate cells in fibrogenesis and the reversal of fibrosis. *J Gastroenterol Hepatol* 2007; 22 Suppl 1: S73-S78 [PMID: 17567473 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2006.04658.x]

9 Kim EY, Kim BC. Lipopolysaccharide inhibits transforming growth factor-beta1-stimulated Smad6 expression by inducing phosphorylation of the linker region of Smad3 through a TLR4-IRAK1-ERK1/2 pathway. *FEBS Lett* 2011; 585: 779-785 [PMID: 21295571 DOI: 10.1016/j.febslet.2011.01.044]

10 Meyer C, Godoy P, Bachmann A, Liu Y, Barzan D, Ilkavets I, Maier P, Herskind C, Hengstler JG, Dooley S. Distinct role of endocytosis for Smad and non-Smad TGF-β signaling regulation in hepatocytes. *J Hepatol* 2011; 55: 369-378 [PMID: 21184784 DOI: 10.1016/j.jhep.2010.11.027]

11 Malapeira J, Esselens C, Bech-Serra JJ, Canals F, Arribas J. ADAM17 (TACE) regulates TGFβ signaling through the cleavage of vasorin. *Oncogene* 2011; 30: 1912-1922 [PMID: 21170088 DOI: 10.1038/onc.2010.565]

12 Cai Y, Zhou CH, Fu D, Shen XZ. Overexpression of Smad ubiquitin regulatory factor 2 suppresses transforming growth factor-β mediated liver fibrosis. *J Dig Dis* 2012; 13: 327-334 [PMID: 22624557 DOI: 10.1111/j.1751-2980.2012.00592.x]

13 Massagué J, Gomis RR. The logic of TGFbeta signaling. *FEBS Lett* 2006; 580: 2811-2820 [PMID: 16678165]

14 Ito I, Hanyu A, Wayama M, Goto N, Katsuno Y, Kawasaki S, Nakajima Y, Kajiro M, Komatsu Y, Fujimura A, Hirota R, Murayama A, Kimura K, Imamura T, Yanagisawa J. Estrogen inhibits transforming growth factor beta signaling by promoting Smad2/3 degradation. *J Biol Chem* 2010; 285: 14747-14755 [PMID: 20207742 DOI: 10.1074/jbc.M109.093039]

15 Inoue Y, Imamura T. Regulation of TGF-beta family signaling by E3 ubiquitin ligases. *Cancer Sci* 2008; 99: 2107-2112 [PMID: 18808420 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2008.00925.x]

16 Bizet AA, Tran-Khanh N, Saksena A, Liu K, Buschmann MD, Philip A. CD109-mediated degradation of TGF-β receptors and inhibition of TGF-β re-

sponses involve regulation of SMAD7 and Smurf2 localization and function. *J Cell Biochem* 2012; 113: 238-246 [PMID: 21898545 DOI: 10.1002/jcb.23349]
17 Dooley S, ten Dijke P. TGF-β in progression of liver disease. *Cell Tissue Res* 2012; 347: 245-256 [PMID: 22006249 DOI: 10.1007/s00441-011-1246-y]
18 Ebisawa T, Fukuchi M, Murakami G, Chiba T, Tanaka K, Imamura T, Miyazono K. Smurf1 interacts with transforming growth factor-beta type I receptor through Smad7 and induces receptor degradation. *J Biol Chem* 2001; 276: 12477-12480 [PMID: 11278251 DOI: 10.1074/jbc.C100008200]
19 Tahashi Y, Matsuzaki K, Date M, Yoshida K, Furukawa F, Sugano Y, Matsushita M, Himeno Y, Inagaki Y, Inoue K. Differential regulation of TGF-beta signal in hepatic stellate cells between acute and chronic rat liver injury. *Hepatology* 2002; 35: 49-61 [PMID: 11786959]
20 Latella G, Vetuschi A, Sferra R, Catitti V, D'Angelo A, Zanninelli G, Flanders KC, Gaudio E. Targeted disruption of Smad3 confers resistance to the development of dimethylnitrosamine-induced hepatic fibrosis in mice. *Liver Int* 2009; 29: 997-1009 [PMID: 19422482 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2009.02011.x]
21 Tan R, Zhang J, Tan X, Zhang X, Yang J, Liu Y. Downregulation of SnoN expression in obstructive nephropathy is mediated by an enhanced ubiquitin-dependent degradation. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17: 2781-2791 [PMID: 16959829 DOI: 10.1681/ASN.2005101055]
22 De Boeck M, ten Dijke P. Key role for ubiquitin protein modification in TGFβ signal transduction. *Ups J Med Sci* 2012; 117: 153-165 [PMID: 22335355 DOI: 10.3109/03009734.2012.654858]
23 Zhang Z, Finnerty CC, He J, Herndon DN. Smad ubiquitination regulatory factor 2 expression is enhanced in hypertrophic scar fibroblasts from burned children. *Burns* 2012; 38: 236-246 [PMID: 21920670 DOI: 10.1016/j.burns.2011.08.012]
24 Tan R, He W, Lin X, Kiss LP, Liu Y. Smad ubiquitination regulatory factor-2 in the fibrotic kidney: regulation, target specificity, and functional implication. *Am J Physiol Renal Physiol* 2008; 294: F1076-F1083 [PMID: 18353873 DOI: 10.1152/ajprenal.00323.2007]
25 Fukasawa H, Yamamoto T, Togawa A, Ohashi N, Fujigaki Y, Oda T, Uchida C, Kitagawa K, Hattori T, Suzuki S, Kitagawa M, Hishida A. Down-regulation of Smad7 expression by ubiquitin-dependent degradation contributes to renal fibrosis in obstructive nephropathy in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 8687-8692 [PMID: 15173588 DOI: 10.1073/pnas.0400035101]
26 Al-Salihi MA, Herhaus L, Sapkota GP. Regulation of the transforming growth factor β pathway by reversible ubiquitylation. *Open Biol* 2012; 2: 120082 [PMID: 22724073 DOI: 10.1098/rsob.120082]
27 Murakami G, Watabe T, Takaoka K, Miyazono K, Imamura T. Cooperative inhibition of bone morphogenetic protein signaling by Smurf1 and inhibitory Smads. *Mol Biol Cell* 2003; 14: 2809-2817 [PMID: 12857866 DOI: 10.1091/mbc.E02-07-0441]
28 Ying SX, Hussain ZJ, Zhang YE. Smurf1 facilitates myogenic differentiation and antagonizes the bone morphogenetic protein-2-induced osteoblast conversion by targeting Smad5 for degradation. *J Biol Chem* 2003; 278: 39029-39036 [PMID: 12871975 DOI: 10.1074/jbc.M301193200]
29 Das S, Chang C. Regulation of early xenopus embryogenesis by Smad ubiquitination regulatory factor 2. *Dev Dyn* 2012; 241: 1260-1273 [PMID: 22674516 DOI: 10.1002/dvdy.23811]
30 Zhao L, Huang J, Guo R, Wang Y, Chen D, Xing L. Smurf1 inhibits mesenchymal stem cell proliferation and differentiation into osteoblasts through JunB degradation. *J Bone Miner Res* 2010; 25: 1246-1256 [PMID: 20200942 DOI: 10.1002/jbmr.28]
31 张国, 张法灿, 王天才, 梁扩寰. 活血软坚方对肝星状细胞Smad信号的影响及意义. 中华肝脏病杂志 2004; 12: 213-215

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年5月28日; 22(15): 2108-2115
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

GPC3与肝癌细胞增殖的相关性

李海荣, 黄兰姗, 陈 罡, 陆会平, 冯振博

■背景资料
磷脂酰肌醇蛋白聚糖-3(glypican-3, GPC3)肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)患者过度表达的癌抗原之一, 初步展示出作为新的肝癌蛋白类标志物的临床应用价值. 然而, GPC3对肝癌细胞生长的作用及具体机制报道不一, 本研究采用检测临床组织表达和体外功能实验的方法深入研究GPC3促进HCC发生发展的分子机制, 探讨GPC3在肝细胞癌增殖中的价值具有重要的意义.

李海荣, 黄兰姗, 陈罡, 陆会平, 冯振博, 广西医科大学第一附属医院病理科 广西壮族自治区南宁市 530021
李海荣, 在读硕士, 主要从事肝癌病理诊断与发生发展机制的研究.
广西科技攻关基金资助项目, Nos. 10124001A-1, 1298003-2-5
作者贡献分布: 此课题由李海荣与冯振博设计; 研究过程由李海荣操作完成; 研究所用新试剂由黄兰姗与陆会平提供; 数据分析由李海荣与陈罡完成; 论文由李海荣撰写; 陈罡与冯振博审校.
通讯作者: 冯振博, 教授, 博士生导师, 530021, 广西壮族自治区南宁市双拥路22号, 广西医科大学第一附属医院病理科.
guanghu1963@126.com
电话: 0771-5356534
收稿日期: 2014-03-07 修回日期: 2014-04-03
接受日期: 2014-04-09 在线出版日期: 2014-05-28

Correlation between GPC3 expression and proliferation of hepatocellular carcinoma cells

Hai-Rong Li, Lan-Shan Huang, Gang Chen, Hui-Ping Lu, Zhen-Bo Feng

Hai-Rong Li, Lan-Shan Huang, Gang Chen, Hui-Ping Lu, Zhen-Bo Feng, Department of Pathology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China
Supported by: Science and Technology Development Program of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nos. 10124001A-1 and 1298003-2-5
Correspondence to: Zhen-Bo Feng, Professor, Department of Pathology, the First Affiliate Hospital of Guangxi Medical University, 6 Shuangyong Road, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. guanghu1963@126.com
Received: 2014-03-07 Revised: 2014-04-03
Accepted: 2014-04-09 Published online: 2014-05-28

Abstract

AIM: To investigate the relationship between GPC3 expression and proliferative ability of hepatocellular carcinoma (HCC) cells.

METHODS: Immunohistochemistry was employed to detect the expression of GPC3 in 54 HCC tissues. The correlation between GPC3 expression and Ki-67 labeling index (Li) and other clinicopathologic characteristics was studied. An shRNA targeting the GPC3 gene was transfected into SMMC7721 cells to silence GPC3 expression. MTT assay was performed to determine the effect of GPC3 knockdown on the growth of HCC SMMC7721 cells.

RESULTS: GPC3 expression was significantly correlated with Ki-67 Li (r = 0.521, P = 0.000). GPC3 expression was related to differentiation degree and vessel invasion of HCC (r = 0.287, 0.289; P = 0.035, 0.034). The cell proliferative activity was significantly reduced in the GPC3-shRNA group compared with the negative control group and blank control group (F = 45.38, P = 0.000).

CONCLUSION: GPC3 may play an important role in the occurrence, development and invasion of HCC, mainly due to the effect on the proliferation of HCC cells.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Glypican-3; Ki-67; Hepatoma cells; Proliferation

Li HR, Huang LS, Chen G, Lu HP, Feng ZB. Correlation between GPC3 expression and proliferation of hepatocellular carcinoma cells. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(15): 2108-2115 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2108.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2108

摘要

目的: 探讨肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)组织内及体外细胞培养中磷脂酰肌醇蛋白聚糖-3(glypican-3, GPC3)与细胞增殖的关系.

方法: 采用免疫组织化学方法检测54例HCC组织中GPC3的表达, 并对比其与Ki-67标记指数及各种临床病理参数的关系. 使用shRNA抑制SMMC7721肝癌细胞系中GPC3的表达, MTT检测肝癌细胞的增殖变化.

结果: 在HCC组织中, GPC3与Ki-67指数有关(r = 0.521, P = 0.000), 也与分化程度、血管浸润情况具有相关性(r = 0.287, 0.289; P = 0.035, 0.034). 体外实验结果显示, 抑制GPC3表达后,

■同行评议者
潘兴华, 副主任医师, 中国人民解放军成都军区昆明总医院干细胞与组织器官工程研究中心

实验组细胞增殖活性明显低于阴性对照组和空白对照组($F = 45.38, P = 0.000$).

结论: GPC3在HCC的发生、发展和浸润过程中起重要作用, 主要与影响肝癌细胞增殖有关.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 磷脂酰肌醇蛋白聚糖-3; Ki-67; 肝癌细胞; 增殖

核心提示: Ki-67在肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)中表达越高, 预后越差. 磷脂酰肌醇蛋白聚糖-3(glypican-3, GPC3)的表达强度与分化程度有关, 且与Ki-67有明显正相关关系. 通过抑制*GPC3*基因在SMMC7721细胞系的表达, 对肝癌细胞系的增殖有明显抑制作用, GPC3过表达在肝细胞癌增殖过程中起直接促进作用.

李海荣, 黄兰姗, 陈罡, 陆会平, 冯振博. GPC3与肝癌细胞增殖的相关性. 世界华人消化杂志 2014; 22(15): 2108-2115 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2108.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2108

0 引言

磷脂酰肌醇蛋白聚糖-3(glypican-3, GPC3)是一种膜性硫酸乙酰肝素蛋白多糖, 通过磷脂酰肌醇锚定在细胞膜上, 并通过结合多种细胞表面生长因子来调控细胞生长、增殖、分化、黏附和迁移等行为. 近年来, 研究发现, GPC3可成为肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)的一个新的肿瘤标志物[1]. 因此, 深入研究GPC3在肝癌发生、发展中的作用, 对于揭示肝癌形成及发展的机制具有重要意义.

细胞生长各个阶段的变化是肿瘤发生发展的重要因素, 细胞增殖失控的结果是肿瘤细胞数量的增多, 导致肿瘤的生长, 进而引发肿瘤细胞的转移. 肿瘤细胞的增殖状态及增殖能力是评判肿瘤生物学行为的重要指标. Ki-67是一种抗核增殖细胞核蛋白的单克隆抗体, 其表达于细胞周期的各个活跃时期, 而在静止期表达消失, 被认为是细胞增殖活性的标志物[2]. 本研究采用免疫组织化学方法检测HCC组织中GPC3的表达, 对比其与Ki-67标记指数及各种临床病理参数的关系; 并进一步在体外实验中使用RNA干扰技术抑制SMMC7721肝癌细胞GPC3的表达, 检测干扰后HCC细胞的增殖变化, 探索GPC3与肿瘤细胞增殖的关系, 为HCC的预防和治疗提供新的思路.

1 材料和方法

1.1 材料 收集2010-01/2011-12广西医科大学第一附属医院病理科HCC及相应癌旁肝组织蜡块标本54例, 其中男性47例, 女性7例, 年龄24-74岁, 平均年龄48岁. 参照WHO肿瘤分类与诊断标准2010版进行分级, 将分化程度分高、中、低分化3组. 所有病例病理资料完整, 患者术前均未行放、化疗及免疫治疗. GPC3、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、Ki-67、nm23即用型抗体、DAB显色剂购自中杉金桥生物技术有限公司. SMMC7721肝癌细胞系购自中国科学院上海生科院细胞资源中心细胞库; 质粒的构建和包装购自上海吉凯公司; 1640培养基、胎牛血清购自WISENT公司; Lipofectime 2000转染试剂购自Invitrogen公司; 细胞总RNA提取试剂盒购自Axygen公司; 逆转录试剂盒购自Fermentas公司.

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学法: 采用免疫组织化学SP法: 操作步骤按照试剂盒说明书进行. 用经预实验证明阳性表达的胃癌组织作为阳性对照, PBS代替一抗作为阴性对照.

1.2.2 结果判断: 采用双评分半定量方法, 细胞核和/细胞质出现淡黄色、棕黄色或棕褐色染色为阳性细胞. 每张切片随机选取5个高倍视野(×400), 每个视野数100个细胞, 按阳性细胞所占百分比评分[3]: ≤5%为0; 6%-25%为1; 26%-50%为2; 51%-75%为3; ≥76%为4. 其次染色强度评分: 不着色为0; 淡黄色为1; 棕黄色为2; 棕褐色为3. 最后将染色强度与阳性细胞所占百分比计分乘积定为每1例染色的综合评分, 0-2分为(-), 3-5分为(+), 6-9分为(++), 10-12分为(+++), 所有-、+、++、+++分别对应阴性、弱阳性、中等阳性、强阳性.

1.2.3 细胞培养和转染: 人肝癌细胞系SMMC7721培养于含10%胎牛血清的1640培养基, 37 ℃、50 mL/L CO_2条件下培养. 将shRNA转染至人肝癌细胞系SMMC7721, 于转染前24 h将对数生长期细胞接种于24孔板, 细胞数为5×10^4个/孔; 用opti-mem减血清培养基培养24 h后, 细胞融合率达到80%即进行转染; 转染6 h后换含10%胎牛血清1640培养基继续培养. 细胞分3组: 空白对照组(未转染组)、阴性对照组(空载质粒组)和实验组(GPC3-shRNA转染组)于荧光显微镜下观察24、48、72 h转染效果.

1.2.4 RT-PCR检测基因表达: 应用Primer 5.0

■研发前沿

GPC3是glypican家族的一员, 通过磷脂酰肌醇锚定在细胞膜上, 通过结合多种细胞表面生长因子而调控细胞生长、增殖、分化、黏附和迁移等行为. 目前其研究的热点主要为调控基因表达的机制以及肿瘤靶向基因治疗的作用, 但关于GPC3在肝细胞癌增殖、转移及复发中的作用及具体机制报道不一, 组织标本检测与体外实验的联合能够比较系统的为GPC3在肝细胞癌增殖、转移的作用提供新的实验证据.

■相关报道
Ligato等认为GPC3可用于区别原发性肝癌与其他良恶性肝肿瘤和转移灶，Shirakawa等指出GPC3表达强度与肝细胞癌增殖复发相关. 但杜经丽等对185例肝癌患者中临床病理情况进行生存分析，发现GPC3与术后复发无明显关系.

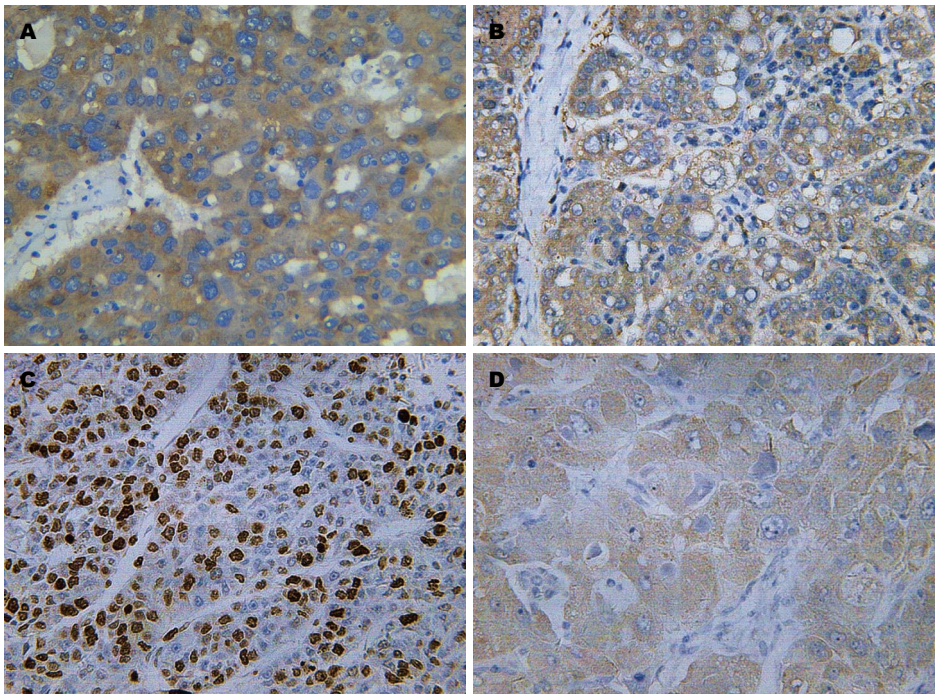


图 1 HCC组织中GPC3、nm23、Ki-67、VEGF的阳性表达情况(SP × 400). A: GPC3; B: nm23; C: Ki-67; D: VEGF. HCC: 肝细胞癌; GPC3: 磷脂酰肌醇蛋白聚糖-3; VEGF: 血管内皮生长因子.

设计软件设计引物, (1)GPC3: 上游, TCCGCTCCTTCTTCCAGAGA; 下游, ATGTTGGGCCCTTAGGGAGA; (2)β-actin: 上游, GCACCACACCTTCTACAATGAGC; 下游, GGATAGCACAGCCTGGATAGCAAC; PCR反应条件为: 95 ℃预变性3 min, 95 ℃变性30 s, 54 ℃退火30 s, 72 ℃延伸1 min, 72 ℃再延伸7 min, 4 ℃ ∞; GPC3为35个循环; β-actin为28个循环. 引物均由美国Invitrogen公司合成. 细胞总RNA提取按照Axygen提取试剂盒说明书完成, 各取总RNA 0.8 μg逆转录获得cDNA, 以β-actin为内参, 进行PCR反应. PCR产物以18 g/L琼脂糖凝胶电泳, 核酸染料染色. 应用Bio-Rad凝胶成像系统分析, PCR产物量以光密度/面积表示, 以GPC3产物量/β-actin产物量的比值为最终结果, 重复3次.

1.2.5 MTT法检测细胞增殖: 取对数生长期的各组细胞接种于96孔板, 计数1.5×10^{3}个细胞/孔, 每组细胞做5个复孔; 分别于种板后24、48、72、96 h加入10 μL MTT溶液; 培养箱中孵育4 h后, 小心吸尽培养液, 每孔加入150 μL DMSO; 酶标仪检测570 nm处吸光度(A)值, 绘制生长曲线.

统计学处理 采用SPSS16.0统计软件对数据进行分析. 计量资料采用方差分析, GPC3与临床参数关系采用χ^2检验或Fisher确切概率法, 相关性分析用Spearman等级相关分析, 检验水准α = 0.05. P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 GPC3的表达与临床病理参数的关系 GPC3在HCC组织中表达定位于细胞质中(图1A), 其阳性率为72%(39/54)明显高于癌旁组织(5%, 3/54, P = 0.000). 经χ^2检验或Fisher确切概率法分析GPC3的表达水平在HCC组织分化程度、血管癌栓中的表达差异显著(表1). 经Spearman相关性分析GPC3与其二者有关(r = 0.287, 0.289; P = 0.035, 0.034), 与患者性别、年龄、是否有肝硬化、肿瘤大小、肿瘤数目、AFP、HBsAg、nm23的表达无关(P>0.05).

2.2 GPC3、nm23、VEGF与Ki-67的关系 HCC组织中GPC3的表达水平与Ki-67呈明显相关性(r = 0.521, P = 0.000); HCC组织中nm23的表达水平与Ki-67、VEGF表达均无相关性(P>0.05). Ki-67表达强度与VEGF表达呈显著正相关(r = 0.353, P = 0.009)(表2).

2.3 GPC3对肝癌细胞SMMC7721增殖的影响

2.3.1 细胞转染效率: SMMC7721细胞转染荧光阴性对照质粒后, 在荧光显微镜下观察发现24、48、72 h荧光表达逐渐增多(图2).

2.3.2 RT-PCR检测GPC3 mRNA表达量: 相对空白对照组和阴性对照组, 实验组GPC3 mRNA表达受到抑制(0.233±0.066 *vs* 0.760±0.072, 0.707

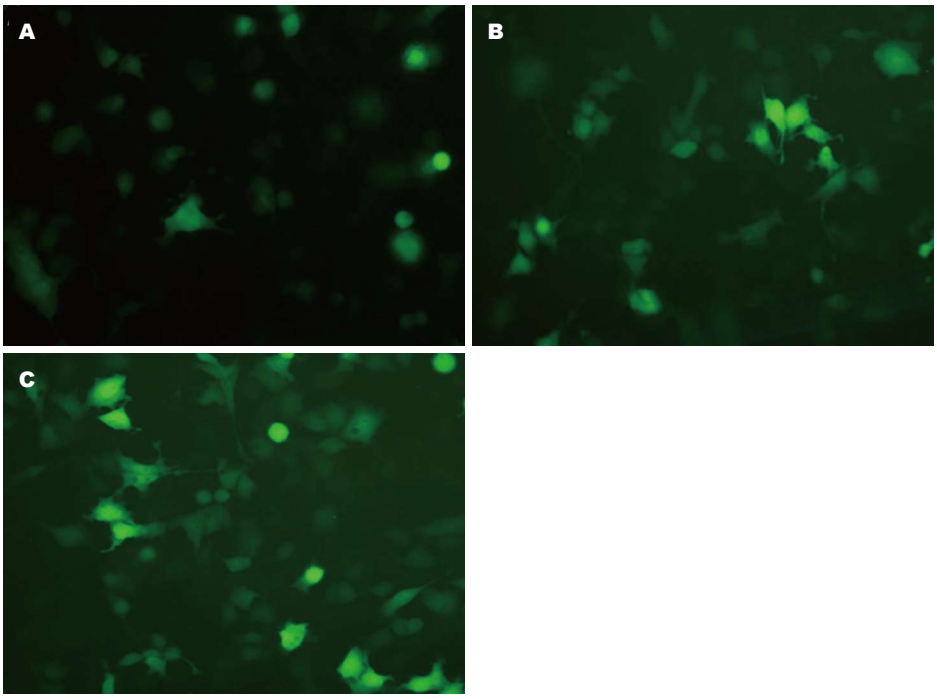


图 2 转染荧光阴性对照组质粒后3个时间段荧光表达的强度(×200). A: 24 h荧光表达; B: 48 h荧光表达; C: 72 h荧光表达.

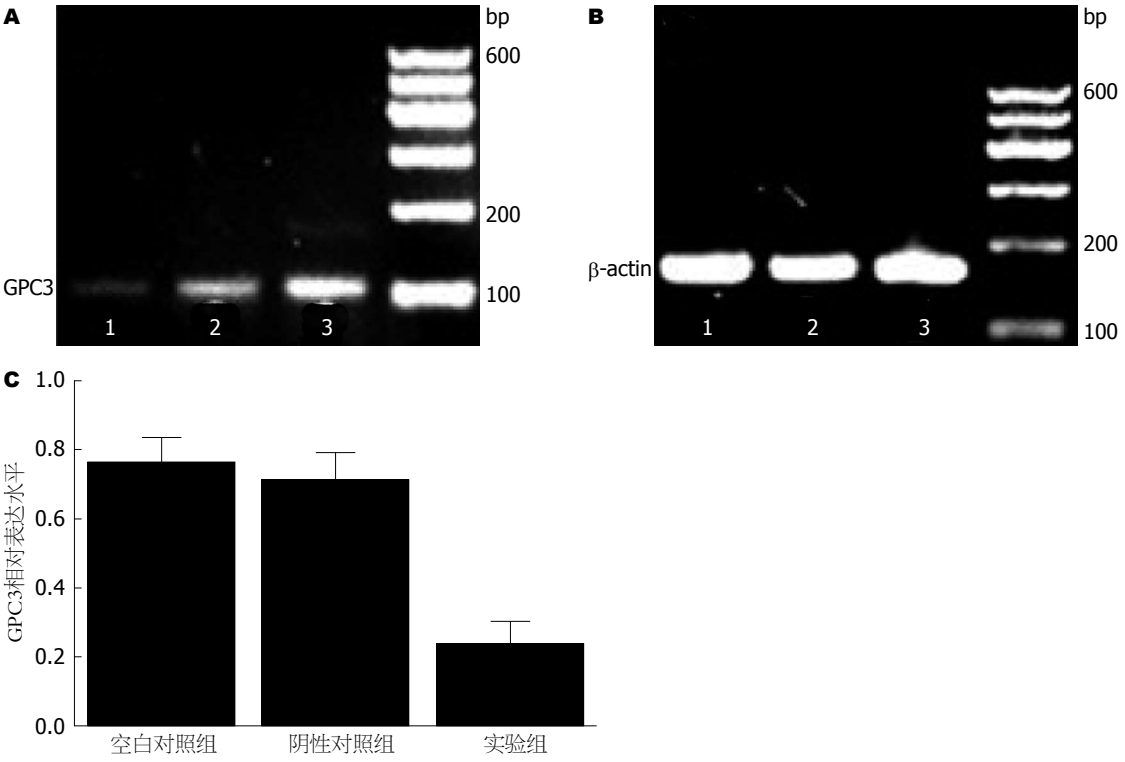


图 3 各组细胞GPC3 mRNA表达情况. A: RT-PCR检测各组细胞GPC3 mRNA相对表达水平; 1: 实验组; 2: 阴性对照组; 3: 空白对照组; B: RT-PCR检测各组细胞β-actin mRNA相对表达水平; 1: 空白对照组; 2: 阴性对照组; 3: 实验组; C: 各组细胞GPC3 mRNA的相对表达量. GPC3: 磷脂酰肌醇蛋白聚糖-3.

±0.083, $F = 45.38$, $P = 0.000$)(图3).

2.3.3 细胞增殖活性判定: 与空白对照组和阴性对照组相比, 实验组细胞570 nm处的A值在转染24、48、72、96 h时的差异均具有统计学意义($P<0.01$). 由此可见, 实验组细胞生长受到明显抑制(表3, 图4).

■创新盘点

关于GPC3与肝细胞癌的作用研究较多, 而关于GPC3与Ki-67、VEGF、nm23等临床病理参数之间的关系报道较少, 本研究通过组织标本检测与体外实验的联合对GPC3促进肝细胞癌增殖、转移提供更多实验依据.

■应用要点
GPC3的过表达在HCC增殖、转移及术后复发过程中具有重要作用，其作为分子治疗的靶点在进入临床治疗阶段之前依然需要更多基础及临床实验的支持.

表 1 GPC3与肝细胞癌临床病理参数的联系

分组	GPC3				χ^2	*P*值
	–	+	++	+++		
性别					0.770	0.950
男	13	10	12	12		
女	2	2	2	1		
年龄(岁)					1.794	0.616
＜50	10	7	10	9		
≥50	5	5	4	4		
肿瘤大小(cm)					0.779	0.914
＜5	5	4	3	4		
≥5	10	8	11	9		
肿瘤数目					5.411	0.146
多发	6	1	7	3		
单发	9	11	7	10		
分化程度					10.289	0.049
高分化	14	8	6	8		
中分化	1	3	7	5		
低分化	0	1	1	0		
血管癌栓					4.418	0.023
有	7	5	5	1		
无	8	7	9	12		
肝硬化					1.327	0.275
有	7	6	4	4		
无	8	6	10	9		
组织分型					8.500	0.470
混合细胞型	3	2	3	4		
梁索型	9	10	7	4		
腺样型	1	0	2	2		
透明细胞型	2	0	2	3		
肝硬化					1.993	0.574
无	8	6	10	9		
有	7	6	4	4		
AFP					1.523	0.677
(–)	7	4	7	4		
(+)	8	8	7	9		
HBsAg					4.097	0.251
(–)	8	6	3	4		
(+)	7	6	11	9		
nm23					6.986	0.645
–	1	0	1	0		
+	4	5	5	9		
++	6	4	4	2		
+++	4	3	4	2		
VEGF					5.011	0.843
–	3	1	1	2		
+	4	5	3	4		
++	4	4	7	6		
+++	4	2	3	1		

GPC3: 磷脂酰肌醇蛋白聚糖–3; AFP: 甲胎蛋白; VEGF: 血管内皮生长因子; HBsAg: 乙型肝炎表面抗原.

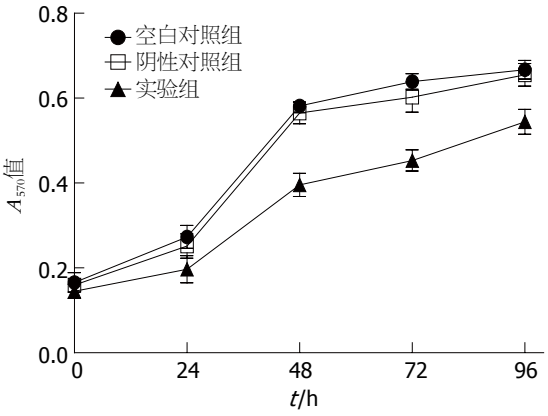


图 4 各组细胞生长曲线.

3 讨论

目前, GPC3与肝癌临床病理关系已成为研究的热点[4,5]. 在生理状态下, GPC3多在胚胎、胎儿时期表达, 出生后仅少数器官低表达, 并且与多种恶性肿瘤的发生发展密切相关[6,7], 在肺癌[8]、乳腺癌[9]、胃癌[10]等的表达下降, 而在HCC、黑色素瘤等组织中高表达. Abdul-Al等[11]发现在原发性肝癌患者中阳性率为72%. Ligato等[12]认为GPC3是一个高度敏感的肿瘤标志物, 可用于区别原发性肝癌与其他良恶性肝肿瘤和转移灶. 本研究结果显示, HCC组织中GPC3的表达明显高于癌旁肝组织(P = 0.000), 阳性率为72%(39/54), 与患者性别、年龄、肝硬化、肿瘤大小、肿瘤数目、AFP、HBsAg无关. 在影响预后因素的研究中[13], 血管癌栓被认为是反映术后复发和转移的最准确的预后指标. 本研究发现, GPC3的表达强度与血管癌栓有关, 提示GPC3在肝细胞癌侵袭、转移过程中发挥重要作用. 并且在肝细胞癌的预后研究中, 有报道[14]指出GPC3是肝癌术后早期复发的独立危险因子, 而且Shirakawa等[15]指出GPC3表达强度越高, 其促进肝细胞癌增殖、复发转移的可能性越大.

肿瘤细胞异常增殖、转移的产生总是与多种基因的协同表达有关[16]. 因此, 为了完成转移, 肿瘤细胞的每一步都会由不同的基因调控. *nm23*是第一个发现与转移抑制相关的基因[17], 其表达水平的下降和胃癌[18]、黑色素瘤[19]、乳腺癌[20]的转移与不良预后有密切关系. Nakayama等[21]也提出nm23与肝癌转移有关. *nm23*基因产物主要表达于细胞浆, 细胞膜少量表达, 其数量的变化影响肿瘤细胞对周围组织及基质的附着能力, 从而影响癌转移过程. GPC3主要由

表 2 HCC组织中GPC3、VEGF、 nm23及Ki-67的关系

	GPC3				*P*值	VEGF				*P*值	nm23				*P*值
	−	+	++	+++		−	+	++	+++		−	+	++	+++	
Ki-67					0.000					0.009					0.518
−	8	2	0	2		5	4	0	3		0	5	4	3	
+	2	9	1	2		0	9	3	2		0	7	4	3	
++	5	1	12	4		1	2	16	3		2	6	8	6	
+++	0	0	1	5		1	1	2	2		0	5	0	1	

GPC3: 磷脂酰肌醇蛋白聚糖-3; VEGF: 血管内皮生长因子; HCC: 肝细胞癌.

表 3 MTT检测细胞增殖活性 (mean ± SD)

分组	空白对照组	阴性对照组	实验组	*F*值	*P*值
24 h	0.273 ± 0.027	0.252 ± 0.029	0.197 ± 0.032	6.195	0.004
48 h	0.581 ± 0.016	0.565 ± 0.026	0.396 ± 0.027	96.239	0.000
72 h	0.639 ± 0.018	0.603 ± 0.036	0.453 ± 0.025	65.318	0.000
96 h	0.667 ± 0.022	0.655 ± 0.027	0.544 ± 0.029	33.731	0.000

癌细胞合成、分泌, 而本研究结果显示nm23蛋白主要定位于细胞浆, 这可能提示二者在调节肿瘤转移方面存在某种内在联系. 但本研究显示, GPC3表达强度与nm23表达强度之间并无相关性, 故不能确切地证明GPC3和nm23在HCC中表达的相关性, 也说明二者在控制癌细胞转移方面可能不存在直接的相互调节. 对于GPC3和nm23之间无直接相互作用调节HCC转移复发的现象, 可以用他们不同的生化机制来解释. GPC3过表达可致β-catenin显著增高, 与MMP及增殖信号结合, 促进HCC发展[22]. 关于nm23的作用机制, 多数学者认为nm23蛋白可通过与GAP蛋白相互作用[23], 从而调节细胞信号传递、细胞分化和转移等过程中发挥作用, 且与NDPK具有同源性, 可使NTP变成NDP.

增殖细胞核抗原Ki-67的表达被认为控制细胞的增殖周期, 利用Ki-67标记指数可以检测肿瘤细胞的增殖能力. 其抗原表达仅分布在细胞核内, 被认为与有丝分裂密切相关, 能全面反映细胞群体的增殖活性[24]. Ki-67在HCC中的表达情况还与预后有关[25], 表达越高, 预后越差. 实验证实, GPC3的表达强度与分化程度有关, GPC3在低分化HCC组的阳性率高于高分化HCC组的阳性率, 表明GPC3与肿瘤的恶性程度有关; 另外, 本实验通过检测GPC3在组织中的表达情况及细胞功能学实验的结果显示, GPC3在HCC中的表达强度与Ki-67有明显正相关关系, GPC3高表达组Ki-67指数明显增高(P<0.01). 通过抑制*GPC3*基因在SMMC7721细胞系的表达情况后, 我们发现, 对肝细胞癌增殖具有明显抑制作用(P<0.01), 提示GPC3的过表达在肝细胞癌增殖过程中起直接促进作用.

肿瘤细胞的增殖、转移依赖肿瘤的血管新生过程. 研究显示, 当越多的微血管在肿瘤组织内形成, 肿瘤细胞的增殖能力越强就越有可能进入血液循环[26]. 目前, VEGF为血管内皮细胞特异的标志物, 在肝细胞癌血管生成中起促进作用[27]. 本研究中VEGF的阳性率为87%(47/54), 提示有大量的新血管生成, 为快速生长的癌细胞提供足够的营养, 对癌细胞在血管中的转移起重要作用. 本研究结果表明, GPC3在HCC中的表达与VEGF无相关性, 而Ki-67的表达水平与VEGF相关, 提示GPC3可能并不是直接影响VEGF促进血管生成, 导致肝癌细胞增殖、转移; 可能通过调节胰岛素样生长因子2(insulin-like growth factor-Ⅱ, IGF2)[28]、Wnt[29]等信号通路来调节HCC细胞的增殖、分化、黏附和转移, 间接引起大量血管新生, 影响肝癌细胞的转移. 因此, GPC3促进HCC的转移今后可能应更多从信号通路方面进行探讨.

原发性肝癌的致死率主要就在肝癌术后复发转移上, GPC3的过表达在HCC发生、发展及术后复发转移[30]过程中具有重要作用, 其作为分子治疗的靶点[31]在进入临床治疗阶段之前依然

■同行评价
该论文通过组织标本检测与体外实验证明了GPC3与肝癌细胞增殖的关系, 对阐明GPC3在肝细胞癌生长中的作用提出了新证据.

需要更多基础及临床实验支持, 相信对GPC3的进一步研究能有助于我们对肝癌更深层的认识, 为肝癌的诊断、治疗提供更多手段.

4 参考文献

1 Wang XY, Degos F, Dubois S, Tessiore S, Allegretta M, Guttmann RD, Jothy S, Belghiti J, Bedossa P, Paradis V. Glypican-3 expression in hepatocellular tumors: diagnostic value for preneoplastic lesions and hepatocellular carcinomas. *Hum Pathol* 2006; 37: 1435-1441 [PMID: 16949914 DOI: 10.1016/j.humpath.2006.05.016]

2 Persico M, Perrotta S, Persico E, Terracciano L, Folgori A, Ruggeri L, Nicosia A, Vecchione R, Mura VL, Masarone M, Torella R. Hepatitis C virus carriers with persistently normal ALT levels: biological peculiarities and update of the natural history of liver disease at 10 years. *J Viral Hepat* 2006; 13: 290-296 [PMID: 16637858 DOI: 10.1111/j.1365-2893.2005.00667.x]

3 Hao XP, Willis JE, Pretlow TG, Rao JS, MacLennan GT, Talbot IC, Pretlow TP. Loss of fragile histidine triad expression in colorectal carcinomas and premalignant lesions. *Cancer Res* 2000; 60: 18-21 [PMID: 10646844]

4 Llovet JM, Chen Y, Wurmbach E, Roayaie S, Fiel MI, Schwartz M, Thung SN, Khitrov G, Zhang W, Villanueva A, Battiston C, Mazzaferro V, Bruix J, Waxman S, Friedman SL. A molecular signature to discriminate dysplastic nodules from early hepatocellular carcinoma in HCV cirrhosis. *Gastroenterology* 2006; 131: 1758-1767 [PMID: 17087938 DOI: 10.1053/j.gastro.2006.09.014]

5 Sun CK, Chua MS, He J, So SK. Suppression of glypican 3 inhibits growth of hepatocellular carcinoma cells through up-regulation of TGF-β2. *Neoplasia* 2011; 13: 735-747 [PMID: 21847365]

6 Iglesias BV, Centeno G, Pascuccelli H, Ward F, Peters MG, Filmus J, Puricelli L, de Kier Joffé EB. Expression pattern of glypican-3 (GPC3) during human embryonic and fetal development. *Histol Histopathol* 2008; 23: 1333-1340 [PMID: 18785116]

7 Baumhoer D, Tornillo L, Stadlmann S, Roncalli M, Diamantis EK, Terracciano LM. Glypican 3 expression in human nonneoplastic, preneoplastic, and neoplastic tissues: a tissue microarray analysis of 4,387 tissue samples. *Am J Clin Pathol* 2008; 129: 899-906 [PMID: 18480006 DOI: 10.1309/HCQWPWD50XHD2DW6]

8 Kim H, Xu GL, Borczuk AC, Busch S, Filmus J, Capurro M, Brody JS, Lange J, D'Armiento JM, Rothman PB, Powell CA. The heparan sulfate proteoglycan GPC3 is a potential lung tumor suppressor. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2003; 29: 694-701 [PMID: 12816733]

9 Xiang YY, Ladeda V, Filmus J. Glypican-3 expression is silenced in human breast cancer. *Oncogene* 2001; 20: 7408-7412 [PMID: 11704870 DOI: 10.1038/sj.onc.1204925]

10 Zhu Z, Friess H, Kleeff J, Wang L, Wirtz M, Zimmermann A, Korc M, Büchler MW. Glypican-3 expression is markedly decreased in human gastric cancer but not in esophageal cancer. *Am J Surg* 2002; 184: 78-83 [PMID: 12135726 DOI: 10.1016/S0002-9610(02)00884-X]

11 Abdul-Al HM, Makhlouf HR, Wang G, Goodman ZD. Glypican-3 expression in benign liver tissue with active hepatitis C: implications for the diagnosis of hepatocellular carcinoma. *Hum Pathol* 2008; 39: 209-212 [PMID: 17949778 DOI: 10.1016/j.humpath.2007.06.004]

12 Ligato S, Mandich D, Cartun RW. Utility of glypican-3 in differentiating hepatocellular carcinoma from other primary and metastatic lesions in FNA of the liver: an immunocytochemical study. *Mod Pathol* 2008; 21: 626-631 [PMID: 18264086 DOI: 10.1038/modpathol.2008.26]

13 杜经丽, 王玉兰, 石怀银, 郭爱桃, 韦立新. 肝细胞癌375例临床病理和免疫表型分析. 中华病理学杂志 2012; 41: 309-313

14 陈斯聪, 简志祥, 陈伟, 郑江华, 陈志红. GPC3在原发性肝细胞性肝癌根治术后早期复发中的表达及意义. 实用医学杂志 2010; 26: 1732-1734

15 Shirakawa H, Suzuki H, Shimomura M, Kojima M, Gotohda N, Takahashi S, Nakagohri T, Konishi M, Kobayashi N, Kinoshita T, Nakatsura T. Glypican-3 expression is correlated with poor prognosis in hepatocellular carcinoma. *Cancer Sci* 2009; 100: 1403-1407 [PMID: 19496787 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2009.01206.x]

16 Song HY, Liu YK, Feng JT, Cui JF, Dai Z, Zhang LJ, Feng JX, Shen HL, Tang ZY. Proteomic analysis on metastasis-associated proteins of human hepatocellular carcinoma tissues. *J Cancer Res Clin Oncol* 2006; 132: 92-98 [PMID: 16261346 DOI: 10.1007/s00432-005-0044-x]

17 de la Rosa A, Williams RL, Steeg PS. Nm23/nucleoside diphosphate kinase: toward a structural and biochemical understanding of its biological functions. *Bioessays* 1995; 17: 53-62 [PMID: 7702594 DOI: 10.1002/bies.950170111]

18 Radović S, Dorić M, Hukić A, Babić M, Kuskunović S, Spahović N. Immunohistochemical expression and significance of NM23 suppressor protein in primary gastric adenocarcinoma. *Bosn J Basic Med Sci* 2013; 13: 72-77 [PMID: 23725501]

19 Jarrett SG, Novak M, Harris N, Merlino G, Slominski A, Kaetzel DM. NM23 deficiency promotes metastasis in a UV radiation-induced mouse model of human melanoma. *Clin Exp Metastasis* 2013; 30: 25-36 [PMID: 22699362 DOI: 10.1007/s10585-012-9495-z]

20 Terasaki-Fukuzawa Y, Kijima H, Suto A, Takeshita T, Iezumi K, Sato S, Yoshida H, Sato T, Shimbori M, Shiina Y. Decreased nm23 expression, but not Ki-67 labeling index, is significantly correlated with lymph node metastasis of breast invasive ductal carcinoma. *Int J Mol Med* 2002; 9: 25-29 [PMID: 11744991 DOI: 10.3892/ijmm.9.1.25]

21 Nakayama T, Ohtsuru A, Nakao K, Shima M, Nakata K, Watanabe K, Ishii N, Kimura N, Nagataki S. Expression in human hepatocellular carcinoma of nucleoside diphosphate kinase, a homologue of the nm23 gene product. *J Natl Cancer Inst* 1992; 84: 1349-1354 [PMID: 1322996 DOI: 10.1093/jnci/84.17.1349]

22 Akutsu N, Yamamoto H, Sasaki S, Taniguchi H, Arimura Y, Imai K, Shinomura Y. Association of glypican-3 expression with growth signaling molecules in hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 3521-3528 [PMID: 20653060 DOI: 10.3748/wjg.v16.i28.3521]

23 Zhu J, Tseng YH, Kantor JD, Rhodes CJ, Zetter BR, Moyers JS, Kahn CR. Interaction of the Ras-related protein associated with diabetes rad and the putative tumor metastasis suppressor NM23 provides a novel mechanism of GTPase regulation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96: 14911-14918 [PMID: 10611312 DOI: 10.1073/pnas.96.26.14911]
24 Pizem J, Marolt VF, Luzar B, Cör A. Proliferative and apoptotic activity in hepatocellular carcinoma and surrounding non-neoplastic liver tissue. *Pflugers Arch* 2001; 442: R174-R176 [PMID: 11678329]
25 Zheng Y, Wang L, Zhang JP, Yang JY, Zhao ZM, Zhang XY. Expression of p53, c-erbB-2 and Ki67 in intestinal metaplasia and gastric carcinoma. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 339-344 [PMID: 20082479 DOI: 10.3748/wjg.v16.i3.339]
26 Yao DF, Zhu Y, Wu XH, Wu W, Qiu LW. [Clinical values of vascular endothelial growth factor expression and microvascular density analysis in liver cancer specimens]. *Zhonghua Ganzangbing Zazhi* 2004; 12: 92-94 [PMID: 14980110]
27 Zhang L, Wang JN, Tang JM, Kong X, Yang JY, Zheng F, Guo LY, Huang YZ, Zhang L, Tian L, Cao SF, Tuo CH, Guo HL, Chen SY. VEGF is essential for the growth and migration of human hepatocellular carcinoma cells. *Mol Biol Rep* 2012; 39: 5085-5093 [PMID: 22161247 DOI: 10.1007/s11033-011-1304-2]
28 Weichert J, Schröer A, Amari F, Siebert R, Caliebe A, Nagel I, Gillessen-Kaesbach G, Mohrmann I, Hellenbroich Y. A 1 Mb-sized microdeletion Xq26.2 encompassing the GPC3 gene in a fetus with Simpson-Golabi-Behmel syndrome Report, antenatal findings and review. *Eur J Med Genet* 2011; 54: 343-347 [PMID: 21362501]
29 De Cat B, Muyldermans SY, Coomans C, Degeest G, Vanderschueren B, Creemers J, Biemar F, Peers B, David G. Processing by proprotein convertases is required for glypican-3 modulation of cell survival, Wnt signaling, and gastrulation movements. *J Cell Biol* 2003; 163: 625-635 [PMID: 14610063 DOI: 10.1083/jcb.200302152]
30 姚敏, 杨君伶, 蔚丹丹, 严晓娣, 陈洁, 姚登福. sICAM-1和GPC-3 mRNA对肝癌诊断与转移监测的临床价值. 世界华人消化杂志 2012; 20: 1927-1932
31 Ishiguro T, Sugimoto M, Kinoshita Y, Miyazaki Y, Nakano K, Tsunoda H, Sugo I, Ohizumi I, Aburatani H, Hamakubo T, Kodama T, Tsuchiya M, Yamada-Okabe H. Anti-glypican 3 antibody as a potential antitumor agent for human liver cancer. *Cancer Res* 2008; 68: 9832-9838 [PMID: 19047163 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-1973]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊

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

世界华人消化杂志 2014年5月28日; 22(15): 2116-2121
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

文献综述 REVIEW

肝癌免疫逃逸与免疫治疗的研究进展

胡高裕, 黄赞松

■背景资料
肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)素有“癌中之王”的称号, 病程短, 约80%的病例发现时已属中晚期, 无法接受根治性手术, 而免疫治疗可以调节机体的免疫功能, 达到减少或延缓HCC的发生发展、提高患者的生存质量及延长生存期的目的, 已成为医学界的研究热点.

胡高裕, 桂林医学院研究生学院 广西壮族自治区桂林市 541000
黄赞松, 右江民族医学院消化疾病研究所附属医院消化内科 广西壮族自治区百色市 533000
胡高裕, 在读硕士, 主要从事肝癌的基础与临床研究.
广西自然科学基金资助项目, No. 桂科自0542119
广西高校优秀人才基金资助项目, No. 桂教人20077029
广西卫生厅课题基金重点基金资助项目, No. 桂卫重200887
作者贡献分布: 本文综述由胡高裕完成; 黄赞松审校.
通讯作者: 黄赞松, 教授, 主任医师, 533000, 广西壮族自治区百色市城乡路98号, 右江民族医学院消化疾病研究所附属医院消化内科. 1019846481@qq.com
电话: 0776-2846532
收稿日期: 2014-03-06 修回日期: 2014-04-02
接受日期: 2014-04-09 在线出版日期: 2014-05-28

Study progress in immune escape mechanism and immunotherapy for primary hepatocellular carcinoma

Gao-Yu Hu, Zan-Song Huang

Gao-Yu Hu, Graduate College of Guilin Medical College, Guilin 541000, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China
Zan-Song Huang, Institute of Digestive Disease, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Youjiang Medical College for Nationalities, Baise 533000, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China
Supported by: the Natural Science Foundation of Guangxi Zhuang Autonomous Region, No. 0542119; the Higher Talents Funded Projects of Guangxi, No. 20077029; the Health Department Key Foundation of Guangxi, No. 200887
Correspondence to: Zan-Song Huang, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Youjiang Medical College for Nationalities, 98 Chengxiang Road, Baise 533000, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. 1019846481@qq.com
Received: 2014-03-06 Revised: 2014-04-02
Accepted: 2014-04-09 Published online: 2014-05-28

Abstract
Hepatocellular carcinoma (HCC) is a common malignant tumor as well as a big threat to human health. The occurrence, development and prognosis of HCC are closely relevant to the immune escape and immune function in HCC patients. HCC patients, especially those in the terminal stage of the disease, have impaired immune function, which leads to reduced quality of life and raised death rate. Since immunotherapy can regulate the immune function to reduce recurrence and metastasis, improve the life quality and prolong survival, it has become an important part of comprehensive treatment for HCC. In this paper, we review the latest progress in research of immune escape mechanism and immunotherapy for primary HCC.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Hepatocellular carcinoma; Immunotherapy; Immune escape; Experimental research; Clinical application

Hu GY, Huang ZS. Study progress in immune escape mechanism and immunotherapy for primary hepatocellular carcinoma. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(15): 2116-2121
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2116.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2116

摘要
肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是对人类健康威胁较大且常见的恶性肿瘤, 其发生、进展和转归与肿瘤细胞的免疫逃逸及机体免疫系统的功能密切相关. HCC患者, 尤其当病情进展至中晚期, 机体免疫功能低下, 致使患者生存质量降低, 死亡率升高. 而免疫治疗可以调节机体的免疫功能, 达到减少HCC的复发转移、提高患者生存质量及延长生存期的目的, 已成为HCC综合治疗的重要组成部分. 故本文就HCC的免疫逃逸机制、免疫治疗实验及其临床应用研究的概况及最新研究成果作一综述.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 肝细胞癌; 免疫治疗; 免疫逃逸; 实验研究; 临床应用

核心提示: 本文对肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)免疫逃逸分子机制及其免疫治疗方面的概况和最新研究成果进行综述, 对HCC的免疫逃逸、免疫治疗实验及临床应用研究有一定价值.

■同行评议者
程树群, 副教授, 第二军医大学东方肝胆外科医院综合治疗三科

胡高裕, 黄赞松. 肝癌免疫逃逸与免疫治疗的研究进展. 世界华人消化杂志 2014; 22(15): 2116-2121 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2116.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2116

■研发前沿
目前HCC免疫逃逸的分子机制取得较大进展, 多种免疫治疗方案已应用于临床并表现出一定的效果, 但其逃逸的确切机制及药物的作用机制亟待阐明.

0 引言

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)素有“癌中之王”的称号, 病程短、治疗困难, 严重威胁着人类的生命健康[1]. 据统计, 其病死率居全球所有肿瘤第3位[2], 我国每年HCC发病约36万例、死亡约35万例[3], 且有上升趋势. HCC主要与肝硬化、慢性乙型或丙型病毒性肝炎、黄曲霉毒素及酗酒等因素有关. 已有研究表明, HCC的发生、进展与复发和肿瘤细胞的免疫逃逸及机体免疫系统的功能密切相关[4,5]. 目前手术切除仍为其最有效的根治方法[6], 但大多数患者发现时病程已属中晚期, 常伴肝功能异常, 机体免疫功能低下, 只有不到30%的病例能接受手术治疗[7]. 因此, HCC的免疫治疗已成为医学界的研究热点, 其独特之处在于他能增强机体的免疫功能确保患者顺利完成手术、介入、放疗等创伤性治疗并可激发对肿瘤的特异性免疫, 以达到延缓或减少肿瘤的复发与转移, 提高患者生存质量, 甚至治愈肿瘤的目的. 现就该领域的研究概况进行综述.

1 HCC的免疫逃逸机制

肝脏是机体的免疫特惠器官[8], 拥有独特的免疫系统, 具备免疫监视功能, 能将偶然出现的肿瘤细胞作为异物加以清除. 但HCC在机体免疫系统打击下仍能发生、进展和转移, 说明其有独特的自我保护机制, 即通过抗原的表达异常, 代谢产物与细胞因子的异常分泌和肝癌细胞所处的免疫微环境发生改变等途径来逃避机体免疫系统的识别与攻击[9], 发生肿瘤免疫逃逸.

1.1 分泌免疫抑制因子 肿瘤细胞可分泌转化生长因子-β(transforming growth factor-beta, TGF-β)、白介素-10(interleukin-10, IL-10)等抑制性细胞因子抑制机体抗原提呈细胞(antigen-presenting cell, APC)、T细胞的功能, 导致机体处于免疫效能低下或抑制状态, 从而在免疫应答的诱导和效应等多个环节上抑制宿主抗肿瘤免疫反应.

TGF-β对肿瘤具有双重调控作用: 在肿瘤始发期, 可阻抑细胞增殖、启动细胞分化或凋亡; 进展期则失去该作用, 而表现为抑制机体免疫反应、刺激血管生成及诱导上皮-间充质转化等作用, 为肿瘤细胞增殖、侵袭及转移提供良好的微环境[10-12]. TGF-β1为TGF-β的一个亚型, 是一种具有生物活性且在肝脏含量较高的多肽类细胞调节因子, 在正常肝组织中, 主要由间质细胞产生, 若其表达异常升高则常见于肝癌[13]、结肠癌[14]及肺腺癌[15]等疾病, 其在肿瘤中主要参与诱导细胞凋亡, 抑制天然免疫及刺激调节性T细胞(reguletary T cell, Treg)生成等活动而破坏机体的抗肿瘤免疫反应, 导致肿瘤的恶性进展[16].

IL-10属Th2型细胞因子, 来源于单核巨噬细胞、Treg和肿瘤本身[17], 可通过多种方式发挥免疫抑制作用, 促进肝癌细胞发生免疫逃逸: 如通过降低APC表面主要组织相容性复合体Ⅱ(major histocompatibility complex Ⅱ, MHCⅡ)类分子和CD80/86等共刺激分子的表达, 减弱APC的抗原提呈能力[18]; 通过作用于初始$CD4^+$ T细胞抑制Th1细胞的分泌, 进而影响Treg细胞的成熟与功能[19]; 还可通过降低抗原提呈相关转运蛋白的表达, 间接使细胞毒性T细胞(cytotoxic T cell, CTL)处于免疫无能状态[20]. 研究表明肿瘤细胞过量表达环氧化酶2(cyclooxygenase-2, COX-2)分子, 也可促进肿瘤细胞的免疫逃逸[21], 并与IL-10的表达量上升有关.

另有研究表明血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)[22]、IL-6[23]均与HCC的免疫逃逸有关.

1.2 抑制DC的分化和成熟、诱导DC凋亡 树突状细胞(dendritic cells, DC)是体内功能最强的专职性APC, 广泛分布于全身组织和脏器, 血中含量较少, 但能提呈抗原及诱导初始T细胞活化, 在肿瘤的免疫反应中发挥着极为重要的作用. 成熟DC因高表达MHCⅡ/Ⅰ类分子、CD80/86、ICAM-1等分子, 其摄取、处理抗原能力较弱, 而提呈抗原、启动免疫应答能力强.研究发现, HCC患者中升高的AFP可使DC凋亡, 引起DC分泌的IL-12、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF-α)减少, 从而引起DC功能缺失[24]. 邱双健等[25]发现肝癌上清液与DC共培养可抑制DC的最终成熟, 与正常成熟的DC比较表现为, MHCⅠ/Ⅱ类分子及CD80/86等共刺激分子和CD1a的阳性率降低, 其刺激T细胞活化增殖的能力亦明显下降, 导致外周血中的DC抗原提呈功能发生障碍, 进而影响机体的免疫应答, 促进肿瘤的恶性进展.

■创新盘点
本文对HCC免疫逃逸机制及免疫治疗的概况和最新研究成果进行综述, 内容全面并且新颖.

1.3 T细胞亚群数量的变化 T细胞源于骨髓的淋巴样干细胞, 在胸腺中发育成熟, 可分为$CD4^+$、$CD8^+$、Treg及CTL等细胞亚群. $CD8^+$增多是导致宿主细胞免疫损害的基础, $CD4^+$减少可导致恶性细胞发生免疫逃逸, 因此$CD4^+$与$CD8^+$的比值可作为反映该损害的敏感指标[26]. 研究表明Treg可通过多种途径阻抑肿瘤免疫, 该细胞数量增多与HCC的发生、侵袭及预后关系密切[27,28]. CTL通常指表达TCRαβ $CD8^+$ CTL细胞, 主要通过穿孔素/颗粒酶、Fas/FasL两条途径对靶细胞(含肿瘤细胞)进行高效、特异地杀伤[29], 且不损害正常组织. 张娇等[30]研究发现, 表达无功能Fas或低表达Fas的肝癌细胞可抵制Fas介导的凋亡并反击免疫细胞使T细胞凋亡, 同时其表达的FasL也抑制了T细胞的免疫效能, 从而逃避CTL的攻击, 发生免疫逃逸.

1.4 无或弱抗原性癌细胞存活 肿瘤抗原是指细胞恶变过程中出现的新抗原、肿瘤细胞异常表达的抗原物质的总称, 能诱导机体产生抗肿瘤免疫反应. 若肿瘤细胞表达的抗原与正常蛋白差别很小, 或抗原性弱, 则无法诱导机体产生足够强度的抗肿瘤免疫应答以清除肿瘤细胞. 甲胎蛋白(alpha-fetoprotein, AFP)是HCC的相关抗原, 在胎儿早期主要由肝脏合成, 出生后合成明显受抑. 当肝细胞恶变时, 相关基因重新被激活, 使该抗原重新合成以致血中AFP含量明显升高. 但是, 由于AFP曾在胚胎期出现过, 宿主对其已形成免疫耐受, 故抗原性很弱, 难以引起宿主免疫系统对肿瘤细胞的有效杀伤[31].

1.5 干扰素-γ水平降低或其受体表达下调 干扰素-γ(interferon-γ, IFN-γ)为Ⅱ型干扰素, 具有促进MHC分子表达和抗原提呈, 诱导Th1、抑制Th2细胞分化等功能. 已有研究表明, HCC患者体内IFN-γ水平降低可导致免疫逃逸的发生, 但适量补给IFN-γ后, 免疫逃逸现象并不能被逆转, 肿瘤仍能恶性进展, 这可能与其分泌调节功能障碍[32]或IFN-γ受体表达下调有关[23]. IFN-γ在HCC演变过程中的作用较为复杂, 肝癌细胞逃避IFN-γ抗肿瘤作用机制有待进一步研究.

1.6 肝癌细胞的“漏逸” “漏逸”是指由于癌细胞的生长速度超过了宿主的抗肿瘤免疫效应限度, 致使机体不能对其进行有效地清除.

2 HCC免疫治疗的实验研究

2.1 瘤苗治疗 瘤苗治疗是将具有免疫原性的瘤苗注入荷瘤宿主, 以激活宿主的抗肿瘤特异性免疫反应, 从而达到治疗肿瘤或预防复发的目的. 常用于HCC治疗的疫苗有AFP多肽疫苗和DC疫苗等. Lan等[33]将*AFP*和*HSP70*基因重组得到的DNA疫苗注入荷瘤小鼠体内, 发现其能诱导出CTL的抗肿瘤效能, 使荷瘤小鼠肿瘤消退和生存期延长, 并且无明显不良反应.

2.2 细胞因子治疗 细胞因子治疗是指将具备抗肿瘤免疫活性的细胞因子注入患者体内, 可产生肿瘤杀伤效应, 从而取得一定的治疗效果.目前常用的细胞因子有IFN、TNF及粒-巨噬细胞集落刺激因子(granulocyte-macrophage colony stimulating factor, GM-CSF)等. 彭宝岗等[34]将TNF-α或INF-γ直接注入人肝癌裸鼠肝内移植瘤瘤体内, 结果发现联合应用具有协同抗瘤效果, 用药后瘤体呈大片状坏死, 血AFP浓度降低, 小鼠生存期延长. 郭银燕等[35]将小鼠肝癌细胞株H22注入小鼠右腋部皮下构建移植瘤模型, 根据对其干预方式的不同分为H22-GM-CSF组、H22组及PBS对照组, 然后应用流式细胞术(flow cytometry, FCM)和CCK-8法分别检测各组小鼠外周血T细胞亚群及脾细胞CTL的杀伤活性, 结果显示H22-GM-CSF组小鼠外周血中$CD8^+$ T的含量和CTL杀伤活性高于H22组及对照组, 肿瘤体积小于其他两组, 提示GM-CSF分泌可增强GM-CSF分泌型肝癌细胞疫苗的免疫效果, 进而抑制肿瘤细胞的生长.

2.3 免疫细胞治疗 继淋巴因子激活的杀伤细胞(lymphokine actived killer cells, LAK)[36]、肿瘤浸润性淋巴细胞(tumor infiltrating lymphocyte, TIL)[37]用于治疗肿瘤后, 陆续发现了一些新的免疫效应细胞, 近年研究较多的有: 细胞因子诱导的杀伤(cytokine induced killer, CIK)细胞、DC-CIK细胞等. 李卿等[38]将肝癌细胞株BEL-7402注入裸鼠右腋部皮下建立移植瘤模型, 然后根据给予治疗措施的不同, 分为DC-CIK组、索拉菲尼组、联合组及生理盐水对照组, 结果显示, 联合组对癌细胞的诱导凋亡率及杀伤率显著高于其他治疗组, 显示出良好的应用前景.

2.4 中医药治疗 中药不仅可以减轻放化疗的毒副反应、增加化疗药物的敏感性, 且在提高机体免疫功能、提高生活质量及延长生存期等方面疗效独特, 已成为肿瘤研究领域的一大热点. 肖顺汉等[39]建立小鼠肝癌H22移植性肿瘤模型, 然后给予黄芪多糖灌胃治疗, 采用ELISA法检测小鼠血清中TNF-α、IL-2等细胞因子水平, 结果

发现在剂量为50和100 mg/kg时, 其对荷瘤小鼠H22的抑瘤率分别为32.84%和45.09%且可提高脾、胸腺指数和血清中IL-2、TNF-α的水平, 说明黄芪多糖能提高机体的免疫功能和抗肿瘤活性. 研究发现, 苦参碱联用顺铂(cisplatin, DDP)能抑制小鼠H22肝癌移植瘤的生长, 抑瘤率高达86.2%, 作用机制可能与其调节机体的免疫功能、促进肝癌细胞凋亡等有关[40,41].

3 HCC免疫治疗的临床应用研究

在肿瘤的系统治疗中, 生物免疫治疗起到重要作用, 已有资料表明其对多种肿瘤有明显疗效, 近年来HCC免疫治疗的临床应用取得很大进展. 有研究[42]发现源于HCC患者携带有*AFP*和*IL-2*基因的DC共转染能增强CTL的细胞毒性、显著增加IL-2和IFN-γ的产量, 从而促进诱导机体的特异性抗肿瘤免疫, 为HCC提供了一种有前景的新型基因疗法. 研究显示, 基因重组牛痘病毒JX-594治疗晚期HCC效果显著, 可激活机体的免疫效应并能直接溶解肿瘤使之明显缩小[43], 其Ⅱ期临床试验显示实验组与对照组的中位生存期分别为14.1和6.7 mo, 无明显不良反应[44]. 大量的研究表明免疫治疗与其他疗法联用治疗HCC效果更佳.

3.1 HCC手术前后应用免疫治疗 手术切除是目前根治HCC最有效的方法, 但对机体创伤较大且患者术后易发生复发和转移, 而免疫治疗在提高患者对手术的耐受力、改善生活质量、预防或延迟HCC的复发和转移及延长生存期等方面发挥着重要作用. 徐青等[45]将103例确诊为HCC患者分为两组: 即采用胸腺肽α1+手术治疗的35例设为A组, 其余68例仅采用手术治疗设为B组, 用FCM和MTT比色法分别检测T细胞亚群变化及IL-2的活性, 结果显示A组患者术前和术后1、2 wk的$CD4^+/CD8^+$高于B组且A组的IL-2术后2 wk也增高, 这表明HCC围手术期应用胸腺肽αl治疗可提高患者围手术期的免疫功能.

3.2 与放化疗联合 放化疗联用免疫疗法治疗HCC不仅可减轻其不良反应, 还具有协同增效的作用. Hu等[46]使用IFN-α联合化疗试剂(包括5-FU、DDP等)治疗了76例行肝癌切除加癌栓取出术的HCC并门静脉癌栓患者, 其中29例使用联合治疗, 其他47例作为对照. 结果显示, 术后治疗组3年累积存活率及中位生存时间较对照组明显升高, 提示两者联合治疗有助于提高患者的生存率. 熊墨年等[47]将H22细胞注入小鼠右腋部皮下造模, 然后用益气消瘤方(由生晒参、黄芪、白术等组成)灌胃加环磷酰胺(cycophosphamde/cytoxan, CTX)腹腔注射, 结果显示益气消瘤方对HCC或CTX造成的免疫抑制具有调节作用, 表现为T细胞活力及巨噬细胞吞噬指数的增高.

3.3 与局部治疗联用 肝动脉化疗栓塞(transcatheter hepatic arterial chemoembolization, TACE)是HCC非手术治疗的首选方案, 可提高患者的3年生存率, 若合用免疫治疗, 效果更佳. Nakamoto等[48]将以DC为基础的免疫治疗策略联合局部区域疗法用于13例经TACE治疗后的HCC患者, 结果显示其无复发存活率较对照组显著延长. 卢琳琳等[49]收集了67例中晚期HCC住院患者, 将单用微波消融(percutaneous microwave coagulation therapy, PMCT)治疗的32例设为PMCT组, PMCT联合自体CIK细胞干预的35例患者设为联合治疗组, 结果显示患者AFP定量明显下降, 下降率分别为40.6%和65.7%, 且$CD3^+$比例和$CD4^+/CD8^+$比值上升, 表明二者联用可改善患者免疫功能, 为不适合手术或其他疗法效果差的HCC患者提供了一种新且有效的治疗策略.

4 结论

多年来国内外对HCC免疫逃逸及治疗的研究可谓如火如荼, 目前其免疫逃逸的分子机制取得较大进展, 多种免疫治疗方案已应用于临床并表现出一定的效果, 尤其是在改善患者生存质量、延长生存期、降低复发率和死亡率等方面有着重要的意义, 与其他疗法联用效果更佳, 已成为HCC综合治疗的重要组成部分.但仍然存在一些问题急需解决: (1)HCC发生、演变与复发的免疫逃逸确切机制亟待阐明; (2)HCC的免疫制剂较多, 但多数药物疗效局限, 且其作用机理尚不确切; (3)中药药物间相互配伍能产生协同效益甚至出现新的功用, 但目前的研究仅侧重于单味中药的经典机制, 对复方制剂的作用机理研究较少且其临床疗效缺乏统一判定标准, 不利于应用推广; (4)中医的个体化与西医的系统化治疗HCC研究还没有足够的数据支持, 应该加强中西医结合治疗该病的循证医学研究[50]. 相信随着大规模随机对照实验研究的开展以及肿瘤免疫学和药理学的发展, 新的研究与开发有望进一步明确HCC的免疫逃逸机制, 提高

■应用要点

本文通过综述HCC免疫逃逸及免疫治疗的概况及进展, 对了解免疫逃逸的相关原理、免疫治疗方案的选择等方面有着非常重要的理论指导及临床应用价值.

■同行评价
本文选题有重要理论和实用价值，为HCC免疫治疗方案的选择和进一步研究策略等方面提供了有意义的参考信息.

免疫治疗的效能与特异性，从而使免疫治疗在临床上发挥更为重要的作用，为HCC患者带来福音.

5 参考文献

1 中华人民共和国卫生部. 原发性肝癌诊疗规范(2011年版). 临床肿瘤学杂志 2011; 16: 929-946
2 Livraghi T, Mäkisalo H, Line PD. Treatment options in hepatocellular carcinoma today. *Scand J Surg* 2011; 100: 22-29 [PMID: 21482502]
3 Chen JG, Zhang SW. Liver cancer epidemic in China: past, present and future. *Semin Cancer Biol* 2011; 21: 59-69 [PMID: 21144900 DOI: 10.1016/j.semcancer.2010.11.002]
4 唐耘天, 唐步坚. 原发性肝癌免疫治疗的研究进展. 中国癌症防治杂志 2013; 5: 79-82
5 Willimsky G, Schmidt K, Loddenkemper C, Gellermann J, Blankenstein T. Virus-induced hepatocellular carcinomas cause antigen-specific local tolerance. *J Clin Invest* 2013; 123: 1032-1043 [PMID: 23454765 DOI: 10.1172/JCI64742]
6 Jarnagin WR. Management of small hepatocellular carcinoma: a review of transplantation, resection, and ablation. *Ann Surg Oncol* 2010; 17: 1226-1233 [PMID: 20405327 DOI: 10.1245/s10434-010-0978-3]
7 Matar P, Alaniz L, Rozados V, Aquino JB, Malvicini M, Atorrasagasti C, Gidekel M, Silva M, Scharovsky OG, Mazzolini G. Immunotherapy for liver tumors: present status and future prospects. *J Biomed Sci* 2009; 16: 30 [PMID: 19272130 DOI: 10.1186/1423-0127-16-30]
8 Nemeth E, Baird AW, O'Farrelly C. Microanatomy of the liver immune system. *Semin Immunopathol* 2009; 31: 333-343 [PMID: 19639317 DOI: 10.1007/s00281-009-0173-4]
9 张晶. 黏附分子与肿瘤免疫逃逸. 实用肿瘤杂志 2004; 19: 449-452
10 Moore-Smith L, Pasche B. TGFBR1 signaling and breast cancer. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 2011; 16: 89-95 [PMID: 21461994 DOI: 10.1007/s10911-011-9216-2]
11 Zhong Z, Carroll KD, Policarpio D, Osborn C, Gregory M, Bassi R, Jimenez X, Prewett M, Liebisch G, Persaud K, Burtrum D, Wang S, Surguladze D, Ng S, Griffith H, Balderes P, Doody J, Schwartz JD, Youssoufian H, Rowinsky EK, Ludwig DL, Witte L, Zhu Z, Wu Y. Anti-transforming growth factor beta receptor II antibody has therapeutic efficacy against primary tumor growth and metastasis through multieffects on cancer, stroma, and immune cells. *Clin Cancer Res* 2010; 16: 1191-1205 [PMID: 20145179 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-09-1634]
12 Zakrzewski PK, Cygankiewicz AI, Mokrosiński J, Nowacka-Zawisza M, Semczuk A, Rechberger T, Krajewska WM. Expression of endoglin in primary endometrial cancer. *Oncology* 2011; 81: 243-250 [PMID: 22116456 DOI: 10.1159/000334240]
13 Mamiya T, Yamazaki K, Masugi Y, Mori T, Effendi K, Du W, Hibi T, Tanabe M, Ueda M, Takayama T, Sakamoto M. Reduced transforming growth factor-beta receptor II expression in hepatocellular carcinoma correlates with intrahepatic metastasis. *Lab Invest* 2010; 90: 1339-1345 [PMID: 20531292 DOI: 10.1038/labinvest.2010.105]
14 Liu XQ, Rajput A, Geng L, Ongchin M, Chaudhuri A, Wang J. Restoration of transforming growth factor-beta receptor II expression in colon cancer cells with microsatellite instability increases metastatic potential in vivo. *J Biol Chem* 2011; 286: 16082-16090 [PMID: 21454688 DOI: 10.1074/jbc.M111.221697]
15 Xu CC, Wu LM, Sun W, Zhang N, Chen WS, Fu XN. Effects of TGF-β signaling blockade on human A549 lung adenocarcinoma cell lines. *Mol Med Rep* 2011; 4: 1007-1015 [PMID: 21725601 DOI: 10.3892/mmr.2011.530]
16 Feng X, Li B, Ye H, Long D. Increased frequency of CD4+CD25(high)FoxP3+ regulatory T cells in patients with hepatocellular carcinoma. *Arch Immunol Ther Exp* (Warsz) 2011; 59: 309-314 [PMID: 21633918 DOI: 10.1007/s00005-011-0127-0]
17 Hoechst B, Ormandy LA, Ballmaier M, Lehner F, Krüger C, Manns MP, Greten TF, Korangy F. A new population of myeloid-derived suppressor cells in hepatocellular carcinoma patients induces CD4(+)CD25(+)Foxp3(+) T cells. *Gastroenterology* 2008; 135: 234-243 [PMID: 18485901 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.03.020]
18 Wilke CM, Wei S, Wang L, Kryczek I, Kao J, Zou W. Dual biological effects of the cytokines interleukin-10 and interferon-γ. *Cancer Immunol Immunother* 2011; 60: 1529-1541 [PMID: 21918895 DOI: 10.1007/s00262-011-1104-5]
19 周琳, 周光炎, 路丽明. IL-10的双向免疫调节作用. 细胞与分子免疫学杂志 2012; 28: 1100-1102
20 Kurte M, López M, Aguirre A, Escobar A, Aguillón JC, Charo J, Larsen CG, Kiessling R, Salazar-Onfray F. A synthetic peptide homologous to functional domain of human IL-10 down-regulates expression of MHC class I and Transporter associated with Antigen Processing 1/2 in human melanoma cells. *J Immunol* 2004; 173: 1731-1737 [PMID: 15265902]
21 Mocellin S, Marincola FM, Young HA. Interleukin-10 and the immune response against cancer: a counterpoint. *J Leukoc Biol* 2005; 78: 1043-1051 [PMID: 16204623]
22 Nagaoka S, Yoshida T, Akiyoshi J, Akiba J, Hisamoto T, Yoshida Y, Abe M, Koga H, Toirimura T, Ueno T, Sata M. The ratio of serum placenta growth factor to soluble vascular endothelial growth factor receptor-1 predicts the prognosis of hepatocellular carcinoma. *Oncol Rep* 2010; 23: 1647-1654 [PMID: 20428821]
23 Ognjanovic S, Yuan JM, Chaptman AK, Fan Y, Yu MC. Genetic polymorphisms in the cytokine genes and risk of hepatocellular carcinoma in low-risk non-Asians of USA. *Carcinogenesis* 2009; 30: 758-762 [PMID: 19126646 DOI: 10.1093/carcin/bgn286]
24 邱双健. 树状突细胞与肝癌的免疫逃逸. 世界华人消化杂志 2005; 13: 429-431
25 邱双健, 叶胜龙, 吴志全, 樊嘉, 汤钊猷. 肝癌细胞上清液树状突细胞的抑制作用于NF-KB通路有关. 中华肝胆外科杂志 2004; 10: 558-561
26 Schmidt N, Neumann-Haefelin C, Thimme R. Cellular immune responses to hepatocellular carcinoma: lessons for immunotherapy. *Dig Dis* 2012; 30: 483-491 [PMID: 23108304 DOI: 10.1159/000341697]
27 Wu H, Chen P, Liao R, Li YW, Yi Y, Wang JX, Cai XY, He HW, Jin JJ, Cheng YF, Fan J, Sun J, Qiu SJ. Intratumoral regulatory T cells with higher prevalence and more suppressive activity in hepatocellular carcinoma patients. *J Gastroenterol Hepatol*

2013; 28: 1555-1564 [PMID: 23517245 DOI: 10.1111/jgh.12202]
28 Qin LX. Inflammatory immune responses in tumor microenvironment and metastasis of hepatocellular carcinoma. *Cancer Microenviron* 2012; 5: 203-209 [PMID: 22678823 DOI: 10.1007/s12307-012-0111-1]
29 Yang S, Haluska FG. Treatment of melanoma with 5-fluorouracil or dacarbazine in vitro sensitizes cells to antigen-specific CTL lysis through perforin/granzyme- and Fas-mediated pathways. *J Immunol* 2004; 172: 4599-4608 [PMID: 15034078]
30 张娇, 刘倩, 毛海婷, 孙琳. 肝癌细胞系Fas/FasL功能与免疫逃逸机制探讨. 山东大学学报(医学版) 2006; 44: 244-247
31 蔡秀军, 沈柏用. 原发性肝癌免疫治疗进展. 中国实用外科杂志 2011; 31: 742-744
32 王拱辰, 施广霞. 肝细胞癌免疫逃逸机制的研究进展. 胃肠病学和肝病学杂志 2012; 21: 975-980
33 Lan YH, Li YG, Liang ZW, Chen M, Peng ML, Tang L, Hu HD, Ren H. A DNA vaccine against chimeric AFP enhanced by HSP70 suppresses growth of hepatocellular carcinoma. *Cancer Immunol Immunother* 2007; 56: 1009-1016 [PMID: 17186291]
34 彭宝岗, 何强, 梁力建, 周凡, 吕明德. 肿瘤坏死因子-α联合干扰素-γ治疗肝癌的实验研究. 中国病理生理杂志 2005; 21: 1892-1895
35 郭银燕, 文剑, 张永臣, 杨永峰. GM-CSF分泌型肝癌疫苗对荷瘤鼠脾血细胞毒性T淋巴细胞杀伤活性的影响. 实用肝脏病杂志 2013; 16: 335-337
36 Rosenberg SA, Lotze MT, Muul LM, Leitman S, Chang AE, Ettinghausen SE, Matory YL, Skibber JM, Shiloni E, Vetto JT. Observations on the systemic administration of autologous lymphokine-activated killer cells and recombinant interleukin-2 to patients with metastatic cancer. *N Engl J Med* 1985; 313: 1485-1492 [PMID: 3903508]
37 Rosenberg SA, Packard BS, Aebersold PM, Solomon D, Topalian SL, Toy ST, Simon P, Lotze MT, Yang JC, Seipp CA. Use of tumor-infiltrating lymphocytes and interleukin-2 in the immunotherapy of patients with metastatic melanoma. A preliminary report. *N Engl J Med* 1988; 319: 1676-1680 [PMID: 3264384]
38 李卿, 王新利, 王杨, 隋承光. DC-CIK共培养细胞联合索拉菲尼对肝癌细胞体内外的杀伤效应. 中国肿瘤生物治疗杂志 2010; 17: 46-50
39 肖顺汉, 任美萍, 刘明华, 李蓉, 李 茂. 黄芪多糖对荷瘤小鼠IL-2、IL-6、IL-12和TNF-A水平的影响. 四川生理科学杂志 2009; 31: 7-8
40 黄宏思, 黄赞松, 黄卫彤, 黄衍强. 苦参碱与顺铂合用对小鼠肝癌移植瘤的影响. 时珍国医国药 2008; 19: 2102-2103
41 向发良, 黄赞松. 苦参素抗肝癌作用研究. 医学综述 2011; 17: 2992-2995
42 Yang JY, Li X, Gao L, Teng ZH, Liu WC. Co-transfection of dendritic cells with AFP and IL-2 genes enhances the induction of tumor antigen-specific antitumor immunity. *Exp Ther Med* 2012; 4: 655-660 [PMID: 23170121]
43 叶胜龙. 2013年肝癌领域新进展. 中华肝脏病杂志 2014; 22: 2-4
44 Heo J, Reid T, Ruo L, Breitbach CJ, Rose S, Bloomston M, Cho M, Lim HY, Chung HC, Kim CW, Burke J, Lencioni R, Hickman T, Moon A, Lee YS, Kim MK, Daneshmand M, Dubois K, Longpre L, Ngo M, Rooney C, Bell JC, Rhee BG, Patt R, Hwang TH, Kirn DH. Randomized dose-finding clinical trial of oncolytic immunotherapeutic vaccinia JX-594 in liver cancer. *Nat Med* 2013; 19: 329-336 [PMID: 23396206 DOI: 10.1038/nm.3089]
45 徐青, 李鹏, 薛平, 朱卫平, 陈瑞新, 于秀. 胸腺肽α1对原发性肝癌围手术期免疫功能的影响. 世界华人消化杂志 2005; 13: 2748-2751
46 Hu WJ, Liang LJ, Zhou Q, Peng BG, Yin XY, Li DM. [Efficacy of postoperative chemotherapy combined with immunotherapy for hepatocellular carcinoma with major portal vein tumor thrombus]. *Zhonghua Waike Zazhi* 2007; 45: 1325-1327 [PMID: 18241566]
47 熊墨年, 彭丹明, 张进, 吴东风, 张瑾楠, 邓罗英, 刘雯. 益气消瘤方对H22荷瘤小鼠免疫调节作用的实验研究. 实用中西医结合临床 2012; 12: 50-51
48 Nakamoto Y, Mizukoshi E, Kitahara M, Arihara F, Sakai Y, Kakinoki K, Fujita Y, Marukawa Y, Arai K, Yamashita T, Mukaida N, Matsushima K, Matsui O, Kaneko S. Prolonged recurrence-free survival following OK432-stimulated dendritic cell transfer into hepatocellular carcinoma during transarterial embolization. *Clin Exp Immunol* 2011; 163: 165-177 [PMID: 21087443 DOI: 10.1111/j.1365-2249.2010.04246.x]
49 卢琳琳, 曹茜, 潘洋. 微波消融联合自体CIK细胞治疗中晚期肝癌的临床疗效分析. 中国慢性病预防与控制 2013; 21: 353-355
50 黄赞松, 仇仪英. 中医药治疗原发性肝癌的研究现状. 时珍国医国药 2012; 23: 2851-2853

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com
世界华人消化杂志 2014年5月28日; 22(15): 2122-2127
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

文献综述 REVIEW

体外循环心脏术后胃肠道并发症的研究进展

赵志宇, 宋 兵

■背景资料
心脏手术大多需要借助体外循环设备来完成, 在体外循环心脏术中, 由于血液动力学的改变, 加之术前患者全身各脏器功能状态各异, 导致术后患者出现各类并发症. 其中消化系统并发症占据相当大比例, 常见的包括麻痹性肠梗阻、应激性溃疡、缺血性肠炎、消化系出血、急性胆囊炎、急性胰腺炎、急性肝功能不全等.上述并发症不但会延长术后患者住院时间, 增加住院费用, 而且更重要的是增加临床诊疗难度, 甚至危及患者生命. 因此本文将着重探讨近年来关于体外循环心脏术后患者胃肠道常见并发症的病因、危险因素、发病机制及论述相关诊疗措施.

赵志宇, 宋兵, 兰州大学第一医院心血管外科 甘肃省兰州市 730000
赵志宇, 在读硕士, 主要从事心血管外科的研究.
作者贡献分布: 本文综述由赵志宇完成; 宋兵审校.
通讯作者: 宋兵, 主任医师, 730000, 甘肃省兰州市东岗西路1号, 兰州大学第一医院心血管外科. abcsong@sina.com
电话: 0931-8624515
收稿日期: 2014-03-14 修回日期: 2014-04-09
接受日期: 2014-04-14 在线出版日期: 2014-05-28

Gastrointestinal complications following cardiac surgery with cardiopulmonary bypass

Zhi-Yu Zhao, Bing Song

Zhi-Yu Zhao, Bing Song, Department of Cardiovascular Surgery, the First Hospital of Lanzhou University, Lanzhou 730000, Gansu Province, China
Correspondence to: Bing Song, Chief Physician, Department of Cardiovascular Surgery, the First Hospital of Lanzhou University, 1 Donggang West Road, Lanzhou 730000, Gansu Province, China. abcsong@sina.com
Received: 2014-03-14 Revised: 2014-04-09
Accepted: 2014-04-14 Published online: 2014-05-28

Abstract
Gastrointestinal complications following cardiac surgery with cardiopulmonary bypass include paralytic ileus, stress ulcer, acute ischemic colitis, gastrointestinal bleeding, acute cholecystitis, acute pancreatitis, acute hepatic failure and so on. Due to the lack of diagnostic tests with high specificity and sensitivity, the early diagnosis of these complications is difficult, which leads to a higher mortality rate. Therefore, accurately identifying the risk factors is important for early diagnosis and treatment. The purpose of this paper is to review the pathogenesis, risk factors, diagnosis and treatment of gastrointestinal complications after cardiac surgery with cardiopulmonary bypass.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Cardiopulmonary bypass; Gastrointestinal complications; Research progress

Zhao ZY, Song B. Gastrointestinal complications following cardiac surgery with cardiopulmonary bypass. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(15): 2122-2127 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2122.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2122

摘要
体外循环(cardiopulmonary bypass, CPB)心脏术后消化系统并发症在临床工作中很常见, 包括麻痹性肠梗阻、应激性溃疡、缺血性肠炎、消化系出血、急性胆囊炎、急性胰腺炎、急性肝功能不全等. 对这些并发症缺乏高灵敏性及特异性的诊查方法, 早期诊断困难, 导致患者病死率很高. 所以如何正确识别这些并发症的高危因素, 对早期诊断与及时治疗具有重要意义. 本文着重探讨CPB术后胃肠道各种并发症的机制, 危险因素, 并对其相关诊疗策略目前的研究进展进行综述.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 体外循环; 胃肠道并发症; 研究进展

核心提示: 体外循环(cardiopulmonary bypass)后胃肠道并发症起病隐匿、发病复杂、诊断棘手、治疗困难. 本文描述了其病因、病机、危险因素, 总结近年来相关报道及研究, 着重论述常见并发症的相关诊疗及预防措施.

赵志宇, 宋兵. 体外循环心脏术后胃肠道并发症的研究进展. 世界华人消化杂志 2014; 22(15): 2122-2127 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2122.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2122

0 引言
体外循环(cardiopulmonary bypass, CPB)心脏手术过程中由于全身血液再分布, 生理性搏动性血流消失, 血液与体外循环管道接触产生大量炎症介质, 从而使补体系统和激肽系统激活等原因, 使得消化系统尤其是胃肠道遭受巨大手术打击, 而胃肠道则是机体应激的中心器官之一[1]. 这种重要并发症在1957年由Berkowitz等[2]首次报道, 近年来国内外亦可见大量关于CPB心脏术后胃肠道并发症相关研究, 包括麻痹性

■同行评议者
缪应雷, 主任医师, 昆明医科大学第一附属医院消化内科

肠梗阻、消化性溃疡、缺血性肠炎、消化系出血等. CPB心脏术后并发症虽不常见, 有学者报道其发病率约0.5%-4.0%, 然而一旦发生则病死率高达26%-75%[3]. 此外, 由于心脏术后患者使用镇静剂、肌松剂、气管插管辅助呼吸等原因, 患者缺乏相关主诉, 造成临床上诊断和治疗的延误, 错过临床最佳诊治时机. 因此正确认识CPB心脏术后胃肠道并发症的机制、危险因素及恰当、及时、合理的治疗措施显得至关重要.

1 CPB心脏术后胃肠道并发症的发病机制

目前为止, 引起CPB术后消化系并发症的原因很多, 但具体机制不甚清楚, 综合国内外各项相关研究认为有如下几点.

1.1 消化系统低血流量灌注 在CPB过程中, 大脑等重要器官灌注几乎维持不变, 由于生理性搏动性血流的消失, 使得腹腔脏器血流灌注较术前减少. 在生理状态下, 胃肠道的血供为心输出量的20%-25%, 其血管床血液量约占全身总量的30%, 其中75%分布于肠道, 肠道是对缺血最敏感的器官, 当循环出现异常时, 其缺血发生的最早, 同时对缺氧高度敏感, 因此肠道对氧的需求量相比全身其他重要器官都要高得多[4]. CPB过程中可以看做是“人为控制性休克”状态[5], 期间血液重新分布, 以大脑为代表的重要脏器血流基本不变, 而腹腔脏器血流骤然减少, 加之CPB期间血液稀释, 肠道处于低氧、低压、低灌注状态. Desai在狗的实验中发现, 体外循环中狗的肝动脉血流减少约46%, 门静脉减少约44%[6].

CPB术中胃肠道低灌注的原因在各阶段也有所不同, 体外循环初期主要由低血压造成, 究其原因主要有血液稀释、非搏动性血流灌注、大量血液引流至体外、灌注指数低于正常心脏指数. 然而之后由于交感-肾上腺素系统、肾素-血管紧张素-醛固酮系统的激活, 释放大量儿茶酚胺类物质和术中血管活性药物的应用, 以及全身各脏器血管儿茶酚胺类物质受体分布的差异性, 导致供应腹腔脏器血管收缩, 血管阻力升高, 使得胃肠道组织灌注量明显减少[7]. 上述原因造成胃肠黏膜缺血、缺氧, 无氧代谢增加, 乳酸等代谢产物堆积, 血管活性物质反应性降低, 从而加重微循环障碍, 形成恶性循环, 损害消化系黏膜黏液-碳酸氢盐屏障, 削弱抵抗酸性物质的能力, 加之缺血-再灌注损伤, 造成胃肠道黏膜的直接破坏[8].

1.2 炎症介质参与的损伤 在CPB过程中, 血液由体内引流至体外, 与循环管道中塑料、金属等表面及气液界面接触激活各类炎症细胞, 释放大量炎症介质参与消化系的损伤. 其中最重要的包括以下3个系统: 激肽-激肽释放酶系统、凝血-纤溶系统、补体系统[9]. 在激肽-激肽释放酶系统中, 通过激活炎症细胞及细胞因子生成炎症介质, 如缓激肽, 导致血管通透性增加[10], 胃肠道水肿, 促进炎症反应的发生. 在纤溶旁路中, 纤溶酶降解纤维蛋白产生纤维蛋白降解产物(fibrin degradation products, FDP), 而FDP本身具有致炎作用, 通过干扰纤维蛋白的形成,使血小板功能失调, 损伤血管内皮细胞[9], 值得一提的是在低温下纤溶酶还能降解血小板黏附受体GpⅠb及GpⅡb, 导致血小板功能受损[11]. CPB过程中, 补体通过三条途径激活, 产生许多中间产物, 值得关注的是C3a和C5a, 这两种补体激活产物能够刺激肥大细胞及嗜碱性粒细胞脱颗粒释放组胺等炎症介质, 而组胺能够刺激胃黏膜壁细胞释放H^+损伤消化系黏膜, C5a本身作为趋化因子, 能够募集中性粒细胞聚集于胃肠道黏膜损伤区, 通过释放氧自由基、白介素、溶酶体酶进一步加重炎症反应及损伤[9].

1.3 各种栓子栓塞及血栓形成 CPB中, 栓塞部位并没有组织器官特异性, 尽管人工管路上安装有微栓滤器, 然而在血液里仍能发现栓子, 包括气体、脂肪滴、硅油、蛋白颗粒、钙化、血小板聚合物及人工材料脱落成分等. 这些栓子随血液流动, 可栓塞不同部位的器官及组织, 如若栓塞肠系膜动脉, 可造成相应肠段缺血、缺氧、激活炎症细胞, 产生炎症反应, 如若栓塞不能及时解除甚至可造成缺血坏死[7]. 此外应当注意肠系膜静脉血栓风险, 体外循环心脏术后由于血细胞在人工管路中挤压破裂、炎症介质损伤、凝血-纤溶系统失调、血小板功能受损、血流动力学改变等因素, 肠系膜静脉内血液淤滞、血栓形成, 肠壁水肿, 亦可影响肠道血运, 危害其功能.

1.4 其他 CPB心脏术后胃肠道并发症的原因并不是单一、孤立的, 而是多元的、复杂的. 术前患者消化系功能状态同样应受到重视. 长期吸烟、酗酒者消化系微静脉收缩、血液淤滞、黏膜呈缺血性改变; 高血压患者CPB非搏动血流灌注情况下对于低血压耐受性降低, 更易发生胃肠道组织缺血、缺氧反应; 糖尿病患者因长期高血糖状态, 导致胃肠道蠕动功能减弱, 可使心脏手术的危险性和并发症明显增加; 老年心血

■研发前沿

体外循环心脏术后消化系统并发症往往起病隐匿. 因此, 寻找灵敏度及特异性均良好的诊断方法显得至关重要. 近年来随着影像学技术发展, 使得诸如缺血性肠炎等严重并发症的早期诊断成为可能. 此外对于体外循环术后消化系统并发症的分子机制探索也成为近年来的研究热点.

管病患者消化系并发症较多见, 可能与缺血代偿能力差有关; 冠心病搭桥患者术前服用阿司匹林, 使胃肠黏膜合成PGE障碍, 肥大细胞及嗜碱性粒细胞脱颗粒释放组胺增加, 导致胃酸分泌增多, 加之胃肠黏膜黏液-碳酸氢盐屏障功能削弱, 更易发生消化系溃疡[8].

2 危险因素

CPB后消化系并发症的危险因素是多方面的, 而且大多数是能够避免的, 围术期如何及时识别并处理危险因素具有重大意义.

2.1 术前危险因素 有学者研究表明患者年龄>70岁、低心排量、血肌酐>1.4 mg/dL、慢性阻塞性肺疾病、外周血管病、心房纤颤、心肌梗塞、术前是否服用抗凝药、是否有消化性溃疡病史等是CPB术后胃肠道并发症的高危因素, 高血压和充血性心力衰竭患者对围手术期低血压耐受及代偿能力较正常人低[12-15]. 恶病质、慢性肾功能不全、左心功能不全、血流动力学紊乱等因素均会增加手术风险. 手术方式如急诊手术、二次或多次手术、瓣膜手术、联合手术等也属于术前高危因素[16].

2.2 术中危险因素 CPB时间及主动脉阻断时间长, 可导致乳酸等代谢产物堆积, 成为术后胃肠道并发症的诱因[3]. 二次手术、急诊手术术中出现急性心肌梗塞、心律失常、出血、术中低血压过程长、血管活性药物用量大、应用主动脉内球囊反博、机械通气>24 h、术中失血过多并输血等因素也增加了术后消化系并发症的风险[13,16-18].

2.3 术后危险因素 患者长期卧床、术后长时间辅助呼吸、下肢缺血、脑血管疾病、二次开胸止血、急性肾功能衰竭、心律失常、术后低心排综合征等都会不同程度加重腹腔脏器损害, 加重胃肠道并发症.

3 胃肠道并发症的诊断及防治策略

胃肠道并发症的出现将进一步加重循环系统及呼吸系统并发症, 使得患者遭受更多病痛, 延长住院时间, 增加住院费用, 给患者造成严重负担. 因此如何能够早期注意高危因素, 提高术中操作水平, 察觉术后各项指标异常, 探索特异性及灵敏度高的诊断方法, 及时给予合理、有效治疗的治疗措施等, 目前成为防治CPB术后消化系并发症的重要研究课题.

体外循环心脏术后消化系并发症虽不常见, 发病率约0.5%-4.0%, 但病死率高, 有报道达26%-75%[3]. 对于术前存在高危因素的患者, 应积极改善心、肺功能, 注意术前病史, 既往有消化性溃疡病史者, 给予组胺拮抗剂、质子泵抑制剂等保护胃肠黏膜. 既往糖尿病者, 术前注意控制血糖, 并注意术中血糖水平的维持, 以防术后胃肠道蠕动功能减低. 饶丹等[19]报道于术前7 d口服、术中及术后3 d静脉注射埃索美拉唑可有效提高胃黏膜的pH值, 避免高胃酸对胃肠黏膜的损伤. 研究发现术前预防性静脉滴注参附液能够有效减轻或抑制主动脉开放后胃黏膜pH值下降, 改善肠道灌注和氧合, 减轻内毒素血症及全身炎症反应[20,21].

胃肠道是机体应激反应的中心器官之一, 若术前禁食时间长, 肠道处于“饥饿”状态, 可以导致胰岛素抵抗, 同时增加胃肠道损伤因素, 黑飞龙等[1]发现术前糖预处理能够减轻机体的应激反应, 降低术中及术后胰岛素抵抗, 改善围CPB期糖代谢紊乱. 血浆二胺氧化酶是人类和所有哺乳动物肠黏膜上层绒毛细胞胞质中具有高度活性的细胞内酶, 当肠黏膜上皮细胞受到损伤后, 二胺氧化酶释放增加, 血浆二胺氧化酶浓度增高, 二胺氧化酶水平的高低可特异性反映黏膜受损和修复程度; D-乳酸是肠道细菌代谢的终末产物, 哺乳动物正常组织中不产生D-乳酸, 而肠黏膜发生缺血再灌注损伤时肠道细菌大量繁殖, D-乳酸含量明显增加, 因此监测血浆中D-乳酸水平可反映肠黏膜通透性, 并间接反映肠黏膜损害情况, 有研究发现乌司他定可降低CPB期间血浆二胺氧化酶、D-乳酸及内毒素浓度, 对肠黏膜有一定保护作用[4,22,23]. 有研究显示CPB术前预先给予盐酸戊乙奎醚可降低CPB期间D-乳酸浓度, 对胃肠黏膜同样具有保护作用[24,25].

另有研究表明, CPB期间损伤了肠道的屏障功能, 术中麻醉剂丙泊酚与七氟醚相比, 检测前者静脉血内毒素浓度低于后者, 且差异具有统计学意义, 说明丙泊酚对肠道的屏障功能具有保护作用[26]. 术后及早进食, 服用对胃肠道具有保护作用的活菌, 可预防胃肠道菌群失调, 孙莹杰等[27]报道术前给予大鼠服用双歧三联活菌可在一定程度上降低肠黏膜通透性和细菌异位率, 改善大鼠CPB后肠道功能.

3.1 麻痹性肠梗阻 痹性肠梗阻是比较常见的胃肠道功能障碍, 一般患者有进行性腹胀、腹痛, 而机械通气或镇静状态下则以全腹胀气为唯一

■相关报道
有学者报道术前口服、术中及术后静脉注射埃索美拉唑可避免高胃酸对胃肠黏膜的损伤. 另有研究表明, 术中麻醉剂丙泊酚与七氟醚相比, 丙泊酚对肠道的屏障功能具有保护作用. 术后及早进食, 服用对胃肠道具有保护作用的活菌, 可预防胃肠道菌群失调, 一定程度上降低肠黏膜通透性和细菌异位率. 上述方法经过大量临床研究, 通过术前、术中、术后三个层面对于体外循环术后消化系统并发症的预防提出了指导性策略.

表现, 通常在查体时发现, 其可能原因是手术创伤致腹腔内脏神经功能紊乱和肠道屏障功能受损致内毒素入血循环, 造成肠内容物不能正常运行.由于肠道麻痹、积气、腹压增高, 可使膈肌上抬, 影响呼吸, 还可造成腹腔内血管压迫, 下腔静脉回流减少,导致回心血量不足, 心动过速、血压降低. 麻痹性肠梗阻也常常作为其他消化系统功能障碍的早期表现, 应高度重视. 这一状态如得不到及时解除可进一步加重内脏缺血, 导致更严重的并发症, 如缺血性肠炎. 采用胃管、肛管排气减压及温盐水灌肠等常规治疗有时难以达到理想治疗效果. 有学者采用大剂量果导鼻饲、新斯的明足三里注射和持续腹部按摩可使大部分患者于24 h之内缓解.国外有报道用结肠镜减压或盲肠造口术治疗[28]可获得理想效果[29].

3.2 应激性溃疡、穿孔 应激性溃疡是CPB术后腹部常见并发症, CPB手术创伤、严重感染等诱因引起胃肠道黏膜缺血、缺氧和黏膜屏障功能损害是发病基础, 通常伴有出血、穿孔等. 多见于既往有消化性溃疡或肝硬化病史者; 高龄患者; 术中心肺转流时间长且有低血压过程者; 合并其他严重并发症者; 术后重症感染; 大剂量使用激素及非甾体类抗炎药史者[30]. 有研究表明CPB使得胃动素、胃泌素分泌明显增加, 而降钙素基因相关肽则显著减少[1,31,32]. 胃肠道激素分泌的变化会影响胃酸分泌和胃肠道血流的调节, 加重黏膜缺血损害, 破坏黏膜屏障功能, 继而引起胃肠道损害. 术后溃疡穿孔的发生率约0.02%-0.08%, 多数患者术前有消化性溃疡病史[33,34]. 主要临床表现为上腹部胀痛, 可伴有腹膜刺激征, 部分患者于术后常规拍摄胸片时发现膈下游离气体而确诊. 溃疡穿孔是绝对的手术适应症, 一旦确诊需急诊手术, 早期诊断、早期手术预后较好, 而延误手术时机则可导致病情恶化, 最终因全身多脏器功能衰竭死亡. 国外学者早期报道恶液质和手术时机的延误是影响患者术后生存的主要因素[34].

3.3 消化系出血 消化系出血的发病基础为消化系黏膜损伤, 可表现为渗血或出血. 应激所致消化系黏膜病变是最常见的出血原因, CPB期间抗凝剂的使用也与术后出血有关[8], CPB时间长、机械通气时间长亦可增加术后出血风险, 研究表明: 高龄、有溃疡病史、低心排及长时间血管活性药物支持都是术后胃肠出血的明确危险因素[35]. 由于下消化道出血较少见[3], 在此不作赘述, 着重探讨上消化道出血. 上消化道包括食管、胃、十二指肠、空肠上段及胆道, 有报道显示心脏术后上消化道出血发病率为0.35%-0.3%[33,36], 最常见为十二指肠溃疡、胃溃疡、急性出血性胃炎亦为常见原因[35]. 上消化道出血常出现在术后1 wk内, 该症以呕血或胃管内抽出血性胃液为特征性表现, 黑便较少见. 有研究显示心脏术后胃肠道出血的死亡率为7%-75%[34,37].

对于该症的处理, 判断病情至关重要. 一般出血、渗血可给予质子泵抑制剂、组胺受体拮抗剂、黏膜保护剂、禁食水、留置胃管减压、冰盐水冲洗胃腔(可加用去甲肾上腺素)、三腔双囊管压迫止血, 也可行内镜下出血部位钳夹、电凝、激光灼凝、注射或喷洒药物等方法止血. 对于出血不易自止者, 确定出血部位为后续治疗的前提, 常用静脉注射^{99m}Tc标记的红细胞, 行腹部扫描, 只要出血速度每分钟达0.05-0.1 mL, 核素就能聚集在血管溢出部位显像[38]. 而选择性腹腔动脉造影不但可以精确判定出血部位、出血速度、评估出血量, 而且能够注射血管加压素或硬化剂等予以治疗[38]. 若出血部位不确定、出血速度快、出血量大、出血难以通过内科或介入治疗控制, 或有持续性出血的证据, 行急诊手术止血则刻不容缓. 同时需要注意患者的一般情况、既往病史, 根据实验室检查、影像学检查等客观依据给予输血、补液、纠酸、维持水电解质平衡等对症支持治疗. 如出血量不大者可补充胶体液或输注新鲜冰冻血浆; 大量出血者难免输血; 既往消化性溃疡者围术期持续给予埃索美拉唑[19]; 既往肝病者术前行X线钡餐造影明确是否食管静脉曲张, 注意补充维生素K等均可有效避免此类并发症的发生.

3.4 缺血性肠炎 有研究显示CPB术后缺血性肠炎发病率为0.02%-0.3%[34,39], 但病死率极高, 约50%-95%[40], 其中以发生于肠系膜动脉, 特别是肠系膜上动脉者多于肠系膜静脉[41], 发病基础为肠系膜血管的血液循环障碍. 究其原因, 主要为CPB过程中肠系膜血管的血栓、栓塞、痉挛造成肠黏膜广泛缺血、缺氧、水肿, 而肠腔内压力增高、肠管扩张进一步加重肠道黏膜血液循环障碍, 形成恶性循环[39], 因此缺血性肠炎可分为由痉挛因素导致的非梗阻性肠系膜血管循环障碍及由栓塞、血栓因素导致的梗阻性血管循环障碍[3]. CPB术后由于麻醉剂、镇静剂、肌松剂及辅助呼吸的作用, 缺乏患者的主诉, 而且缺

■创新盘点

体外循环术后消化系统并发症种类繁多, 诊断及治疗措施复杂, 本文着重针对常见消化系统并发症从术前、术中、术后3个方面予以论述, 包括病因、危险因素、相关分子机制, 综合近几年来研究热点,总结近年来诊疗经验及相关预防措施.

■应用要点

本文论述了体外循环心脏术后常见胃肠道并发症的病因、危险因素、分子机制、诊治方案, 旨在提高临床医师意识, 术前准确判断病情, 提前做好预防措施, 术中注意消化系统功能保护, 术后加强监护, 打断消化系统并发症的各个发病环节, 一旦发生做到能够早发现、早诊断、早治疗.

血性肠炎缺乏特征性临床表现, 使得早期诊断困难重重. 偶有患者表现为停止自肛门排气、排便或血便, 但严重的症状与轻微的体征不相称[41], 极易造成误诊, 有研究显示该病误诊率可高达60%-90%[42]. 高龄、急诊手术、围术期低血压和外周血管疾病等都是缺血性肠炎的高危因素[43,44]. 下消化道出血伴白细胞增多症、高钾血症、不明原因的高乳酸血症等可提示肠缺血的发生, 但其特异性不高, 通常出现上述症状提示诊断延误且预后不佳[45].

血管造影可清晰显示肠系膜血管栓塞或痉挛的程度和部位, 是诊断缺血性肠炎的“金标准”[46], 因该方法具有创伤性和高技术要求, 难以广泛使用, 而且该方法对肠系膜静脉血栓的诊断仍具有局限性[43,44]. 增强CT肠系膜血管三维重建可提高术前诊断率[47]. 实验室检查等辅助检查也具有提示作用, 急诊超声往往可发现肠坏死的间接征象, 如肠壁增厚、腹腔积液等. 若患者能在发病6 h内接受及时治疗能够明显降低肠坏死的程度及病死率[48], 而发生肠坏死后及时手术治疗无疑是避免肠管进一步坏死以及降低病死率的重要手段. 对于非梗阻性者, 注意维护心功能, 提高心输出量, 增加组织灌注, 避免肠系膜血管持续痉挛及缺血再灌注损伤, 预防肠道细菌异位及内毒素释放加重肠系膜血管痉挛, 注重合理使用血管活性药物. 对于梗阻性原因导致的肠系膜血管循环障碍者, 早期诊断后应立即手术治疗, 开腹后应迅速探查病变肠段、血管, 行病变肠管切除、取栓、血管成形术等, 术中可应用荧光素和多普勒超声仪评价肠段灌注情况[3], 术毕注意胃肠减压、引流管放置、广谱抗生素的使用等. 亦可通过介入方法行血管内支架置入术予以治疗. 选择性肠系膜上动脉造影不但具有较高的诊断价值, 而且可于插管处输注罂粟碱、妥拉苏林等血管扩张药物改善组织灌注[41], 在有条件的单位不失为一种良好的诊治措施.

4 结论

CPB心脏术后胃肠道并发症虽不常见, 但因早期诊断困难, 缺乏特征性临床表现病死率高, 给临床诊治带来巨大困难. 此外, 这些并发症还能加重循环及呼吸系统并发症, 增加住院费用, 延长住院时间. 因此如何能够正确识别高危因素, 依据有限的辅助检查结果诊断病情, 给予及时、恰当、合理的治疗策略具有重要意义. 同时也对外科医生提出了巨大挑战.

5 参考文献

1 黑飞龙, 王泽锋, 崔勇丽, 周伯颐, 于坤, 龙村. 糖预处理对体外循环中胃肠激素和糖代谢的影响. 中国体外循环杂志 2010; 8: 103-105

2 Berkowitz D, Wagner BM, Uricchio JF. Acute peptic ulceration following cardiac surgery. *Ann Intern Med* 1957; 46: 1015-1023 [PMID: 13435651 DOI: 10.7326/0003-4819-46-6-1015]

3 秦春妮, 黑飞龙. 体外循环心脏术后消化系统并发症的防治进展. 世界华人消化杂志 2012; 20: 1318-1322

4 于建设. 体外循环对肠黏膜屏障功能影响的研究进展. 内蒙古医学院学报 2012; 34: 163-166

5 Tofukuji M, Stahl GL, Metais C, Tomita M, Agah A, Bianchi C, Fink MP, Sellke FW. Mesenteric dysfunction after cardiopulmonary bypass: role of complement C5a. *Ann Thorac Surg* 2000; 69: 799-807 [PMID: 10750764 DOI: 10.1016/S0003-4975(99)01408-3]

6 Desai JB, Mathie RT, Taylor KM. The effect of normothermic cardiopulmonary bypass on hepatic blood flow in the dog. *Life Support System* 1986; 1: 245-253 [DOI:10.1177/026765918600100403]

7 龙村. 体外循环对消化系统的影响. 国外医学: 麻醉学与复苏分册 1998; 19: 170-172

8 龙村. 体外循环学. 第1版. 北京: 人民军医出版社 2004: 171-177

9 陈劲进, 肖颖彬. 体外循环后全身炎性反应. 免疫学杂志 2002; 18: 218-220

10 Colman RW. Biologic activities of the contact factors in vivo--potentiation of hypotension, inflammation, and fibrinolysis, and inhibition of cell adhesion, angiogenesis and thrombosis. *Thromb Haemost* 1999; 82: 1568-1577 [PMID: 10613636]

11 Huang H, Ding W, Su Z, Zhang W. Mechanism of the preserving effect of aprotinin on platelet function and its use in cardiac surgery. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1993; 106: 11-18 [PMID: 7686594]

12 Mangi AA, Christison-Lagay ER, Torchiana DF, Warshaw AL, Berger DL. Gastrointestinal complications in patients undergoing heart operation: an analysis of 8709 consecutive cardiac surgical patients. *Ann Surg* 2005; 241: 895-901; discussion 901-904 [PMID: 15912039 DOI: 10.1097/01.sla.0000164173.05762.32]

13 Andersson B, Nilsson J, Brandt J, Höglund P, Andersson R. Gastrointestinal complications after cardiac surgery. *Br J Surg* 2005; 92: 326-333 [PMID: 15672438 DOI: 10.1002/bjs.4823]

14 Vohra HA, Farid S, Bahrami T, Gaer JA. Predictors of survival after gastrointestinal complications in bypass grafting. *Asian Cardiovasc Thorac Ann* 2011; 19: 27-32 [PMID: 21357314 DOI: 10.1177/0218492310394803]

15 Filsoufi F, Rahmanian PB, Castillo JG, Scurlock C, Legnani PE, Adams DH. Predictors and outcome of gastrointestinal complications in patients undergoing cardiac surgery. *Ann Surg* 2007; 246: 323-329 [PMID: 17667513 DOI: 10.1097/SLA.0b013e3180603010]

16 Plestis KA, Gold JP. Importance of blood pressure regulation in maintaining adequate tissue perfusion during cardiopulmonary bypass. *Semin Thorac Cardiovasc Surg* 2001; 13: 170-175 [PMID: 11494208 DOI: 10.1053/stcs.2001.24071]

17 Velissaris T, Tang A, Murray M, El-Minshawy A, Hett D, Ohri S. A prospective randomized study to evaluate splanchnic hypoxia during beating-heart and conventional coronary revascularization. *Eur J*

Cardiothorac Surg 2003; 23: 917-924; discussion 924 [PMID: 12829067]
18 Rodriguez F, Nguyen TC, Galanko JA, Morton J. Gastrointestinal complications after coronary artery bypass grafting: a national study of morbidity and mortality predictors. *J Am Coll Surg* 2007; 205: 741-747 [PMID: 18035256 DOI: 10.1016/j.jamcollsurg.2007.07.003]
19 饶丹, 张勤斌, 王嬿, 黄圆琴, 罗能贞, 陈绪发. 埃索美拉唑对体外循环心脏手术应激性溃疡保护作用的临床观察. 心肺血管病杂志 2011; 30: 17-19
20 詹丽英, 夏中元, 夏芳, 顾家珍, 刘先义, 余金甫. 参附注射液对体外循环期间胃肠道及全身炎性反应的影响. 中国临床医学 2005; 12: 735-737
21 詹丽英, 夏中元, 夏芳, 刘先义. 参附注射液对体外循环期间胃肠灌注及氧合的影响. 中国现代医学杂志 2005; 15: 2814-2816
22 商宏伟, 肖颖彬, 陈林, 刘梅. 体外循环对大鼠肠黏膜屏障功能的影响. 中华胸心血管外科杂志 2005; 21: 108-110
23 周绪锋. 乌司他定对体外循环期间肠黏膜的保护. 江西医药 2013; 48: 145-146, 150
24 孙莹杰, 陈卫民, 曹惠鹃, 张铁铮, 周锦, 姚婧. 盐酸戊乙奎醚对围体外循环期大鼠肠粘膜屏障功能的影响. 中华麻醉学杂志 2007; 27: 1097-1099
25 孙莹杰, 张丽丽, 宋丹丹, 刁玉刚, 张铁铮. 盐酸戊乙奎醚对围体外循环期患者血浆肠型脂肪酸结合蛋白和D-乳酸浓度的影响. 中国体外循环杂志 2011; 9: 78-81
26 于建设, 解雅英, 吕亮亮. 丙泊酚与七氟醚对体外循环期间肠道屏障功能影响的比较. 麻醉与监护论坛 2012; 19: 455-456
27 孙莹杰, 曹惠鹃, 张铁铮, 陈卫民. 益生菌对体外循环后大鼠肠黏膜通透性和细菌易位的影响. 沈阳部队医药 2010; 23: 224-227
28 Simić O, Strathausen S, Hess W, Ostermeyer J. Incidence and prognosis of abdominal complications after cardiopulmonary bypass. *Cardiovasc Surg* 1999; 7: 419-424 [PMID: 10430524 DOI: 10.1016/S0967-2109(99)00008-3]
29 董国华, 景华, 李德闽, 李忠东, 胡小南, 罗立国, 钱建军, 许飚, 申翼, 顾卫东. 体外循环术后消化系统功能障碍的临床分析. 中国医师杂志 2004; 6: 1498-1500
30 申林, 何德沛. 26例心脏直视手术后应激性溃疡的防治. 重庆医学 2000; 29: 21-24
31 黑飞龙, 龙村, 孙桂民. 体外循环心内直视手术中胃肠激素的变化. 中华实验外科杂志 2003; 20: 375
32 徐鹏, 易定华. 兔体外循环对胃泌素及其受体的影响. 第四军医大学学报 2000; 21: 502-504
33 Huddy SP, Joyce WP, Pepper JR. Gastrointestinal complications in 4473 patients who underwent cardiopulmonary bypass surgery. *Br J Surg* 1991; 78: 293-296 [PMID: 2021841 DOI: 10.1002/bjs.1800780309]
34 Christenson JT, Schmuziger M, Maurice J, Simonet F, Velebit V. Postoperative visceral hypotension the common cause for gastrointestinal complications after cardiac surgery. *Thorac Cardiovasc Surg* 1994; 42: 152-157 [PMID: 7940485 DOI: 10.1055/s-2007-1016478]
35 钟前进, 王建军, 肖颖彬. 腹部并发症与体外循环心脏手术. 第三军医大学学报 2005; 27: 1301-1302
36 Zacharias A, Schwann TA, Parenteau GL, Riordan CJ, Durham SJ, Engoren M, Fenn-Buderer N, Habib RH. Predictors of gastrointestinal complications in cardiac surgery. *Tex Heart Inst J* 2000; 27: 93-99 [PMID: 10928493]
37 Mierdl S, Meininger D, Dogan S, Aybek T, Wimmer-Greinecker G, Lischke V, Kessler P. Abdominal complications after cardiac surgery. *Ann Acad Med Singapore* 2001; 30: 245-249 [PMID: 11455736]
38 吴在德, 吴肇汉, 潘承恩. 外科学. 第7版. 北京: 人民卫生出版社, 2010: 564-570
39 Huwer H, Winning J, Straub U, Isringhaus H, Kalweit G. Clinically diagnosed nonocclusive mesenteric ischemia after cardiopulmonary bypass: retrospective study. *Vascular* 2004; 12: 114-120 [PMID: 15248641 DOI: 10.2310/6670.2004.20769]
40 Wan S, Arifi AA, Chan CS, Ng CS, Wan IY, Lee TW, Yim AP. Is hyperamylasemia after cardiac surgery due to cardiopulmonary bypass? *Asian Cardiovasc Thorac Ann* 2002; 10: 115-118 [PMID: 12079932 DOI: 10.1177/021849230201000205]
41 吴在德, 吴肇汉. 外科学. 第7版. 北京: 人民卫生出版社, 2010: 460-461
42 Vokurka J, Olejnik J, Jedlicka V, Vesely M, Ciernik J, Paseka T. Acute mesenteric ischemia. *Hepatogastroenterology* 2008; 55: 1349-1352 [PMID: 18795686]
43 Berland T, Oldenburg WA. Acute mesenteric ischemia. *Curr Gastroenterol Rep* 2008; 10: 341-346 [PMID: 18625147 DOI: 10.1007/s11894-008-0065-0]
44 Menon NJ, Amin AM, Mohammed A, Hamilton G. Acute mesenteric ischaemia. *Acta Chir Belg* 2005; 105: 344-354 [PMID: 16184714]
45 Allen KB, Salam AA, Lumsden AB. Acute mesenteric ischemia after cardiopulmonary bypass. *J Vasc Surg* 1992; 16: 391-395; discussion 391-395 [PMID: 1522641]
46 Garofalo M, Borioni R, Nardi P, Turani F, Bertoldo F, Forlani S, Pellegrino A, Chiariello L. Early diagnosis of acute mesenteric ischemia after cardiopulmonary bypass. *J Cardiovasc Surg* (Torino) 2002; 43: 455-459 [PMID: 12124551]
47 Lee SS, Ha HK, Park SH, Choi EK, Kim AY, Kim JC, Han DJ. Usefulness of computed tomography in differentiating transmural infarction from nontransmural ischemia of the small intestine in patients with acute mesenteric venous thrombosis. *J Comput Assist Tomogr* 2008; 32: 730-737 [PMID: 18830102]
48 Acosta-Merida MA, Marchena-Gomez J, Hemmersbach-Miller M, Roque-Castellano C, Hernandez-Romero JM. Identification of risk factors for perioperative mortality in acute mesenteric ischemia. *World J Surg* 2006; 30: 1579-1585 [PMID: 16865320 DOI: 10.1007/s00268-005-0560-5]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

■同行评价
本文综述了体外循环心脏术后胃肠道并发症的研究进展, 具有一定的临床指导意义.

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2014年5月28日; 22(15): 2128-2133
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

文献综述 REVIEW

结直肠癌的表观遗传学

剧宏燕, 柴秀坤, 白文元

■背景资料
结直肠癌是常见的消化系恶性肿瘤, 其发生是基因突变和表观遗传学改变逐渐积累、共同作用的结果. 且表观遗传学的作用比基因突变的作用更大. 表观遗传学主要包括DNA甲基化、组蛋白修饰、染色质重塑和非编码RNA调控.

剧宏燕, 柴秀坤, 白文元, 河北医科大学第二医院消化内科 河北省石家庄市 050000
作者贡献分布: 本文综述由剧宏燕与柴秀坤完成; 白文元审校.
通讯作者: 白文元, 教授, 主任医师, 050000, 河北省石家庄市新华区和平西路215号, 河北医科大学第二医院消化内科.
wenyuanbai@medmail.com.cn
电话: 0311-66002951
收稿日期: 2014-03-19 修回日期: 2014-04-02
接受日期: 2014-04-09 在线出版日期: 2014-05-28

Epigenetics of colorectal cancer

Hong-Yan Ju, Xiu-Kun Chai, Wen-Yuan Bai

Hong-Yan Ju, Xiu-Kun Chai, Wen-Yuan Bai, Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China
Correspondence to: Wen-Yuan Bai, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Hebei Medical University, 215 Heping West Road, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China. wenyuanbai@medmail.com.cn
Received: 2014-03-19 Revised: 2014-04-02
Accepted: 2014-04-09 Published online: 2014-05-28

Abstract
Colorectal cancer is a common type of gastrointestinal cancer with high incidence. It is generally considered that colorectal cancer develops through a multistep process that results from the progressive accumulation of mutations and epigenetic changes. The genes in colorectal cancer are more frequently affected by altered epigenetics than by mutations. In this review, we will discuss epigenetic changes of colorectal cancer, aiming to provide new ideas for the prevention, diagnosis, treatment and prognosis of this malignancy.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Colorectal cancer; DNA methylation; Histone modification; Chromatin remodeling; Non-coding RNA regulation

Ju HY, Chai XK, Bai WY. Epigenetics of colorectal cancer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(15): 2128-2133 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2128.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2128

■同行评议者
刘宝瑞, 教授, 南京大学医学院附属鼓楼医院肿瘤中心; 宋新明, 教授, 主任医师, 中山大学附属第一医院胃肠外科

摘要
结直肠癌是常见的消化系恶性肿瘤, 他的发生是基因突变和表观遗传学改变逐渐积累、共同作用的结果. 且表观遗传学的作用比基因突变的作用更大. 本文论述了结直肠癌中表观遗传学的研究进展, 为结直肠癌的预防、诊断、治疗及预后提供新的思路.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 结直肠癌; DNA甲基化; 组蛋白修饰; 染色质重塑; 非编码RNA调控

核心提示: 表观遗传学的改变可以作为结直肠癌发生的分子机制的驱动力, 与基因突变一起促使正常结肠黏膜发展为结直肠癌, 且表观遗传学的改变具有可逆性和可调控性, 为结直肠癌的预防、诊断、治疗及预后提供了广阔的思路.

剧宏燕, 柴秀坤, 白文元. 结直肠癌的表观遗传学. 世界华人消化杂志 2014; 22(15): 2128-2133 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2128.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2128

0 引言
结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是常见的消化系恶性肿瘤之一, 并且随着人们生活方式及饮食结构的改变, 结直肠癌的发病率也呈逐年上升的趋势. 在世界癌症研究基金会报告(WCRF/AICR 2007)[1]中, 由于饮食习惯的变化, 大肠癌的发病率居恶性肿瘤的第3位, 其死亡率在全世界排名第2位[2], 已严重威胁到人类的健康. 所谓表观遗传学, 是指不涉及DNA序列的改变, 但基因表达发生可遗传的变化. 主要包括DNA甲基化、组蛋白修饰、染色质重塑和非编码RNA调控. 本文就结直肠癌在表观遗传学方面的研究进展作一综述.

1 DNA甲基化与结直肠癌
DNA甲基化是目前研究较多的表观遗传修饰方式之一, 特别是在肿瘤领域. DNA甲基化是

指在DNA甲基转移酶(DNA methyltransferase, DNMT)的作用下, 将S-腺苷甲硫氨酸作为甲基供体转移至胞嘧啶的5位碳原子上, 生成5-甲基胞嘧啶(5-methylcytosine, 5mC). DNA甲基转移酶主要作用于CG二核苷酸序列, 即CpG, 而CpG二核苷酸是DNA甲基化发生的主要位点. 人们通常将基因组中富含CpG的一段DNA称为CpG岛, 其GC含量>50%, 为长度大于200-500个碱基的序列[3]. 在肿瘤中基因启动子区的CpG岛易发生异常甲基化, 且与抑制转录有关[4]. 5-羟甲基胞嘧啶(5-hydroxymethylcytosine, 5hmC)是近年来新发现的一种表观遗传修饰, 被称为DNA的第6种碱基[5]. hmC是通过10-11易位(ten-eleven translocation, TET)家族的酶氧化5mC产生, 其在肿瘤组织中低水平存在, 可能是对肿瘤组织中DNA甲基化起一定阻碍作用[6].

结直肠癌的表观遗传学改变最早是在30年前由Feinberg和Vogelstein[7]提出的, 他们发现, 与正常结直肠组织相比, 癌组织中存在大量的5-甲基胞嘧啶的缺失. 前已经证实基因启动子区发生的异常甲基化参与细胞凋亡、肿瘤转移及侵袭、细胞周期调控、信号转导通路和耐药基因等导致结直肠癌的发生. *DNRB*是一种新的候选抑癌基因, 其在结直肠癌组织中的甲基化率较正常组织明显升高, 而mRNA水平明显降低[8]. Yan等[9]的研究证实结直肠癌组织中启动区*DACH1*的甲基化程度增高, 且与肿瘤的分化程度, 分期及转移有关. 1999年, Toyota等[10]观察结直肠癌高甲基化基因的频率, 发现有独特的分子发病机制, 将他们称之为CpG岛甲基化表型(CpG island methylator phenotype, CIMP), 且20%的结直肠癌为CIMP肿瘤. CIMP肿瘤常来源于增生性息肉或平坦型锯齿状息肉[11]. 也有一些学者认为CIMP是结直肠锯齿状病变中的特征性改变[12]. 目前CIMP肿瘤的根本原因尚不清楚, 但与吸烟、营养状况、体型和活动量有一定关系[13]. Li等[14]的研究发现, 在结直肠癌组织中, 5hmC的含量明显降低, 而在SW620和HCT116结直肠癌细胞系中几乎检测不到5hmC. 研究结果提示5hmC可能在结直肠癌的发生、发展中起一定阻碍作用.

2 组蛋白修饰与结直肠癌

在哺乳动物细胞中, 核小体是染色质的基本单位, 他由4个核心组蛋白(H3, H4, H2A, H2B)和外面包裹的DNA组成. 核心组蛋白N端尾部可以发生各种修饰, 包括: 乙酰化、甲基化、磷酸化、泛素化、瓜氨酸化和ADP-核糖基化[15]. 这些修饰的组合构成了所谓的“组蛋白密码”, 决定了染色质构象和基因表达水平. 在这种几种修饰中, 乙酰化和甲基化是目前研究最多的组蛋白修饰方式. 组蛋白尾部赖氨酸残基上的组蛋白乙酰化是可逆的, 由组蛋白乙酰转移酶(histone acetyltransferases, HATs)和组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylase, HDACs)进行调控. 和组蛋白乙酰化一样, 组蛋白甲基化现在认为也是一个可逆的过程[15,16]. 组蛋白的甲基化主要由组蛋白甲基酶(histone methyltransferase, HMTases)和组蛋白去甲基酶(histone demethylase, HDMS)调控, 他们分别在特异性位点进行组蛋白甲基化和去甲基化. 迄今为止, 已经确定超过二十个赖氨酸和精氨酸HMTases. 每个HMTases或是单独作用或与其他HMTases共同作用, 催化组蛋白特异性位点甲基化.

目前研究与结直肠癌发生、发展较多的是组蛋白乙酰化和甲基化修饰. 其中组蛋白去HDAC在大肠癌的发生、发展中发挥着重要的作用. 很多Ⅰ类HDAC在结直肠癌中都表达上调, 在结直肠癌标本中HDAC1占36.4%, HDAC2占57.9%, HDAC3占72.9%, 而高HDAC的表达与结直肠癌患者生存率的降低相关联[17]. 缩酯环肽FK228是一种新型组蛋白去乙酰化酶抑制剂, 已被美国食品与药品管理局(Food and Drug Administration, FDA)批准用于皮肤T淋巴细胞瘤的临床试验[18]. 徐东波等[19]通过对FK228对结肠癌细胞HCT-116的作用研究发现FK228可以在体外明显的抑制HCT-116细胞的生长, 且比5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-Fu)的毒性及不良反应小. 同时, Fk228可与其他药物联合应用, 对肿瘤的抑制作用更明显[20,21]. 在各种实体瘤包括结直肠癌中PRC蛋白EZH2是一种组蛋白甲基酶(histone methyltransferase, HMTase), 他在肿瘤组织总表达增高[22]. 目前认为EZH2与肿瘤抑癌基因的沉默相关, 包括: INK4B-ARF-INK4A、E-cadherin、p57 KIP2和p27蛋白[23], BRCA1[24]和肾上腺素能受体β2[25]. SUV39H1是一种专门使异染色质中H3K9发生甲基化的HMTase. 在219例结直肠癌组织中有54例能够检测SUV39H1的高表达. 更有趣的是, 在这些标本中, SUV39H1 mRNA水平和DNMT1 mRNA水平呈有显著相关, 表明H3K9甲基化与DNA甲基化在大肠癌细胞的病理生理条件下存在的潜在协调关系[26]. 总之, 这些研究表明, HMTase的表达失调是结直肠

■研发前沿

本文重点从表观遗传学中的DNA甲基化、组蛋白修饰、染色质重塑和非编码RNA调控四个方面与结直肠癌的研究进展进行综述, 阐明最新发现的结直肠癌可能发病机制. 结直肠癌发生、发展中的很多相关机制还未完全明确,包括与饮食、环境的关系等问题亟待研究.

■相关报道
国内牛朝等在《表观遗传学在结直肠癌中的应用研究现状和进展》一文中介绍了表观遗传学中DNA甲基化、组蛋白修饰与结直肠癌发病机制的关系，为临床诊断、治疗、预后有很好指导意义.

癌发生、发展的一个重要因素.

3 染色质重塑与结直肠癌

染色质重塑(chromatin remodeling)是DNA与组蛋白在空间结构上的改变, 从而使反式作用因子如转录因子等能与基因启动子区的顺式作用元件更易结合, 启动转录过程. 介导染色质重塑的机制的主要有两类结构: 一类是组蛋白修饰复合物, 一类是ATP依赖型染色质重塑复合体[27-29]. 组蛋白修饰复合物主要是对组蛋白N-末端尾部的共价修饰; ATP依赖型染色质重塑复合体则是利用ATP水解的能量改变染色质的包装状态.

染色质重塑可以调控基因的表达, 一旦出错, 可引起肿瘤的发生和发展. 染色质解旋酶DNA结合蛋白(chromodomain helicase DNA binding, CHD)家族属于SWI2/SNF2相关的ATP酶超家族, 广泛存在于真核生物, 他含有染色质调节域、类SWI2/SNF2ATP酶/解旋酶域和CpG结合区. *CHD*基因的突变或缺失常常引起肿瘤的发生. 研究证明, 很多人类的恶型肿瘤常发生在1号染色体短臂3区6带(1P36). 2007年, Bagchi等[30]运用染色体基因工程技术构建了1p36增益和缺失小鼠模型, 证明CHD5是一种重要的抑癌基因. 国外学者在人神经母细胞瘤、肝癌、乳腺癌、结肠癌的研究中均发现CHD5表达下降, 提示CHD5有抑制肿瘤的作用. 赵蕊等[31]通过构建重组慢病毒载体TREAutoR3-CHD5感染结直肠癌细胞系LOVO, 证实CHD5能抑制结直肠癌细胞系的增殖. DelBove等[32]证实BRG1和SNF5/INI1染色质重组复合物在人类结直肠癌细胞系中具有肿瘤抑制作用. Jones等[33]在对多种恶性肿瘤中*ARID1A*突变引起染色质重塑的研究中发现结直肠癌的比例最高, 大约10%的结直肠癌中可以检测到ARID1A染色质重塑.

4 非编码RNAs调控

人类基因组的DNA能转录为RNA的约占93%, 其中能编码蛋白质的仅占2%, 余下98%均为非编码RNA[34]. 非编码RNA分为两大类: 短链非编码RNA和长链非编码RNA(lncRNA), 其中短链非编码RNA包括微小RNA(microRNA)和其他小于200 nt的NcRNA; 长链非编码长度从200 nt到100000 nt不等[35]. 下面就microRNA和lncRNA作一介绍.

4.1 microRNA microRNA是一类长度约为22 nt的非编码小单链RNA. miRNA主要在转录后水平参与基因的负向调控. miRNA参与调节超过30%的mRNA, 通过与mRNA上不同miRNA位点的结合, 阻碍其翻译或完全降解mRNA[36]. miRNA在细胞分化, 发展, 增殖和凋亡中发挥着重要的作用. miRNA的发现彻底颠覆了基因和蛋白表达之间的线性关系的普遍看法. 目前认为miRNA为肿瘤抑癌基因或癌基因, miRNA的失调是人类癌症的一个共同特征. 具体地说, 相比于正常组织, 肿瘤组织中miRNA的表达普遍下调, 这表明一些miRNA在某些肿瘤中表现为抑癌基因. 虽然在肿瘤中miRNA表达改变的确切机制尚不清楚, 目前的研究已经证实肿瘤影响着包括调节miRNA水平在内的很多机制. 最近的研究表明, 影响蛋白质加工和miRNA成熟的基因遗突变也可以导致miRNA表达整体的减少[37]. 另外, 表观遗传学的改变, 包括DNA异常甲基化和组蛋白修饰, 可以导致miRNA在肿瘤中表达失调.

目前miRNA在结直肠癌中研究比较多, 他在结直肠癌的异常高表达或低表达进而调控相应靶基因发挥其致癌或抑癌作用. 研究已经证实miR-143和miR-145在多种肿瘤中低表达, 包括结直肠癌. miR-143和miR-145与结直肠癌的关系报道最早是2003年Michael等[38]证实的miR-143和miR-145在结直肠癌组织较正常组织中表达降低. miR-143和miR-145通过作用于不同的靶基因发挥抑癌作用. miR-143可以下调KRAS蛋白的表达[39]、可以降低核因子κB(nuclear factor κB, NF-κB)活性、细胞外信号调节蛋白激酶5(extracellular-regulated kinase 5, ERK5)、Bcl-2的表达水平[40]. miR-143也可阻断结直肠癌细胞的TLR2信号通路[41]. miR-145可以影响FLI1和DFF45蛋白的表达水平[42]. Liu等[43]在恢复结直肠癌细胞系中miRNA-195的表达后, 其能明显的抑制肿瘤生长. miR-31的上调可以抑制SATB2的表达进而促进结直肠癌细胞增殖、转移, 表明miR-31在结直肠癌的预后和治疗方面有潜在的应用价值[44]. 研究发现, 血液和粪便中存在大量的miRNA, 且可以以稳定的形式存在[45]. 王静等[46]联合检测结直肠癌和结直肠腺瘤患者血浆和粪便中的miRNA-92a-1水平, 发现其敏感度分别高达88.3%和82.6%, 其有可能成为结直肠癌筛查和早期诊断的潜在指标.

4.2 LncRNA LncRNA是长度>200 nt, 没有明确的开放阅读框架, 不编码蛋白质分子的一类

RNA. LncRNA由RNA聚合酶Ⅱ合成, 位于细胞核或细胞质内[47,48]. LncRNA以往被认为是基因转录过程中的随机产物, 也有人称之为“噪音”. 其来源的多样性决定了其功能的多样性[49]. LncRNA参与了基因表达调控、基因组印记、染色质修饰等. 目前的研究已经证实LncRAs与人类的多种疾病有关, 很多种癌症中LncRNAs的表达也是异常的, 这包括乳腺癌[50]、结肠癌[51]、前列腺癌[52]、肝细胞癌[53-55]、白血病和黑色素瘤[56]等. LncRNA可以作为原癌基因、抑癌基因、转录干扰和选择性剪接在肿瘤的发生、发展中发挥重要作用. 虽然LncRNA在肿瘤中表达失调的确切机制尚不完全清楚, 目前许多研究已经证实了一部分LncRNA发挥作用的机制. 例如: lncRNA Linc-P21在P53途径中能阻遏阻遏RNA/DNA结合蛋白hnRNPK与染色质的结合[57]. SPRY4-IT1在人类黑色素瘤中的表达明显上调, 其影响细胞动力学, 在人黑色素瘤的分子病因学起重要作用[56]. LncRNA除了在癌症领域的异常表达外, 研究发现在心脏疾病、阿尔茨海默氏病、牛皮癣、脊髓小脑性共济失调型8和脆性X综合征中LncRNA的表达也是失调的.

目前关于LncRNA与结直肠癌的文章很少. H19是发现的最早与肿瘤相关的LncRNAs, 是胰岛素样生长因子2(Igf2)的印迹基因的产物. Tian等[58]运用亚硫酸氢盐分析了81例结直肠癌患者在IGF2/H19的DMR第六CTCF结合位点的DNA甲基化状态, 发现LncRNA H19的异常甲基化可以导致IGF2/H19印迹区域的消失. 位于染色体12q13.13的LncRNA HOTAIR在结直肠癌组织表达水平高于癌旁组织, 且与存在肝转移密切相关, 提示HOTAIR的高表达相对预后较差[51]. 肺腺癌转移相关转录本l(metastasis-associated lung adenocarcinoma transcript-1, MALAT-1)CRC转移中起着举足轻重的作用. Xu等[59]对MALAT-1的5个片段进行分析, 发现MALAT-1的3'端(6918 NT-8441 NT)在细胞增殖、迁移和侵袭的生物学过程发挥重要作用.

5 结论

过去20年的研究发现, 表观遗传学在癌症发病机制中的作用越来越重要. 表观遗传学的改变可以作为结直肠癌发生的分子机制的驱动力, 与基因突变一起促使正常结肠黏膜发展为结直肠癌, 而且表观遗传学的改变要比基因突变的影响更大. 更为重要的是, 表观遗传学的改变具有可逆性和可调控性, 这就为结直肠癌的预防、诊断、治疗及预后提供了广阔的思路. 然而, 目前表观遗传学的研究还存在很多挑战, 其在结直肠癌发生、发展中的很多相关机制还未完全明确, 今后还应进一步研究表观遗传学改变与基因表达、环境之间的关系, 对早期诊断, 早期治疗及提高结直肠癌患者的生存率具有非常重要的意义.

■创新盘点

本文主要从DNA甲基化、组蛋白修饰、染色质重塑和非编码RNA调控四个方面系统介绍了结直肠癌与表观遗传学的关系, 论述详细, 应用性强. 文章中涉及了近年来新提出的一些概念, 可以为结直肠癌的发病机制研究提供新思路.

6 参考文献

1 Wiseman M. The second World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research expert report. Food, nutrition, physical activity, and the prevention of cancer: a global perspective. *Proc Nutr Soc* 2008; 67: 253-256 [PMID: 18452640 DOI: 10.1017/S002966510800712X]

2 Siegel R, Ward E, Brawley O, Jemal A. Cancer statistics, 2011: the impact of eliminating socioeconomic and racial disparities on premature cancer deaths. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 212-236 [PMID: 21685461 DOI: 10.3322/caac.20121]

3 Gardiner-Garden M, Frommer M. CpG islands in vertebrate genomes. *J Mol Biol* 1987; 196: 261-282 [PMID: 3656447]

4 Hinoue T, Weisenberger DJ, Lange CP, Shen H, Byun HM, Van Den Berg D, Malik S, Pan F, Noushmehr H, van Dijk CM, Tollenaar RA, Laird PW. Genome-scale analysis of aberrant DNA methylation in colorectal cancer. *Genome Res* 2012; 22: 271-282 [PMID: 21659424 DOI: 10.1101/gr.117523.110]

5 Münzel M, Globisch D, Carell T. 5-Hydroxymethylcytosine, the sixth base of the genome. *Angew Chem Int Ed Engl* 2011; 50: 6460-6468 [PMID: 21688365 DOI: 10.1002/anie.201101547]

6 王学静, 黄庆, 黄君富, 府伟灵. 表观遗传学新视点-DNA羟甲基化. 生命科学 2012; 24: 521-525

7 Feinberg AP, Vogelstein B. Hypomethylation distinguishes genes of some human cancers from their normal counterparts. *Nature* 1983; 301: 89-92 [PMID: 6185846]

8 Chen C, Wang L, Liao Q, Huang Y, Ye H, Chen F, Xu L, Ye M, Duan S. Hypermethylation of EDNRB promoter contributes to the risk of colorectal cancer. *Diagn Pathol* 2013; 8: 199 [PMID: 24326135 DOI: 10.1186/1746-1596-8-199]

9 Yan W, Wu K, Herman JG, Brock MV, Fuks F, Yang L, Zhu H, Li Y, Yang Y, Guo M. Epigenetic regulation of DACH1, a novel Wnt signaling component in colorectal cancer. *Epigenetics* 2013; 8: 1373-1383 [PMID: 24149323 DOI: 10.4161/epi.26781]

10 Toyota M, Ahuja N, Ohe-Toyota M, Herman JG, Baylin SB, Issa JP. CpG island methylator phenotype in colorectal cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96: 8681-8686 [PMID: 10411935]

11 Torlakovic EE, Gomez JD, Driman DK, Parfitt JR, Wang C, Benerjee T, Snover DC. Sessile serrated adenoma (SSA) vs. traditional serrated adenoma (TSA). *Am J Surg Pathol* 2008; 32: 21-29 [PMID: 18162766]

12 Tuppurainen K, Mäkinen JM, Junttila O, Liakka A, Kyllönen AP, Tuominen H, Karttunen TJ, Mäkinen MJ. Morphology and microsatellite instability in sporadic serrated and non-serrated colorectal can-

■应用要点

本文章深刻阐述了结直肠癌在DNA甲基化、组蛋白修饰、染色质重塑和非编码RNA调控四个方面的研究进展. 由于表观遗传学的改变具有可逆性和可调控性,为结直肠癌的预防、诊断、治疗及预后提供了广阔的思路.

cer. *J Pathol* 2005; 207: 285-294 [PMID: 16177963]

13 Limsui D, Vierkant RA, Tillmans LS, Wang AH, Weisenberger DJ, Laird PW, Lynch CF, Anderson KE, French AJ, Haile RW, Harnack LJ, Potter JD, Slager SL, Smyrk TC, Thibodeau SN, Cerhan JR, Limburg PJ. Cigarette smoking and colorectal cancer risk by molecularly defined subtypes. *J Natl Cancer Inst* 2010; 102: 1012-1022 [PMID: 20587792 DOI: 10.1093/jnci/djq201]

14 Li W, Liu M. Distribution of 5-hydroxymethylcytosine in different human tissues. *J Nucleic Acids* 2011; 2011: 870726 [PMID: 21772996 DOI: 10.4061/2011/870726]

15 Nakazawa T, Kondo T, Ma D, Niu D, Mochizuki K, Kawasaki T, Yamane T, Iino H, Fujii H, Katoh R. Global histone modification of histone H3 in colorectal cancer and its precursor lesions. *Hum Pathol* 2012; 43: 834-842 [PMID: 21917293 DOI: 10.1016/j.humpath.2011.07.009]

16 Bannister AJ, Kouzarides T. Regulation of chromatin by histone modifications. *Cell Res* 2011; 21: 381-395 [PMID: 21321607 DOI: 10.1038/cr.2011.22]

17 Ashktorab H, Belgrave K, Hosseinkhah F, Brim H, Nouraie M, Takkikto M, Hewitt S, Lee EL, Dashwood RH, Smoot D. Global histone H4 acetylation and HDAC2 expression in colon adenoma and carcinoma. *Dig Dis Sci* 2009; 54: 2109-2117 [PMID: 19057998 DOI: 10.1007/s10620-008-0601-7]

18 李蕾, 王朴. FK228的抗肿瘤作用机制及临床研究进展. 中国新药杂志 2007; 16: 21-25

19 徐东波, 望运玲, 岳源, 武双婵, 丁虹. 新型组蛋白去乙酰化酶抑制剂FK228对人结直肠癌细胞HCT-116的体外抑制作用. 中华肿瘤杂志 2013; 35: 814-818

20 Wilson AJ, Lalani AS, Wass E, Saskowski J, Khabele D. Romidepsin (FK228) combined with cisplatin stimulates DNA damage-induced cell death in ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 2012; 127: 579-586 [PMID: 23010348 DOI: 10.1016/j.ygyno.2012.09.016]

21 Cooper SJ, von Roemeling CA, Kang KH, Marlow LA, Grebe SK, Menefee ME, Tun HW, Colon-Otero G, Perez EA, Copland JA. Reexpression of tumor suppressor, sFRP1, leads to antitumor synergy of combined HDAC and methyltransferase inhibitors in chemoresistant cancers. *Mol Cancer Ther* 2012; 11: 2105-2115 [PMID: 22826467 DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-11-0873]

22 Bracken AP, Helin K. Polycomb group proteins: navigators of lineage pathways led astray in cancer. *Nat Rev Cancer* 2009; 9: 773-784 [PMID: 19851313 DOI: 10.1038/nrc2736]

23 Gonzalez ME, Li X, Toy K, DuPrie M, Ventura AC, Banerjee M, Ljungman M, Merajver SD, Kleer CG. Downregulation of EZH2 decreases growth of estrogen receptor-negative invasive breast carcinoma and requires BRCA1. *Oncogene* 2009; 28: 843-853 [PMID: 19079346 DOI: 10.1038/onc.2008.433]

24 Yu J, Cao Q, Mehra R, Laxman B, Yu J, Tomlins SA, Creighton CJ, Dhanasekaran SM, Shen R, Chen G, Morris DS, Marquez VE, Shah RB, Ghosh D, Varambally S, Chinnaiyan AM. Integrative genomics analysis reveals silencing of beta-adrenergic signaling by polycomb in prostate cancer. *Cancer Cell* 2007; 12: 419-431 [PMID: 17996646]

25 Natarajan TG, Kallakury BV, Sheehan CE, Bartlett MB, Ganesan N, Preet A, Ross JS, Fitzgerald KT. Epigenetic regulator MLL2 shows altered expression in cancer cell lines and tumors from human breast and colon. *Cancer Cell Int* 2010; 10: 13 [PMID: 20433758 DOI: 10.1186/1475-2867-10-13]

26 Tiwari VK, McGarvey KM, Licchesi JD, Ohm JE, Herman JG, Schübeler D, Baylin SB. PcG proteins, DNA methylation, and gene repression by chromatin looping. *PLoS Biol* 2008; 6: 2911-2927 [PMID: 19053175 DOI: 10.1371/journal.pbio.0060306]

27 Lorch Y, Maier-Davis B, Kornberg RD. Mechanism of chromatin remodeling. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; 107: 3458-3462 [PMID: 20142505 DOI: 10.1073/pnas.1000398107]

28 薛开先. 染色质组织化和组蛋白修饰. 国际遗传学杂志 2009; 32: 326-320

29 Persson J, Ekwall K. Chd1 remodelers maintain open chromatin and regulate the epigenetics of differentiation. *Exp Cell Res* 2010; 316: 1316-1323 [PMID: 20211173 DOI: 10.1016/j.yexcr.2010.02.029]

30 Bagchi A, Papazoglu C, Wu Y, Capurso D, Brodt M, Francis D, Bredel M, Vogel H, Mills AA. CHD5 is a tumor suppressor at human 1p36. *Cell* 2007; 128: 459-475 [PMID: 17289567]

31 赵蕊, 吕静野, 严启滔, 张宝, 郑文岭, 马文丽. CHD5基因慢病毒载体的构建及在结直肠癌细胞中的表达. 基础医学与临床 2013; 33: 418-422

32 DelBove J, Rosson G, Strobeck M, Chen J, Archer TK, Wang W, Knudsen ES, Weissman BE. Identification of a core member of the SWI/SNF complex, BAF155/SMARCC1, as a human tumor suppressor gene. *Epigenetics* 2011; 6: 1444-1453 [PMID: 22139574 DOI: 10.4161/epi.6.12.18492]

33 Jones S, Li M, Parsons DW, Zhang X, Wesseling J, Kristel P, Schmidt MK, Markowitz S, Yan H, Bigner D, Hruban RH, Eshleman JR, Iacobuzio-Donahue CA, Goggins M, Maitra A, Malek SN, Powell S, Vogelstein B, Kinzler KW, Velculescu VE, Papadopoulos N. Somatic mutations in the chromatin remodeling gene ARID1A occur in several tumor types. *Hum Mutat* 2012; 33: 100-103 [PMID: 22009941 DOI: 10.1002/humu.21633]

34 Ponting CP, Belgard TG. Transcribed dark matter: meaning or myth? *Hum Mol Genet* 2010; 19: R162-R168 [PMID: 20798109 DOI: 10.1093/hmg/ddq362]

35 Costa FF. Non-coding RNAs: Meet thy masters. *Bioessays* 2010; 32: 599-608 [PMID: 20544733 DOI: 10.1002/bies.200900112]

36 Zen K, Zhang CY. Circulating microRNAs: a novel class of biomarkers to diagnose and monitor human cancers. *Med Res Rev* 2012; 32: 326-348 [PMID: 22383180 DOI: 10.1002/med.20215]

37 Melo SA, Moutinho C, Ropero S, Calin GA, Rossi S, Spizzo R, Fernandez AF, Davalos V, Villanueva A, Montoya G, Yamamoto H, Schwartz S, Esteller M. A genetic defect in exportin-5 traps precursor microRNAs in the nucleus of cancer cells. *Cancer Cell* 2010; 18: 303-315 [PMID: 20951941]

38 Michael MZ, O' Connor SM, van Holst Pellekaan NG, Young GP, James RJ. Reduced accumulation of specific microRNAs in colorectal neoplasia. *Mol Cancer Res* 2003; 1: 882-891 [PMID: 14573789]

39 Chen X, Guo X, Zhang H, Xiang Y, Chen J, Yin Y, Cai X, Wang K, Wang G, Ba Y, Zhu L, Wang J, Yang R, Zhang Y, Ren Z, Zen K, Zhang J, Zhang CY. Role of miR-143 targeting KRAS in colorectal tumorigenesis. *Oncogene* 2009; 28: 1385-1392 [PMID: 19137007 DOI: 10.1038/onc.2008.474]

40 Borralho PM, Simões AE, Gomes SE, Lima RT, Car-

valho T, Ferreira DM, Vasconcelos MH, Castro RE, Rodrigues CM. miR-143 overexpression impairs growth of human colon carcinoma xenografts in mice with induction of apoptosis and inhibition of proliferation. *PLoS One* 2011; 6: e23787 [PMID: 21901135 DOI: 10.1371/journal.pone.0023787]

41 Guo H, Chen Y, Hu X, Qian G, Ge S, Zhang J. The regulation of Toll-like receptor 2 by miR-143 suppresses the invasion and migration of a subset of human colorectal carcinoma cells. *Mol Cancer* 2013; 12: 77 [PMID: 23866094 DOI: 10.1186/1476-4598-12-77]

42 Zhang J, Guo H, Zhang H, Wang H, Qian G, Fan X, Hoffman AR, Hu JF, Ge S. Putative tumor suppressor miR-145 inhibits colon cancer cell growth by targeting oncogene Friend leukemia virus integration 1 gene. *Cancer* 2011; 117: 86-95 [PMID: 20737575 DOI: 10.1002/cncr.25522]

43 Liu L, Chen L, Xu Y, Li R, Du X. microRNA-195 promotes apoptosis and suppresses tumorigenicity of human colorectal cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2010; 400: 236-240 [PMID: 20727858 DOI: 10.1016/j.bbrc.2010.08.046]

44 Yang MH, Yu J, Chen N, Wang XY, Liu XY, Wang S, Ding YQ. Elevated microRNA-31 expression regulates colorectal cancer progression by repressing its target gene SATB2. *PLoS One* 2013; 8: e85353 [PMID: 24386467 DOI: 10.1371/journal.pone.0085353]

45 Mitchell PS, Parkin RK, Kroh EM, Fritz BR, Wyman SK, Pogosova-Agadjanyan EL, Peterson A, Noteboom J, O'Briant KC, Allen A, Lin DW, Urban N, Drescher CW, Knudsen BS, Stirewalt DL, Gentleman R, Vessella RL, Nelson PS, Martin DB, Tewari M. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105: 10513-10518 [PMID: 18663219 DOI: 10.1073/pnas.0804549105]

46 王静, 张金平, 桂银莉, 李建生. 人血浆及粪便中微小RNA-92a-1表达水平在结直肠肿瘤筛查中的意义. 中华消化杂志 2012; 32: 834-837

47 谢海伟, 陈仿军, 朱斌, 曹刚, 金磊, 周国志, 吕进, 曹秀峰. 长链非编码RNA SPRY4-1 T1在食管鳞癌中的表达及对细胞生长的影响. 中国肿瘤临床 2013; 40: 1011-1015

48 Liao Q, Liu C, Yuan X, Kang S, Miao R, Xiao H, Zhao G, Luo H, Bu D, Zhao H, Skogerbø G, Wu Z, Zhao Y. Large-scale prediction of long non-coding RNA functions in a coding-non-coding gene co-expression network. *Nucleic Acids Res* 2011; 39: 3864-3878 [PMID: 21247874 DOI: 10.1093/nar/gkq1348]

49 Yu LH, Li N, Cheng SQ. The progress on long non-coding RNA function. *Chinese Journal of Cell Biology* 2010; 32: 350-356

50 Li Y, Sasaki H. Genomic imprinting in mammals: its life cycle, molecular mechanisms and reprogramming. *Cell Res* 2011; 21: 466-473 [PMID: 21283132 DOI: 10.1038/cr.2011.15]

51 Kogo R, Shimamura T, Mimori K, Kawahara K, Imoto S, Sudo T, Tanaka F, Shibata K, Suzuki A, Komune S, Miyano S, Mori M. Long noncoding RNA HOTAIR regulates polycomb-dependent chromatin modification and is associated with poor prognosis in colorectal cancers. *Cancer Res* 2011; 71: 6320-6326 [PMID: 21862635 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-11-1021]

52 Chung S, Nakagawa H, Uemura M, Piao L, Ashikawa K, Hosono N, Takata R, Akamatsu S, Kawaguchi T, Morizono T, Tsunoda T, Daigo Y, Matsuda K, Kamatani N, Nakamura Y, Kubo M. Association of a novel long non-coding RNA in 8q24 with prostate cancer susceptibility. *Cancer Sci* 2011; 102: 245-252 [PMID: 20874843 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2010.01737.x]

53 Yang Z, Zhou L, Wu LM, Lai MC, Xie HY, Zhang F, Zheng SS. Overexpression of long non-coding RNA HOTAIR predicts tumor recurrence in hepatocellular carcinoma patients following liver transplantation. *Ann Surg Oncol* 2011; 18: 1243-1250 [PMID: 21327457 DOI: 10.1245/s10434-011-1581-y]

54 Yang F, Zhang L, Huo XS, Yuan JH, Xu D, Yuan SX, Zhu N, Zhou WP, Yang GS, Wang YZ, Shang JL, Gao CF, Zhang FR, Wang F, Sun SH. Long noncoding RNA high expression in hepatocellular carcinoma facilitates tumor growth through enhancer of zeste homolog 2 in humans. *Hepatology* 2011; 54: 1679-1689 [PMID: 21769904 DOI: 10.1002/hep.24563]

55 Lai MC, Yang Z, Zhou L, Zhu QQ, Xie HY, Zhang F, Wu LM, Chen LM, Zheng SS. Long non-coding RNA MALAT-1 overexpression predicts tumor recurrence of hepatocellular carcinoma after liver transplantation. *Med Oncol* 2012; 29: 1810-1816 [PMID: 21678027 DOI: 10.1007/s12032-011-0004-z]

56 Khaitan D, Dinger ME, Mazar J, Crawford J, Smith MA, Mattick JS, Perera RJ. The melanoma-upregulated long noncoding RNA SPRY4-IT1 modulates apoptosis and invasion. *Cancer Res* 2011; 71: 3852-3862 [PMID: 21558391 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-10-4460]

57 Huarte M, Guttman M, Feldser D, Garber M, Koziol MJ, Kenzelmann-Broz D, Khalil AM, Zuk O, Amit I, Rabani M, Attardi LD, Regev A, Lander ES, Jacks T, Rinn JL. A large intergenic noncoding RNA induced by p53 mediates global gene repression in the p53 response. *Cell* 2010; 142: 409-419 [PMID: 20673990 DOI: 10.1016/j.cell.2010.06.040]

58 Tian F, Tang Z, Song G, Pan Y, He B, Bao Q, Wang S. Loss of imprinting of IGF2 correlates with hypomethylation of the H19 differentially methylated region in the tumor tissue of colorectal cancer patients. *Mol Med Rep* 2012; 5: 1536-1540 [PMID: 22427002 DOI: 10.3892/mmr.2012.833]

59 Xu C, Yang M, Tian J, Wang X, Li Z. MALAT-1: a long non-coding RNA and its important 3' end functional motif in colorectal cancer metastasis. *Int J Oncol* 2011; 39: 169-175 [PMID: 21503572 DOI: 10.3892/ijo.2011.1007]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

■同行评价

本文对结直肠癌的基础研究有一定的帮助, 对临床治疗有一定的指导意义.

世界华人消化杂志 2014年5月28日; 22(15): 2134-2139
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

研究快报 RAPID COMMUNICATION

ERK1/2通路对Genistein与5-FU诱导的人肝癌细胞周期阻滞的影响

刘 丹, 赵忠新, 迟大鹏, 梅庆步, 于海涛, 岳丽玲, 王 玉, 陈萍, 郑立红, 王秀华, 王钰粟

■背景资料
ERK1/2通路是调控细胞增殖的重要途径, 细胞增殖由细胞周期实现, 在药物抑制肿瘤细胞生长的研究中, 明确ERK1/2通路与细胞周期的关系有利于发现药物的作用机制及指导临床的用药.

刘丹, 梅庆步, 于海涛, 岳丽玲, 王玉, 陈萍, 郑立红, 王秀华, 王钰粟, 齐齐哈尔医学院基础医学院 黑龙江省齐齐哈尔市 161006
赵忠新, 齐齐哈尔市建华医院普外科 黑龙江省齐齐哈尔市 161006
迟大鹏, 上海中医药大学附属岳阳医院神经外科 上海市 200437
刘丹, 主要从事细胞生物学和医学遗传学的教学和研究.
黑龙江省教育厅科学技术研究基金资助项目, No. 1253179
齐齐哈尔医学院科研基金资助项目
黑龙江省教育厅大学生创新训练基金资助项目, No. 201311230026
作者贡献分布: 课题由刘丹、岳丽玲及于海涛设计; 研究过程由刘丹、赵忠新、迟大鹏、王钰粟及王秀华操作; 研究方法由王玉指导; 数据分析由梅庆步完成; 本论文写作由刘丹、陈萍、郑立红及王钰粟完成.
通讯作者: 刘丹, 讲师, 161006, 黑龙江省齐齐哈尔市建华区卜奎北大街333号, 齐齐哈尔医学院基础医学院.
7896078_cn@sina.com
电话: 0452-2663174
收稿日期: 2014-03-28 修回日期: 2014-04-15
接受日期: 2014-04-28 在线出版日期: 2014-05-28

Role of ERK1/2 pathway in genistein and 5-FU-induced cell cycle arrest in human hepatoma cells

Dan Liu, Zhong-Xin Zhao, Da-Peng Chi, Qing-Bu Mei, Hai-Tao Yu, Li-Ling Yue, Yu Wang, Ping Chen, Li-Hong Zheng, Xiu-Hua Wang, Yu-Su Wang

Dan Liu, Qing-Bu Mei, Hai-Tao Yu, Li-Ling Yue, Yu Wang, Ping Chen, Li-Hong Zheng, Xiu-Hua Wang, Yu-Su Wang, Basic Medical Science College, Qiqihar Medical University, Qiqihar 161006, Heilongjiang Province, China
Zhong-Xin Zhao, Department of General Surgery, Qiqihar Jian Hua Hospital, Qiqihar 161006, Heilongjiang Province, China
Da-Peng Chi, Department of Neurosurgery, Yueyang Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200437, China
Supported by: the Science and Technology Research Project of Heilongjiang Provincial Department of Education, No. 12531792; the Research Project of Qiqihar Medical University; the Students' Innovative Training Project of Heilongjiang Provincial Department of Education, No. 201311230026
Correspondence to: Dan Liu, Lecturer, Basic Medical Science College, Qiqihar Medical University, 333 Bukui North Street, Qiqihar 161006, Heilongjiang Province, China. 7896078_cn@sina.com
Received: 2014-03-28 Revised: 2014-04-15
Accepted: 2014-04-28 Published online: 2014-05-28

Abstract

AIM: To investigate the role of the extracellular regulated protein kinases (ERK)1/2 pathway in genistein and 5-fluorouracil (5-FU)-induced cell cycle arrest in human hepatoma cells.

METHODS: The MTS method was used to assay cell proliferation. Cell cycle was detected by flow cytometry. The protein expression of total ERK1/2 and phospho-ERK1/2 was detected by Western blot.

RESULTS: Genistein and 5-FU, alone or in combination, inhibited proliferation of MHCC97-L cells. Genistein induced an S-phase arrest and slightly inhibited the expression of phospho-ERK1/2. ERK1/2 inhibitor could promote the inhibition of MHCC97-L cells by genistein, but had no significant effect on S-phase arrest. 5-FU alone or in combination with genistein arrested the cells in S phase and significantly activated ERK1/2. ERK1/2 inhibitor increased genistein and 5-FU-induced growth inhibition of MHCC97-L cells and S-phase arrest.

CONCLUSION: Genistein and 5-FU inhibit the proliferation of liver cancer cells by arresting the cell cycle. Inhibition of the ERK1/2 pathway can resist genistein-induced S phase arrest in liver cancer cells, but promote S phase arrest induced by 5-FU alone or in combination with genistein.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Regulated protein kinases 1/2; Genistein; 5-Fluorouracil; Hepatocellular carcinoma; Cell cycle

Liu D, Zhao ZX, Chi DP, Mei QB, Yu HT, Yue LL, Wang Y, Chen P, Zheng LH, Wang XH, Wang YS. Role of ERK1/2 pathway in genistein and 5-FU-induced cell cycle arrest in human hepatoma cells. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(15): 2134-2139 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2134.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2134

■同行评议者
傅晓辉, 副教授, 副主任医师, 东方肝胆外科医院

摘要

目的: 探讨染料木黄酮(Genistein, Gen)与5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-FU)诱导人肝癌MHCC97-L细胞周期阻滞与细胞外调节蛋白激酶(extracellular regulated protein kinases, ERK)1/2信号通路的关系.

方法: MTS法检测细胞增殖; 流式细胞术检测细胞周期; Western blot检测总ERK1/2和磷酸化ERK1/2蛋白表达.

结果: Gen与5-FU单用及联用均能抑制肝癌MHCC97-L细胞增殖; Gen诱导细胞S期阻滞, 少量抑制ERK1/2磷酸化, ERK1/2抑制剂可促进Gen对MHCC97-L细胞的生长抑制作用, 而对S期阻滞无明显影响; 5-FU单用和二者联用组均阻滞S期细胞, 并显著激活ERK1/2磷酸化, ERK1/2抑制剂可促进两组药物对MHCC97-L细胞的生长抑制和诱导S期阻滞作用.

结论: Gen与5-FU单用及联用均可通过阻滞细胞周期来发挥抗肝癌细胞增殖的作用; 抑制ERK1/2通路可抵抗Gen诱导的肝癌细胞S期阻滞, 而促进5-FU单用和二者联用组诱导肝癌细胞S期阻滞.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 细胞外信号调节激酶; 染料木黄酮; 氟尿嘧啶; 肝癌; 细胞周期

核心提示: 在本研究结果中, 同时看到不同药物可以通过激活或抑制细胞外调节蛋白激酶(extracellular regulated protein kinases, ERK)1/2磷酸化发挥抗肝癌细胞生长的生物学效应, 不同的刺激因素及ERK1/2与其他信号途径的相互作用等都可能成为ERK1/2调控细胞周期的复杂因素.

刘丹, 赵忠新, 迟大鹏, 梅庆步, 于海涛, 岳丽玲, 王玉, 陈萍, 郑立红, 王秀华, 王钰粟. ERK1/2通路对Genistein与5-FU诱导的人肝癌细胞周期阻滞的影响. 世界华人消化杂志 2014; 22(15): 2134-2139 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2134.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2134

0 引言

细胞外调节蛋白激酶(extracellular regulated protein kinases, ERK)1/2是丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)信号通路的一个重要亚族, 是调节细胞生长、发育及增殖的信号网络核心, 遵循MAPKs的三级酶促级联反应, 即刺激因素→MAPKKK→MAPKK→MAPK, 在ERKs传递途径中, MEK1/2作为MAPKK. PD98059是MEK1/2特异性抑制剂, 他可通过抑制MEK1/2的活性来抑制ERK1/2的磷酸化和激活, 从而发挥阻断ERK1/2信号通路的作用. 染料木黄酮(Genistein, Gen)为天然异黄酮物质, 具有多种生物学活性, 5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-FU)为消化系肿瘤常用的化疗药物, 两者联合有可能成为临床预防和治疗肿瘤的可行性方法, 但其机制尚未明确. 本研究在前期结果[1]的基础之上, 以人肝癌细胞MHCC97-L为模型, 探讨Gen与5-FU诱导肝癌细胞周期阻滞与ERK1/2信号通路的关系.

■研发前沿
Genistein与化疗药物联合阻滞肿瘤细胞周期与ERK1/2通路相关性的大小有可能成为评价药物联用的可行性和有效性的指标.

1 材料和方法

1.1 材料 肝癌MHCC97-L细胞购自复旦大学肝癌研究所. Gen(Sigma); 5-FU(天津金耀氨基酸有限公司); PD98059、MTS(Promega); 优级胎牛血清(Hyclone); 胰蛋白酶、DMSO(Amresco); DMEM高糖培养基(Gibco); 细胞周期检测试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司); ERK1/2 polyclonal antibody、Phospho-ERK1/2 polyclonal antibody(Immunoway); β-actin(武汉博士德生物工程有限公司); 哺乳动物蛋白抽提试剂盒、BCA蛋白定量试剂盒、一步法快速WB(HRP)试剂盒(北京康为世纪生物科技有限公司); 蛋白Marker(MBI); ECL超敏发光液(北京普利莱基因技术有限公司); NC膜(Pall); 胶片(富士); 余为进口分装或国产分析纯.

1.2 方法

1.2.1 细胞培养: MHCC97-L细胞用含10%FBS的DMEM高糖培养液置于37 ℃、5%CO_2培养箱中培养, 隔1 d换液, 细胞贴壁生长, 待满瓶底时, 用胰酶消化, 吹打成单细胞, 分瓶传代.

1.2.2 实验分组: 实验分为对照组、Gen组(80 μmol/L)、5-FU组(40 μmol/L)、PD98059组(50 μmol/L)、Gen+5-FU组(80 μmol/L+40 μmol/L)、PD98059+Gen组(50 μmol/L+80 μmol/L)、PD98059+5-FU组(50 μmol/L+40 μmol/L)、PD98059+Gen+5-FU组(50 μmol/L+80 μmol/L+40 μmol/L), 后三组为阻断ERK1/2的药物组(PD98059预处理1 h后, 再加入联合的其他药物).

1.2.3 MTS: 取对数生长期的MHCC97-L细胞, 以6×10^3个/孔细胞浓度接种于96孔板, 每孔100 μL细胞悬液, 每组设4个复孔, 培养24 h后换液, 分别加入不同处理因素的培养液200 μL, 培养48 h后, 加入MTS, 每孔10 μL, 继续孵育2 h, 于自动

■相关报道
激活ERK途径可以促进细胞生长, 但有时也可以抑制细胞增殖, 因细胞种类、类型及其在不同环境中激活的机制而异. 某些化疗药物可以通过激活ERK通路, 阻滞肿瘤细胞周期. ERK通路对肝癌细胞增殖效应取决于ERK活化的水平, ERK活性在一定范围内可刺激肝癌细胞增殖, 低于此范围不能刺激细胞增殖, 高于此范围, 可致细胞周期停滞而抑制细胞增殖.

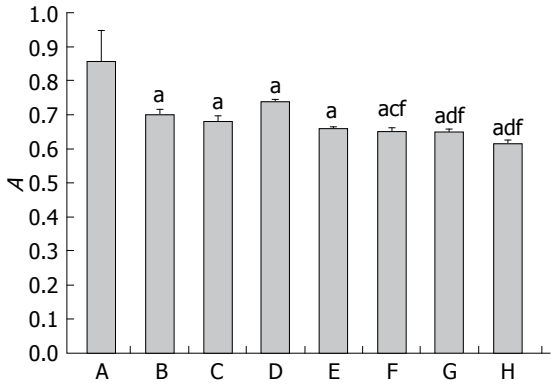


图 1 各组细胞在48 h的吸光度(*A*)值. A: 对照组; B: Gen组; C: 5-FU组; D: PD98059组; E: Gen+5-FU组; F: PD98059+Gen组; G: PD98059+5-FU组; H: PD98059+Gen+5-FU组. [a]*P*<0.05 *vs* 对照组, [c]*P*<0.05 *vs* 未加PD98059的对应药物组, [d]*P*<0.01 *vs* 未加PD98059的对应药物组, [f]*P*<0.01 *vs* PD98059组.

酶标仪490 nm处测定每孔的吸光度(*A*)值, 实验重复3次, 计算抑制率(inhibition ratio, IR), IR(%) = (1-药物组*A*值/对照组*A*值)×100%.

1.2.4 流式细胞术检测细胞周期: 将处于对数生长期的MHCC97-L细胞以1×10^{5}个/孔细胞浓度接种于12孔板中, 每孔1 mL细胞悬液, 每组设2个复孔, 培养24 h后换液, 加入不同处理因素的培养液, 培养48 h后, 胰酶消化, 收集细胞, PBS(预冷)洗涤细胞1次, 加入1mL 70 mL/L乙醇(预冷), 4 ℃固定12-24 h, 收集细胞, PBS(预冷)重悬细胞1次, 加入PI工作液500 μL, 37 ℃避光温浴30 min, 流式细胞仪在激发波长488 nm波长处检测红色荧光, 以MODIFIT软件分析细胞DNA含量及光散射分析, 实验重复3次.

1.2.5 Western blot检测总ERK1/2(t-ERK1/2)及磷酸化ERK1/2(p-ERK1/2)的蛋白表达: 抽提细胞蛋白, 取对数生长期的MHCC97-L细胞, 以3×10^{5}个/孔细胞浓度接种于6孔板中, 每孔2 mL细胞悬液, 每组设2个复孔, 培养24 h后换液, 加入不同处理因素的培养液, 培养48 h后, PBS(预冷)洗涤细胞2次, 冰上加入400 μL的蛋白抽提试剂(裂解液与蛋白酶抑制剂的混合物), 冰上用枪头小心吹打贴壁细胞, 将裂解液转移至EP管中, 冰上孵育30 min, 4 ℃ 14000 *g*离心10 min, 小心转移上清液至新EP管中, 并记录各组转移体积. BCA蛋白定量, 采用微孔检测法, 将稀释好的A-G组BSA标准品和待测蛋白样品(稀释10倍)各25 μL分别加入96孔板, 每组设3个复孔, 加入200 μL BCA工作液, 混匀后, 37 ℃孵育30 min, 冷却至室温后, 于自动酶标仪检测570 nm的吸光度值, 绘制标准曲线, 计算待测样品的蛋白浓度, 用5×上样缓冲液和细胞裂解液稀释, 调整待测样品蛋白浓度为2 μg/μL, 100 ℃加热5min, 冷却后混匀, -20 ℃保存. 取各组样品15 mL(30 μg)上样, 经SDS-PAGE电泳分离蛋白样品后, 转移至NC膜上, 封闭液封闭10 min, 再用抗体反应液处理后的一抗4 ℃孵育过夜, 经洗涤3次(每次5 min)后, 进行ECL发光, 显影, 定影, 用Photoshop13.0软件分析胶片泳带, 靶蛋白表达量用相对比率来表示.

统计学处理 数据用mean±SD表示, 采用SPSS16.0软件进行统计学分析, 两组间均数比较采用*t*检验. *P*<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 MTS检测48 h各药物组抑制肝癌细胞增殖情况 各药物组均能明显抑制细胞生长(*P*<0.05)(图1). 同时, PD98059、Gen、PD98059+Gen、5-FU、PD98059+5-FU、Gen+5-FU、PD98059+Gen+5-FU各组对肝癌细胞的抑制率分别为13.68%、18.01%、23.86%、20.58%、24.44%、22.92%、27.95%, PD98059预处理1 h的药物组抑制率均明显高于对应单药抑制率, 明显低于对应单药抑制率的叠加, 说明Gen、5-FU、Gen+5-FU发挥抗MHCC97-L细胞增殖作用需要ERK通路介导, 但不是唯一机制, 抑制ERK通路可促进三者对MHCC97-L细胞的抗增殖作用.

2.2 细胞周期 Gen组G_0/G_1期细胞减少, S期细胞增多, 阻滞S期; 5-FU组S期细胞明显增多, G_2/M期细胞明显减少, 阻滞S期; PD98059组S期细胞增多, G_2/M期细胞减少, 阻滞S期; Gen+5-FU组5-FU拮抗Gen对G_0/G_1期的减少, 二者对S期阻滞的协同作用不明显, 阻滞S期(图2).

阻断ERK的Gen组与PD98059和Gen单用比较, 其G_0/G_1期细胞较PD98059组减少、较Gen组增多, 阻断ERK后的Gen仍可推动G_1期向S期转化, 但未达到本身单药水平, 说明抑制ERK通路可拮抗Gen对MHCC97-L细胞G_0/G_1期的减少作用, 而三者对S期阻滞无明显变化(*P*>0.05), 又说明Gen诱导MHCC97-L细胞S期阻滞与ERK通路密切相关; 阻断ERK的5-FU组与PD98059和5-FU单用比较, 其对S期细胞阻滞完全, G_2/M期为0, 表明5-FU诱导MHCC97-L细胞S期阻滞与ERK通路相关, 但存在其他机制, 且抑制ERK通路可促进5-FU对MHCC97-L细胞S期阻滞的增加和G_2/M期的减少; 阻断ERK的Gen+5-FU组,

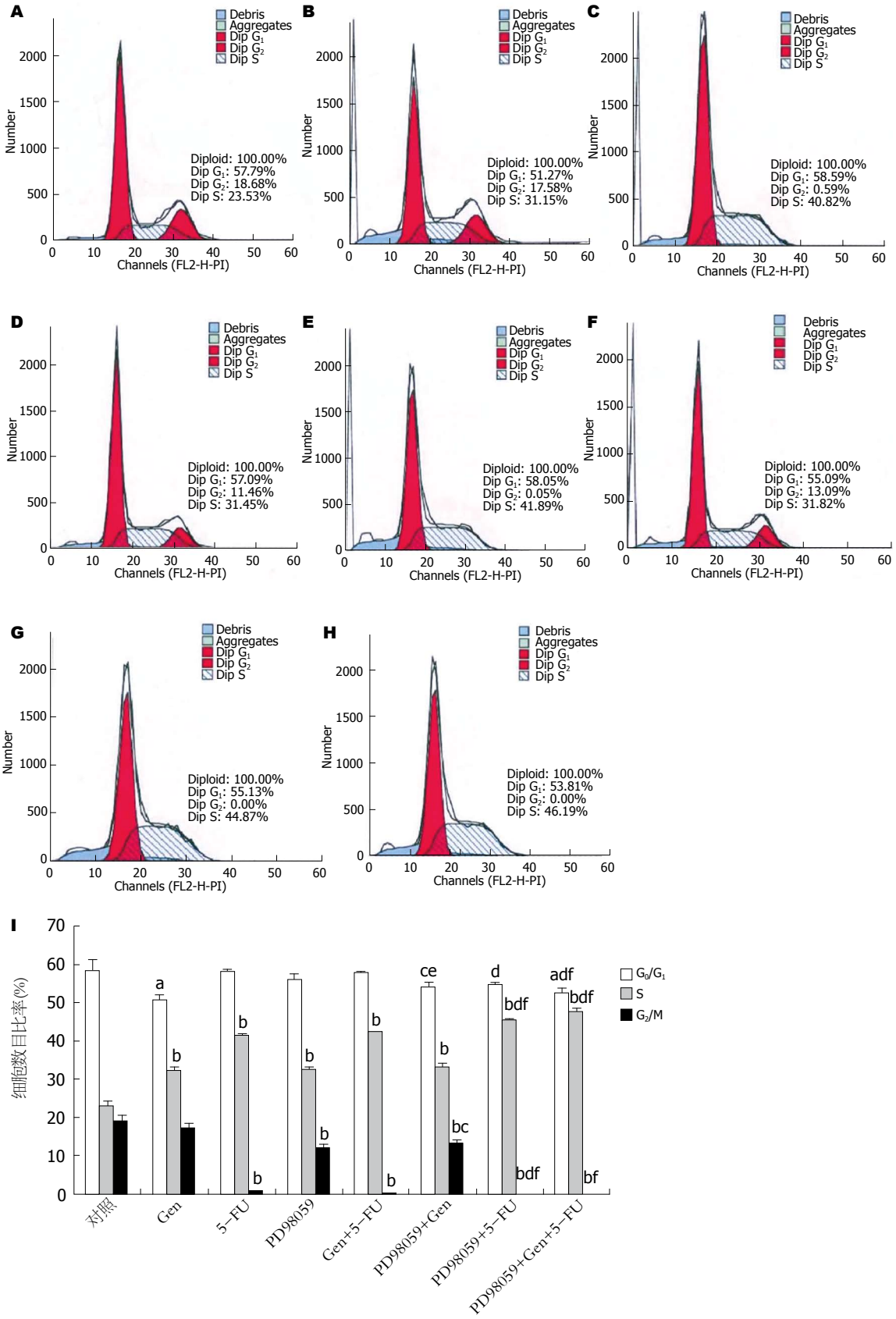


图 2 各组细胞的细胞周期. A: 对照组; B: Gen组; C: 5-FU组; D: PD98059组; E: Gen+5-FU组; F: PD98059+Gen组; G: PD98059+5-FU组; H: PD98059+Gen+5-FU组; I: 各组细胞的细胞周期分布柱状图. [a]$P<0.05$, [b]$P<0.01$ *vs* 对照组, [c]$P<0.05$, [d]$P<0.01$ *vs* 未加PD98059的对应药物组, [e]$P<0.05$, [f]$P<0.01$ *vs* PD98059组.

■创新盘点

本实验结果显示, Genistein与5-FU单用及联用均可通过阻滞细胞周期来发挥抗肝癌细胞增殖的作用; 抑制ERK1/2通路可抵抗Genistein诱导的肝癌细胞S期阻滞, 而促进5-FU单用和二者联用组诱导肝癌细胞S期阻滞.

■应用要点
Genistein是天然异黄酮物质, 5-FU是消化系肿瘤常用的化疗药物, 二者联合有可能增强肿瘤细胞对化疗药物的敏感性, 降低肿瘤细胞耐药性的产生, 减少化疗药物的剂量, 从而减轻患者的不良反应.

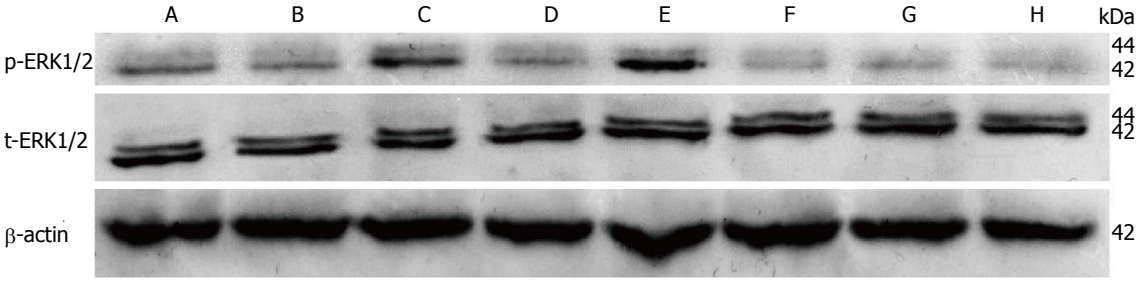


图 3 各组细胞的t-ERK1/2和p-ERK1/2蛋白表达. A: 对照组; B: Gen组; C: 5-FU组; D: PD98059组; E: Gen+5-FU组; F: PD98059+Gen组; G: PD98059+5-FU组; H: PD98059+Gen+5-FU组. Gen: 染料木黄酮; 5-FU: 5-氟尿嘧啶; ERK: 细胞外调节蛋白激酶.

PD98059能增加Gen+5-FU对G_0/G_1期细胞的减少作用, 也致S期细胞完全阻滞, G_2/M期为0, 既推动G_1期向S期转化, 又完全阻滞S期, 提示Gen+5-FU组诱导MHCC97-L细胞S期阻滞与ERK通路有关, 仍存在其他机制, 且抑制ERK通路可促进Gen+5-FU对MHCC97-L细胞G_0/G_1期和G_2/M期的减少作用(图2).

2.3 Western blot 各组t-ERK1/2的相对表达量差异不明显, p-ERK1/2的相对表达量由高到低依次为Gen+5-FU、5-FU、对照组、Gen、PD98059、PD98059+5-FU、PD98059+Gen、PD98059+Gen+5-FU, 提示5-FU和Gen+5-FU作用48 h后, 仍可显著激活MHCC97-L细胞ERK1/2活性, 而Gen作用48 h后, p-ERK1/2仅小幅度减少, 应用阻断剂的药物组ERK1/2活性进一步被抑制(图3).

3 讨论

ERK1/2信号通路被视为肿瘤治疗的新靶点[2-5], 他是调控细胞增殖的重要途径, 细胞增殖由细胞周期实现, 很多药物通过影响肿瘤细胞周期分布而致肿瘤细胞凋亡、坏死和自噬. Ma等[6]证明在体内外, Gen能明显抑制肝癌细胞生长和血管生成, 抑制Akt的活化和NF-κB的活性, 进而抑制cyclin D1等与NF-κB相关基因产物的表达, 而cyclin D是细胞G_1/S期转化所必需的细胞周期蛋白[7], 抑制cyclin D可导致细胞G_0/G_1期阻滞. Gu等[8]通过体外实验提出, Gen可抑制肝癌MHCC97-H细胞的增殖、粘附与侵袭, 诱导细胞凋亡, 并呈浓度依赖, G_0/G_1期细胞阻滞, S期细胞减少. 肝癌MHCC97-H和MHCC97-L细胞属于同源不同转移潜能的两个细胞系, 前者转移率高, 后者转移率低. 本实验结果显示, Gen通过增加G_1/S期转化来诱导S期阻滞, S期阻滞可能由Gen少量降低ERK1/2活性来实现, 抑制ERK1/2通路可抵抗Genistein诱导的肝癌细胞S期阻滞.

一般认为, 激活ERK途径可以促进细胞生长, 但有时也可以抑制细胞增殖, 因细胞种类、类型及其在不同环境中激活的机制而异[9-11]. Shen等[12]证明化疗药物(阿霉素)可以激活ERK通路. Lee等[13]在研究佛波酯诱导人红白血病K562细胞分化时, 发现cyclin D1表达增加和cyclin B1表达降低是ERK活性持续上升的结果. Chen等[14]报道, 硒代胱氨酸可通过激活ERK1/2来诱导S期阻滞, 促进人乳腺癌MCF-7细胞凋亡. Tsukada等[15]发现, ERK通路对肝癌HepG2细胞增殖效应取决于ERK活化的水平, ERK活性在一定范围内可刺激肝癌细胞增殖, 低于此范围不能刺激细胞增殖, 高于此范围, 可致细胞周期停滞而抑制细胞增殖. 本实验结果显示, 5-FU通过阻止S/G_2转化来实现S期阻滞, S期阻滞部分由5-FU显著激活ERK1/2活性来实现; Gen与5-FU联用(同时加药)抑制肝癌MHCC97-L细胞增殖主要以5-FU的作用为主, 在抗增殖作用中Gen和5-FU有协同作用, 但5-FU能拮抗Gen的S期阻滞; 联用后所致的p-ERK1/2相对表达量最高与S期阻滞有关; 抑制ERK1/2通路可促进5-FU单用和二者联用组诱导肝癌细胞S期阻滞. 在Gen+5-FU、5-FU与Gen组中, 存在着一种趋势, 即p-ERK1/2相对表达量与抗MHCC97-L细胞生长抑制率、S期细胞阻滞和G_2/M期细胞减少依次由高到低(或由多到少)呈正相关.

总之, 本研究结果中, 同时看到不同药物可以通过激活或抑制ERK1/2磷酸化发挥抗肝癌细胞生长的生物学效应, Gen与5-FU单用及联用均可通过阻滞细胞周期来发挥抗肝癌细胞增殖的作用. 不同的刺激因素及ERK1/2与其他信号途径的相互作用等都可能成为ERK1/2调控细胞周期的复杂因素, 这些因素也在不断的变化以达到某种平衡, 仍有待于深入探索与研究.

4 参考文献

1 刘丹, 赵忠新. Genistein与5-FU联合对人肝癌细胞

MHCC97-L的抗增殖作用. 世界华人消化杂志 2012; 20: 2474-2478
2 Roberts PJ, Der CJ. Targeting the Raf-MEK-ERK mitogen-activated protein kinase cascade for the treatment of cancer. *Oncogene* 2007; 26: 3291-3310 [PMID: 17496923]
3 Wong KK. Recent developments in anti-cancer agents targeting the Ras/Raf/ MEK/ERK pathway. *Recent Pat Anticancer Drug Discov* 2009; 4: 28-35 [PMID: 19149686]
4 Deng LF, Wang YH, Jia QA, Ren ZG, Shen HJ, Sun XJ, Li JH. [Anti-proliferation effect of sorafenib in combination with 5-FU for hepatocellular carcinoma in vitro: antagonistic performance and mechanism]. *Zhonghua Ganzangbing Zazhi* 2013; 21: 845-849 [PMID: 24331695 DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-3418.2013.11.011]
5 Guégan JP, Frémin C, Baffet G. The MAPK MEK1/2-ERK1/2 Pathway and Its Implication in Hepatocyte Cell Cycle Control. *Int J Hepatol* 2012; 2012: 328372 [PMID: 23133759 DOI: 10.1155/2012/328372]
6 Ma Y, Wang J, Liu L, Zhu H, Chen X, Pan S, Sun X, Jiang H. Genistein potentiates the effect of arsenic trioxide against human hepatocellular carcinoma: role of Akt and nuclear factor-κB. *Cancer Lett* 2011; 301: 75-84 [PMID: 21078540 DOI: 10.1016/j.canlet.2010.10.022.]
7 陈誉华. 医学细胞生物学. 第5版. 北京: 人民卫生出版社, 2013: 311
8 Gu Y, Zhu CF, Dai YL, Zhong Q, Sun B. Inhibitory effects of genistein on metastasis of human hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 4952-4957 [PMID: 19842228]
9 Chang F, Steelman LS, Shelton JG, Lee JT, Navolanic PM, Blalock WL, Franklin R, McCubrey JA. Regulation of cell cycle progression and apoptosis by the Ras/Raf/MEK/ERK pathway (Review). *Int J Oncol* 2003; 22: 469-480 [PMID: 12579299]
10 Hu H, Jiang C, Li G, Lü J. PKB/AKT and ERK regulation of caspase-mediated apoptosis by methylseleninic acid in LNCaP prostate cancer cells. *Carcinogenesis* 2005; 26: 1374-1381 [PMID: 15845651]
11 Cagnol S, Chambard JC. ERK and cell death: mechanisms of ERK-induced cell death--apoptosis, autophagy and senescence. *FEBS J* 2010; 277: 2-21 [PMID: 19843174 DOI: 10.1111/j.1742-4658.2009]
12 Shen H, Xu W, Luo W, Zhou L, Yong W, Chen F, Wu C, Chen Q, Han X. Upregulation of mdr1 gene is related to activation of the MAPK/ERK signal transduction pathway and YB-1 nuclear translocation in B-cell lymphoma. *Exp Hematol* 2011; 39: 558-569 [PMID: 21300134 DOI: 10.1016/j.exphem.2011.01.013]
13 Lee CH, Yun HJ, Kang HS, Kim HD. ERK/MAPK pathway is required for changes of cyclin D1 and B1 during phorbol 12-myristate 13-acetate-induced differentiation of K562 cells. *IUBMB Life* 1999; 48: 585-591 [PMID: 10683762]
14 Chen T, Wong YS. Selenocystine induces S-phase arrest and apoptosis in human breast adenocarcinoma MCF-7 cells by modulating ERK and Akt phosphorylation. *J Agric Food Chem* 2008; 56: 10574-10581 [PMID: 18959417 DOI: 10.1021/jf802125t]
15 Tsukada Y, Miyazawa K, Kitamura N. High intensity ERK signal mediates hepatocyte growth factor-induced proliferation inhibition of the human hepatocellular carcinoma cell line HepG2. *J Biol Chem* 2001; 276: 40968-40976 [PMID: 11533045]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

■同行评价

本文选题新颖, 实验方法科学, 结论可信. 为肝癌治疗提供了新的思路.

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com
世界华人消化杂志 2014年5月28日; 22(15): 2140-2144
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

研究快报 RAPID COMMUNICATION

人*Cdc25C*基因克隆及其原核表达载体的构建与表达

卓少元, 陈承晓, 钟卫干, 农蔚霞, 黄天明, 马步国, 莫发荣

■背景资料
细胞周期蛋白Cdc25C是一个新的肿瘤相关抗原候选基因. 前期初步研究表明Cdc25C有望成为新的肿瘤标志物. 为进一步了解其与肿瘤发生、发展和预后的关系, 非常有必要利用基因工程的方法重组表达肿瘤相关抗原Cdc25C.

卓少元, 钟卫干, 广西中医药大学生物化学与分子生物学教研室 广西壮族自治区南宁市 530001
陈承晓, 农蔚霞, 黄天明, 马步国, 莫发荣, 广西医科大学组织学与胚胎学教研室 广西壮族自治区南宁市 530021
卓少元, 副教授, 主要从事肝癌的中医药防治的研究.
国家自然科学基金资助项目, No. 81160264
肝脏保护与再生调节北京市重点实验室基金资助项目, No. 2011-2
作者贡献分布: 此项目由莫发荣设计; 质粒构建由卓少元完成; 蛋白表达由陈承晓完成; 实验过程由钟卫干、农蔚霞、黄天明及马步国协助完成; 本论文写作由卓少元与莫发荣完成.
通讯作者: 莫发荣, 副教授, 硕士生导师, 530021, 广西壮族自治区南宁市双拥路22号, 广西医科大学组织学与胚胎学教研室.
farong.mo@rwth-aachen.de
电话: 0771-5358577
收稿日期: 2014-02-17 修回日期: 2014-03-21
接受日期: 2014-03-28 在线出版日期: 2014-05-28

Cloning and prokaryotic expression of human Cdc25C

Shao-Yuan Zhuo, Cheng-Xiao Chen, Wei-Gan Zhong, Wei-Xia Nong, Tian-Ming Huang, Bu-Guo Ma, Fa-Rong Mo

Shao-Yuan Zhuo, Wei-Gan Zhong, Department of Biochemistry and Molecular Biology, Guangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanning 530001, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China
Cheng-Xiao Chen, Wei-Xia Nong, Tian-Ming Huang, Bu-Guo Ma, Fa-Rong Mo, Department of Histology and Embryology, Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China
Supported by: the National Natural Science Foundation of China, No. 81160264; and the Beijing Municipal Laboratory of Liver Protection and Regulation of Regeneration, No. 2011-2
Correspondence to: Fa-Rong Mo, Associate Professor, Department of Histology and Embryology, Guangxi Medical University, 22 Shuangyong Road, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. farong.mo@rwth-aachen.de
Received: 2014-02-17 Revised: 2014-03-21
Accepted: 2014-03-28 Published online: 2014-05-28

Abstract

AIM: To clone the human *Cdc25C* gene and construct a recombinant prokaryotic system to express this protein.

METHODS: Total RNA were isolated from human hepatocellular carcinoma Bel-7404 cells and reverse transcribed, and the resulting cDNA was used as a template to amplify the human *Cdc25C* gene by RT-PCR. The amplified PCR product was cloned into pMD18-T and pET-32a (+) vectors and sequenced. Next, pET-32a(+)-Cdc25C was transformed into chemically competent *E. coli* strains, including BL21 (DE3), BL21 (DE3) pLysS and Transetta (DE3), to express the protein after induction with 0.25 mmol/L IPTG and ArtMediaTM protein expression, respectively. The fusion protein was identified by Coomassie staining and mass spectrometry analysis.

RESULTS: The *Cdc25C* gene and pMD18-T-Cdc25C and pET-32a(+)-Cdc25C vectors were obtained successfully. Three strains of *E. coli* which harbored the recombinant plasmid could express the TRx-His-Cdc25C fusion protein. The expressed protein was identical to the Cdc25C protein as revealed by Coomassie staining and mass spectrometry.

CONCLUSION: The recombinant protein of tumor-associated antigen Cdc25C has been successfully obtained.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Tumor-associated antigen; Human Cdc25C; Prokaryotic expression

Zhuo SY, Chen CX, Zhong WG, Nong WX, Huang TM, Ma BG, Mo FR. Cloning and prokaryotic expression of human Cdc25C. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(15): 2140-2144 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2140.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2140

摘要

目的: 构建人*Cdc25C*基因的克隆载体和原核表达载体, 并诱导其在大肠杆菌中表达.

方法: 从人肝癌细胞株Bel-7404中提取总RNA, 经RT-PCR法扩增人Cdc25C cDNA后, 将其正确插入克隆载体pMD18-T和表达载体pET-32a(+), 并转化至BL21(DE3)、BL21(DE3)pLysS和Transetta(DE3)三种感受态大肠杆菌中, 分别采用0.25 mmol/L IPTG和

■同行评议者
李家平, 教授, 主任医师, 中山大学附属第一医院肿瘤介入科

ArtMedia™ Protein Expression自动诱导表达培养基诱导表达, 并对纯化的融合蛋白进行考马斯亮蓝染色和质谱分析鉴定.

结果: 成功扩增了*Cdc25C*基因, 并获得pMD18-T-Cdc25C克隆载体和pET-32a(+)-Cdc25C表达载体; 重组质粒在BL21(DE3)、BL21(DE3)pLysS和Transetta(DE3)三种感受态大肠杆菌中均诱导表达出TRx-His-Cdc25C融合蛋白; 考马斯亮蓝染色和蛋白质谱分析结果显示基因重组蛋白与目的蛋白相符.

结论: 获得肿瘤相关抗原Cdc25C重组蛋白, 为后续研究奠定基础.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 肿瘤相关抗原; 人Cdc25C; 原核表达

核心提示: 本文从肝癌cDNA文库成功扩增了肝癌相关抗原*Cdc25C*基因, 并正确插入pMD18-T克隆载体和pET-32a(+)表达载体. 原核表达出TRx-His-Cdc25C融合蛋白, 经蛋白质谱分析显示与目的蛋白相符.

卓少元, 陈承晓, 钟卫干, 农蔚霞, 黄天明, 马步国, 莫发荣. 人*Cdc25C*基因克隆及其原核表达载体的构建与表达. 世界华人消化杂志 2014; 22(15): 2140-2144 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2140.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2140

0 引言

Cdc25C(cell division cyclin 25 homolog C)是一种细胞分裂周期蛋白质, 在真核生物细胞有丝分裂中起重要调节作用, 其编码的M期诱导因子磷酸酶3(M-phase inducer phosphatase 3), 与G_2/M期检测点关键调控分子Cdc2/cyclin B结合、互相活化, 控制着细胞进入有丝分裂的最后关卡[1]. 初步的研究发现细胞周期蛋白Cdc25C是一个肿瘤相关抗原候选基因(GenBank登录号为NM001790)[2]. 该候选基因属于CT抗原, 在正常组织局限表达而在肿瘤组织高水平表达. 我们前期的RT-PCR检测结果显示, Cdc25C高表达于肝细胞癌(16/30)、膀胱癌(11/15)、肺癌(6/12)、乳腺癌(7/14)和结肠癌(22/31); 在肾癌(2/12)和胃癌(4/15)中低表达; 在非白血性白血病(0/13)中无表达. 表明一些肿瘤患者的Cdc25C蛋白质具有了免疫原性, 有望成为新的肿瘤标志物[3]. 为了进一步了解Cdc25C在不同组织中的表达谱及其引起机体免疫反应的情况, 我们克隆了人*Cdc25C*基因(NM_001790.4)的全长, 将其构建在pET-32a(+)原核表达载体上, 成功诱导了Cdc25C的融合蛋白并进行了蛋白质谱鉴定, 为深入研究Cdc25C在肿瘤的发病、诊断和临床免疫治疗奠定基础.

1 材料和方法

1.1 材料 人肝癌细胞株Bel-7404(广西医科大学组织学与胚胎学教研室保存), DMEM培养基、胎牛血清(加拿大WISENT生物技术有限公司), RNA提取试剂盒(北京天根生化科技有限公司), 逆转录试剂盒、PCR试剂盒、限制性内切酶*BamH* Ⅰ和*Xho* Ⅰ(加拿大MBI Fermentas公司), 胶回收试剂盒、质粒DNA提取试剂盒(杭州博日科技有限公司), pMD18-T vector(大连宝生物工程有限公司), 感受态大肠杆菌DH5α、BL21(DE3)、BL21(DE3)pLysS和Transetta(DE3), 及ArtMedia™ Protein Expression(AM3)自动诱导表达培养基(北京全式金生物), 引物合成、基因测序(上海英骏生物技术有限公司).

1.2 方法

1.2.1 人肝癌细胞Bel-7404总RNA提取: 冻存的肝癌细胞株Bel-7404复苏后, 于含10%胎牛血清的DMEM培养基, 37 ℃、5%CO_2及饱和湿度的条件下培养48 h, 收集细胞. 计数后按照试剂盒说明书进行总RNA的提取. 以紫外分光光度法确定RNA的含量和纯度.

1.2.2 RT-PCR扩增并回收Cdc25C的cDNA片段: 采用MBI Fermentas逆转录试剂盒及其方法, 对抽提的肝癌细胞总RNA进行逆转录. 以所得cDNA为模板, 用特异性引物Forward-5'CGGGATCCATGTCTACGGAACTCTTCTCATC-3'(含*BamH* Ⅰ酶切位点)、Reverse-5'CCGCTCGAGTTATCATGGGCTCATGTCCTTCACC-3'(含*Xho* Ⅰ酶切位点), 对*Cdc25C*基因进行扩增. PCR扩增条件: 94 ℃ 3 min预变性, 94 ℃ 30 s、 55 ℃ 30 s、72 ℃ 2 min, 35个循环, 最后72 ℃延伸5 min. PCR产物经1%琼脂糖凝胶电泳鉴定后用胶回收试剂盒回收DNA片段.

1.2.3 克隆载体pMD18-T-Cdc25C的构建和序列测定: 将PCR扩增产物和pMD18-T载体分别用*BamH* Ⅰ、*Xho* Ⅰ双酶切2 h后, 电泳切胶回收, 经T4连接酶16 ℃连接12 h后转化至感受态大肠杆菌DH5α, 筛选阳性克隆, 送往上海英骏生物技术有限公司, 测序验证重组克隆中插入序列是否与要求相一致.

1.2.4 表达载体pET-32a(+)-Cdc25C的构建和序

■研发前沿
肿瘤免疫治疗的靶点和毒性作用与传统治疗措施没有重叠, 免疫效应细胞一旦被激活, 能通过特异识别肿瘤相关抗原杀死和破坏肿瘤细胞, 有效清除微转移灶, 预防肿瘤复发. 要进行肿瘤的免疫治疗, 首先需要确定免疫治疗的有效靶点.

■相关报道
范忠义等从乳腺文库中扩增*Cdc25C*基因，原核表达出人GST-Cdc25C融合蛋白用于细胞周期蛋白调控机制的研究；张鹏等克隆了MCF-7细胞的*Cdc25C*全长基因，得到了有磷酸酶活性的GST-Cdc25C融合蛋白.

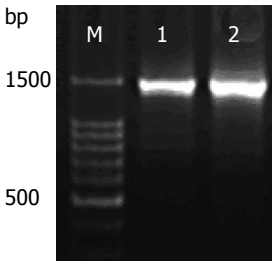


图 1 *Cdc25C*基因编码区PCR扩增. M: DNA marker(DL 1500); 1−2: Cdc25C基因编码区RT−PCR扩增产物.

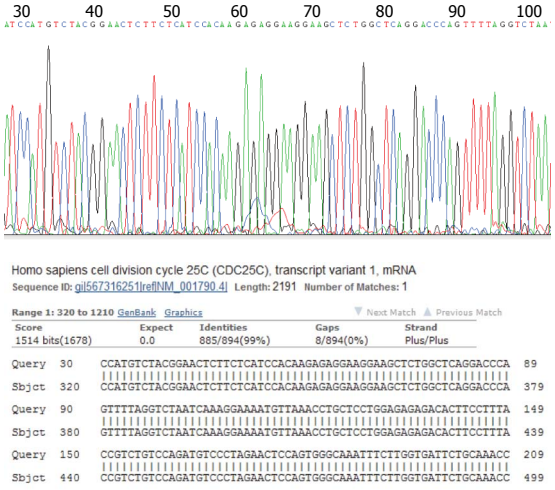


图 2 pMD18−T−Cdc25C阳性重组质粒测序与BLAST比对结果(部分).

列测定: 将测序正确的pMD18-T-Cdc25C重组表达质粒和pET-32a(+)载体分别用*BamH* Ⅰ、*Xho* Ⅰ双酶切2 h后, 电泳切胶回收Cdc25C DNA和pET-32a(+)载体大片段, 经T4连接酶16 ℃连接12 h后转化至感受态大肠杆菌*DH5α*, 筛选阳性克隆, 送往上海英骏生物技术有限公司, 测序验证重组克隆插入片段的序列信息.

1.2.5 Cdc25C蛋白的诱导表达及鉴定: 取测序正确的pET-32a(+)-Cdc25C重组表达质粒, 分别转化至BL21(DE3)、BL21(DE3)pLysS和Transetta(DE3)感受态细胞, 接种于3 mL Amp^+的LB培养液中, 37 ℃恒温摇床振荡培养至A600约为0.8; 分别采用0.25 mmol/L IPTG和ArtMedia™ Protein Expression(AM3)自动诱导表达培养基两种方法进行诱导. 其中IPTG方法采用1.5 mL菌液加0.7 μL 0.5 mol/L IPTG, 培养5 h; AM3方法则加入ArtMedia™ Protein Expression自动诱导表达培养基50 μL-1 mL, 培养12 h. 诱导的蛋白经纯化后, 以10%SDS-PAGE胶电泳, 考马斯亮蓝染色观察, 并用ABI4700质谱仪进行蛋白质谱分析.

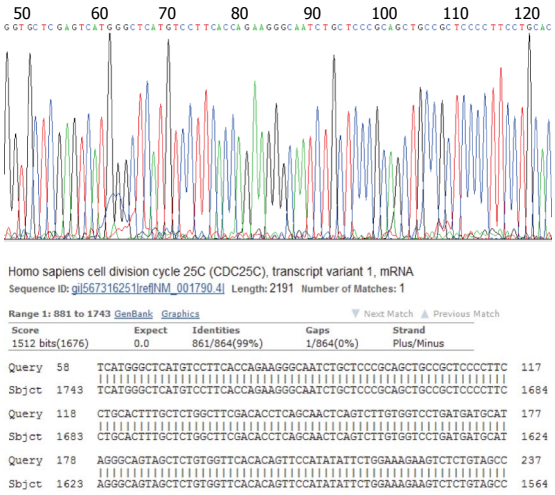


图 3 pET−32a(+)−Cdc25C阳性重组质粒测序与BLAST比对结果(部分).

2 结果

2.1 人*Cdc25C*基因的扩增 以人肝癌细胞Bel-7404总RNA为模板对*Cdc25C*基因编码区进行RT-PCR扩增, 琼脂糖凝胶电泳显示的扩增条带与预期PCR产物片段大小1442 bp接近(图1).

2.2 人Cdc25C克隆载体与表达载体的构建 pMD18-T-Cdc25C阳性重组质粒经测序及BLAST比对, 发现重组克隆中插入序列与要求完全一致(部分测序与比对结果如图2, 图中BLAST比对显示序列一致度为99%是由所测序列800 bp以后的区段造成的, 为技术原因, 专门对后面区段进行测序即显示与原序列一致性, 下同), 表明Cdc25C cDNA在PCR扩增过程中并未发性变异. 而pET-32a(+)-Cdc25C重组质粒经测序验证后, 克隆插入片段的序列信息也与目的基因相一致, 说明重组表达质粒构建成功(部分测序与比对结果如图3).

2.3 TRx-His-Cdc25C融合蛋白诱导表达及鉴定 大肠杆菌BL21(DE3)、Transetta(DE3)和BL21(DE3)pLysS经原核表达载体pET-32a(+)-Cdc25C转化, 在37 ℃, 0.25 mmol/L IPTG诱导5 h条件下均有TRx-His-Cdc25C融合蛋白(TRx-His相对分子质量约20 kDa, Cdc25C相对分子质量约53 kDa)明显表达(图4). 与此同时, 利用50 μL-1 mL ArtMedia™ Protein Expression自动诱导表达培养基培养12 h, 也均能诱导pET-32a(+)-Cdc25C转化菌株表达TRx-His-Cdc25C融合蛋白(图5). 将蛋白从SDS-PAGE胶切下后进行MALDI-TOF-TOF MS/MS分析, 通过肽段同源性分析证实为Cdc25C. 图6为Cdc25C蛋白全长氨基酸序列, 红色的肽段是质谱分析与Cdc25C完全匹

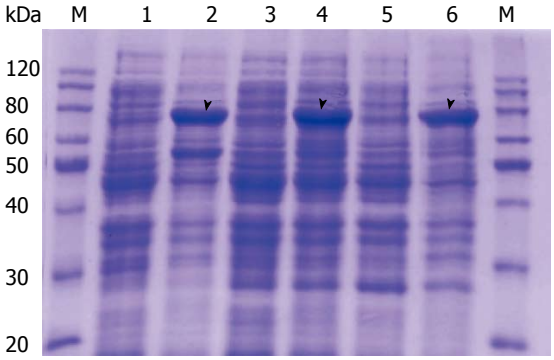


图 4 pET-32a(+)-Cdc25C重组质粒IPTG小量诱导表达. 图中箭头所指为TRx-His-Cdc25C融合蛋白. M: ProteinRuler™ Ⅱ Marker; 1: 未诱导的BL21(DE3)菌体蛋白; 2: IPTG诱导的BL21(DE3)菌体蛋白; 3: 未诱导的Transetta(DE3)菌体蛋白; 4: IPTG诱导的Transetta(DE3)菌体蛋白; 5: 未诱导的BL21(DE3)pLysS菌体蛋白; 6: IPTG诱导的BL21(DE3)pLysS菌体蛋白.

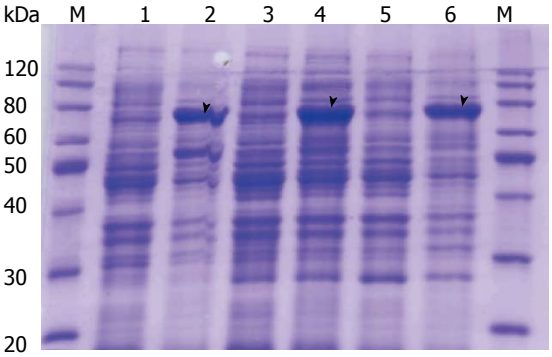


图 5 pET-32a(+)-Cdc25C重组质粒在ArtMedia™ Protein Expression自动诱导表达. 图中箭头所指为TRx-His-Cdc25C融合蛋白. M: ProteinRuler™ Ⅱ Marker; 1: 未诱导的BL21(DE3)菌体蛋白; 2: ArtMedia™ Protein Expression培养基诱导的BL21(DE3)菌体蛋白; 3: 未诱导的Transetta(DE3)菌体蛋白; 4: ArtMedia™ Protein Expression培养基诱导的Transetta(DE3)菌体蛋白; 5: 未诱导的BL21(DE3)pLysS菌体蛋白; 6: ArtMedia™ Protein Expression培养基诱导的BL21(DE3)pLysS菌体蛋白.

■创新盘点

具有地方特色, 针对广西高发癌进行, 从肝癌细胞株提取总RNA逆转录为cDNA后重组表达Cdc25C. 首次将其作为肝癌相关抗原, 为下一步研究做准备.

配的部分.

3 讨论

*Cdc25*基因是被Wickramasinghe等鉴别出来的[4], 可分为A、B 、C 3种亚型. Cdc25A表达增加可促进G_1/S及G_2/M检测点之间的转变; Cdc25B和Cdc25C在控制进入M期和G_2/M检测点具有重要的作用[5]. 有研究资料表明3种Cdc25亚型在G_1/S、G_2/M转变和M期中都有作用, 他们协同启动细胞进入S期和调控G_2/M的转变[6]. *Cdc25C*基因存在5种剪切体, 定位于染色体5q31, 由14个外显子和14个内含子组成, 全长约2115 bp, 其cDNA的开放阅读框架由1419个核苷酸组成, 编码473个氨基酸, 分子量约为53.23 kDa[3,7]. 在对Cdc25的研究过程中, 许多研究者逐渐认为细胞周期调节物可能是一种潜在的癌症治疗靶物质.

肿瘤最重要的特征是细胞的恶性增殖. 细胞周期调控机制的失活, 特别是G_1/S和G_2/M检测点的失活, 在细胞癌变过程中起着至关重要的作用[8,9]. 越来越多的证据表明Cdc25C的过度表达会导致细胞周期G_2/M检测点失活, 进而引发细胞的恶性增殖[3]. 通过抑制Cdc25C的表达或上调Cdc25C蛋白的降解途径可以有效抗肿瘤细胞增殖, 甚至诱发细胞凋亡[10-12]. 作为参与G_2/M检测点调控的关键分子之一, Cdc25C或其剪接体已被发现在前列腺癌、结肠癌、乳腺癌和女阴鳞状细胞癌等多种恶性肿瘤组织或细胞株中过度表达[13-16]. 因肿瘤发生与G_2/M检测点应答相关, 故推测Cdc25C磷酸酶也可以作为肿瘤治疗的有效靶点. 在以后的研究中可以合成Cdc25C磷酸酶小分子抑制剂, 通过抑制Cdc25C磷酸酶寻找新奇的细胞周期抗癌靶点[17].

目前国内外对Cdc25C的研究, 主要侧重于研究其作为细胞周期调控因子的分子结构, 生物特性和作用机制. 而将Cdc25C作为肿瘤相关抗原的研究非常有限. 为进一步了解Cdc25C在不同组织中的表达谱, 能否有效地引起机体免疫应答, 以及其与肿瘤发生、发展和预后的关系, 非常有必要利用基因工程的方法重组表达Cdc25C. 本研究在成功构建人*Cdc25C*基因(NM_001790.4)全长的克隆载体和原核表达载体基础上, 分别采用小剂量IPTG和ArtMedia™ Protein Expression(AM3)自动诱导表达培养基两种方法, 在3种大肠杆菌BL21(DE3)、BL21(DE3)pLysS和Transetta(DE3)中均成功诱导表达出Cdc25C的融合蛋白. 这为今后研究Cdc25C在细胞中的功能及其与肿瘤细胞恶性增殖的关系, 进一步开展抗体血清学检测、抗体制备及其相关的研究, 以及开发Cdc25C全蛋白抗原疫苗和肽表位疫苗等奠定了实验基础.

4 参考文献

1 Perdiguero E, Nebreda AR. Regulation of Cdc25C activity during the meiotic G2/M transition. *Cell Cycle* 2004; 3: 733-737 [PMID: 15136768 DOI: 10.4161/cc.3.6.906]

2 Wang X, Zhao H, Xu Q, Jin W, Liu C, Zhang H, Huang Z, Zhang X, Zhang Y, Xin D, Simpson AJ, Old LJ, Na Y, Zhao Y, Chen W. HPtaa database-potential target genes for clinical diagnosis and immunotherapy of human carcinoma. *Nucleic Acids*

■同行评价
本文具有一定的实验意义.

1 mstelfsstr eegssgsgps frsnqrkmln lllerdtsft vcpdvprtpv gkflgdsanl
61 silsggtpkr cldlsnlssg eitatqltts adldetghld ssglqevhla gmnhdqhlmk
121 cspaqllcst pngldrghrk rdamcsssan kendngnlvd semkylgspi ttvpkldknp
181 nlgedqaeei sdelmefslk dqeakvsrsg lyrspsmpen lnrprlkqve kfkdntipdk
241 vkkkyfsgqg klrkglclkk tvslcditit qmleedsnqg hligdfskvc alptvsgkhq
301 dlkyvnpetv aallsgkfqg liekfyvidc rypyeylggh iqgalnlysq eelfnfflkk
361 pivpldtqkr iiivfhcefs sergprmcrc lreedrslnq ypalyypely ilkggyrdff
421 peymelcepq sycpmhhqdh ktellrcrsq skvqegerql reqiallvkd msp

图 6 Cdc25C蛋白全长氨基酸序列. 图中红色的区域表示通过质谱法测序匹配的肽.

Res 2006; 34: D607-D612 [PMID: 16381942 DOI: 10.1093/nar/gkj082]
3 莫发荣. 细胞周期蛋白Cdc25C的研究. 生命的化学 2010; 30: 889-892
4 Wickramasinghe D, Becker S, Ernst MK, Resnick JL, Centanni JM, Tessarollo L, Grabel LB, Donovan PJ. Two CDC25 homologues are differentially expressed during mouse development. *Development* 1995; 121: 2047-2056 [PMID: 7635051]
5 Nilsson I, Hoffmann I. Cell cycle regulation by the Cdc25 phosphatase family. *Prog Cell Cycle Res* 2000; 4: 107-114 [PMID: 10740819 DOI: 10.1007/978-1-4615-4253-7_10]
6 Boutros R, Dozier C, Ducommun B. The when and wheres of CDC25 phosphatases. *Curr Opin Cell Biol* 2006; 18: 185-191 [PMID: 16488126 DOI: 10.1016/j.ceb.2006.02.003]
7 张晖, 陈秋生. 细胞周期调控因子Cdc25的研究进展. 中国兽医科学 2008; 38: 447-450
8 Kawabe T. G2 checkpoint abrogators as anticancer drugs. *Mol Cancer Ther* 2004; 3: 513-519 [PMID: 15078995]
9 Chen T, Stephens PA, Middleton FK, Curtin NJ. Targeting the S and G2 checkpoint to treat cancer. *Drug Discov Today* 2012; 17: 194-202 [PMID: 22192883 DOI: 10.1016/j.drudis.2011.12.009]
10 凌晖, 苏琦, 廖前进, 唐海林, 曾希. Cdc25C cyclin B1在二烯丙基二硫化物诱导人胃癌BGC823细胞G2/M期阻滞中的作用. 中国肿瘤临床 2008; 35: 1299-1302
11 Chou YW, Zhang L, Muniyan S, Ahmad H, Kumar S, Alam SM, Lin MF. Androgens upregulate Cdc25C protein by inhibiting its proteasomal and lysosomal degradation pathways. *PLoS One* 2013; 8: e61934 [PMID: 23637932 DOI: 10.1371/journal.pone.0061934]
12 Lo YH, Lin IL, Lin CF, Hsu CC, Yang SH, Lin SR, Wu MJ. Novel acyclic enediynes inhibit Cyclin A and Cdc25C expression and induce apoptosis phenomenon to show potent antitumor proliferation. *Bioorg Med Chem* 2007; 15: 4528-4536 [PMID: 17485212 DOI: 10.1016/j.bmc.2007.04.024]
13 Ozen M, Ittmann M. Increased expression and activity of CDC25C phosphatase and an alternatively spliced variant in prostate cancer. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 4701-4706 [PMID: 16000564 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-04-2551]
14 Hernández S, Bessa X, Beà S, Hernández L, Nadal A, Mallofré C, Muntane J, Castells A, Fernández PL, Cardesa A, Campo E. Differential expression of cdc25 cell-cycle-activating phosphatases in human colorectal carcinoma. *Lab Invest* 2001; 81: 465-473 [PMID: 11304565 DOI: 10.1038/labinvest.3780254]
15 Albert H, Santos S, Battaglia E, Brito M, Monteiro C, Bagrel D. Differential expression of CDC25 phosphatases splice variants in human breast cancer cells. *Clin Chem Lab Med* 2011; 49: 1707-1714 [PMID: 21675940 DOI: 10.1515/CCLM.2011.635]
16 Wang Z, Trope CG, Florenes VA, Suo Z, Nesland JM, Holm R. Overexpression of CDC25B, CDC25C and phospho-CDC25C (Ser216) in vulvar squamous cell carcinomas are associated with malignant features and aggressive cancer phenotypes. *BMC Cancer* 2010; 10: 233 [PMID: 20500813 DOI: 10.1186/1471-2407-10-233]
17 Garuti L, Roberti M, Pizzirani D. Synthetic small molecule Cdc25 phosphatases inhibitors. *Curr Med Chem* 2008; 15: 573-580 [PMID: 18336271 DOI: 10.2174/092986708783769722]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年5月28日; 22(15): 2145-2149
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

磁共振扩散加权成像在评估食管癌放射治疗后生存状态中的价值

刘 辉, 时高峰, 李如迅, 贾丽涛, 翟英敏, 邵 娴

刘辉, 时高峰, 李如迅, 贾丽涛, 翟英敏, 河北医科大学第四医院CT室 河北省石家庄市 050021
邵娴, 石家庄市妇产医院麻醉科 河北省石家庄市 050021
刘辉, 主管技师, 主要从事磁共振检查技术, 磁共振扩散成像在肿瘤方面的应用, 尤其是在肿瘤治疗后的疗效评估方面的应用.
河北省2013年医学科学研究重点课题计划基金资助项目, No. 20130244
作者贡献分布: 此课题由刘辉与时高峰设计; 时高峰对课题中出现的问题进行指导; 研究过程由刘辉、李如迅、贾丽涛及翟英敏共同完成; 数据分析由刘辉与邵娴共同完成; 本论文写作由刘辉完成.
通讯作者: 邵娴, 主治医师, 050021, 河北省石家庄市中山路160号, 石家庄市妇产医院. liujiayi20080219@126.com
电话: 0311-66696238
收稿日期: 2014-03-02 修回日期: 2014-04-08
接受日期: 2014-04-14 在线出版日期: 2014-05-28

Value of MR-DWI imaging in evaluation of living status of patients with esophageal cancer after radiotherapy

Hui Liu, Gao-Feng Shi, Ru-Xun Li, Li-Tao Jia, Ying-Min Zhai, Xian Shao

Hui Liu, Gao-Feng Shi, Ru-Xun Li, Li-Tao Jia, Ying-Min Zhai, Department of CT, Hebei Tumor Hospital, Shijiazhuang 050021, Hebei Province, China
Xian Shao, Shijiazhuang Maternity Hospital, Shijiazhuang 050021, Hebei Province, China
Supported by: the 2013 Medical Scientific Research Key Project of Hebei Province, No. 20130244
Correspondence to: Xian Shao, Attending Physician, Shijiazhuang Maternity Hospital, 160 Zhongshan Road, Shijiazhuang 050021, Hebei Province, China. liujiayi20080219@126.com
Received: 2014-03-02 Revised: 2014-04-08
Accepted: 2014-04-14 Published online: 2014-05-28

Abstract

AIM: To observe the relevance between apparent diffusion coefficient (ADC) values and the living status of patients with esophageal carcinoma using magnetic resonance diffusion-weighted imaging (MR-DWI).

METHODS: Eighty-eight patients with esophageal cancer who underwent radiotherapy from March 2010 to March 2011 were included. MR-DWI imaging was performed in the 1st, 2nd, 3rd, 4th, 5th, and 6th week during radiotherapy and the 1st week after radiotherapy, and ADC values were calculated. After radiotherapy, the patients were followed once every six months until March, 2013. The correlation between the patients' living status after radiotherapy and the ADC values was analyzed.

RESULTS: The ADC had significant difference between before and after radiotherapy ($P < 0.01$). From the 4th week, the correlation between ADC values and the patients' living status became significant ($P < 0.05$). The correlation was even more significant between the 6th week during radiotherapy and the 1st week after radiotherapy ($P < 0.01$). The correlation increased gradually form the 4th week during radiotherapy to the 1st week after radiotherapy. The smaller the average ADC values, the poorer the survival.

CONCLUSION: The correlation between the patients` living status and the ADC values during radiotherapy has statistical significance, and ADC values can be used to assess the prognosis of esophageal cancer patients.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Esophageal cancer; DWI; Radiotherapy; ADC values

Liu H, Shi GF, Li RX, Jia LT, Zhai YM, Shao X. Value of MR-DWI imaging in evaluation of living status of patients with esophageal cancer after radiotherapy. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(15): 2145-2149 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2145.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2145

摘要

目的: 利用磁共振扩散加权成像技术, 来观察食管癌患者放射治疗后的生存状态与放射治疗期间表观扩散系数(apparent diffusion coefficient, ADC)值的相关性.

■背景资料
我国是食管癌的高发国家. 放射治疗已成为中晚期食管癌主要治疗手段之一. 但是如何评价食管癌患者经过放射治疗后的远期生存状态, 是临床上面临的关键问题. 本文利用磁共振扩散成像技术来早期评价食管癌放射治疗后远期的生存状态.

■同行评议者
李革, 副教授, 延边大学附属医院

■研发前沿
目前研究集中在磁共振扩散加权成像(diffusion weighted imaging, DWI)对于肿瘤的发现、术前分级方面, 少有应用于放疗的报道, 难点在于对于食管癌放疗效果的早期评估.

方法: 收集2010-03/2011-03放射治疗的食管癌患者88例, 分别于放疗开始第1、2、3、4、5、6周以及放疗后1 wk行磁共振常规及扩散扫描, 测量并计算ADC值. 放射治疗结束后, 每半年对食管癌患者随访一次, 最终随访日期为2013-03. 统计食管癌患者放射治疗后的生存状态与放射治疗期间ADC值的相关性.

结果: 食管癌放射治疗前后ADC值存在显著性差异(P<0.01). 食管癌患者放射治疗期间第4周开始ADC值和生存状态呈现出在0.05水平上的显著相关性. 放疗期间第6周和放疗后1 wk的ADC与生存状态在0.01的水平上呈现显著相关性. 并且, 生存状态与第4、5、6周、放疗后1 wk ADC的相关性逐渐增强. 放射治疗的食管癌患者7 wk ADC值数据的平均值越小时, 患者生存的几率越小.

结论: 食管癌患者放射治疗后的生存状态与放射治疗期间ADC值有显著的相关性, 并且可以通过监测患者治疗过程当中ADC值的平均值来评估患者的预后.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 食管癌; 扩散加权成像; 放疗; ADC值

核心提示: 食管癌患者放射治疗后的生存状态与放射治疗期间表观扩散系数(apparent diffusion coefficient, ADC)值有显著的相关性, 并且可以通过监测患者治疗过程当中ADC值的平均值来评估患者的预后.

刘辉, 时高峰, 李如迅, 贾丽涛, 翟英敏, 邵娴. 磁共振扩散加权成像在评估食管癌放射治疗后生存状态中的价值. 世界华人消化杂志 2014; 22(15): 2145-2149 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2145.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2145

0 引言

我国是食管癌的高发国家[1]. 放射治疗已成为中晚期食管癌主要治疗手段之一. 但是如何评价食管癌患者经过放射治疗后的远期生存状态, 是临床上面临的关键问题. 如今随着磁共振扩散加权成像(diffusion weighted imaging, DWI)技术的应用[2], 使我们的视野从单纯的形态学改变到功能代谢方面的改变. 为我们评价放射治疗后的远期生存状态提供了一种新的思路. 本研究对88例经放射治疗的食管癌患者进行随访研究, 以探讨放射治疗期间表观扩散系数(apparent diffusion coefficient, ADC)值与放射治疗后生存状态相关性的临床应用价值.

■相关报道
国内相关报道, 有关于DWI在消化系肿瘤术前分级以及淋巴结转移方面的报道, 有关于DWI在肿瘤放射治疗靶区勾画方面的应用报道, 未见DWI在食管癌放疗疗效评估方面的报道.

1 材料和方法

1.1 材料 本课题收集我院2010-03/2011-03采用放射治疗的食管癌患者88例, 男51例, 女37例, 病例的选取标准: (1)该组患者放射治疗前均取得食管癌病理; (2)该组患者放射治疗前都进行食管造影检查; (3)该组患者磁共振检查前都进行体温测量, 未发现体温异常; (4)该组患者放射治疗过程中未使用化疗相关的药物. 放疗结束后对所收集病例每半年进行随访, 最终随访为2013-03. 随访要求: (1)询问生存状态; (2)询问目前一般情况, 比如进食是流食、半流食、还是普食; (3)询问近期是否复查, 以及有无咳嗽、发热等症状; (4)如果患者已经死亡, 需要了解该患者的死因及死亡时间. 至2013-03本组病例中, 存活患者42例用'0'表示, 死亡患者44例用'1'表示. 本组病例中1例非癌症死亡, 2例失访.

1.2 方法

1.2.1 扫描时间及扫描前准备: 所有食管癌患者放射治疗时间为6 wk, 分别于每周初行磁共振扫描. 第1周所得磁共振图像为放疗前. 并于放射治疗结束后1 wk, 也就是第7周行磁共振扫描, 所得图像为放疗后. 患者行磁共振检查前4-6 h禁食、水. 进入扫描室前, 告知患者扫描过程及注意事项, 并且训练患者呼吸. 进入扫描室后采取仰卧位双手抱头, 放置体部线圈及呼吸、心电门控. 采用西门子Avanto超导型磁共振扫描仪进行检查.

1.2.2 影像的采集: T1横断面(2D-FLASH): TR/TE = (100/4.7)ms; 翻转角为70度; FOV 400 mm×350 mm; 矩阵256×256; AVERAGE 1; 层厚4 mm; 层间距0.8 mm. T2横断面(2D-TSE): TR/TE = (1600/72)ms; 翻转角为150度; FOV 400 mm×350 mm; 矩阵384×256; AVERAGE 2; 层厚4 mm; 层间距0.8 mm. 扩散横断面: TR/TE = (6800/70)ms; FOV 400 mm×350 mm; 矩阵128×128; AVERAGE 8; 层厚3 mm; 层间距0 mm; 扩散敏感因子(b值0、800 s/mm^2).

1.2.3 放疗: 患者采用真空体膜固定, 行磁共振及增强CT扫描, 扫描范围包括颈部及胸部, 应用Pinnacle 8.0c治疗计划系统对所得到图像进行分析, 由放射和放疗科医师共同对大体肿瘤体积、临床靶体积及计划靶体积进行勾画. 勾画原则: (1)结合增强CT图像及磁共振扩散加权图像, 并结合食管镜检结果勾画大体肿瘤体积; (2)

表 1 所测ADC值与生存状态('1')的相关性

	第1周	第2周	第3周	第4周	第5周	第6周	放疗后1 wk
*r*值	−0.063	−0.216	−0.217	−0.334	−0.341	−0.508	−0.629
*P*值	0.586	0.200	0.196	0.047	0.049	0.004	0.000

ADC: 表观扩散系数; '1': 死亡病例.

表 2 7 wk ADC的均值与生存状态的相关性

B	S.E,	Wals	df	Sig.	Exp(B)
−2.161	0.983	4.831	1	0.028	0.115
4.621	2.109	4.799	1	0.028	101.609

ADC: 表观扩散系数.

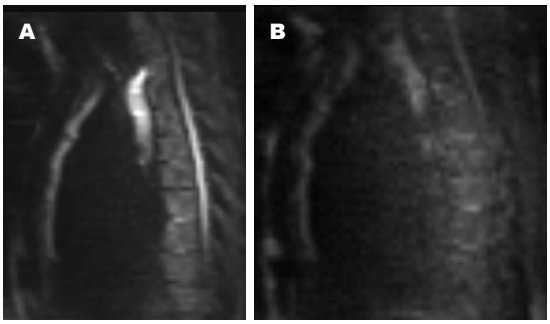


图 1 食管癌放疗前及放疗后扩散加权图像表现. A: 食管癌放疗前表现; B: 食管癌放疗后表现.

将大体肿瘤体积前后左右各外扩0.5 cm, 上下各外扩2.0 cm来确定临床靶体积; 将临床靶体积前后左右各外扩0.5 cm, 上下各外扩1.0 cm来确定计划靶体积; (3)对应像脊髓、心脏这样的危险器官所确定的照射剂量不得超过器官自身的耐受剂量. 靶区每日照射1次, 每周照射5次, 总照射次数为27-35次, 每次照射剂量为180-200 cGy.

1.2.4 扩散图像ADC值的测量: 由两位具有多年工作经验的放射科医师对图像进行评价, 将所得扩散图像通过影像后处理工作站自动拟合成ADC图. 选择显示肿瘤最大、最清楚的层面作为感兴趣区, 对于同一患者, 每幅ADC图感兴趣区选择尽量在同一区域, 以平扫及DWI作为参照. 每个兴趣区测量3个ADC值. 感兴趣区的选择要注意避开肿瘤坏死、肿瘤内钙化、血管、周围正常组织等.

统计学处理 本研究应用SPSS19.0统计软件进行数据处理, 所用到的统计方法有显著性差异分析法、相关性分析法、Logistic回归分析法. 在对食道癌放射治疗前后ADC值是否具有显著差异性的分析中, 用显著性差异法进行比较, $P<0.05$为通过检验; 在判断所测ADC值与生存状态是否相关的分析中, 用到了相关性分析法, 检测水准$P<0.05$判断为显著相关; 在判断ADC值均值与患者生存几率的关系中, 用到了Logistic回归分析, 检测水准为$P<0.05$为通过检验, 差异有统计学意义.

2 结果

2.1 食管癌放射治疗前后ADC值的比较 放射治疗前后食管癌病变ADC值分别为1.49 mm^2/s、2.47 mm^2/s, $P = 0.001$($P<0.05$)存在显著性差异. 食管癌扩散加权图像表现如图1.

2.2 所测ADC值与生存状态的相关性分析 从第4周开始, ADC值与生存状态呈现显著相关性关系($P<0.05$), 并且从第4周开始, 相关性越来越强. 相关系数为负, 说明ADC值越大, 生存状态越背离于'1', 即患者越趋向于存活(表1).

2.3 7周ADC的均值与生存状态的相关性分析 以7周ADC的均值为自变量, 生存状态为因变量建立Logistic模型, 模型显示患者7 wk ADC数据的平均值越小时, 患者生存的几率越小($P = 0.028<0.05$, 表2).

3 讨论

3.1 扩散加权成像的相关知识 扩散成像是目前应用于临床的检查方法中, 惟一可以测量人体内水分子扩散运动的方法. 扩散运动反应的是微观分子的运动变化, 间接反应组织的空间变化及病理变化, 能够早期反应出组织间的细微差异. 但是人体一些生理性的运动以及温度、

■创新盘点
本研究首先发现食管癌放疗前后表观扩散系数有显著性差异, 所以表观扩散系数可以作为评价食管癌放疗效果的指标, 并且从第四周开始测得的表观扩散系数与患者的生存状态相关性逐渐增强.

■应用要点
通过测量食管癌放疗期间的表观扩散系数, 可以对放疗的效果, 以及患者远期生存状态进行评价. 为是否增加其他方法的治疗提供早期依据, 从而延长患者生存期.

血流灌注等因素都会影响扩散图像. 因此我们用ADC值来评价扩散成像的结果[3].

b值的选择对DWI图像及ADC值的测量至关重要. 较小b值时, 主要反应的是组织的灌注变化, 不能真实的反应水分子的扩散情况. 较大b值时, 扩散加权较大, 对扩散更加敏感, 但同时也增加了信号的衰减, 图像越容易变形, 模糊. 不同脏器或组织自身的水分子所处的周围环境不尽相同、扩散特点不同, 所以并不是某一种b值适合于所有的脏器. 曾治民等[4]研究发现b = 600 s/mm^{2}时对于肺癌的显示效果最佳. 张晓鹏等[5]研究发现b = 1000 s/mm^{2}时对于胃癌的显示效果最佳. 郭雪梅等[6]认为b = 800 s/mm^{2}时, 对于前列腺肿瘤的诊断有很高的准确性. 本研究选用b = 800 s/mm^{2}所得到的扩散图像可以清晰的显示食管癌病灶.

3.2 扩散加权成像对肿瘤显示方面的应用 肿瘤细胞与正常组织细胞的不同主要表现在, 肿瘤细胞增殖较正常细胞活跃, 细胞的数量增加. 并且肿瘤细胞形态发生异常, 表现为多型性. 导致细胞外间隙变小, 从而阻碍了水分子的自由扩散运动, 扩散图像上表现为信号的增高. 张连华等[7]的研究显示DWI诊断膀胱癌的敏感度、特异度和准确度分别为92.3%、75.0%和90.4%. 李莉等[8]的研究显示DWI诊断恶性肿瘤及全身转移的敏感度分别为96.6%和69.1%, 特异度均为53.5%, 准确度为88.1%和66.1%. 罗宁斌等[9]的研究显示磁共振扩散成像对乳腺癌淋巴结转移诊断具有重要的价值. 陆军等[10]的研究显示, 在肺癌放疗肿瘤靶区勾画过程中应用DWI技术并配合常规扫描, 可明确判断肿瘤勾画范围的占63.3%. 本研究食管癌在扩散图像上表现为高信号, 能够很好地区分肿瘤和正常组织.

3.3 扩散加权成像对肿瘤治疗疗效评估方面的应用价值 恶性肿瘤在接受有效治疗后, 由于肿瘤细胞的坏死和凋亡, 致使细胞的数量减少、密度减低, 细胞间隙增大, 水分子扩散状态重新变得自由, 在扩散图像上往往表现为信号降低以及ADC值的升高. 高影等[11]研究显示乳腺癌新辅助化疗前ADC值为0.98 mm^2/s±0.16 mm^2/s、化疗后为1.22 mm^2/s±0.26 mm^2/s, 表明ADC值可以作为新辅助化疗早期评价指标. 田霞等[12]研究表明肺癌脑转移瘤放疗前后瘤灶实质区ADC值差异显著, ADC值有助于肺癌脑转移瘤放疗前后疗效评估. 聂翔等[13]研究发现鼻咽癌放疗前后病变ADC值有显著差异, 并且放疗前ADC值与体积消退百分比呈负相关, 扩散加权成像可以早起预测肿瘤治疗效果. 马霄虹等[14]研究发现扩散加权成像通过反映细胞密度或肿瘤血管密度可以早期判断肝癌介入治疗的效果, 该方法早于肿瘤形态学的变化. 张丽芝等[15]的研究发现扩散加权成像可以无创并准确的评价乳腺浸润性导管癌新辅助化疗的治疗效果.

本研究通过对放射治疗的食管癌病例随访发现食管癌患者放射治疗期间第4周开始ADC值和生存状态呈现出在0.05水平上的显著相关性. 研究表明食管癌患者放射治疗至少需要3 wk以上才能发挥治疗作用, 而3 wk以内的治疗对患者生存率的贡献不大. 放疗期间第6周和放疗后1 wk的ADC与生存状态在0.01的水平上呈现显著相关性. 并且, 生存状态与第4、5、6周、放疗后1 wk ADC的相关性在逐渐增强. 表明患者在放射治疗半程到全程的过程中是进行性获益. 另外放射治疗的食管癌患者7 wk ADC值数据的平均值越小时, 患者生存的几率越小. 表明ADC值越小残存肿瘤细胞越多, 反之治疗效果越好, 为后续治疗提供依据. 本研究最长随访时间为3年, 今后的研究中会进一步对该组患者进行随访, 以期能达到五年甚至更长的随访时间, 故这方面有待进一步研究.

总之, 食管癌放射治疗前后ADC值存在显著性差异, 说明治疗方案有效, 并且可以根据ADC值来判断患者的治疗效果. 放射治疗期间ADC值与食管癌患者的远期生存状态有明显的相关性, 并且可以通过监测患者的治疗过程当中ADC值的平均值来评估患者的预后. 必将有广泛的临床应用前景和价值.

4 参考文献

1 曾红梅, 郑荣寿, 张思维, 邹小农, 李霓, 代珍, 陈万青. 中国食管癌发病趋势分析和预测. 中华预防医学杂志 2012; 46: 593-597
2 党荣广, 韩春. 弥散加权成像技术在食管癌精确放疗中的应用价值. 国际肿瘤学杂志 2012; 39: 41-44
3 毛瑜, 陈韵彬. 磁共振弥散加权成像在肝脏疾病中的临床应用. 实用放射学杂志 2008; 24: 126-128
4 曾治民, 廖琴, 蔡婧, 刘安文. 磁共振扩散加权成像及ADC值测量对非小细胞肺癌肺门纵隔淋巴结的鉴别诊断价值. 中国肿瘤临床 2012; 39: 706-710
5 张晓鹏, 唐磊, 孙应实, 李洁, 曹崑. 胃癌MR扩散加权成像扩散敏感因子的选择及其与常规序列的对照研究. 中华放射学杂志 2007; 41: 1339-1343
6 郭雪梅, 王霄英, 吴冰, 蒋学祥. 前列腺外周带癌扩散加权成像诊断标准. 中国医学影像技术 2009; 25: 1235-1238
7 张连华, 朱寅杰, 薄隽杰, 刘东明, 黄翼然. 磁共振扩散

加权成像在膀胱肿瘤诊断中的应用价值. 肿瘤 2012; 32: 1025-1029
8 李莉, 任转琴, 陈涛, 张雷, 李静, 苟晓光, 李杨. 大范围扩散加权成像和全身一体化MRI在恶性肿瘤及全身转移诊断中的应用. 实用放射学杂志 2010; 26: 1661-1665
9 罗宁斌, 苏丹柯, 刘丽东, 金观桥, 朱旭娜, 谢东. 弥散加权成像对乳腺癌腋窝淋巴结转移的诊断价值. 实用放射学杂志 2012; 28: 1549-1552, 1568
10 陆军, 赵海涛, 朱勇, 石梅, 魏丽春, 薛莹. 磁共振成像在肺癌放疗肿瘤区确认中的价值. 医疗卫生装备 2010; 31: 76-77, 80
11 高影, 程流泉, 刘梅, 张艳君, 王建东, 郑一琼, 李捷, 李席如. MRI对局部进展期乳腺癌新辅助化疗早期疗效评价. 中国医学影像学杂志 2012; 20: 321-324
12 田霞, 陆紫微, 孙琪, 谢道海. MRI在肺癌脑转移瘤诊断和放疗疗效判定中的价值. 中国血液流变学杂志 2012; 22: 152-155
13 聂翔, 李金高. 鼻咽癌磁共振弥散加权成像与放疗疗效的相关性研究. 实用癌症杂志 2011; 26: 627-629
14 马霄虹, 周纯武. MR扩散加权及灌注成像对肝癌介入治疗疗效的研究进展. 国际医学放射学杂志 2013; 36: 344-348
15 张丽芝, 曾涵江, 黄子星, 余建群. MRI扩散加权成像对乳腺浸润性导管癌新辅助化疗效果的评价. 中国普外基础与临床杂志 2013; 20: 88-91

编辑 郭鹏 电编 都珍珍

■同行评价
本文有一定的创新性和科学性, 对临床工作有意义, 具有可读性.

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

• 消息 •

中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》影响因子0.873

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

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

世界华人消化杂志 2014年5月28日; 22(15): 2150-2154
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

多潘立酮联合中药自拟和胃方对糖尿病胃轻瘫患者治疗的效果

谢英姿, 张茂华

■背景资料
随着现代生活水平的提高, 我国糖尿患者数正呈逐年上升的趋势, 而糖尿病胃轻瘫作为其消化系慢性并发症之一, 也随之增多, 严重影响患者的生活质量. 在诊治上西医治疗存在一定局限性, 中西医结合治疗糖尿病胃轻瘫(diabetic gastroparesis, DGP)前景是诱人的.

谢英姿, 张茂华, 浙江省台州市中心医院中西医结合科 浙江省台州市 318000
谢英姿, 主治中医师, 主要从事中西医结合内科糖尿病代谢综合征的研究.
作者贡献分布: 谢英姿与张茂华对此文所作贡献均等; 此课题由张茂华设计; 研究过程由谢英姿与张茂华操作完成, 数据分析由谢英姿完成; 本论文写作由谢英姿与张茂华共同完成.
通讯作者: 谢英姿, 主治中医师, 318000, 浙江省台州市经济开发区东海大道999号, 浙江省台州市中心医院中西医结合科.
xieyz@enzemed.com
电话: 13586079793
收稿日期: 2014-04-11 修回日期: 2014-04-29
接受日期: 2014-04-30 在线出版日期: 2014-05-28

Heweifang combined with domperidone for treatment of diabetic gastroparesis

Ying-Zi Xie, Mao-Hua Zhang

Ying-Zi Xie, Mao-Hua Zhang, Department of Integrated TCM & Western Medicine, Taizhou Central Hospital, Taizhou 318000, Zhejiang Province, China
Correspondence to: Ying-Zi Xie, Attending Physician, Department of Integrated TCM and Western Medicine, Taizhou Central Hospital, 999 Donghai Raod, Economic Development Zones, Taizhou 318000, Zhejiang Province, China. xieyz@enzemed.com
Received: 2014-04-11 Revised: 2014-04-29
Accepted: 2014-04-30 Published online: 2014-05-28

Abstract

AIM: To assess the clinical effect of Heweifang combined with domperidone in the treatment of diabetic gastroparesis (DGP).

METHODS: One hundred and twenty patients with DGP were divided into a Heweifang group, a domperidone group and a combination treatment group, which were treated with Heweifang alone, domperidone alone, and Heweifang combined with domperidone, respectively. The clinical effects and symptom score between pretreatment and post-treatment, as well as adverse reactions and recurrence rate were compared between different groups.

RESULTS: The total response rate in the combination treatment group was significantly higher than those in the Heweifang group and domperidone group (82.50% *vs* 60.00%, 50.00%, $P < 0.05$). The symptom scores after treatment were significantly lower than those before treatment for all the three groups (9.82 ± 5.86 *vs* 12.28 ± 5.46, 10.26 ± 4.84 *vs* 12.19 ± 5.50, 5.99 ± 3.63 *vs* 12.45 ± 4.99, $P < 0.05$). The symptom score in the combination treatment group was significantly lower than those in the Heweifang group and domperidone group (5.99 ± 3.63 *vs* 9.82 ±5.86, 10.26 ± 4.84, $P < 0.05$). Only 2 cases in the domperidone group developed slight dizziness and abdominal pain, which spontaneously resolved in a short time. There was no significant difference in the incidence of adverse reactions among the three groups (0.00% *vs* 5.00% *vs* 0.00%, $P > 0.05$). The recurrence rate in the combination treatment group was significantly lower than those in the Heweifang group and domperidone group (15.00% *vs* 45.00%, 52.50%, $P < 0.05$).

CONCLUSION: Heweifang combined with domperidone can improve the symptom score in patients with DGP, with a lower recurrence rate and better curative effect than either drug alone.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Heweifang; Domperidone; Diabetic gastroparesis; Clinical effect

Xie YZ, Zhang MH. Heweifang combined with domperidone for treatment of diabetic gastroparesis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(15): 2150-2154 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2150.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2150

摘要

目的: 探讨和胃方联合多潘立酮治疗糖尿病胃轻瘫(diabetic gastroparesis, DGP)的临床疗效.

方法: 按照随机数字表法将我院收治的120例

■同行评议者
杨钦河, 教授, 暨南大学医学院中医系

DGP患者均分为和胃方组、多潘立酮组和联合组, 和胃方组给予和胃方治疗, 多潘立酮组给予多潘立酮治疗, 联合组给予和胃方+多潘立酮治疗, 比较3组患者临床疗效、治疗前后症状评分改善情况、用药后不良反应以及复发率.

结果: 联合组患者治疗总有效率显著高于和胃方组及多潘立酮组(82.50% *vs* 60.00%)、(82.50% *vs* 50.00%), 差异具有统计学意义(P<0.05); 3组患者治疗后症状评分均显著下降, 与治疗前比较(9.82±5.86 *vs* 12.28±5.46)、(10.26±4.84 *vs* 12.19±5.50)、(5.99±3.63 *vs* 12.45±4.99), 差异具有统计学意义(P<0.05); 联合组患者治疗后症状评分显著低于和胃方组及多潘立酮组(5.99±3.63 *vs* 9.82±5.86)、(5.99±3.63 *vs* 10.26±4.84), 差异具有统计学意义(P<0.05); 仅多潘立酮组患者用药后发生2例轻微头晕、腹痛, 短时间内自行消失, 3组患者用药后不良反应发生率比较(0.00% *vs* 5.00% *vs* 0.00%), 差异无统计学意义(P>0.05); 联合组患者治疗后8周复发率明显低于和胃方组和多潘立酮组(15.00% *vs* 45.00%)、(15.00% *vs* 52.50%), 差异具有统计学意义(P<0.05).

结论: 和胃方联合多潘立酮能够显著改善DGP患者临床症状, 无不良反应, 复发率也较低, 较单独用药临床疗效更佳.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 和胃方; 多潘立酮; 糖尿病胃轻瘫; 疗效

核心提示: 本研究中使用自拟和胃方作为基础方治疗, 方中陈皮可破滞气、益脾胃, 木香有行脾胃大肠之气滞、止痛的效果, 枳壳能行气除癌、消积导滞, 香附则可疏肝解郁、行气散结之功, 紫苏梗能宽中行气止痛, 5药均为治疗胃失和降、脾运化失健、痞满等症的常用胃动力中药, 再加鸡内金以健脾消食. 诸药合用共奏行气除痞、健脾养胃、消积化滞之功效.

谢英姿, 张茂华. 多潘立酮联合中药自拟和胃方对糖尿病胃轻瘫患者治疗的效果. 世界华人消化杂志 2014; 22(15): 2150-2154
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2150.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2150

0 引言

糖尿病胃轻瘫(diabetic gastroparesis, DGP)是糖尿病(diabetes mellitus, DM)的常见并发症, 属于不伴有机械性梗阻的胃动力障碍. DGP临床发病率较高, 约占DM的50%-75%, 患者主要表现为厌食、呕吐、恶心、腹胀、早饱等症状, 影响正常生活和血糖波动预测, 影响糖尿病血糖控制, 甚至继发器官病变[1]. 因此, 积极预防和治疗DGP是DM治疗过程中的重要环节. 我院采用和胃方联合多潘立酮治疗DGP取得了令人满意的临床效果, 现报道如下.

1 材料和方法

1.1 材料 选取我院2013-01/2014-01我院收治的120例DGP患者作为研究对象. 所有患者均符合中华医学会糖尿病学分会发布的《中国糖尿病诊治指南简介》[2]中DM西医诊断标准、《内科疾病诊断标准(第二版)》[3]中DGP西医诊断标准和《中药新药临床研究指导原则》[4]中痞满证的中医诊断标准、全国中医药行业高等教育“十二五”规划教材《中医内科学(第九版)》[5]DGP中医诊断标准. 患者DM病程均在5年以上, 胃排空症状持续3 mo以上. 排除入选前1 mo内服用镇静剂、胆碱能抬抗剂、抑酸剂、促动力药物及其他可对本研究结果产生影响药物的患者; 近期血糖控制效果不佳, 出现糖尿病急性并发症者; 对本研究使用药物过敏者; 有腹部手术史者; 严重脏器功能不全或有消化性疾病者. 按照随机数字表法将120例患者均分为和胃方组、多潘立酮组和联合组, 3组患者在性别、年龄、病程及症状评分等上差异无统计学意义(P>0.05)(表1), 具有可比性. 所有患者均签署知情同意书, 愿意配合为期8 wk随访.

1.2 方法

1.2.1 治疗: 3组患者均给予综合干预, 包括(1)饮食控制: 控制脂肪胆固醇摄入量, 补充维生素、钙和铁, 增加磷的摄入, 少食多餐, 使摄入的糖分平均分配, 禁食糖果、糕点, 多吃粗纤维含量较高的糙米、面、蔬菜等; (2)糖尿病健康教育: 指导患者掌握糖尿病相关病理知识, 明确糖尿病是一个长期治疗的过程, 提高患者对血糖控制的重视程度, 提高患者对治疗的依从性; (3)血糖控制: 口服降糖药或胰岛素注射治疗, 将血糖稳定控制在较好水平, 即空腹血糖不超过8 mmol/L, 餐后2 h血糖不超过10 mmol/L, 糖化血红蛋白不超过7.0 g/L[6]. 合并其他疾病者可给予对症治疗. 和胃方组患者给予中药自拟和胃方辨证治疗, 基本方: 陈皮、木香、枳壳、香附、紫苏梗、鸡内金各10 g. 肝胃不和者予柴胡、白芍、佛手、黄连等加减; 脾胃湿热者予白花蛇

■研发前沿
近年来糖尿病发病率迅速增加, DGP的发病率也不断增加, 迫切需要借助现代研究手段, 采用多学科协作研究对其发病机制进行更深入的临床和实验研究, 通过将新技术新方法逐步运用在治疗DGP研究中, 从而寻找出治疗DGP的最佳途径.

■相关报道
研究表明西医治疗只是在控制血糖的基础上应用促胃动力药, 疗效虽然得到大家一致认可, 但有一定的不良反应发生, 中医药无论是辨证论治, 还是固定方剂加减治疗DGP都具有一定的临床疗效, 与西药相比, 优势疗效显著.

表 1 两组患者临床资料比较 (n = 40)

分组	性别n(%)		平均年龄(岁)	平均病程(年)	症状评分(分)
	男	女			
和胃方组	21(52.50)	19(47.50)	52.82 ± 8.13	12.11 ± 3.71	12.28 ± 5.46
多潘立酮组	22(55.00)	18(45.00)	53.57 ± 8.76	11.79 ± 3.51	12.19 ± 5.50
联合组	20(50.00)	20(50.00)	53.22 ± 8.59	11.95 ± 2.82	12.45 ± 4.99

舌草、藿香、佩兰、白英等加减; 脾胃虚弱者予茯苓、白术、党参等加减; 胃阴不足者予沙参、麦冬、天花粉、石斛等加减; 瘀积者加丹参、莪术等[7]. 1剂/d, 水煎至100 mL, 混匀后餐后30 min温服, 2次/d, 连续治疗4 wk. 多潘立酮组患者给予多潘立酮治疗, 10 mg/次, 3次/d, 分别于三餐前30 min口服, 连续治疗4 wk. 联合组患者给予和胃方联合多潘立酮治疗, 用药剂量和方法与前两组相同, 治疗时间也为4 wk. 注意治疗期间禁止服用其他治疗DGP的药物以及可对研究结果产生影响的促动力药物, 忌食辛辣、肥腻食物, 避免风寒和劳累.

1.2.2 观察指标: 3组患者治疗4 wk后观察临床疗效, 比较治疗前后症状评分改善情况、用药后不良反应以及随访8 wk复发率. 症状评分参照《中药新药临床研究指导原则》对患者脘腹胀满、上腹疼痛、早饱、恶心呕吐、嗳气、反酸、大便改变等主要临床症状进行症状量化评分, 每种症状0-3分, 分值越高症状越严重. 脘腹胀痛: 0分: 无腹胀感; 1分: 轻微胀满, 偶尔发作, 1 h内减轻或消失, 不影响正常工作和休息; 2分: 胀满明显, 但可忍受, 偶尔发作, 1-3 h内较为严重, 影响正常工作和休息; 3分: 胀满明显, 难以忍受, 持续不止, 3 h内不能好转, 常需服理气消导药缓解. 上腹疼痛: 0分: 无腹痛感; 1分: 轻微疼痛, 偶尔发作, 1 h内减轻或消失, 不影响正常工作和休息; 2分: 疼痛可以忍受, 发作频繁, 1-3 h内较为严重, 影响正常工作和休息; 3分: 疼痛难以忍受, 持续不止, 3 h内仍不能好转, 常需服止痛药缓解. 早饱: 0分: 无早饱症状, 食量正常; 1分: 偶尔发生早饱, 不影响正常食量; 2分: 早饱时有发作, 进食量减少1/3; 3分: 早饱严重, 进食量减少1/2. 恶心呕吐: 0分: 无恶心呕吐症状; 1分: 偶有恶心; 2分: 时有恶心, 偶有呕吐; 3分: 频频恶心, 有时呕吐. 嗳气: 0分: 无嗳气; 1分: 嗳气次数＜4次/d; 2分: 嗳气次数5-10次/d; 3分: 嗳气次数>10次/d. 反酸: 0分: 无反酸; 偶有反酸; 2分: 时有反酸; 3分: 频频反酸. 大便改变: 0分: 大便正常; 1分: 大便质改变, 便塘或便干, 次数未变; 2分: 1-2次/d, 或2-3 d/次; 3分: ≥3次/d, 或>3 d/次. 疗效评价标准: 治愈: 临床症状和体征完全消失, 症状评分下降95%以上; 显效: 临床症状和体征基本消失, 症状评分下降70%-94%; 有效: 临床症状和体征有所改善, 症状评分下降30%-69%; 无效: 临床症状和体征无改善, 症状评分下降30%以下或有所升高[8]. 总有效 = 治愈+显效+有效. DGP复发判断标准: 症状评分较治疗4 wk下降50%以上.

统计学处理 使用SPSS17.0统计分析, 用mean±SD表示计量资料, 采用t检验, 用百分比表示记数资料, 采用χ^2检验, P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 3组患者临床疗效比较 联合组患者治疗总有效率显著高于和胃方组及多潘立酮组, 差异具有统计学意义(P<0.05); 和胃方组总有效率略高于多潘立酮组, 但差异无统计学意义(P>0.05)(表2).

2.2 3组患者治疗前后症状评分改善情况比较 3组患者治疗后症状评分均显著下降, 与治疗前比较, 差异具有统计学意义(P<0.05); 联合组患者治疗后症状评分显著低于和胃方组及多潘立酮组, 差异具有统计学意义(P<0.05); 和胃方组治疗后症状评分略低于多潘立酮组, 但差异无统计学意义(P>0.05)(表3).

2.3 3组患者用药后不良反应及复发率比较 仅多潘立酮组患者用药后发生2例轻微头晕、腹痛, 短时间内自行消失, 3组患者用药后不良反应发生率比较, 差异无统计学意义(P>0.05); 联合组患者治疗后8 wk复发率明显低于和胃方组和多潘立酮组, 差异具有统计学意义(P<0.05); 和胃方组复发率略低于多潘立酮组, 但差异无统计学意义(P>0.05)(表4).

■创新盘点
中西医结合治疗疗效确切，西医常规治疗的基础上，给以中药汤剂治疗，通过辨证论治，对症治疗，疗效确切.

表 2 3组患者临床疗效比较 (n = 40, n(%))

分组	治愈	显效	有效	无效	总有效
和胃方组	1(2.50)	3(7.50)	20(50.00)	16(40.00)	24(60.00)
多潘立酮组	1(2.50)	2(5.00)	17(42.50)	20(50.00)	20(50.00)
联合组	7(17.50)	5(12.50)	21(52.50)	7(17.50)[ac]	33(82.50)[ac]

[a]P<0.05 *vs* 和胃方组; [c]P<0.05 *vs* 多潘立酮组.

表 3 3组患者治疗前后症状评分改善情况比较 (n = 40, mean ± SD, 分)

分组	治疗前	治疗后
和胃方组	12.28 ± 5.46	9.82 ± 5.86[a]
多潘立酮组	12.19 ± 5.50	10.26 ± 4.84[a]
联合组	12.45 ± 4.99	5.99 ± 3.63[ace]

[a]P<0.05 *vs* 同组治疗前; [c]P<0.05 *vs* 和胃方组; [e]P<0.05 *vs* 多潘立酮组.

表 4 3组患者用药后不良反应及复发率比较 (n = 40, mean ± SD, 分)

分组	不良反应	复发
和胃方组	0(0.00)	18(45.00)
多潘立酮组	2(5.00)	21(52.50)
联合组	0(0.00)	6(15.00)[ac]

[a]P<0.05 *vs* 和胃方组; [c]P<0.05 *vs* 多潘立酮组.

3 讨论

DGP是以胃排空延迟为主要特征的DM并发症, 患者无典型胃肠道器质性病变, 临床主要表现为脘腹胀满、上腹疼痛、早饱、恶心呕吐、嗳气、反酸、大便改变等[9]. DGP的主要发病原因为DM患者血糖控制不佳高血糖引起胃肠动力障碍, 主要表现为平滑肌收缩力下降、胃蠕动减弱, 胃窦张力下降、胃排空延迟和幽门收缩时间延长[9].

传统中医学认为DGP属“痞满”“噫气”等范畴, 尤其着眼于胀满症状, 一般以“痞满证”论治[10]. 该病的中医病机为肝气郁滞、脾气不运、胃失和降、积滞内停, 临床治疗以疏肝理气、运脾和胃为主[11]. 本研究中使用自拟和胃方作为基础方治疗, 方中陈皮可破滞气、益脾胃, 木香有行脾胃大肠之气滞、止痛的效果, 枳壳能行气除癌、消积导滞, 香附则可疏肝解郁、行气散结之功[12], 紫苏梗能宽中行气止痛, 5药均为治疗胃失和降、脾运化失健、痞满等症的常用胃动力中药, 再加鸡内金以健脾消食. 诸药合用共奏行气除痞、健脾养胃、消积化滞之功效. 现代药理学研究表明陈皮中挥发油、黄酮类为主要成分, 挥发油中的D-柠檬稀和黄铜中的橙皮苷具有促进胃排空和肠推进作用. 临床实践应用结果表明, 陈皮具有调节消化系统功能和预防胃肠道疾病的作用, 还具有抗休克、抗氧化、抗菌、抗过敏等多重药效[13]. 木香的主要成分也为挥发油, 相关文献报道指出, 木香煎剂对胃排空及肠推进功能均有促进作用, 且呈现剂量依赖性, 尤其表现在促胃动力效果上. 枳壳主要成分也为挥发油和黄酮类, 对人体胃肠平滑肌具有兴奋作用、对离体平滑肌具有抑制作用, 促胃动力效果良好. 香附现代药理学研究表明, 其具有解热镇痛、解痉、保护胃黏膜、降血糖、促进离体脂肪组织分解等药理活性[14]. 诸药联合能够有效改善DGP患者胃壁微循环和胃肠神经病变, 促进平滑肌收缩力增强和消化液分泌, 从而有效改善患者临床症状.

多潘立酮是西医常用促胃动力剂, 能够直接作用于胃肠壁, 增强食管下部括约肌张力和胃蠕动、促进胃排空、协调胃与十二指肠运动, 有效预防胃食管反流的发生, 解除胃动力障碍, 且多潘立酮对脑内多巴胺受体无抑制作用, 因此用药后不会发生精神、神经不良反应, 安全性较高[15]. 本研究结果显示, 单用中药或西药, DGP患者症状评分均有明显改善, 总有效率分别为60%和50%, 表明二者在治疗DGP上均有确切疗效, 但从相关指标上来看, 中药效果略优于西药. 分析原因主要为中药辨证治疗能够达到标本兼治之效果, 较西药治疗效果更佳. 联合组患者临床疗效、症状评分改善情况均明显优于单用药组患者, 治疗后8 wk复发率也显著下降. 表明中药和西药能够相互促进, 增强临床疗效.

总之, 和胃方联合多潘立酮能够显著改善DGP患者临床症状, 无不良反应, 复发率也较低,

■同行评价
本研究探讨和胃方联合多潘立酮治疗糖尿病胃轻瘫的临床疗效, 有一定的参考价值.

是治疗DGP的首选方式.

4 参考文献

1 刘云, 孙岩, 薛绮萍, 李建民. 糖尿病胃轻瘫的诊断及发病机制. 世界华人消化杂志 2007; 15: 290-293
2 中华医学会糖尿病学分会. 中国糖尿病诊治指南简介. 中国全科医学 2013; 10: 545
3 贝政平, 蔡映云, 主编. 内科疾病诊断标准. 第2版. 北京: 科学出版社, 2007: 171-179
4 郑筱萸. 中药新药临床研究指导原则. 北京: 中国医药科技出版社, 2002: 161-163
5 吴勉华, 王新月, 主编. 中医内科学. 第九版. 北京: 中国中医药出版社, 2012: 59-69
6 Harberson J, Thomas RM, Harbison SP, Parkman HP. Gastric neuromuscular pathology in gastroparesis: analysis of full-thickness antral biopsies. *Dig Dis Sci* 2010; 55: 359-370 [PMID: 19997975 DOI: 10.1007/s10620-009-1071-2]
7 曾文林. 中医药辨证论治糖尿病胃轻瘫. 湖北中医杂志 2013; 35: 27-28
8 李君玲, 李敏, 田佳星, 逄冰, 仝小林. 糖尿病胃轻瘫临床疗效的评价方式. 世界华人消化杂志 2013; 21: 3198-3203
9 Olausson EA, Brock C, Drewes AM, Grundin H, Isaksson M, Stotzer P, Abrahamsson H, Attvall S, Simrén M. Measurement of gastric emptying by radiopaque markers in patients with diabetes: correlation with scintigraphy and upper gastrointestinal symptoms. *Neurogastroenterol Motil* 2013; 25: e224-e232 [PMID: 23316944 DOI: 10.1111/nmo.12075]
10 逄冰, 顾彦冬. 糖尿病胃轻瘫的中医治疗进展. 中国临床医生 2013; 41: 21-23
11 李君玲, 田佳星. 糖尿病胃轻瘫中医病机及分型的研究进展. 环球中医药 2013; 6: 222-225
12 尚莹莹, 黄天生, 肖定洪. 糖尿病胃轻瘫中医理论及临床研究进展. 中医研究 2013; 26: 75-77
13 张友平. 糖尿病胃轻瘫中医辨证分型治疗的疗效观察. 临床合理用药杂志 2013; 6: 77-78
14 陈明, 曹泽伟. 胃动汤对糖尿病胃轻瘫患者胃动素胃泌素的影响. 天津中医药 2013; 30: 142-144
15 王超. 甲钴胺联合多潘立酮治疗糖尿病性胃轻瘫的疗效观察. 中国药房 2013; 24: 2258-2260

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年5月28日; 22(15): 2155-2158
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

荧光定量PCR法在胃癌血清miR-21检测中的应用

朱 伦, 杨少芳, 余 算, 郑阿迈, 徐荣伟

朱伦, 杨少芳, 余算, 郑阿迈, 徐荣伟, 浙江省乐清市第三人民医院检验科 浙江省乐清市 325600
朱伦, 主管技师, 主要从事临床检验医学的研究.
作者贡献分布: 朱伦负责论文研究的设计和论文写作; 杨少芳负责资料收集; 余算与郑阿迈负责实验研究; 徐荣伟负责文章的审核、校对以及论文写作指导.
通讯作者: 朱伦, 主管检验师, 325600, 浙江省乐清市乐柳市前市街335号, 乐清第三人民医院检验科.
yanghuaiy4238@126.com
收稿日期: 2014-03-12 修回日期: 2014-04-15
接受日期: 2014-04-20 在线出版日期: 2014-05-28

Clinical significance of quantitative PCR detection of serum miR-21 in patients with gastric cancer

Lun Zhu, Shao-Fang Yang, Suan Yu, A-Mai Zheng, Rong-Wei Xu

Lun Zhu, Shao-Fang Yang, Suan Yu, A-Mai Zheng, Rong-Wei Xu, the Third People's Hospital of Yueqing City, Leqing 325600, Zhejiang Province, China
Correspondence to: Lun Zhu, the Third People's Hospital of Yueqing City, 335 Qianshi Street, Leqing 325600, Zhejiang Province, China. yanghuaiy4238@126.com
Received: 2014-03-12 Revised: 2014-04-15
Accepted: 2014-04-20 Published online: 2014-05-28

Abstract

AIM: To explore the significance of serum miR-21 detection for non-invasive diagnosis of gastric cancer and evaluation of surgery results.

METHODS: Serum samples from normal medical personnel, patients with antral ulcers, those with gastric inflammatory polyps, those with intestinal metaplasia, and those with gastric cancer were collected, and fluorescence quantitative PCR was used to detect miR-21 expression in the above serum samples and matched gastric tissues.

RESULTS: Serum miR-21 levels had a positive correlation with those in gastric tissues in all the subjects ($r = 0.826$, $P < 0.001$). Serum levels of miR-21 were significantly higher in patients with gastric cancer than in normal controls. Postoperative serum levels of miR-21 were significantly lower than preoperative levels in gastric cancer patients ($t = 0.511$, $P = 0.030$). Serum miR-21 levels differed significantly among the five groups of subjects ($\chi^2 = 10.841$, $P = 0.028$).

CONCLUSION: Detection of serum miR-21 is helpful for noninvasive diagnosis of gastric cancer and evaluation of surgical effects.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Quantitative PCR; Gastric cancer; MiR-21; Non-invasive diagnosis

Zhu L, Yang SF, Yu S, Zheng AM. Xu RW. Clinical significance of quantitative PCR detection of serum miR-21 in patients with gastric cancer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(15): 2155-2158 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2155.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2155

摘要

目的: 探讨miR-21对胃癌无创性诊断以及对手术效果的评判.

方法: 选取5类人员胃肠消化系统样本血清, 通过荧光定量PCR方法对miR-21表达情况进行检测, 对照分析正常体检人员和胃窦溃疡患者、胃窦炎性息肉患者、肠上皮化生人员以及胃癌患者的血清样本中分别与配对的胃组织miR-21表达情况.

结果: 通过对照分析, 不同人员的血清中miR-21含量分别和配对的胃肠组织中表达的量具有正相关性($r = 0.826$, $P<0.001$). 经过检测, 和正常对照组进行比较, miR-21在胃癌患者的血清中含量出现明显升高, 且术后, 血清中miR-21的含量和手术之前比较降低明显($t = 0.511$, $P = 0.030$). 另外, miR-21在五组研究对象的血清中含量具有明显差异, 具有统计学意义($\chi^2 = 10.841$, $P = 0.028$).

结论: 通过分析, 利用检测血清中miR-21含量变化, 可以无创性的诊断胃癌, 并通过miR-21含量变化对手术的效果进行评价, 临床上具有重要意义.

■背景资料
临床上, 对于胃癌的诊断, 一般通过胃镜检查以及病理学分析等, 但是耐受性较差. 而无创性诊断应用广泛的是利用血清肿瘤标志物, 但灵敏性较低, 特异性不强. 研究发现, miRNA中miR-21在胃癌肿瘤组织中表达具有特异性, 且血清中表达水平和组织中表达水平具有正相关性. 当前, 关于miR-21等miRNA在胃癌诊断以及手术效果评价中的应用, 在国内外已开展了广泛的临床研究, 取得了理想的临床效果. 因此, 使用miR-21对胃癌诊断以及手术效果进行评价是一种较为科学、高效的诊断途径.

■同行评议者
张小晋, 主任医师, 北京积水潭医院

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 荧光定量PCR法; 胃癌; MiR-21; 无创性诊断

核心提示: 微小RNA(miRNA)在一些恶性肿瘤的靶基因中发挥重要作用, 对于胃癌患者, 肿瘤组织中有一定的miR-21的表达, 而血清中miR-21的表达水平和肿瘤组织中表达水平具有相关性. 因此, 通过对血清中miR-21含量进行测定, 对无创性诊断胃癌具有重要意义.

朱伦, 杨少芳, 余算, 郑阿迈, 徐荣伟. 荧光定量PCR法在胃癌血清miR-21检测中的应用. 世界华人消化杂志 2014; 22(15): 2155-2158 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2155.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2155

■研发前沿
通过研究血清中miR-21表达水平和肿瘤组织中miR-21表达水平的相关性, 分析利用检测血清中miR-21来诊断胃癌或评价手术效果利用价值, 将能够为胃癌诊断提供临床参考. 寻求高效、安全的诊断方法, 有效降低患者检测痛苦以及诊断费用, 且大大提高确诊率.

0 引言

当前, 社会发展速度不断提升, 人们生活节奏加快, 胃肠疾病发病率不断攀升, 因胃黏膜的上皮细胞发生恶性肿瘤变化而引起胃癌患者越来越多, 约占胃部恶性肿瘤的96%左右. 临床上, 对于胃癌的诊断一直把胃镜检查和病理学分析诊断作为诊断标准, 但存在患者耐受性差等缺点. 临床上, 引入微小RNA后, 为无创性恶性肿瘤诊断开辟了新路径. 微小RNA, 即miRNAs, 在多种生物体细胞中普遍存在, 属于内源性且为非编码的RNA微小分子, 一般只有20个左右的核苷酸组成, 只占到全部基因的五十分之一, 但mRNA通过剪切或者抑制翻译对生物体的许多生理过程进行调控, 在生物体细胞的凋亡、脂肪的代谢、神经元的发育以及细胞分化、激素分泌等过程中扮演重要角色[1,2]. 其中被发现最早且应用较为广泛的miRNA是miR-21, 对许多胃部、肺部、 膀胱的恶性肿瘤的靶基因中发挥着重要的作用[3-5]. 国外研究[6]发现在人体的血清中miRNAs的含量具有一定的稳定性, 但由于疾病种类和病程变化, 相关器官组织和血清中miRNAs水平会有一定的差异. 我院通过荧光定量 PCR方法探讨人体血清和配对组织中的miR-21含量变化, 对胃癌患者进行无创性诊断, 并探讨在评价手术效果方面的作用, 取得令人满意的效果, 现将结果报道如下.

■相关报道
目前, 国内外关于miR-21在胃癌诊断以及胃癌手术效果评价价值已有大量报道, 均充分肯定了miR-21的准确性和高效性. miR-21在胃癌诊断以及胃癌手术效果评价方面具有较高的临床价值.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2012-01/2013-06我院收治的30例胃癌患者, 患者均未接受放化疗等手段治疗, 其中男性患者22例, 女性患者8例, 患者年龄40-65岁, 平均年龄为53.8岁±5.1岁. 分别采集患者术前和术后3 mo的外周血, 取部分癌组织, 同时切取癌组织5 cm外的正常组织. 作为对照, 选择同期的接受消化系统体检的正常人员共26例, 平均年龄为51.2岁±6.5岁; 选取胃溃疡患者24例, 平均年龄为52.8 岁±3.6岁; 选取炎性息肉19例患者, 平均年龄为53.5岁±4.8岁; 选择肠上皮化生22例患者, 平均年龄54.5岁±5.2岁. 以上对照病例经诊断证实, 经患者及亲属同意, 以上对照组人员均切取胃窦组织和外周血接受检测. 全部组织标本有效浸入到保护液中保护RNA, 在4 ℃的环境下过夜后, 拿出放入-80 ℃环境保存. 外周血经过离心之后, 将血清加入到EP管中, 同样在-80 ℃环境中保存, 等待检测.

1.2 方法

1.2.1 提取RNA: 从组织中提取mRNAs, mRNAs提取试剂盒由诺伦生物医药公司生产, 从每份约50 mg标本组织中正确提取出miRNAs; 从血清中提取总RNA, 从约200 μL的血清中成功提取出总RNA.

1.2.2 检测miR-21: 检测方法为荧光定量PCR法, 利用两步法对miR-21进行检测, 通过利用诺伦生物医药公司生产的试剂盒对RNA进行反转录, 然后开展荧光定量PCR. 对目的miRNAs使用一般通用的反转录条件进行转录. 荧光定量PCR仪为美国AB公司生产的7500Fast型实施PCR反应. 条件要求为: 3 min 94 ℃, 94 ℃ 20 s, 62 ℃ 40 s, 循环40次.

统计学处理 利用SPSS17.0统计包对数据进行统计学分析. 利用多个独立的样本比较五组标本的血清和配对组织内miR-21的含量水平差异, 采用Spearman秩相关对血清中的miR-21含量和配对组织标本中含量水平的相关性进行分析, 配对资料利用t检验分析胃癌患者术前与术后的血清中miRNAs水平的差异, 检验水准$\alpha = 0.05$. $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 5组血清及配对组织中miR-21含量比较 通过对照分析实验数据, 不同人员的血清中miR-21含量分别和配对的胃肠组织中表达的量差异不具有统计学意义($P>0.05$). 但是正常对照组和胃癌组进行比较, miR-21在胃癌患者血清中含量升高明显, 具有统计学意义($P<0.05$)(表1).

2.2 miR-21在血清中及在相应配对组织中表达量关系 通过分析, 血清中微小RNA中miR-21的含量水平和配对的组织中含量表达量有相关

表 1 5组血清及配对组织中miR-21的含量比较 (fmol/L)

分组	n	血清中miR-21水平	配对组织中miR-21水平
正常对照组	26	2.54 ± 0.45	2.18 ± 0.32
溃疡组	24	2.67 ± 0.69	3.52 ± 0.41
炎性息肉组	19	3.03 ± 0.74	3.74 ± 1.05
肠上皮化生组	22	2.98 ± 1.52	3.44 ± 0.77
胃癌组	30	6.01 ± 0.79	5.94 ± 1.01
(正常组与胃癌组)*t*值		9.811	10.117
(正常组与胃癌组)*P*值		<0.05	<0.05

性. 且胃癌组患者miR-21水平和其余组别相比较, 不论是血清中还是配对组织中表达水平明显升高, 且差异具有统计学意义, 说明检测血清miR-21水平对于诊断胃癌具有实际意义.

2.3 胃癌患者手术前后miR-21表达情况 胃癌患者在术前和术后的血清miR-21表达含量相比较显著不同, 血清中术后miR-21含量为45.88 fmol/L±9.29 fmol/L, 术前含量为54.32 fmol/L±10.79 fmol/L, 相比降低较为明显($t = 0.511$, $P = 0.030$).

3 讨论

在当前全球发现的恶性肿瘤中, 胃癌是死亡率最高的几种疾病之一, 对于胃癌的临床诊断金标准是通过胃镜进行检查, 虽然诊断准确率最高, 但是侵入性的操作使患者感到极大的不便. 因此, 难以以常规检查形式开展胃癌筛查, 且通过影像检查对于胃癌早期症状以及发现微小病灶存在着局限性. 而利用传统的检测血清中肿瘤标志物变化是一种伤害性较小的方法, 但普遍存在敏感性以及特异性较差等缺点, 临床上对胃癌的诊断率较低. 因此, 寻求一种对胃癌敏感性较强且具有特异性的检测方法, 对患者依从性和耐受性要求较低的检查方法, 对早发现、早治疗胃癌, 减低死亡率意义重大.

国内外文献[7,8]资料显示, 检测和肿瘤相关miRNAs已经收到医学界的广泛关注, miRNAs研究也被逐步引入到胃癌诊断领域, 研究资料[9,10]证实miR-21在胃癌的组织中具有相对较高的含量. 但是需要切取患者的胃黏膜样本, 不仅需要利用内镜侵入性观察, 有的需要手术获取组织, 对于患者来说创伤大, 同时, 胃癌组织的获取包含的细胞数目不同, 对于组织miRNAs情况只能开展相对的定量计算, 真正应用于临床具有较大难度. 而本研究则是研究通过获取血清中的miRNAs来进行诊断, 效果较为优良. 不仅容易获取标本, 而且血清中miRNAs 具有稳定性, 耐酶能力强, 经过反复的冻融以及酸碱环境对血清中miRNAs影响不大, 便于开展绝对定量的检测[6,11]. 根据国外文献[12]介绍: 对胃癌患者实施根治手术之后1 mo, 患者的血清中miR-21含量出现下降. 另外, 有研究[13]认为胃癌患者血清中miR-21含量水平相比较良性胃部疾病普遍较高, 但正常人员和胃肠良性疾病患者的血清中关于miR-21含量关系不具有明显差异.

通过实验分析, 显示血清中的miR-21水平与配对的组织标本中含量水平具有一致性, 且含量水平根据患者病情的变化, 表明研究血清miRNAs诊断胃癌具有可行性. 通过对五组人员的血清miRNAs情况开展分析, 显示正常组和胃癌组两者在血清中miR-21表达水平差异具有统计学意义($P<0.01$), 证明临床上对诊断胃癌和评价手术疗效果时, 利用血清miR-21可以成为新生物标志物. 研究中还发现, 正常组和良性胃肠疾病患者在血清中miR-21含量水平差异不明显, 说明血清miR-21对良性病变没有区分度, 对于诊断良性胃病变价值不大.

作为一种新的肿瘤标志物, 检测血清中的miRNAs广泛运用于临床, 仍有较多问题需要研究解决: 一是miRNAs有限, 由于miRNAs调节能力较为广泛, 不仅已知的miRNAs有限, 且对其功能的了解程度也有限, 需要继续深化研究. 二是血清中出现miRNAs机制尚不够明确. 有的研究[8,14]认为是凋亡细胞的主动释放, 有的认为是循环细胞的裂解而产生, miRNAs进入到血液之后和蛋白质共同形成颗粒, 这些外切酶颗粒被内吞至受体细胞, 包被被去除, 从而释放miRNAs, 发挥出其生物学的作用. 以上结论有待实验进一步证实. 三是患者血清的miRNAs变化和胃癌没有特异性[15], miR-21对于多种恶性肿瘤患者的血清中水平均差异明显. 单一miRNA特

■创新盘点

使用血清miR-21对胃癌诊断以及胃癌手术效果评价, 并将其胃癌肿瘤组织miR-21表达水平进行对比, 同时, 设置正常组和良性胃肠疾病对照组, 以从更加科学、合理的角度评价miR-21临床应用优势, 对临床上无创性胃癌诊断以及对手术效果评价有较高临床意义.

■应用要点

以血清中miR-21表达水平检测为主要检查手段, 对胃癌诊断以及胃癌手术效果评价价值进行分析, 并着重分析血清中miR-21临床诊断价值, 并设置正常组和良性胃肠疾病对照.

■同行评价
本文给临床医生在早期诊断胃癌以及判断预后提供了一条新的途径, 具有一定临床指导意义.

异性较弱.

总之, 随着认识深入, 相信血清中miRNAs将在诊断胃癌和评价术后效果方面发挥出应用的价值.

4 参考文献

1 Berezikov E, Guryev V, van de Belt J, Wienholds E, Plasterk RH, Cuppen E. Phylogenetic shadowing and computational identification of human microRNA genes. *Cell* 2005; 120: 21-24 [PMID: 15652478 DOI: 10.1016/j.cell.2004.12.031]

2 Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell* 2004; 116: 281-297 [PMID: 14744438]

3 Zhang BG, Li JF, Yu BQ, Zhu ZG, Liu BY, Yan M. microRNA-21 promotes tumor proliferation and invasion in gastric cancer by targeting PTEN. *Oncol Rep* 2012; 27: 1019-1026 [PMID: 22267008 DOI: 10.3892/or.2012.1645]

4 Gao W, Xu J, Liu L, Shen H, Zeng H, Shu Y. A systematic-analysis of predicted miR-21 targets identifies a signature for lung cancer. *Biomed Pharmacother* 2012; 66: 21-28 [PMID: 22244963 DOI: 10.1016/j.biopha.2011.09.004]

5 Zhou H, Guo JM, Lou YR, Zhang XJ, Zhong FD, Jiang Z, Cheng J, Xiao BX. Detection of circulating tumor cells in peripheral blood from patients with gastric cancer using microRNA as a marker. *J Mol Med* (Berl) 2010; 88: 709-717 [PMID: 20349219 DOI: 10.1007/s00109-010-0617-2]

6 Chen X, Ba Y, Ma L, Cai X, Yin Y, Wang K, Guo J, Zhang Y, Chen J, Guo X, Li Q, Li X, Wang W, Zhang Y, Wang J, Jiang X, Xiang Y, Xu C, Zheng P, Zhang J, Li R, Zhang H, Shang X, Gong T, Ning G, Wang J, Zen K, Zhang J, Zhang CY. Characterization of microRNAs in serum: a novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases. *Cell Res* 2008; 18: 997-1006 [PMID: 18766170 DOI: 10.1038/cr.2008.282]

7 Zhou LY, Lin SR, Li Y, Geng QM, Ding SG, Meng LM, Sun XN, Wang JT, Xu ZJ, Guo HL, Li CG, Cui RL. The intrinsic fluorescence spectrum of dilute gastric juice as a novel diagnostic tool for gastric cancer. *J Dig Dis* 2011; 12: 279-285 [PMID: 21791022 DOI: 10.1111/j.1751-2980.2011.00507.x]

8 Lawrie CH, Gal S, Dunlop HM, Pushkaran B, Liggins AP, Pulford K, Banham AH, Pezzella F, Boultwood J, Wainscoat JS, Hatton CS, Harris AL. Detection of elevated levels of tumour-associated microRNAs in serum of patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Br J Haematol* 2008; 141: 672-675 [PMID: 18318758 DOI: 10.1111/j.1365-2141.2008.07077.x]

9 Volinia S, Calin GA, Liu CG, Ambs S, Cimmino A, Petrocca F, Visone R, Iorio M, Roldo C, Ferracin M, Prueitt RL, Yanaihara N, Lanza G, Scarpa A, Vecchione A, Negrini M, Harris CC, Croce CM. A microRNA expression signature of human solid tumors defines cancer gene targets. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103: 2257-2261 [PMID: 16461460 DOI: 10.1073/pnas.0510565103]

10 Yang Q, Jie Z, Cao H, Greenlee AR, Yang C, Zou F, Jiang Y. Low-level expression of let-7a in gastric cancer and its involvement in tumorigenesis by targeting RAB40C. *Carcinogenesis* 2011; 32: 713-722 [PMID: 21349817 DOI: 10.1093/carcin/bgr035]

11 Gilad S, Meiri E, Yogev Y, Benjamin S, Lebanony D, Yerushalmi N, Benjamin H, Kushnir M, Cholakh H, Melamed N, Bentwich Z, Hod M, Goren Y, Chajut A. Serum microRNAs are promising novel biomarkers. *PLoS One* 2008; 3: e3148 [PMID: 18773077 DOI: 10.1371/journal.pone.0003148]

12 Tsujiura M, Ichikawa D, Komatsu S, Shiozaki A, Takeshita H, Kosuga T, Konishi H, Morimura R, Deguchi K, Fujiwara H, Okamoto K, Otsuji E. Circulating microRNAs in plasma of patients with gastric cancers. *Br J Cancer* 2010; 102: 1174-1179 [PMID: 20234369 DOI: 10.1038/sj.bjc.6605608]

13 Calin GA, Croce CM. MicroRNA signatures in human cancers. *Nat Rev Cancer* 2006; 6: 857-866 [PMID: 17060945 DOI: 10.1038/nrc1997]

14 El-Hefnawy T, Raja S, Kelly L, Bigbee WL, Kirkwood JM, Luketich JD, Godfrey TE. Characterization of amplifiable, circulating RNA in plasma and its potential as a tool for cancer diagnostics. *Clin Chem* 2004; 50: 564-573 [PMID: 14718398 DOI: 10.1373/clinchem.2003.028506]

15 Miki K. Gastric cancer screening by combined assay for serum anti-Helicobacter pylori IgG antibody and serum pepsinogen levels - "ABC method". *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci* 2011; 87: 405-414 [PMID: 21785258 DOI: 10.2183/pjab.87.405]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年5月28日; 22(15): 2159-2162
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

聚乙二醇干扰素α–2a联合六味五灵片治疗HBeAg阳性慢性乙型肝炎38例

刘方军, 刘智惠

刘方军, 刘智惠, 中国人民解放军第89医院感染病科 山东省潍坊市 261021
刘方军, 副主任医师, 主要从事传染病的临床工作.
作者贡献分布: 此课题由刘方军设计; 由刘方军与刘智惠共同组织实施; 本论文写作由刘方军完成.
通讯作者: 刘方军, 副主任医师, 261021, 山东省潍坊市北宫西街256号, 中国人民解放军第89医院感染病科.
liufangjun89@163.com
收稿日期: 2014-03-05 修回日期: 2014-04-03
接受日期: 2014-04-09 在线出版日期: 2014-05-28

PEG-IFN-α-2a combined with Liuweiwuling tablets for treatment of patients with HBeAg positive hepatitis B

Fang-Jun Liu, Zhi-Hui Liu

Fang-Jun Liu, Zhi-Hui Liu, Department of Infectious Diseases, 89th Hospital of Chinese PLA, Weifang 261021, Shandong Province, China
Correspondence to: Fang-Jun Liu, Associate Chief Physician, Department of Infectious Diseases, 89th Hospital of Chinese PLA, 256 Beigongxi Street, Weifang 261021, Shandong Province, China. liufangjun89@163.com
Received: 2014-03-05 Revised: 2014-04-03
Accepted: 2014-04-09 Published online: 2014-05-28

Abstract

AIM: To observe the clinical effect of PEG-IFN-α-2a combined with Liuweiwuling tablets in the treatment of HBeAg positive chronic hepatitis B (CHB).

METHODS: Seventy-five HBeAg positive CHB patients were randomly divided into either a treatment group (n = 38) or a control group (n = 37). The treatment group was treated with PEG-IFN-α-2a 180 μg (*s.c.*, once a week) and Liuweiwuling tablets, while the control group was treated with glycyrrhizinate capsules on the basis of PEG-IFN-α-2a treatment. The treatment lasted 24 wk in both groups.

RESULTS: After 24 wk of treatment, the values of ALT, AST and TBIL in the treatment group (24.9 U/L ± 16.6 U/L, 21.2 U/L ± 16.5 U/L and 18.1 μmol/L ± 10.1 μmol/L) were significantly lower than those in the control group (44.7 U/L ± 19.7 U/L, 49.1 U/L ± 20.5 U/L and 27.2 μmol/L ± 17.4 μmol/L) (P < 0.05 for all). No obvious adverse reactions were observed in either group during the treatment.

CONCLUSION: PEG-IFN-α-2a combined with Liuweiwuling tablets can improve the liver function, and the efficacy of PEG-IFN-α-2a for suppressing HBV replication is not affected.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: PEG-IFN-α-2a; Liuweiwuling tablets; Chronic Hepatitis B

Liu FJ, Liu ZH. PEG-IFN-α-2a combined with Liuweiwuling tablets for treatment of patients with HBeAg positive hepatitis B. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(15): 2159-2162 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2159.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2159

摘要

目的: 探讨PEG-IFN-α-2a联合六味五灵片治疗HBeAg阳性慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)的临床疗效.

方法: 选择75例HBeAg阳性的CHB患者, 随机分为观察组(38例)和对照组(37例), 观察组给予PEG-IFN-α-2a 180 μg, 皮下注射1次/wk, 同时服用六味五灵片2.0 g, 3次/d. 对照组给予PEG-IFN-α-2a 180 μg皮下注射1次/wk, 同时服用甘草酸二胺胶囊, 疗程均为24 wk.

结果: 治疗24 wk后, 观察组丙氨酸转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、谷草转氨酶(glutamic-oxalacetic transaminase, AST)和总胆红素(total bilirubin, TBIL)值分别为24.9 U/L ± 16.6 U/L, 21.2 U/L ± 16.5 U/L和18.1 μmol/L ± 10.1 μmol/L均显著低于对照组(44.7 U/L ± 19.7U/L、49.1 U/L ± 20.5 U/L和27.2 μmol/L

■背景资料
慢性乙型肝炎的治疗是目前临床上棘手问题. 治疗的原则包括抗病毒、改善肝功能、调节免疫、抗纤维化及抗炎等. 临床已证实PEG-IFN-α-2a对E抗原阳性慢性乙型肝炎具有良好抗病毒及免疫调节作用, 对E抗原转阴或抗原抗体转换、HBV DNA转阴有良好作用, 是慢性乙型肝炎治疗的一线药物. 六味五灵片具有抗肝细胞损害、免疫调节作用、抑制病毒复制等作用.

■同行评议者
汤静, 主管药师, 上海交通大学附属第一人民医院药学部

■研发前沿
各国指南都推荐PEG-IFN-α-2a为慢性乙型肝炎的一线抗病毒药物. Ⅲ期注册临床试验结果显示, 经过1年的PEG-IFN-α-2a治疗, HBeAg阳性慢性乙型肝炎患者的病毒学应答率还不十分理想, HBeAg血清学转换率在30%左右, 但发生HBeAg血清学转换的患者有50%-90%可维持持久应答.

±17.4 μmol/L, P<0.05), 差异均具有显著性意义. 治疗过程中, 两组患者均未见明显不良反应.

结论: PEG-IFN-α-2a联合六味五灵片可以有效地改善肝功能, 同时不影响PEG-IFN-α-2a抑制乙型肝炎病毒复制的作用, 值得临床推广应用.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 聚乙二醇干扰素α-2a; 六味五灵片; 慢性乙型肝炎

核心提示: 本研究采用PEG-IFN-α-2a联合六味五灵片治疗乙型肝炎e抗原(hepatitis B e antigen, HBeAg)阳性慢性乙型肝炎38例, 治疗24 wk后患者的临床症状、肝功能生化指标丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase)、门冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase)及总胆红素(total bilirubin)均有明显好转, 且乙型肝炎病毒DNA及HBeAg低于检测值下限的比率与对照组相当, 表明六味五灵片不影响PEG-IFN-α-2a的抗病毒疗效, 且两药合用还能获得更高的肝功能复常率, 可能与六味五灵片均具有良好免疫调节、保肝抗炎作用有关, 值得临床应用.

刘方军, 刘智惠. 聚乙二醇干扰素α-2a联合六味五灵片治疗HBeAg阳性慢性乙型肝炎38例. 世界华人消化杂志 2014; 22(15): 2159-2162 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2159.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2159

0 引言

慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)的治疗是目前临床上棘手问题. 治疗的原则包括抗病毒、改善肝功能、调节免疫、抗纤维化及抗炎等[1]. 临床已证实PEG-IFN-α-2a对E抗原阳性CHB具有良好抗病毒及免疫调节作用, 对E抗原转阴或抗原抗体转换、乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)DNA转阴有良好作用, 是CHB治疗的一线药物. 六味五灵片具有抗肝细胞损害、免疫调节作用、抑制病毒复制等作用. 2010-10/2013-10中国人民解放军第89医院感染病科采用PEG-IFN-α-2a联合六味五灵片治疗E抗原阳性CHB取得了良好疗效, 报告如下.

1 材料和方法

1.1 材料 选择2010-10/2013-10中国人民解放军第89医院感染病科门诊或住院的CHB患者75例, 男性48例, 女性27例; 年龄18-35岁, 平均年龄27.2岁±5.9岁. 病程1-16年. 患者HBeAg阳性, HBV DNA≥1×10^5 IU/mL. 诊断均符合2010年发布的CHB防治指南的标准[1], 排除其他肝炎病毒重叠感染、妊娠及哺乳期妇女、合并恶性肿瘤、自身免疫性疾病、未控制的糖尿病、甲状腺疾病、既往有精神病史者. 无PEG-IFN-α-2a治疗禁忌证. 按就诊时间先后顺序, 将75例患者随机分为观察组38例和对照组37例. 两组患者病情、平均年龄、肝功能情况以及HBV DNA水平比较, 无显著性差异, 具可比性.

1.2 方法

1.2.1 治疗: 给予观察组患者PEG-IFN-α-2a(商品名: 派罗欣, 上海罗氏制药有限公司)180 μg皮下注射, 1次/wk, 同时给予六味五灵片(山东世博金都药业有限公司)2.0 g口服, 3次/d; 给予对照组患者PEG-IFN-α-2a 180 μg皮下注射, 1次/wk, 同时服用甘草酸二胺胶囊(甘利欣, 江苏正大天晴药业股份有限公司)150 mg, 3次/d, 两组患者疗程均为24 wk.

1.2.2 检测: 采用日立7600全自动生化分析仪及配套试剂检测肝肾功能; 采用美国ABI7000荧光定量PCR仪检测HBV DNA(试剂盒购自深圳市匹基生物工程股份有限公司, 检测灵敏度<500 copies/mL, 即检测灵敏度<89 IU/mL); 采用ELISA法检测血清乙型肝炎病毒标志物(上海科华生物工程股份有限公司).

统计学处理 应用SPSS19.0统计学软件进行数据分析, 采用t检验分析肝功能变化情况, 采用χ^2检验分析治疗后血清HBV DNA和乙型肝炎e抗原(hepatitis B e antigen, HBeAg)转阴情况. P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 两组治疗前及治疗后肝功能ALT、AST、TBIL变化情况 治疗前, 两组患者肝功能数值比较差异无统计学意义(P>0.05). 治疗24 wk后, 两组患者丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)、门冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)及总胆红素(total bilirubin, TBIL)均明显下降, 且观察组下降幅度明显优于对照组, 两组差异有统计学意义(P<0.05)(表1).

2.2 两组患者治疗后血清HBV DNA和HBeAg转阴情况 治疗24 wk后, 两组患者HBV DNA及HBeAg低于检测下限的比率比较, 差异无统计

表 1 两组患者治疗前及治疗后肝功能变化比较 (mean ± SD)

	n	ALT(U/L)	AST(U/L)	TBIL(μmol/L)
观察组	38			
治疗前		355.2 ± 190.5	193.6 ± 73.1	29.1 ± 18.0
治疗后24 wk		24.9 ± 16.6[a]	21.2 ± 16.5[a]	18.1 ± 10.1[a]
对照组	37			
治疗前		346.1 ± 188.9	184.8 ± 87.2	28.3 ± 18.2
治疗后24 wk		44.7 ± 19.7	49.1 ± 20.5	27.2 ± 17.4

[a]*P*<0.05 *vs* 对照组治疗后24 wk. ALT: 丙氨酸转氨酶; AST: 谷草转氨酶; TBIL: 总胆红素.

表 2 两组患者治疗前后HBV DNA及HBeAg低于检测下限的比率 *n*(%)

	n	HBV DNA低于检测下限的比率	HBeAg低于检测下限的比率
观察组	38	13(65.8)	26(31.6)
对照组	37	19(48.6)	31(15.9)
χ^2		2.253	2.426
*P*值		0.133	0.119

HBV: 乙型肝炎病毒; HBeAg: 乙型肝炎e抗原.

学意义(*P*>0.05)(表2).

2.3 不良反应 两组患者治疗初期多数发热, 白细胞减少, 均经对症治疗后好转, 未影响治疗. 对照组1例甲状腺功能轻微减退, 需口服甲状腺素片治疗.

3 讨论

CHB是一种严重的进展性疾病, 在我国CHB是肝硬化的重要病因, 严重危害我国人民的健康水平[2]. 近几年, 随着对CHB发病机制特别是免疫机制的深入研究, 认为CHB的发病与血液和肝组织中的HBV持续存在并不断复制有关, 机体免疫损伤和进行性肝脏炎症是造成肝脏损害的原因.

现代医学认为HBV侵袭是本病的主要原因, 免疫功能紊乱、低下是发病的关键, 肝组织损伤、微循环障碍是本病的基本病理变化[3]. 抗病毒治疗是目前治疗HBeAg阳性CHB患者的主要方法, 其目的是使HBV由复制活跃状态转化为非复制状态, 病毒抗原出现血清学转换, 阻止肝脏疾病的进一步恶化[4]. PEG-IFN-α-2a通过产生抗病毒蛋白的直接抗病毒作用和免疫调节的间接抗病毒作用以达到抑制病毒复制的同时, 使机体产生对病毒的免疫控制[5,6].

各国指南都推荐PEG-IFN-α-2a为CHB的一线抗病毒药物. III期注册临床试验结果显示, 经过1年的PEG-IFN-α-2a治疗, HBeAg阳性CHB患者的病毒学应答率还不十分理想, HBeAg血清学转换率在30%左右, 但发生HBeAg血清学转换的患者有50%-90%可维持持久应答[6,7]. 此外, Ouzan等[8]通过对10例HBeAg阳性乙型肝炎患者长达96 wk的跟踪治疗得出: 通过加用PEG-IFN-α-2a, 有6例患者目前已停止服用核苷酸类似物进行治疗.

依据中医学理论与现代医学理论相结合研制的六味五灵片是在五味子的基础上科学组方, 运用中药君臣佐使, 加入灵芝孢子粉、连翘、莪术、苣荬菜、女贞子组成, 除具有保肝降酶、修复肝细胞、抗肝纤维化外[6,7], 还有抑制病毒复制, 双向调节免疫功能. 而对正常免疫无明显影响[8,9], 可能与诱导内生性干扰素有关[10-14]. 此外, 安纪红等[15]通过对430例慢性乙型肝炎肝纤维化患者的临床观察得出: 六味五灵片能快速消除或环节肝病患者的临床症状和体征, 并能促使慢性肝组织损伤的程度显著改善和逆转, 促进沉积于肝内的结缔组织降解与重吸收, 从而阻止CHB向肝纤维化的进展.

本研究采用PEG-IFN-α-2a联合六味五灵片治疗HBeAg阳性CHB 38例, 治疗24 wk后患者的临床症状、肝功能生化指标ALT、AST、TBIL均有明显好转, 且HBV DNA及HBeAg低于检测值下限的比率与对照组相当, 表明六味五灵

■相关报道
Ouzan等通过对10例HBeAg阳性乙型肝炎患者长达96 wk的跟踪治疗得出: 通过加用PEG-IFN-α-2a, 有6例患者目前已停止服用核苷酸类似物进行治疗.

■同行评价
本研究探讨PEG-IFN-α-2a联合六味五灵片治疗HBeAg阳性慢性乙型肝炎的临床疗效，设计合理，研究具有临床实际意义.

片不影响PEG-IFN-α-2a的抗病毒疗效，且两药合用还能获得更高的肝功能复常率，可能与六味五灵片均具有良好免疫调节、保肝抗炎作用有关，值得临床应用. 本研究的临床观察时间尚短，观察的例数有限，其远期疗效尚有待进一步观察.

4 参考文献

1 中华医学会肝病学分会，中华医学会感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南(2010年版). 肝脏 2011; 16: 2-16
2 拉米夫定临床应用专家组. 2004年拉米夫定临床应用专家共识. 中华肝脏病杂志 2004; 12: 425-428
3 王洪坤，韩景献. 慢性肝炎的病因学说及其辩证论治最新概论. 中华中医药学刊 2007; 25: 334-337
4 朱月永，董菁，陈攸涛，陈靖，江家骥. 聚乙二聚化干扰素治疗乙型肝炎病毒E抗原阳性慢性乙型肝炎患者乙型肝炎病毒表面抗原消失的相关因素. 中华传染病杂志 2011; 29: 553-557
5 Cooksley WG, Piratvisuth T, Lee SD, Mahachai V, Chao YC, Tanwandee T, Chutaputti A, Chang WY, Zahm FE, Pluck N. Peginterferon alpha-2a (40 kDa): an advance in the treatment of hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B. *J Viral Hepat* 2003; 10: 298-305 [PMID: 12823597]
6 Mahdavi M, Amirrasouli H, Alavian SM, Behnava B, Kazerouni F, Keshvari M, Namaki S, Gholami Fesharaki M, Rahimipour H, Mohammadzade J, Zohrehbandian F, Mahdavipour F. Impact of pegylated interferon-alfa-2a on perforin level in patients with chronic hepatitis B; preliminary study. *Hepat Mon* 2013; 13: e11903 [PMID: 24348645]
7 窦晓光. 慢性乙型肝炎初始单药或联合抗病毒治疗疗效和安全性比较. 病毒性肝炎论坛 2010; 8: 5-8
8 Ouzan D, Pénaranda G, Joly H, Khiri H, Pironti A, Halfon P. Add-on peg-interferon leads to loss of HBsAg in patients with HBeAg-negative chronic hepatitis and HBV DNA fully suppressed by long-term nucleotide analogs. *J Clin Virol* 2013; 58: 713-717 [PMID: 24183313]
9 李晖，杨晓冬，李晓林，田德英. 六味五灵片治疗非酒精性脂肪性肝病31例. 中西医结合肝病杂志 2011; 21: 178-179
10 赵松峰，阚全程. 六味五灵片对四氯化碳致大鼠肝纤维化的保护作用. 中国药理学报 2011; 27: 872-875
11 陈卫国. 六味五灵片联合阿德福韦酯治疗慢性乙型肝炎临床疗效观察. 中国肝病杂志(电子版) 2011; 3: 12-14
12 金虹. 六味五灵片联合HD-91-II型肝病治疗仪治疗慢性肝病肝纤维化的临床研究. 医学信息(上旬刊) 2010; 23: 4559-4560
13 修丹，宋凯. 六味五灵片联合阿德福韦酯治疗慢性乙型肝炎肝纤维化76例. 中国中西医结合消化杂志 2010; 18: 53-54
14 荣义辉，董政，米冰. 六味五灵片治疗酒精性肝炎的疗效观察. 传染病信息 2009; 22; 107-109
15 安纪红，倪文，乔杰. 中药治疗慢性乙型肝炎肝纤维化的疗效观察及生存质量研究. 中华肝脏病杂志 2014; 22: 30-32

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年5月28日; 22(15): 2163-2168
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

TIPS手术治疗肝硬化消化系出血232例

程双平, 薛红利, 曾维政, 秦建平, 蒋明德

程双平, 薛红利, 曾维政, 秦建平, 蒋明德, 中国人民解放军成都军区总医院消化内科 四川省成都市 610083
程双平, 医师, 主要从事慢性肝病的诊断和治疗.
作者贡献分布: 本文的撰写由程双平完成; 资料的收集整理、患者随访由薛红利完成; 课题的设计由曾维政与蒋明德完成; 手术的操作由秦建平完成.
通讯作者: 曾维政, 教授, 主任医师, 610083, 四川省成都市金牛区天回路蓉都大道270号, 中国人民解放军成都军区总医院消化内科. 4776652@qq.com
电话: 028-86571145
收稿日期: 2014-03-05 修回日期: 2014-04-01
接受日期: 2014-04-09 在线出版日期: 2014-05-28

TIPS for treatment of gastrointestinal bleeding in patients with liver cirrhosis: Analysis of 232 cases

Shuang-Ping Cheng, Hong-Li Xue, Wei-Zheng Zeng, Jian-Ping Qin, Ming-De Jiang

Shuang-Ping Cheng, Hong-Li Xue, Wei-Zheng Zeng, Jian-Ping Qin, Ming-De Jiang, Department of Gastroenterology, Chengdu Military General Hospital, Chengdu 610083, Sichuan Province, China
Correspondence to: Wei-Zheng Zeng, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Chengdu Military General Hospital, 270 Rongdu Dadao, Tianhui Road, Jinniu District, Chengdu 610083, Sichuan Province, China. 4776652@qq.com
Received: 2014-03-05 Revised: 2014-04-01
Accepted: 2014-04-09 Published online: 2014-05-28

Abstract

AIM: To investigate the clinical effect of transjugular intrahepatic portosystemic shunt (TIPS) in treating gastrointestinal bleeding in patients with liver cirrhosis.

METHODS: Four hundred liver cirrhosis patients with portal hypertension were divided into either a TIPS group (n = 232) or a control group (n = 168). The demographic data of patients, liver function, gastrointestinal bleeding, and the quality of life, were investigated and analyzed. The follow-up period was 6 mo.

RESULTS: The main cause of cirrhosis was hepatitis B virus infection. There were more men than women. The average age of onset was about 50 years, and the majority of patients had Child-Pugh B disease. The percentage of patients without bleeding or with only one episode of bleeding in the TIPS group was significantly higher than that in the control group (15.5% *vs* 31.5%, $P < 0.05$), while the proportion patients with three or more episodes of bleeding was lower than that in the control group (10.8% *vs* 18.5%, $P < 0.05$). There were no statistically significant differences between the two groups in liver function parameters (ALB: 26.38 ± 4.87 *vs* 26.79 ± 6.28; PALB: 81.82 ± 23.76 *vs* 82.04 ± 18.67; $P > 0.05$). The SF-36 scale survey showed that there were no significant differences in the indexes of energy (64.8 ± 8.12 *vs* 61.2 ± 7.28) or physical aspects (74.5 ± 9.39 *vs* 69.1 ± 9.75) between 6 mo after operation and preoperation in the TIPS group, while the rest indicators at 6 mo after operation in the TIPS group differed significantly from those in the control group and those in the TIPS group before operation ($P < 0.05$). All indexes in the CLDQ questionnaire at 6 mo after operation in the TIPS group differed significantly from those in the control group and those in the TIPS group before operation ($P < 0.05$).

CONCLUSION: TIPS can obviously reduce the episode of gastrointestinal bleeding in patients with cirrhosis and improve the quality of life, and the surgery itself has no effect on the liver function of patients.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Transjugular intrahepatic portosystemic shunt; Liver cirrhosis; Gastrointestinal bleeding

Cheng SP, Xue HL, Zeng WZ, Qin JP, Jiang MD. TIPS for treatment of gastrointestinal bleeding in patients with liver cirrhosis: Analysis of 232 cases. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(15): 2163-2168 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2163.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2163

摘要

目的: 探讨经颈内静脉肝内门体分流术(transjugular intrahepatic portosystemic shunt,

■背景资料
终末期肝硬化患者多死于其并发症, 特别是门脉高压所致消化系出血, 是严重危及患者生命的并发症, 及时有效的预防和控制消化道出血对患者的预后和生存有极大的影响.

■同行评议者
王德盛, 副主任医师, 中国人民解放军第四军医大学西京医院肝胆外科

■研发前沿
经颈静脉肝内门体分流术(transjugular intrahepatic portosystemic shunt, TIPS)是治疗肝硬化并发门脉高压症伴食道胃底曲张静脉破裂所致的上消化道出血的有效方法, 该治疗方法已得到广泛的认可和临床应用. 肝硬化患者的生活质量已被认为是慢性肝病自然病史的重要方面和评价治疗效果的重要手段.

TIPS)治疗肝硬化消化系出血的临床疗效.

方法: 肝硬化并发门脉高压患者400例, 分为TIPS组(232例)和对照组(168例), 统计患者基本的情况, 监测肝功能、出血情况, 并进行生活质量调查分析, 随访期为6 mo.

结果: 本组资料显示随访肝硬化患者的病因以乙型肝炎病毒感染为主, 男性多于女性, 平均发病年龄为50岁左右, 多数为Child-Pugh B级; TIPS组患者无出血及出血1次的比例明显高于对照组(15.5% *vs* 31.5%, $P<0.05$), 而出血3次及以上的比例低于对照组(10.8% *vs* 18.5%, $P<0.05$); 两组患者肝功能差异无统计学意义[白蛋白(albumin, ALB)26.38 g/L±4.87 g/L *vs* 26.79 g/L±6.28 g/L; 前白蛋白(prealbumin, PALB)81.82 mg/L±23.76 mg/L *vs* 82.04 mg/L±18.67 mg/L; $P>0.05$]; SF-36量表调查示术后6 mo与术前比较TIPS组患者在精力(64.8±8.12 *vs* 61.2±7.28)和体能方面(74.5±9.39 *vs* 69.1±9.75)的指标差异无统计学意义, 其余各项指标与对照组及术前比较差异有统计学意义($P<0.05$); CLDQ问卷示术后6 mo TIPS组患者各项指标与对照组及术前比较差异有统计学意义($P<0.05$).

结论: TIPS术可明显减少肝硬化患者消化系出血的次数, 提高患者的生活质量, 手术本身对患者肝功能无影响.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 经颈内静脉肝内门体分流术; 肝硬化; 消化系出血

核心提示: 本文证实经颈静脉肝内门体分流术(transjugular intrahepatic portosystemic shunt)手术治疗肝硬化消化道出血可减少患者消化系出血的次数, 对预防或者减少门脉高压所致消化系出血效果明显, 且本项技术操作对患者的肝功能无明显影响; 患者的生存质量较术前及对照组有明显改善.

程双平, 薛红利, 曾维政, 秦建平, 蒋明德. TIPS手术治疗肝硬化消化系出血232例. 世界华人消化杂志 2014; 22(15): 2163-2168
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2163.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2163

0 引言

终末期肝硬化患者多死于其并发症, 特别是门脉高压所致消化系出血, 是严重危及患者生命的并发症. 目前, 经颈静脉肝内门体分流术(transjugular intrahepatic portosystemic shunt, TIPS)是治疗肝硬化并发门脉高压症伴食道胃底曲张静脉破裂所致的上消化道出血的有效方法. 该治疗方法作为一种微创手术, 已得到广泛的认可和临床应用, 该方法安全, 并发症少, 患者耐受性好, 临床疗效肯定. 本研究通过对肝硬化患者TIPS手术治疗后进行随访观察, 对患者消化系出血、肝功能以及生存质量等进行分析, 以期指导临床治疗.

1 材料和方法

1.1 材料 选择2009-04/2013-09我科收治肝硬化并行TIPS手术治疗患者232例, 均有消化系出血病史, 胃镜提示食管或/和胃底有中-重度或重度静脉曲张; 同时选择同期我科收治的肝硬化患者168例作为对照组, 胃镜提示食管或/和胃底有中-重度或重度静脉曲张, 该组患者的治疗包括保肝、抗病毒、止血、输血、内镜下套扎或组织胶注射等对症治疗. 所有肝硬化患者均符合诊断标准; 排除标准: 肝脏或其他脏器肿瘤, 严重并发症. 本研究治疗均经患者知情同意并签署知情同意书.

1.2 方法

1.2.1 TIPS术: 参照文献[1-4]主要步骤为: 经皮右侧股动脉穿刺, 造影剂总量30 mL, 8 mL/s, 作正侧位间接门脉造影; 右侧颈内静脉通道的建立, 选右肝静脉或肝段下腔静脉穿刺点; 穿刺肝内门静脉分支; 正、侧位直接门脉造影, 测压; 用8 mm/60 mm球囊扩张分流道, 置入10 mm/60-80 mm进口金属支架, 再正侧位造影, 测压.

1.2.2 随访及观察指标: 所有患者治疗结束时间即为随访开始时间, 随访6 mo, 定期复查患者肝功能、凝血、胃镜、B超等检查, 随访期间观察治疗后患者的临床症状包括纳差、消化系出血、腹胀、乏力及体征包括腹水、下肢水肿等的情况. 对所有患者在入组时及随访结束时以面对面或电话随访的形式对患者进行SF-36普适性量表[5]及慢性肝病问卷(chronic liver disease questionnaire, CLDQ)[6]的调查.

统计学处理 采用SPSS16.0统计软件进行数据分析. 计量资料以mean±SD表示, 采用重复测量资料数据的方差分析和多元方差分析; 两样本均数的比较采用t检验; 两样本率的比较采用χ^2检验. $P<0.05$为差异有统计学意义.

表 1 患者基本情况

一般情况	对照组	TIPS组
性别		
男性	123	176
女性	45	56
年龄(岁)	49.71 ± 8.29	50.34 ± 6.58
病因		
乙型肝炎	98	141
丙型肝炎	24	38
酒精肝	28	32
其他	18	21
Child-Pugh分级		
A	43	73
B	92	133
C	33	26

表 2 TIPS治疗前后肝功能相关指标比较 (mean ± SD)

项目/分组	TIPS组	对照组
ALB(g/L)		
术前	25.67 ± 4.86	26.79 ± 6.28
术后1 mo	24.29 ± 5.67	
术后6 mo	26.38 ± 4.87	
PALB(mg/L)		
术前	82.54 ± 20.24	82.04 ± 18.67
术后1 mo	85.54 ± 23.64	
术后6 mo	81.82 ± 23.76	

TIPS: 经颈内静脉肝内门体分流术; ALB: 白蛋白; PALB: 前白蛋白.

2 结果

2.1 患者基本资料特点 本研究统计我科肝硬化共计400例(表1), TIPS组232例, 对照组168例, 男性明显多于女性, 比例约为3∶1, 平均年龄约50岁; 病因方面, 以乙型病毒感染引起的肝硬化为主要原因, 占59.7%, 丙型病毒感染引起的肝硬化占15.5%, 酒精性肝硬化占15%, 这与我国是乙型肝炎大国有一定的关系, 但是随着生活水平的提高, 酒精性肝硬化以及非酒精性脂肪性肝硬化呈上升趋势. 从Child-Pugh分级的情况看, 肝硬化患者中B级患者比例较大, 这与在我国发现肝硬化的方式有一定的关系, 大部分患者都是在有一定的临床表现如腹水、下肢水肿、皮肤黄染、腹胀等的时候到医院就诊发现已经是肝硬化, 相信随着医疗水平的提高以及社会医疗保险制度的不断完善, 会有更多的患者在较早期的时候发现肝硬化, 这样就为其提供了较早的治疗机会.

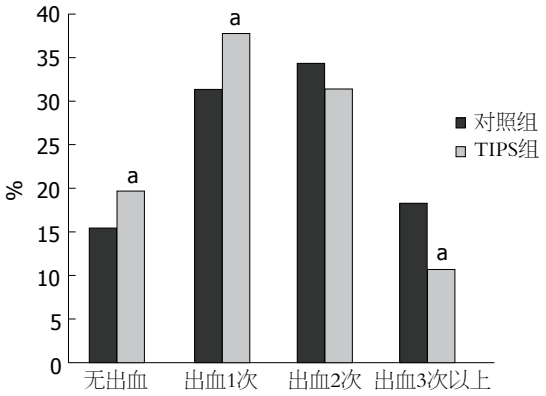


图 1 随访期间患者消化道出血次数比较. $^aP<0.05$ *vs* 对照组. TIPS: 经颈内静脉肝内门体分流术.

2.2 随访期内患者消化系出血情况 在随访期内密切观察患者消化系出血的情况, 记录出血住院的次数统计并进行比较, 结果如图1. 从表可知, TIPS组患者无出血(19.8%)及出血1次(37.9%)的比例明显高于对照组(15.5% *vs* 31.5%)($P<0.05$), 而出血3次及以上的比例(10.8%)低于对照组(18.5%)($P<0.05$), 也就是说经过TIPS手术治疗后患者的出血次数较对照组有所减少. 由此可见, TIPS术对于食管/胃底重度静脉曲张患者消化系出血的治疗效果明显, 可明显减少患者消化系出血的发生.

2.3 肝功能 经TIPS治疗后的患者, 在TIPS治疗后1和6 mo检测患者肝功能等, 与术前相关指标进行统计学比较; 对照组患者在随访期内多次复查的相关指标取平均作为对照(表2). 经过统计分析, 两组差异无统计学意义. 由此可见, TIPS手术操作对于患者的肝功能无影响.

2.4 生存质量比较 患者的生活质量采用SF-36量表和CLDQ问卷进行测定和比较. SF-36量表[8]包括36个选项, 共8个维度, 分别是体能(physical function, PF)、体能影响(role physical, RP)、身体疼痛(body pain, BP)、一般健康(general health, GH)、精力(vitality, VT)、社会活动(social function, SF)、精神影响(role emotional, RE)和心理健康(mental health, MH), 每个维度按照1-8编号, 每个维度中的问题按照a、b、c……编号. 量表的每个问题得分, 都根据答案选项得出, 即为原始分, 反映同一维度的各个问题得分之和, 即为该维度原始分数(粗分), 分数越高表示生活质量越高. 采用极差变换法按照公式: 标准分 = [100 ×(原始分数-最低可能得分)]/最高可能得分-最低可能得分. 将各领域的原始分数变换为 0-100 内取值的标准分, 以便进行比较(表3).

■相关报道
大量临床的研究证实TIPS术可治疗门脉高压引起的食道、胃底静脉曲张破裂所致出血, 同时降低门静脉压, 术后静脉曲张再出血率降低. 对于TIPS术后肝硬化患者的生活质量研究报道较少.

■创新盘点
本文应用SF-36量表和CLDQ来观察患者TIPS手术治疗肝硬化消化系出血, 有一定的新意和临床意义.

表 3 SF-36各维度计分(粗分)方法

类别	最终记分合计值	可能的最高分与最低分数	粗分的变动范围
体能	1a+1b+……+1j	10, 30	20
体能影响	2a+2b+2c+2d	4, 8	4
身体疼痛	3a+3b	2, 12	10
一般健康	4a+4b+4c+4d+4e+4f	6, 30	24
精力	5a+5b+5c+5d	4, 24	20
社会活动	6a+6b	2, 10	8
精神影响	7a+7b+7c	3, 6	3
心理健康	8a+8b+8c+8d+8e	5, 30	25

表 4 患者SF-36量表调查情况 (mean ± SD)

	对照组		TIPS组		
	入组时	随访结束	术前	术后1 mo	术后6 mo
体能	70.2 ± 14.35	72.2 ± 14.41	66.9 ± 10.64	69.1 ± 9.75	74.5 ± 9.39
体能影响	71.2 ± 9.21	72.2 ± 10.54	67.9 ± 13.18	71.2 ± 8.46	73.9 ± 8.69
身体疼痛	58.2 ± 7.46	60.2 ± 8.97	56.6 ± 8.59	61.2 ± 6.43	65.4 ± 8.46[a]
一般健康	57.4 ± 8.82	64.8 ± 9.66[c]	58.4 ± 9.34	64.7 ± 8.12	70.7 ± 11.42[a]
精力	54.5 ± 5.37	55.1 ± 8.82	56.2 ± 10.18	61.2 ± 7.28	64.8 ± 8.12
社会活动)	51.2 ± 7.34	58.1 ± 5.24[c]	52.5 ± 8.15	58.2 ± 6.67	67.3 ± 6.98[a]
精神影响	41.2 ± 5.25	46.8 ± 8.46[c]	41.8 ± 6.34	48.3 ± 5.64[a]	56.5 ± 5.22[a]
心理健康	41.4 ± 5.34	47.2 ± 6.48[c]	42.8 ± 8.32	48.6 ± 6.34[a]	57.2 ± 6.67[a]

[a]*P*<0.05 *vs* 对照组和术前; [c]*P*<0.05 *vs* 入组时. TIPS: 经颈内静脉肝内门体分流术.

表 5 患者CLDQ问卷调查情况 (mean ± SD)

	对照组		TIPS组		
	入组时	随访结束	术前	术后1 mo	术后6 mo
腹部症状	13.2 ± 3.42	13.7 ± 2.55	13.4 ± 2.36	13.8 ± 1.87	14.9 ± 3.65[ac]
乏力	18.4 ± 4.26	19.5 ± 4.19	19.1 ± 3.62	21.6 ± 3.38	24.7 ± 4.02[ac]
全身症状	23.4 ± 3.75	25.4 ± 4.42[e]	24.0 ± 4.64	26.9 ± 4.35	29.7 ± 2.87[ac]
活动	11.4 ± 2.64	12.7 ± 2.97	12.2 ± 2.82	14.2 ± 1.97	15.2 ± 3.21[ac]
情感功能	33.5 ± 3.19	36.6 ± 3.26[e]	33.7 ± 3.19	36.3 ± 3.25[ac]	39.2 ± 3.31[ac]
焦虑	21.6 ± 4.14	22.5 ± 2.31	21.3 ± 3.38	23.5 ± 3.75	26.5 ± 3.42[ac]

[a]*P*<0.05 *vs* 对照组; [c]*P*<0.05 *vs* 术前; [e]*P*<0.05 *vs* 入组时. TIPS: 经颈内静脉肝内门体分流术.

CLDQ是我国第一个针对慢性肝病的生活质量问卷, 分为6个维度: 腹部症状(AS)(总分21)、乏力(FA)(总分35)、全身症状(SS)(总分35)、活动(AC)(总分21)、情感功能(EF)(总分56)、焦虑(WO)(总分35). 每个问题按1-7分7级评分, 分数越高表示生活质量越高. 调查患者近2 wk的上述经历.

对TIPS组患者在术前、术后1和6 mo进行SF-36量表和CLDQ问卷调查, 对照组在入组时及随访结束时进行, 采用面对面或者电话随访的方式的进行. 按照上述方法计算并统计患者得分情况如下表, 并进行统计学分析. 对于SF-36量表(表4), 术后6 mo TIPS组患者在精力和体能方面的指标差异无统计学意义, 其余各项指标与对照组及术前比较差异有统计学意义; 对照组患者在一般健康、社会活动、精神影响、心理健康等方面与入组时比较差异有统计学意义. 对于CLDQ问卷(表5) , 术后6 mo TIPS组

患者各项指标与对照组及术前比较差异有统计学意义; 对照组患者在全身症状、情感功能等方面与入组时比较差异有统计学意义. 由此可见, TIPS治疗后患者的一般健康和心理等很多方面都有明显改善.

3 讨论

门静脉高压症是肝硬化的合并症, 临床症状一般表现为脾肿大、门脉胃黏膜病变、食管胃底静脉曲张、脾功能亢进、腹水等, 门脉高压所致的食道、胃底曲张静脉破裂出血是最危急的并发症, 居各种上消化道出血原因之首, 初次出血的死亡率约为45%-50%, 患者一旦发生食道曲张静脉破裂出血, 首次出血后未采取任何预防性措施者其1-2年复发出血的危险性约为60%, 复发出血死亡率可达30%-40%. 另经内镜治疗者仍有12%-30%的失败率, 对年龄大、肝功能差(尤其是C级)、大量腹水不能耐受手术的急诊出血患者, 若行TIPS术均有好疗效[7-9]. 2008年世界胃肠组织关于食管静脉曲张的临床指南中建议对于Child-Pugh C级患者需慎行TIPS术, 本研究中Child-Pugh C级患者26例(11.2%), 对于此类患者在行其他治疗方式均无效的情况下, 我们选择了行TIPS术, 均达到了止血的目的, 治疗效果明显, 安全性好.

大量临床的研究证实[1,2,10,11]TIPS术可治疗门脉高压引起的食道、胃底静脉曲张破裂所致出血, 同时降低门静脉压, 术后静脉曲张再出血率降低. 本组研究资料显示, TIPS术患者无出血及出血1次的比例明显高于对照组(P<0.05), 达57.7%; 而出血3次及以上的比例低于对照组(P<0.05); 可见经TIPS手术治疗后患者的出血次数较对照组明显减少, TIPS术对于食管/胃底重度静脉曲张患者消化系出血的治疗效果明显, 可明显减少患者消化系出血的发生. 同时检测患者的肝功能, 术后6 mo与术前及对照组相关指标进行统计学比较, 差异无统计学意义, TIPS手术操作本身对患者的肝功能无影响.

慢性肝病已经成为一个社会健康的主要问题, 由于现有药物缺乏特异性以及治疗和认识进入误区, 患者不但经历生理、心理、生活和经济的痛苦, 在环境和精神上也备受困扰, 对人们健康危害极为严重. 生活质量已被认为是慢性肝病自然病史的重要方面和评价治疗效果的重要手段[12]. 多项研究证实[13,14]SF-36在中国人群中的效度和信度是可以接受的, 适用于我国慢性乙型肝炎患者的生存质量的测定. Younossi等[6]学者编制的CLDQ是国际上较为认可的一份用于慢性肝病患者生存质量测量的量表之一, 其在中国慢性乙型肝炎患者中已经过了不同学者的试用[15,16], 证实了用于慢性乙型肝炎患者生存质量评价的信度和效度. 本研究结合SF-36和CLDQ问卷对慢性肝硬化的生活质量进行了测定. 对于SF-36量表, 对照组患者行内科保守治疗后患者的一般健康、社会活动、精神影响、心理健康等方面有一定的改善; 行TIPS手术治疗的患者, 在术后6 mo精力和体能方面的指标与对照组及术前比较差异无统计学意义, 在一般健康、身体疼痛、社会活动、精神影响、心理健康等方面改善明显. 对于CLDQ问卷, 对照组患者在全身症状、情感功能等方面有所改善; 术后6 mo TIPS组患者6个维度与对照组及术前比较差异有统计学意义. 可见行TIPS治疗后患者的一般健康、社会活动、精神影响、腹部症状、全身症状等方面较对照组有所改善.

本研究结果显示, 肝硬化的病因以乙型肝炎病毒感染为主, 男性多于女性, 平均发病年龄为50岁左右, 多数为Child-Pugh B级患者; 经TIPS手术治疗后能减少患者消化系出血的次数, TIPS术对预防或者减少门脉高压所致消化系出血效果明显, 且本项技术操作对患者的肝功能无明显影响; 患者的生存质量较术前及对照组有明显改善.

■应用要点

本文对TIPS治疗后肝硬化消化系出血患者232例进行随访, 从患者一般情况、肝功能、消化系出血情况、生活质量等方面进行统计分析, 为TIPS治疗肝硬化消化道出血起指导意义, 为TIPS在临床中的应用提供临床资料.

4 参考文献

1 褚建国, 孙晓, 黄鹤, 徐晓明, 扑龙松, 吕春燕, 孙鹏, 杨淑慧, 刘姝英. 经肝段下腔静脉入路经颈静脉肝内门体分流术的适应证及解剖基础. 介入放射学杂志 2004; 13: 15-18

2 张金山, 王茂强, 杨立, 邢冲冲, 于森, 崔志鹏, 黄英才, 张正友, 高育暾. 经颈静脉途径肝内门体分流术. 中华医学杂志 1994; 74: 150-152

3 李麟荪, 主编. 临床介入治疗学. 南京: 江苏科学技术出版社, 1994: 328-340

4 秦建平, 蒋明德, 曾维政, 邓旦, 徐辉, 吴晓玲, 汪庆华, 顾明. 经颈内静脉肝内门体分流术治疗肝硬化门脉高压症56例. 世界华人消化杂志 2006; 14: 1420-1424

5 Spiro A, Bossé R. Relations between health-related quality of life and well-being: the gerontologist's new clothes? *Int J Aging Hum Dev* 2000; 50: 297-318 [PMID: 11087109]

6 Younossi ZM, Guyatt G, Kiwi M, Boparai N, King D. Development of a disease specific questionnaire to measure health related quality of life in patients with chronic liver disease. *Gut* 1999; 45: 295-300 [PMID: 10403745 DOI: 10.1136/gut.45.2.295]

7 Sauer P, Hansmann J, Richter GM, Stremmel W, Stiehl A. Endoscopic variceal ligation plus propranolol vs. transjugular intrahepatic portosystemic stent shunt: a long-term randomized trial. *Endosco-*

■同行评价
本文应用SF-36量表和CLDQ来观察患者TIPS手术治疗肝硬化消化系出血, 有一定的新意和临床意义.

py 2002; 34: 690-697 [PMID: 12195325 DOI: 10.1055/s-2002-33565]
8 Chalasani N, Kahi C, Francois F, Pinto A, Marathe A, Bini EJ, Pandya P, Sitaraman S, Shen J. Improved patient survival after acute variceal bleeding: a multicenter, cohort study. *Am J Gastroenterol* 2003; 98: 653-659 [PMID: 12650802 DOI: 10.1016/S0002-9270(02)06016-1]
9 诸葛宇征, 王英德, 刘丽娜, 宫爱霞, 赵钢. TIPSS和EVS治疗食道静脉曲张破裂出血的临床分析. 世界华人消化杂志 2003; 11: 1659-1660
10 Khan S, Tudur Smith C, Williamson P, Sutton R. Portosystemic shunts versus endoscopic therapy for variceal rebleeding in patients with cirrhosis. *Cochrane Database Syst Rev* 2006; (4): CD000553 [PMID: 17054131 DOI: 10.1002/14651858.CD000553.pub2]
11 Rösch J, Keller FS. Transjugular intrahepatic portosystemic shunt: present status, comparison with endoscopic therapy and shunt surgery, and future prospectives. *World J Surg* 2001; 25: 337-345; discussion 345-346 [PMID: 11343189]
12 Bayliss MS. Methods in outcomes research in hepatology: definitions and domains of quality of life. *Hepatology* 1999; 29: 3S-6S [PMID: 10386074]
13 潘华平. SF-36量表在慢性乙型肝炎患者生存质量中的应用研究. 中华全科医学 2010; 8: 152-153
14 刘朝杰, 李宁秀, 任晓晖, 李俊, 张骏, 孙丁. 36条目简明量表在中国人群中的适用性研究. 华西医大学报 2001; 32: 39-42
15 聂勇战, 张金霞, 李新华, 宋汉歌, 樊代明. 慢性肝病患者健康相关生存质量的量表评价. 现代康复 2001; 5: 18-19
16 吴创鸿, 邓启文, 纪晓抒, 阎郎明. 慢性肝病问卷在慢性乙型肝炎患者中的试用. 中国临床心理学杂志 2003; 11: 60-62

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年5月28日; 22(15): 2169-2174
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

三维重建技术在精准肝切除中的临床应用

王松平, 李建生, 马金良, 荚卫东, 葛勇胜, 余继海

王松平, 李建生, 马金良, 荚卫东, 葛勇胜, 余继海, 安徽医科大学附属省立医院肝脏外科 肝胆胰外科安徽省重点实验室 安徽省合肥市 230001
王松平, 主要从事肝脏外科疾病诊断与治疗学的研究.
国家自然科学基金资助项目, No. 81172364
安徽高校省级自然科学研究重点基金资助项目, No. KJ2011A171
安徽省科技计划基金资助项目, No. 11010402163
作者贡献分布: 王松平、李建生、马金良、荚卫东、葛勇胜及余继海对此文所作贡献均等; 此课题由王松平、李建生、马金良、荚卫东、葛勇胜及余继海设计; 研究过程由王松平、李建生、马金良、荚卫东、葛勇胜及余继海操作完成; 数据分析由王松平完成; 本论文写作由王松平完成.
通讯作者: 李建生, 教授, 主任医师, 博士生导师, 230001, 安徽省合肥市庐江路17号, 安徽医科大学附属省立医院肝脏外科.
lijiansheng1953@163.com
收稿日期: 2014-03-11 修回日期: 2014-03-30
接受日期: 2014-04-09 在线出版日期: 2014-05-28

Clinical application of three-dimensional reconstruction in precise hepatectomy

Song-Ping Wang, Jian-Sheng Li, Jin-Liang Ma, Wei-Dong Jia, Yong-Sheng Ge, Ji-Hai Yu

Song-Ping Wang, Jian-Sheng Li, Jin-Liang Ma, Wei-Dong Jia, Yong-Sheng Ge, Ji-Hai Yu, Department of Hepatic Surgery, Affiliated Provincial Hospital, Anhui Medical University, Hefei 230001, Anhui Province, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81172364; Key Project of Natural Science Foundation for Universities in Anhui, No. KJ2011A171; Science and Technology Program of Anhui Province, No.11010402163
Correspondence to: Jian-Sheng Li, Professor, Chief Physician, Department of General Surgery, Affiliated Provincial Hospital, Anhui Medical University, 17 Lujiang Road, Hefei 230001, Anhui Province, China. lijiansheng1953@163.com
Received: 2014-03-11 **Revised:** 2014-03-30
Accepted: 2014-04-09 **Published online:** 2014-05-28

Abstract

AIM: To explore the clinical application of three-dimensional reconstruction in precise hepatectomy for primary liver cancer.

METHODS: 3D virtual surgical planning system (IQQA-Liver) can be applied clinically to precise hepatectomy. Fifty-three patients with primary liver cancer who did not undergo three-dimensional reconstruction (group A) and 39 who underwent three-dimensional reconstruction (group B) were included. The design, planning and implementation of the operation were based on the traditional two-dimensional image data in group A. Intraoperative and postoperative conditions such as operative time, blood loss and complications were analyzed and compared with those in group B. In group B, two-dimensional and three-dimensional measures were used to measure total liver volume and pre-cut volume, and the operation was performed based on preoperative assessments using three-dimensional reconstruction technology.

RESULTS: The rate of complications in group B was lower than that in group A, but there was no significant difference. The results of precision hepatectomy based on three-dimensional reconstruction data were not worse than those on two-dimensional preoperative data. No significant difference (t = 1.985, P > 0.05) was found in the resected liver volume calculated based on three-dimensional reconstruction data and on two-dimensional reconstruction data.

CONCLUSION: Three-dimensional reconstruction can help achieve the goals of certainty, predictability and controllability of precise hepatectomy.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key words: Three-dimensional reconstruction; Primary liver cancer; Precise liver resection

Wang SP, Li JS, Ma JL, Jia WD, Ge YS, Yu JH. Clinical application of three-dimensional reconstruction in precise hepatectomy. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(15): 2169-2174 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2169.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2169

摘要

目的: 探讨三维重建技术在精准肝切除治疗原发性肝癌中的临床应用价值.

方法: 我院引进3D虚拟手术规划系统(IQQA-

■背景资料
利用精准肝切除术治疗原发性肝癌成为当前该领域临床治疗的首选. 随着计算机技术在医学的广泛应用, 三维重建技术应运而生, 它的大力发展和临床应用为减少术后肝功能衰竭、确保肝切除手术安全性和精确性提供了保证. 但是学术界对其实际临床价值是否显著优于传统二维术前规划, 仍然存在争议.

■同行评议者
于则利, 教授, 首都医科大学附属北京同仁医院外科

■研发前沿
如何利用三维技术在治疗原发性肝癌中行精准肝切除术，探讨三维重建技术在临床实践中的应用价值，即三维技术是否明显优于传统二维术前的规划.

Liver), 可临床应用于精准肝切除. 本研究分别收集并统计了应用三维重建技术治疗原发性肝癌前手术临床资料53例, 应用后临床资料39例, 作为A、B两组. A组的手术是医院在引进三维重建技术之前实施的, 手术设计、规划和具体实施是基于传统的二维影像资料. 本研究统计和分析了A组术中、术后情况诸如手术时间、出血量、并发症等, 并与B组相关数据比较; B组分别应用二维和三维方法测量肝脏总体积、预切除体积等, 并根据三维重建技术术前评估得出的切除方式进行手术.

结果: (1)根据对A、B两组术后并发症情况统计分析, B组术后并发症情况少于A组, 但无明显差异, 说明实施三维重建技术行精准肝切除术至少不会比二维术前规划结果差; (2)B组二维计算的切除肝体积和三维计算的数据无显著差异($t = 1.985, P>0.05$).

结论: 三维重建技术可以实现精准肝切除术确定性、预见性和可控性的目标.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 三维重建技术; 原发性肝癌; 精准肝切除

核心提示: 实施三维重建技术行精准肝切除术, 术后并发症, 诸如胸腔积液胆漏、肺部感染、伤口感染等以及术中实际情况如术中出血量和手术时间等出现的概率少于传统二维规划, 并且二维计算的切除肝体积和三维计算的数据无显著差异.

王松平, 李建生, 马金良, 英卫东, 葛勇胜, 余继海. 三维重建技术在精准肝切除中的临床应用. 世界华人消化杂志 2014; 22(15): 2169-2174 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2169.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2169

0 引言

原发性肝癌(primar liver cancer)是指在肝细胞或肝内胆管上皮细胞发生的恶性肿瘤, 其患者一般已进入肝硬化阶段[1]. 尽管科学研究已证实, 肝脏移植是治疗原发性肝癌的最理想方案[2,3], 但是肝脏供源的短缺以及高昂的手术成本等因素严重制约了其在临床的实际应用. 肝移植术发展的桎梏给治疗原发性肝癌的另一大重要技术-肝切除术, 提供了良好的发展契机[4]. 根据董家鸿提出的精准肝切除概念, 精确的术前评估、计算残肝体积和残肝储备功能是避免术后肝功能衰竭, 提高术后生存率, 最终保证手术成功的重要助力. 但如何在精准计算切除肿瘤的体积和尽可能地保留剩余肝组织二者之间进行有效的选择, 是临床应用的两难问题[5]. 传统的二维断层MRI、CT等影像扫描, 以及肝功能的半定量检查评估并不能对病灶的解剖定位、肝内脉管结构的毗邻关系以及残肝体积等提供精准量化的立体构象分析, 术中超声虽然在一定程度上提高了肝切除的精准性, 但在离断肝实质时仍旧无法从不同方位定位. 因此, 能够提供更加精确的剩余肝脏体积和虚拟仿真肝切除手术的三维重建技术应运而生, 他的大力发展和临床应用为减少术后肝功能衰竭、确保肝切除手术安全性和精确性提供了保证[6].

本研究参照相关标准收集并统计了我院应用三维重建技术前行肝切除术的原发性肝癌患者手术临床资料53例, 应用后资料39例, 作为A、B两组. 本研究仅对A组术中、术后情况诸如手术时间、出血量、并发症等进行统计分析, 并与B组相关数据对比; B组则分别应用二维和三维测量肝脏总体积、预切除体积等, 并根据三维重建技术术前评估得出的切除方式行肝切除术. 其中B组病患三维重建技术是在传统二维影像数据的基础上进行, 显示病灶以及肝内各管道的立体构象, 并进行量化分析, 模拟实施肝切除术, 根据实时得出的残肝体积计算剩余肝脏的储备功能, 选择最佳方案进行手术. 通过两组手术结果的对比、验证, 探讨、评价三维重建技术在精准肝切除治疗原发性肝癌中的临床应用价值, 以及对二维手术规划的影响.

1 材料和方法

1.1 材料 纳入本研究的原发性肝癌患者共计92例, 其中男69例, 女23例; 肝细胞癌77例, 肝内胆管细胞癌15例; 应用三维重建技术前实施手术的53例, 应用后实施的39例. 92例病患年龄跨度大致是40-60岁, 平均年龄46岁. 本研究排除不同影响因素可能对手术结果产生的影响, 其中肝功能严重受损、病灶过大、切除后剩余肝脏不能良好代偿(剩余肝脏体积不足标准肝脏体积的30%)从而很可能导致急性肝功能衰竭的肝癌患者剔除研究样本[7].

此外, 考虑到多发病灶的出现是疾病晚期的证据, 单个肿瘤的患者5年生存率可达57%, 而3个或更多肿瘤患者仅为26%这一因素, 同时也为突出二维和三维的手术规划效果, 本研究全部选择了单一病灶的患者[8]. 患者术前肝功能均为

Child-Pugh A级[9], 无明显门静脉高压征象, 吲哚氰绿染色剂15 min滞留率<10%.

1.2 方法

1.2.1 肝脏三维重建: 首先, 对B组39例患者以多层螺旋CT行上腹部平扫和三期增强扫描, 层厚1.25-1.50 mm, 将B组获得的二维图像按顺序导入美国EDDA公司的计算机辅助手术规划系统进行三维重建, 并在此基础上进行虚拟手术的规划. 其次, 系统自动根据肝脏静脉期全部影像轮廓将其从周围脏器中提取出来, 操作者可以适当手工分割, 系统会实时生成肝脏的相关信息, 包括病灶信息、肝内管道的空间分布、管径、长度、变异、肿瘤与肝脏管道结构的毗邻关系、剩余肝脏的血管结构和拟切断的重要血管结构等. 最后, 根据肝区分割功能对肝脏进行分段, 完成B组所有病患的三维重建, 构建清晰的三维立体透视影像.

1.2.2 肝脏体积测算: B组首先基于二维断层影像和患者的身高、体质量等基本信息计算肝脏体积和评估残肝体积. 然后在二维图像的基础上重建三维立体影像, 根据不同的虚拟切割方式, 系统自动得出肿瘤体积、预切除肝脏体积、肝段体积、剩余肝脏中的缺血、淤血体积等数据, 选择最佳的手术方式, 通过比较B组不同手术规划的手术结果, 比较三维和二维手术规划的情况以及三维手术术前规划与三维实际手术结果的相关性.

1.2.3 手术设计: A组为应用三维重建技术前53例符合条件的样本. 查阅、收集历史资料, 包括手术时间、术中出血量[10]以及术后并发症随访记录结果. B组基于三维重建技术的手术规划行肝切除术, 记录术中实际手术时间、出血量等情况, 并术后随访12 mo, 平均随访10 mo, 记录并发症结果并与A组对比研究. B组的二维手术规划只在二维影像资料的基础上, 确定目标病灶的边界, 根据肝区或肝段间隙的标志性结构在二维影像上划定拟切除线, 根据体质量、身高确定必要的切除范围和要保留的体积以及肝实质离断层面.

此外, B组通过三维重建技术, 明确病灶与肝脏内各管道的关系, 参考全肝体积、肿瘤体积等二维数据, 确定需切除的目标病灶累及的病变肝组织及病灶切除后结构和功能可能会遭到损毁的非病变肝组织, 可以模拟多种手术切除方案. 对于正常肝实质, 剩余具有功能的肝脏体积要求大于标准肝脏体积的30%; 对于存在明显纤维化或肝硬化的患者, 其剩余具有功能的肝脏体积要求大于标准肝脏体积的40%. 因此, 在必要切除范围和必需保留范围之间的肝脏可切除范围的基础上, 考虑足够的无肿瘤切边缘, 最大程度地保留功能性肝组织. 并结合各种可选择手术方式的难度、风险和安全性, 选择最佳的虚拟手术切除方案. 利用软件中的空间切割工具, 顺沿缺乏脉管结构的区段间隙, 进行虚拟切割, 并自动得出预切除肝脏体积、剩余肝脏体积、肝段体积、剩余肝脏中的缺血、淤血体积等各项数据. 在此基础上, 将其应用于B组39例患者, 将三维方法切除肝脏体积结果和二维结果相对照, 分析相关性和差异性.

表 1 二维和三维方式下的肝切除体积

测量方式	切除部分体积(cm^3)	剩余肝脏体积/全肝体积(%)
二维	532 ± 229	59.60 ± 12.11
三维	568 ± 245	58.34 ± 11.25
术后实际	574 ± 238	60.08 ± 12.07

统计学处理 本文应用SPSS12.0统计软件进行分析. 三维方法切除肝脏体积与二维方法切除肝脏体积之间的差异分析采用配对t检验, 两者之间的相关性采用Pearson相关分析, 误差率的比较采用r检验. P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 体积测量 B组内, 二维方法计算的预切除肝脏体积与采用三维方法计算的结果比较, 差异无统计学意义(t = 1.985, P>0.05). 三维方法计算切除肝脏体积与术后实际切除肝脏质量统计学中具有相关性(r = 0.999, P<0.05)(表1).

2.2 临床手术 A组是我院引进三维重建技术前, 按照二维手术规划的结果实施的53例肝切除样本. 通过查阅历史资料统计术后并发症等情况. B组样本39例, 按照三维重建技术手术规划最佳方案行精准肝切除术. 对B组39例患者术后随访12 mo, 平均随访10 mo. 两组术后并发症统计包括术中死亡率、有无术后肝功能损害、切口感染、胸腔积液等[11], 统计结果如表2.

结果显示, A组出现8例胸腔积液、1例胆漏、3例肺部感染、1例肝功能衰竭. 53例样本中37例获得随访统计结果, 肿瘤复发率40.5%, 1年生存率78.3%. B组3例病患术后出现并发症, 经保守治疗痊愈. 39例样本中35例获得随访结

■创新盘点

首先, 本研究通过查阅、收集利用三维重建技术前即利用传统二维手术规划并行肝切除术的患者手术时间、术中出血量以及术后并发症等随访记录资料. 并与利用三维重建技术术前规划和术中切除的患者资料对比研究. 其次, 选取利用三维重建技术后的病患资料, 术前分别利用二维和三维计算预切除肝脏体积. 分析三维与传统二维技术的优劣.

■应用要点
医学应该充分利用当前科学技术的飞速发展所带来的契机. 在临床实践中, 更多借助三维技术行精准肝切除术, 根据预后风险分析在保证切缘安全的基础上避免过多的肝组织切除. 使患者达到最小创伤侵袭、最大脏器保护和最佳康复效果. 而不必过多依赖医生的经验和主观判断.

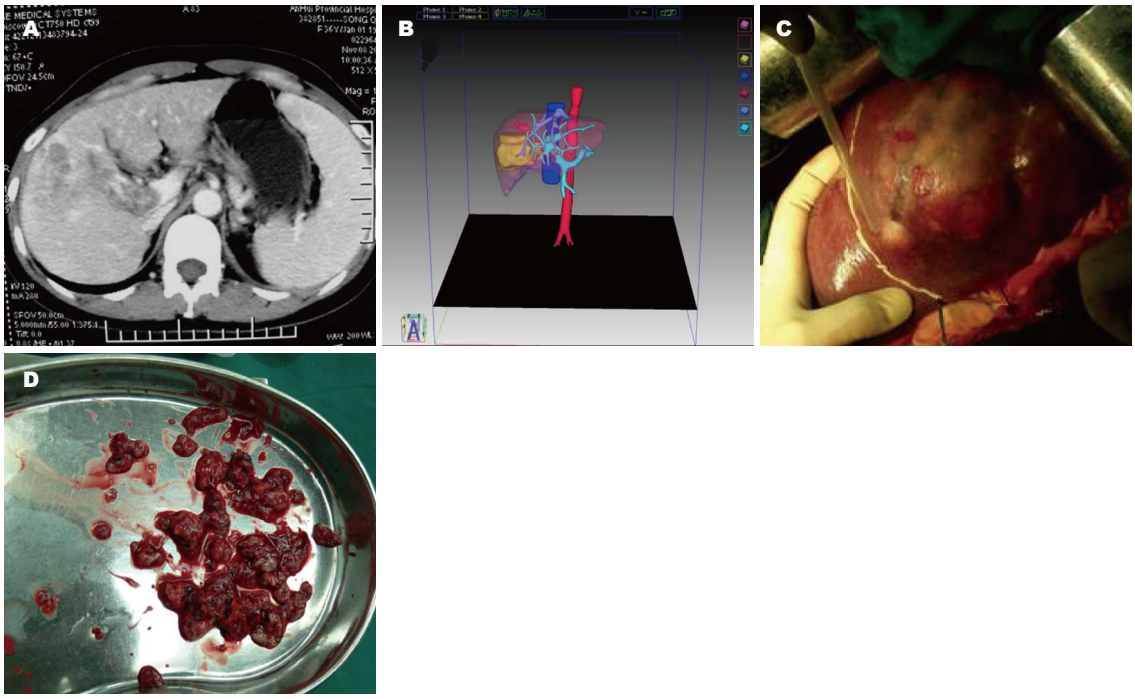


图 1 肝中叶肿瘤精准切除影像资料. A: 术前CT检查; B: 三维重建显示病灶体积以及病灶与肝静脉、门静脉之间的关系; C: 术中病灶位置; D: 术中取出癌栓.

表 2 术后并发症情况统计表

术后并发症	A组		B组	
	n	%	*n*	%
n	53	39.0		
胸腔积液	8	15.1	3	7.7
胆漏	1	1.9	0	0.0
肺部感染	3	5.7	1	2.6
切口感染	2	3.8	1	2.6
肝功能衰竭	1	1.9	0	0.0
肿瘤复发率	40.5%(15/37)		8.6%(3/35)	
1年生存率	78.3%(29/37)		91.4%(32/35)	

表 3 其他术中、术后基本情况统计一览表

其他术中以及术后基本情况	A组(应用三维技术前)	B组(应用三维技术后)
平均出血量(mL)	431	330
平均术后住院天数(d)	10	8
平均手术时间(min)	125	193
肝门阻断		
是否肝门阻断	是	否
平均阻断时间(min)	19	0

果, 肿瘤复发率8.6%, 1年生存率91.4%. B组术后并发症发生的概率基本小于A组, 但是差异并不明显. 92例样本量的对比结果显示, 利用三维重建技术术前规划, 术后并发症出现的概率低于二维术前规划, 但无明显差异.

此外, B组20例手术患者术中平均出血约330 mL, 平均术后住院天数8 d, 平均手术时间193 min, 未实施肝门阻断. A组手术患者术中平均出血约431 mL, 平均术后住院10 d, 平均手术时间125 min, 实施肝门阻断, 平均阻断时间19 min(表3)两组术中出血量、手术时间以及术后住院天数等参数无明显差异. 实施三维重建技术行精准肝切除术至少不会比二维术前规划结果差.

2.3 两例患者术前三维重建评估结果及手术规划 这里选取了B组中二维和三维评估结果有所不同的两个病例进行研究.

病例1, 男, 年龄51岁, 肝细胞癌. 根据二维影像评估结果显示, 肿瘤为单一病灶, 位于肝中叶, 拟从肿瘤部位进行局部切除手术, 但由于病灶切缘不清, 应用三维重建技术后, 采用虚拟手术模拟多种切除方式, 病灶位于第八段, 由第八段背侧支供血, 为充分切除肿瘤, 拟行解剖性八段切除术并门静脉切开取栓, 并保证剩余肝脏体积能够达到正常肝储备功能, 手术采用该方案并取得了成功(图1).

病例2, 男, 年龄48岁, 为巨块型肿瘤, 肿瘤位于右半肝, 拟行右三区切除术, 但计算的剩余肝脏体积仅为498 mL, 功能肝切除率过大, 二

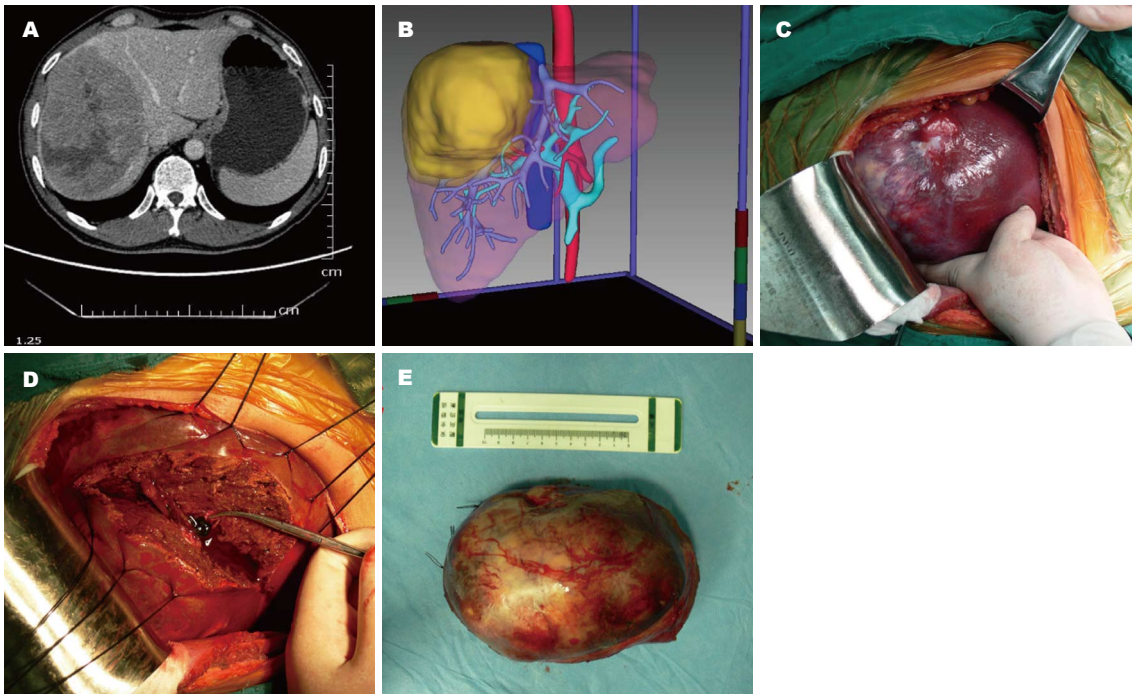


图 2 右肝巨块型肿瘤精准切除影像资料. A: 术前CT检查; B: 三维重建显示病灶体积以及病灶与肝静脉、门静脉之间的关系; C: 术中病灶位置; D: 术中切除肿瘤后创面; E: 术中实际切除标本.

维手术设计规划结果是不宜行肝切除术. 而根据二维影像重建的三维模型中显示病灶位于肝脏的Ⅶ、Ⅷ段, 部分Ⅴ、Ⅵ段, 无病灶区的左半肝和剩余Ⅴ、Ⅵ段的总体积占标准肝脏体积的62.5%, 可实现正常代偿. 因此, 在三维手术规划下改行精准Ⅴ、Ⅵ、Ⅶ、Ⅷ段局部切除, 手术取得成功(图2).

3 讨论

本研究结果证实, 利用二维方法计算的预切除肝脏体积与采用三维方法计算的结果比较, 差异无统计学意义(t = 1.985, P>0.05); 三维方法计算切除肝脏体积与术后实际切除肝脏质量统计学中具有相关性(r = 0.999, P<0.05); 在三维术前规划的结果实施手术无论是手术时间、术中出血量还是术后并发症出现的概率都好于在二维规划基础上实施的手术结果, 但是结果没有太大差异. 但是在实际临床应用中, 三维重建技术在治疗原发性肝癌中的优势非常明显. 三维图像视觉立体、直观、形态逼真, 免去了外科医生根据二维CT图像在脑海中进行复杂图像综合和空间想象过程. 通过系统自带的透明化处理, 可以从多角度旋转观察肿瘤的大小、定位、数目, 病灶累及范围和邻近脉管的毗邻关系等[12,13]. 通过对图像的处理, 实时计算模拟切除的肝脏体积、残肝体积, 根据预后风险分析在保证切缘安全的基础上避免过多的肝组织切除[14]. 对不同方案进行比较, 筛选出最佳方案, 应用于临床. 这种基于三维重建技术的术前评估和规划能够最大限度地减少不必要的组织损伤, 控制术中出血, 使患者达到最小创伤侵袭、最大脏器保护和最佳康复效果[15]. 但是由于时间、资源和能力等因素制约, 本研究还存在很多不足, 所选取的样本量也比较有限, 不能完全排除偶然因素的影响, 也不能完全代表所有可能的结果. 本研究仅仅是提供一种见解和想法, 希望对后来的研究有所启示.

■同行评价
本文选题简明而有特色, 研究方法和技术较系统. 文章的科学性、创新性和可读性能较好地反映我国消化系外科临床和基础研究的先进水平.

4 参考文献

1 董家鸿, 黄志强. 精准肝切除-21世纪肝脏外科新理念. 中华外科杂志 2009; 47: 1601-1605
2 董家鸿. 肝细胞癌治疗理念与策略的转变. 中华消化外科杂志 2009; 8: 85-87
3 樊嘉, 吴志全, 汤钊猷, 马曾辰, 周信达, 林芷英, 叶胜龙, 周俭, 邱双健, 钦伦秀, 叶青海. 不同治疗模式对不能切除的肝癌二期手术预后的影响. 中华外科杂志 2001; 39: 745-748
4 Imamura H, Sano K, Sugawara Y, Kokudo N, Makuuchi M. Assessment of hepatic reserve for indication of hepatic resection: decision tree incorporating indocyanine green test. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2005; 12: 16-22 [PMID: 15754094 DOI: 10.1007/s00534-004-0965-9]
5 Garcea G, Ong SL, Maddern GJ. Predicting liver failure following major hepatectomy. *Dig Liver Dis* 2009; 41: 798-806 [PMID: 19303376 DOI: 10.1016/j.dld.2009.01.015]

6 王正. 数字化时代的医学革命. 中国数字医学 2009; 4: 8-11
7 Clavien PA, Petrowsky H, DeOliveira ML, Graf R. Strategies for safer liver surgery and partial liver transplantation. *N Engl J Med* 2007; 356: 1545-1559 [PMID: 17429086 DOI: 10.1056/NEJMra065156]
8 Farges O, Belghiti J, Kianmanesh R, Regimbeau JM, Santoro R, Vilgrain V, Denys A, Sauvanet A. Portal vein embolization before right hepatectomy: prospective clinical trial. *Ann Surg* 2003; 237: 208-217 [PMID: 12560779 DOI: 10.1097/01.SLA.0000048447.16651.7B]
9 Belghiti J, Regimbeau JM, Durand F, Kianmanesh AR, Dondero F, Terris B, Sauvanet A, Farges O, Degos F. Resection of hepatocellular carcinoma: a European experience on 328 cases. *Hepatogastroenterology* 2002; 49: 41-46 [PMID: 11941981]
10 Nagino M, Kamiya J, Arai T, Nishio H, Ebata T, Nimura Y. "Anatomic" right hepatic trisectionectomy (extended right hepatectomy) with caudate lobectomy for hilar cholangiocarcinoma. *Ann Surg* 2006; 243: 28-32 [PMID: 16371733 DOI: 10.1097/01.sla.0000193604.72436.63]
11 许戈良, 荚卫东, 李建生, 马金良, 刘文斌, 葛勇胜, 余继海, 王伟. 应用精细肝脏外科理念治疗原发性肝癌53例. 世界华人消化杂志 2010; 18: 1824-1828
12 Yamanaka J, Saito S, Fujimoto J. Impact of preoperative planning using virtual segmental volumetry on liver resection for hepatocellular carcinoma. *World J Surg* 2007; 31: 1249-1255 [PMID: 17440774 DOI: 10.1007/s00268-007-9020-8]
13 Saito S, Yamanaka J, Miura K, Nakao N, Nagao T, Sugimoto T, Hirano T, Kuroda N, Iimuro Y, Fujimoto J. A novel 3D hepatectomy simulation based on liver circulation: application to liver resection and transplantation. *Hepatology* 2005; 41: 1297-1304 [PMID: 15846773 DOI: 10.1002/hep.20684]
14 Lang H, Radtke A, Hindennach M, Schroeder T, Frühauf NR, Malagó M, Bourquain H, Peitgen HO, Oldhafer KJ, Broelsch CE. Impact of virtual tumor resection and computer-assisted risk analysis on operation planning and intraoperative strategy in major hepatic resection. *Arch Surg* 2005; 140: 629-638; discussion 638 [PMID: 16027326 DOI: 10.1001/archsurg.140.7.629]
15 董家鸿, 黄志强. 倡导精准肝脏外科 重现普罗米修斯神话. 中华消化外科杂志 2010; 9: 4-5

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年5月28日; 22(15): 2175-2178
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

腹腔镜下胆囊切除患者住院期间发生心肌梗死的影响因素

仇奕然, 张海燕

仇奕然, 南方医科大学 广东省广州市 510515
仇奕然, 张海燕, 启东市中医院普外科 江苏省启东市 226200
仇奕然, 主要从事腹腔镜下胆囊切除术的研究.
作者贡献分布: 仇奕然负责课题的设计、研究过程、试剂的提供、数据分析及论文写作; 张海燕负责研究过程、试剂的提供、数据分析.
通讯作者: 张海燕, 副主任医师, 226200, 江苏省启东市紫薇中路458号, 启东市中医院普外科. jinjin9387@126.com
电话: 0513-83251941
收稿日期: 2014-04-10 修回日期: 2014-05-04
接受日期: 2014-05-06 在线出版日期: 2014-05-28

Risk factors for myocardial infarction in inpatients after laparoscopic cholecystectomy

Yi-Ran Qiu, Hai-Yan Zhang

Yi-Ran Qiu, Southern Medical University, Guangzhou 510515, Guangdong Province, China
Yi-Ran Qiu, Hai-Yan Zhang, Department of General Surgery, Hospital of Traditional Chinese Medicine of Qidong City, Qidong 226200, Jiangsu Province, China
Correspondence to: Hai-Yan Zhang, Associate Chief Physician, Department of General Surgery, Hospital of Traditional Chinese Medicine of Qidong City, 456 Ziwei Middle Road, Qidong 226200, Jiangsu Province, China. jinjin9387@126.com
Received: 2014-04-10 Revised: 2014-05-04
Accepted: 2014-05-06 Published online: 2014-05-28

Abstract

AIM: To investigate the risk factors for myocardial infarction in inpatients after laparoscopic cholecystectomy.

METHODS: A retrospective analysis of 830 inpatients patients who underwent laparoscopic cholecystectomy from January 2008 to December 2012 at our hospital was performed, of whom 80 developed myocardial infarction. Univariate analysis was employed to screen factors significantly influencing the development of myocardial infarction. Multivariate Logistic regression analysis was performed to analyze the independent risk factors associated with the onset of myocardial infarction.

RESULTS: Univariate analysis demonstrated that factors significantly influencing the development of myocardial infarction included total cholesterol (TC) (1.7 mmol/L ± 0.6 mmol/L *vs* 1.8 mmol/L ± 0.8 mmol/L), low-density lipoprotein (LDL) (2.9 mmol/L ± 0.6 mmol/L *vs* 2.4 mmol/L ± 0.7 mmol/L), advanced age (57.5% *vs* 33.7%), recent episodes of angina above grade Ⅱ (21.3% *vs* 8.1%), no blood glucose control (42.5% *vs* 18.3%), cardiac dysfunction (NYHA Ⅱ-Ⅳ) (13.8% *vs* 3.5%), dehydration (11.3% *vs* 2.9%), severe inflammatory response (45.0% *vs* 22.7%), infection (23.8% *vs* 12.5%) and no cardiological consultation (7.5% *vs* 26.3%) ($P < 0.05$). Multivariate Logistic regression analysis showed that LDL, advanced age, recent episodes of angina above grade II, no blood glucose control, severe inflammatory response, infection and no cardiological consultation were independent risk factors.

CONCLUSION: LDL, recent episodes of angina above grade Ⅱ, no blood sugar control, advanced age, severe inflammatory response, infection and no cardiologic consultations are independent risk factors for myocardial infarction in inpatients after laparoscopic cholecystectomy.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Laparoscopic; Gallbladder; Myocardial infarction

Qiu YR, Zhang HY. Risk factors for myocardial infarction in inpatients after laparoscopic cholecystectomy. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(15): 2175-2178 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2175.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2175

摘要

目的: 讨论腹腔镜下行胆囊切除术患者发生心肌梗死的危险因素, 并对相关危险因素进行统计学分析.

方法: 回顾性分析2008-01/2012-12在我院普外科住院行腹腔镜下胆囊切除术的830例患者的临床资料, 其中有80例患者发生心肌梗死, 将其作为心肌梗死组. 对可能引起心肌梗死的因素采用单因素分析, 筛选出发生心肌梗死

■背景资料
腹腔镜胆囊切除术由于创伤小、恢复快, 在临床开展较为广泛, 但是仍有部分腹腔镜下胆囊切除术患者发生心肌梗死, 存在发生冠心病的危险因素. 由于专业的局限性, 忽视了对此类危险因素的干预, 导致并发心肌梗死, 给治疗增加难度, 影响患者的生活质量. 目前国内外针对腹腔镜下胆囊切除患者住院期间发生心肌梗死的影响因素研究较少.

■同行评议者
巩鹏, 教授, 大连医科大学附属第一医院普外二科

■研发前沿
目前，胆囊疾病手术治疗多选用腹腔镜胆囊切除术，相比传统手术具有出血少、并发症少等优点. 但由于此类病人多需要禁食、水，术前较早停用抗凝药等，都有可能导致心肌梗死的发生.

的影响因素，并对相关危险因素进行多因素Logistic回归分析.

结果：总胆固醇(total cholesterol, TC)(1.7 mmol/L±0.6 mmol/L *vs* 1.8 mmol/L±0.8 mmol/L)、低密度脂蛋白(low-density lipoprotein, LDL)(2.9 mmol/L±0.6 mmol/L *vs* 2.4 mmol/L±0.7 mmol/L)、高龄(57.5% *vs* 33.7%)、Ⅱ级以上心绞痛(21.3% *vs* 8.1%)、血糖是否控制(42.5% *vs* 18.3%)、NYHA Ⅲ-Ⅳ级心功能不全(13.8% *vs* 3.5%)、重度脱水(11.3% *vs* 2.9%)、重度炎症反应(45.0% *vs* 22.7%)、感染(23.8% *vs* 12.5%)及发病前是否心内科会诊(7.5% *vs* 26.3%)等10项指标两组差异具有统计学意义(P<0.05)；多因素Logistic回归分析显示LDL、Ⅱ级以上心绞痛、血糖未控制、感染、高龄、重度炎症反应、未请心内科会诊与发生心肌梗死相关(P<0.05)，是腹腔镜下胆囊切除患者发生心肌梗死的独立影响因素.

结论：腹腔镜下胆囊切除术患者住院期间LDL、Ⅱ级以上心绞痛、血糖未控制、高龄、炎症反应、感染及未请心内科会诊为MI发生的危险因素.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 腹腔镜; 胆囊; 心肌梗死

核心提示: 本研究显示高龄与心肌梗死的发病高度相关. 社会老龄化导致高龄人口越来越多，高龄会导致冠脉弹性减弱，对外界刺激、应激反应过于敏感，导致急性心肌缺血，引发心肌梗死.

仇奕然，张海燕. 腹腔镜下胆囊切除患者住院期间发生心肌梗死的影响因素. 世界华人消化杂志 2014; 22(15): 2175-2178
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2175.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2175

0 引言

心肌梗死(myocardial infarction, MI)是指因冠状动脉闭塞，血流中断，导致心肌局部坏死[1]. 心肌梗死由于事发突然，病情进展迅速，往往给患者造成严重后果，严重影响患者的生活质量[2]. 腹腔镜胆囊切除术由于创伤小、恢复快，在临床开展较为广泛，但是仍有部分腹腔镜下胆囊切除术患者发生心肌梗死，存在发生冠心病的危险因素[3]. 由于专业的局限性，忽视了对此类危险因素的干预，导致并发心肌梗死，给治疗增加难度，影响患者的生活质量[4]. 目前国内外针对腹腔镜下胆囊切除患者住院期间发生心肌梗死的影响因素研究较少，本研究拟针对住院期间发生心肌梗死的因素进行分析，从而给临床预防术后发生心肌梗死提供参考依据.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2008-01/2012-12在我院普外科住院行腹腔镜下胆囊切除术患者830例，其中男性540例，女性290例. 其中80例发生心肌梗死. 根据住院期间是否发生心肌梗死，分为非心肌梗死组(UnMI组)750例；心肌梗死组(MI组)80例. 心肌梗死的诊断标准参照《美国心脏病学院和美国心脏学会新的不稳定性心绞痛/非ST段抬高性心肌梗死的诊断和治疗指南解读》[5]执行.

1.2 方法 查阅患者的一般情况、疾病发作情况、相关辅助检查、心内科会诊记录等，对患者相关数据进行统计分析. 制定相关判定标准：(1)年龄≥70岁，判定为高龄；(2)心绞痛发作水平，根据加拿大心血管学会心绞痛分级分为I-Ⅳ级；(3)恶性心律失常：包括能够支持患者出现频发室早、室速的心电图或心电监护等；(4)炎症反应：根据C-反应蛋白(C-reactive protein, CRP)测定值判定炎症反应的轻重. CRP<2 mg/L判定为无炎症反应；2 mg/L≤CRP<4 mg/L判定为存在轻度炎症反应；CRP≥4 mg/L判定为存在重度炎症反应.

统计学处理 采用SPSS 13.0软件进行统计分析，结果数据正态分布资料用mean±SD表示，计数资料采用χ^2检验，计量资料采用t检验. 心肌梗死的相关因素分析首先进行单因素分析，再进行多因素Logistic回归分析得出MI的危险因素. P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 单因素分析 对可能导致心肌梗死的相关因素进行单因素分析(表1)，结果提示总胆固醇(total cholesterol, TC)、低密度脂蛋白(low-density lipoprotein, LDL)、高龄、Ⅱ级以上心绞痛、血糖是否控制、NYHA Ⅲ-Ⅳ级心功能不全、重度脱水、重度炎症反应、感染及发病前是否心内科会诊等10项指标两组差异具有统计学意义(P<0.05).

2.2 多因素分析 将与心肌梗死发生的相关因素进行多因素Logistic回归分析，结果显示LDL、Ⅱ级以上心绞痛、血糖未控制、感染、高龄、重度炎症反应、未请心内科会诊与发生心肌梗

表 1 心肌梗死发生相关因素的单因素分析 *n*(%)

相关因素	MI组	UnMI组	χ^2或*t*值	*P*值
n	80	750		
性别				
男性	46(57.5)	457(60.9)	0.357	>0.05
女性	34(42.5)	293(39.1)		
吸烟	36(45.0)	368(49.1)	0.479	>0.05
合并高血压	32(40.0)	267(35.6)	0.607	>0.05
合并糖尿病	29(36.3)	233(31.1)	0.899	>0.05
高龄患者	46(57.5)	253(33.7)	17.717	<0.05
心绞痛				
Ⅱ级以下	13(16.3)	83(11.1)	1.900	>0.05
Ⅱ级以上	17(21.3)	61(8.1)	14.607	<0.05
恶性心律失常	11(13.8)	38(5.1)	8.311	<0.05
血糖未控制	34(42.5)	137(18.3)	25.952	<0.05
心功能				
NYHA Ⅱ级	7(8.7)	93(12.4)	0.909	>0.05
NYHA Ⅲ级	8(10.0)	20(2.7)	9.783	<0.05
NYHA Ⅳ级	3(3.8)	6(0.8)	3.437	<0.05
脱水程度				
轻度	5(6.25)	43(5.7)	2.063	>0.05
中度	2(2.5)	27(3.6)	2.575	>0.05
重度	9(11.3)	22(2.9)	11.689	<0.05
炎症反应				
轻度	21(26.3)	232(30.9)	1.357	>0.05
重度	36(45.0)	170(22.7)	59.668	<0.05
感染				
有	19(23.8)	94(12.5)	7.733	<0.05
无	61(76.3)	656(87.5)		
心内科会诊	6(7.5)	197(26.3)	13.799	<0.05
年龄(岁)	38.9 ± 11.2	41.1 ± 9.3	1.969	>0.05
体质量(kg)	72.4 ± 6.9	73.1 ± 7.2	0.830	>0.05
TC(mmol/L)	5.1 ± 0.7	4.8 ± 0.6	4.180	<0.05
TG(mmol/L)	1.7 ± 0.6	1.8 ± 0.8	1.085	>0.05
LDL(mmol/L)	2.9 ± 0.6	2.4 ± 0.7	6.151	<0.05
空腹血糖(mmol/L)	6.3 ± 1.2	5.3 ± 0.9	9.115	<0.05

■相关报道
国内有研究报道, 高龄患者的痛阈提高, 同时多合并其他系统疾病, 往往会导致急性心肌梗死发生的可能, 死亡率极高.

死相关(P<0.05)(表2).

3 讨论

随着人们生活节奏的加快, 胆囊疾病的患者越来越多, 呈逐年上升趋势, 若不及时治疗往往导致严重并发症[6]. 目前, 胆囊疾病手术治疗多选用腹腔镜胆囊切除术, 相比传统手术具有出血少、并发症少等优点[7,8]. 但由于此类病人多需要禁食、水, 术前较早停用抗凝药等, 都有可能导致心肌梗死的发生. 为此本研究将相关因素进行分析, 得出导致患者发生心肌梗死的危险因素.

本研究显示高龄与心肌梗死的发病高度相关. 社会老龄化导致高龄人口越来越多, 高龄会导致冠脉弹性减弱, 对外界刺激、应激反应过于敏感, 导致急性心肌缺血, 引发心肌梗死[9]. 国内有研究报道, 高龄患者的痛阈提高, 同时多合并其他系统疾病, 往往会导致急性心肌梗死发生的可能, 死亡率极高.

LDL是体内胆固醇转运的重要蛋白, 与体内物质氧化应激有关, LDL水平过高易导致动脉粥样硬化[10,11]. CRP是人体炎症反应的重要因子, 同时对导致动脉粥样硬化也发生作用, 已有研究证实, 参考患者体内LDL及CRP水平对于评估患者发生MI风险具有显著作用[12]. 在本研究中, MI组患者中的LDL和CRP水平较对照组显著增

■同行评价
本研究内容实用，可对同行起到一定警示作用.

表 2 多因素Logistic回归分析结果

相关因素	B	SE	Wald	Sig	Exp(B)	95%CI
LDL	0.718	0.333	4.655	0.031	2.051	1.068–3.939
Ⅱ级以上心绞痛	0.828	0.350	5.589	0.018	2.288	1.152–4.544
血糖未控制	1.061	0.337	768.977	0.001	2.889	1.491–5.597
重度炎症反应	1.484	0.200	55.061	0.000	4.412	2.981–6.529
是否请心内科会诊	–0.801	0.254	9.950	0.002	0.449	0.273–0.738
感染	0.876	0.422	4.298	0.038	2.401	1.049–5.496
高龄	0.536	0.258	4.336	0.037	1.711	1.032–2.833

高, 同时发现LDL和CRP与MI具有高度的相关性, 为明确的危险因素. 因此对于围手术期患者应当及时监测并控制LDL水平及炎症反应, 减少MI发生的风险.

高血糖与心血管疾病密切相关. 高血糖主要是通过自由基诱导体内氧化应激反应, 导致斑块破裂, 从而通过诱导、加剧炎性反应, 加重血管内皮功能损伤[13,14]. 本研究发现MI组血糖未控制率(42.5%)远远大于非心肌梗死组(18.3%), 提示手术应激会导致患者高血糖的发生, 诱发心肌梗死. 近期的心绞痛多与体内不稳定斑块有关, 斑块脱落致急性血栓形成, 梗死发生. 围手术期心动过速、高血压等可导致血管应激性痉挛, 心肌供血不足; 术后促凝血物质增加、血小板反应性增强等均成为危险因素[15]. 本研究结果要求临床医师了解患者心绞痛发生情况, 及时请心内科会诊, 指导抗血小板聚集、抗凝、调脂等治疗.

总之, 腹腔镜胆囊切除患者发生心肌梗死的原因较多, 但首先应以预防为主, 及时、准确发现导致心肌梗死的危险因素, 包括减少全身炎症反应、控制血压和血糖、保证有效循环血量等, 避免诱导发生心肌梗死的因素, 及时请心内科专业医师指导治疗方案是防止发生心肌梗死的有效措施.

4 参考文献

1 邱曼, 孙乐标. 急性心肌梗死患者生化指标的变化与心肌梗死范围的研究. 重庆医学 2012; 41: 2765-2767
2 刘梅颜, 贾玫. 心肌梗死定义修订的解读及思考. 中华检验医学杂志 2013; 36: 485-488
3 朱斌, 张展志, 张能维, 宫轲, 路夷平, 王岩, 阿民布, 李凯, 王桐生. 急性胆囊炎“延期”腹腔镜胆囊切除的手术技巧及并发症预防. 中华肝胆外科杂志 2011; 17: 820-822
4 Badaoui A, Malherbe V, Rosiere A, De Ronde T. ERCP by laparoscopic transgastric access and cholecystectomy at the same time in a patient with gastric bypass who was seen with choledocholithiasis. *Gastrointest Endosc* 2010; 71: 212-214 [PMID: 19748611 DOI: 10.1016/j.gie.2009.06.031]
5 马礼坤. 美国心脏病学院和美国心脏学会新的不稳定性心绞痛/非ST段抬高性心肌梗死的诊断和治疗指南解读. 临床内科杂志 2007; 24: 808-810
6 李静静, 何小东, 武峤, 刘卫, 洪涛. 胆囊切除对消化系统的远期影响. 中华普通外科杂志 2013; 28: 484-486
7 王清茂, 顾思平, 蔡晓东, 游志远, 林宗棋. 腹腔镜下困难胆囊切除的类型与手术技巧. 中华腔镜外科杂志(电子版) 2011; (4): 453-455
8 彭毅, 何立锐, 钟立明, 吴汉明. 应用传统腔镜器械行经脐单Trocar胆囊切除的体会. 中华腔镜外科杂志(电子版) 2011; (4): 439-442
9 彭云珠, 郭涛, 郑圆圆, 杨萍, 华宝桐, 潘家华, 赵玲. 急性心肌梗死患者血脂改变及其对预后的影响分析. 重庆医学 2012; 41: 1601-1603
10 Armitage J, Bowman L, Wallendszus K, Bulbulia R, Rahimi K, Haynes R, Parish S, Peto R, Collins R. Intensive lowering of LDL cholesterol with 80 mg versus 20 mg simvastatin daily in 12,064 survivors of myocardial infarction: a double-blind randomised trial. *Lancet* 2010; 376: 1658-1669 [PMID: 21067805 DOI: 10.1016/S0140-6736(10)60310-8]
11 Napoleão P, Selas M, Freixo C, Carmo MM, Viegas-Crespo AM, Ferreira RC, Pinheiro T. T lymphocytes alterations are associated with oxidized LDL, troponin T, white blood cells and C-reactive protein during acute myocardial infarction. *Clin Hemorheol Microcirc* 2013; 55: 349-358 [PMID: 24361942 DOI: 10.3233/CH-121644]
12 郑翔, 方志成, 周昌娥, 熊鹏, 刘伯毅, 陈黎, 黄云飞. 乌司他丁对心肌梗死后心肌的保护作用. 中华急诊医学杂志 2011; 20: 842-844
13 王梅, 王春梅, 王成钢, 艾辉, 朱小玲. 血糖水平与急性前壁心肌梗死患者冠状动脉介入术后心功能的关系. 中华实用诊断与治疗杂志 2013; 27: 654-656
14 田晓芳, 崔明霞, 杨士伟, 周玉杰. 血糖异常、细胞死亡与心肌梗死. 中华老年多器官疾病杂志 2013; 12: 279-282
15 李毓萍, 王慧宇, 刘颖萍, 李卫, 赵晓宁. 多普勒超声评价不同年龄段急性心肌梗死患者颈动脉粥样硬化的临床研究. 中华老年心脑血管病杂志 2011; 13: 966-969

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年5月28日; 22(15): 2179-2182
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

胰十二指肠切除术后肠内外联合营养与完全胃肠外营养的临床疗效比较

李 忠, 马荣强

李忠, 武警后勤学院附属医院普外科 天津市 300162
马荣强, 西京医院消化二科 陕西省西安市 710032
李忠, 主治医师, 主要从事胃肠外科的研究.
作者贡献分布: 本文由李忠与马荣强共同完成.
通讯作者: 李忠, 主治医师, 300162, 天津市河东区成林路220号, 武警后勤学院附属医院普外科. blacben@163.com
收稿日期: 2014-02-08 修回日期: 2014-04-02
接受日期: 2014-04-09 在线出版日期: 2014-05-28

Clinical efficacy of enteral nutrition combined with parenteral nutrition versus total parenteral nutrition in patients after pancreaticoduodenectomy

Zhong Li, Rong-Qiang Ma

Zhong Li, Department of General Surgery, Affiliated Hospital of Armed Police Logistics College, Tianjin 300162, China
Rong-Qiang Ma, No. 2 Department of Digestive Diseases, Xijing Hospital, Xi'an 710032, Shaanxi Province, China
Correspondence to: Zhong Li, Attending Physician, Department of General Surgery, Affiliated Hospital of Armed Police Logistics College, 220 Chenglin Road, Hedong District, Tianjin 300162, China. blacben@163.com
Received: 2014-02-08 Revised: 2014-04-02
Accepted: 2014-04-09 Published online: 2014-05-28

Abstract

AIM: To compare the clinical efficacy of enteral nutrition combined with parenteral nutrition versus total parenteral nutrition in patients after pancreaticoduodenectomy.

METHODS: Eighty patients who underwent pancreaticoduodenectomy from January 2013 to December 2013 at our hospital were randomly and equally divided into two groups: A and B. Group A was given enteral nutrition combined with parenteral nutrition postoperatively, while group B was given total parenteral nutrition. The clinical effects were compared between the two groups.

RESULTS: Before treatment, patients between the two groups had comparable white blood cell count, serum albumin and transferrin ($P > 0.05$ for all). After treatment, white blood cell count, serum albumin and transferrin were significantly improved in both groups, but there were no significant differences between the two groups ($P > 0.05$ for all). The hospital stay and treatment costs were significantly lower in group A than in group B [33.41 d ± 11.82 d *vs* 39.73 d ± 13.72 d, (6.36 ± 1.21) ten thousand Yuan *vs* (8.93±2.14) ten thousand Yuan, $P < 0.05$ for both]. There was no significant difference in the rate of postoperative complications (12.5% *vs* 15.0%, $P > 0.05$). Before treatment, the two groups showed no significant difference in body weight ($P > 0.05$). After treatment, body weight increased significantly in group A ($P < 0.05$). The times to recovery of bowel sounds, exhaust and defecation were significantly better in group A than in group B ($P < 0.05$ for all).

CONCLUSION: Both enteral nutrition combined with parenteral nutrition and total parenteral nutrition have good clinical efficacy in patients after pancreaticoduodenectomy, with the former having lower costs without increasing the risk of postoperative complications.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Pancreaticoduodenectomy; Nutritional support; Enteral nutrition combined with parenteral nutrition; Total parenteral nutrition; Clinical efficacy

Li Z, Ma RQ. Clinical efficacy of enteral nutrition combined with parenteral nutrition versus total parenteral nutrition in patients after pancreaticoduodenectomy. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(15): 2179-2182
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2179.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2179

摘要

目的: 比较临床中胰十二指肠切除术后应用肠内外联合营养与完全胃肠外营养的临床疗效.

■背景资料
营养支持是胰十二指肠切除术后治疗的一个重要环节, 对改善患者术后状况具有明显的优势. 临床中营养支持的方式比较多, 肠内与肠外营养支持是临床中常见的方法. 本研究重点分析胰十二指肠切除术后应用肠内外联合营养与完全胃肠外营养的临床疗效, 从而更好地为患者治疗提供帮助.

■同行评议者
郭长江, 研究员, 军事医学科学院卫生学环境医学研究所营养研究室; 夏敏, 教授,中山大学北校区公共卫生学院

■研发前沿
本研究重点阐述胰十二指肠切除术后营养支持方式，就目前临床中常见的肠内外联合营养与完全胃肠外营养方式进行对比分析，主要观察患者白细胞计数、血清白蛋白、转铁蛋白、住院时间和治疗费用以及术后并发症.

方法: 选取2013-01/2013-12于我院行胰十二指肠切除术的手术患者80例为研究对象, 将其按照随机数字法分为A组和B组, 各40例. A组患者给予肠内外联合营养支持, B组患者给予完全胃肠外营养支持, 观察两组的应用效果.

结果: 治疗前, A组和B组患者的白细胞计数、血清白蛋白和转铁蛋白比较差异无统计学意义(P>0.05); 治疗后, A组和B组患者的白细胞计数、血清白蛋白和转铁蛋白较治疗前有明显的改善, 但是治疗后组间数据比较无统计学意义(P>0.05); A组患者住院时间和治疗费用均明显的低于B组患者, 比较差异无统计学意义(33.41 d±11.82 d *vs* 39.73 d±13.72 d, 6.36万元±1.21万元 *vs* 8.93万元±2.14万元, P<0.05); 两组患者术后并发症发生率比较差异无统计学意义(12.5% *vs* 15.0%, P>0.05). 治疗前, 两组患者的体质量比较差异无统计学意义(P>0.05); 治疗后, A组患者体质量明显高于B组, 差异有统计学意义(P<0.05). A组患者肠蠕动恢复时间和排气、排便时间均明显改善, 差异有统计学意义(P<0.05).

结论: 临床中对于胰十二指肠切除术患者术后应用肠内外联合营养与完全胃肠外营养具有较好的应用效果, 但是肠内外联合营养支持治疗费用低, 且不增加术后并发症的风险, 值得临床中应用.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 胰十二指肠切除术; 营养支持; 肠内外联合营养; 完全胃肠外营养; 临床疗效

核心提示: 胰十二指肠切除术患者术后应用肠内外联合营养与完全胃肠外营养具有较好的应用效果, 有效地纠正患者的营养状况, 但是肠内外联合营养支持治疗费用低, 且不增加术后并发症的风险, 更值得临床中应用与推广.

李忠, 马荣强. 胰十二指肠切除术后肠内外联合营养与完全胃肠外营养的临床疗效比较. 世界华人消化杂志 2014; 22(15): 2179-2182 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2179.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2179

0 引言

胰十二指肠切除术是治疗胰头癌和壶腹部癌和十二指肠乳头癌的常见术式, 在临床中具有较高的应用价值[1]. 但该手术实施过程中涉及脏器较多, 且吻合状况比较复杂, 容易改变患者正常胃肠功能, 经常出现胰瘘和胃瘫等并发症[2]. 而营养支持是胰十二指肠切除术后治疗的一个重要环节, 对改善患者术后状况具有明显的优势[3]. 如何选取合理的营养支持方式是临床医师研究的重点, 本文重点探讨胰十二指肠切除术后应用肠内外联合营养与完全胃肠外营养的临床疗效, 为临床医师提供参考, 具体分析如下.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2013-01/2013-12在武警后勤学院附属医院行胰十二指肠切除术手术患者80例为研究对象, 将其按照随机数字法分为A组和B组, 各40例. A组男性患者22例, 女性患者18例, 年龄为38-77岁, 平均年龄为56.3岁±4.2岁, 胰头癌患者10例, 壶腹部癌患者10例, 十二指肠乳头癌15例, 胆总管下段癌5例. B组男性患者20例, 女性患者20例, 年龄为35-79岁, 平均年龄为58.4岁±3.6岁, 胰头癌患者12例, 壶腹部癌患者10例, 十二指肠乳头癌14例, 胆总管下段癌4例. A组和B组患者性别、年龄及疾病类型等资料比较无明显统计学差异(P>0.05), 具有可比性.

1.2 方法

1.2.1 治疗: 本研究肠内营养主要采取含有短肽和短链脂肪酸营养液进行营养支持, 采取瑞素和百普力以及安素等肠内营养制剂, 采取经留置空肠营养管方法, 给予泵持续输注[4]. 术后给予静脉补液, 待患者肠胃功能恢复之后采取空肠营养管进行肠内营养输注. 首先, 给予12.5 kcal/(kg·d)热量, 0.1 g/(kg·d)氮量, 给予双倍糖盐水进行稀释处理, 且滴注速度控制在50.0 mL/h以内, 所需的剩余热量均由肠外营养支持. 患者在营养支持后无胃肠道反应之后, 可在第2天开始逐渐增加肠内营养支持量和滴速, 直到全量: 35.0 kcal/(kg·d)热量, 0.2 g/(kg·d)氮量, 且逐渐减少肠外量. A组患者给予肠内外联合营养支持, B组患者给予完全胃肠外营养支持, 两组患者的每日摄入总热量均相同, 均为1800 kcal, 两组患者均连续治疗1 wk, 进行疗效观察[5].

1.2.2 观察指标: (1)白细胞计数; (2)血清白蛋白; (3)转铁蛋白; (4)住院时间; (5)治疗费用; (6)并发症观察; (7)体质量变化; (8)肠蠕动恢复时间; (9)排气时间; (10)排便时间.

统计学处理 此次研究的数据资料均采取SPSS19.0的统计学软件进行数据分析与处理, 计量资料采取mean±SD进行表示, 独立样本采取t进行检验, 计数资料采取χ^2进行检验, P<0.05为差异有统计学意义.

表 1 A组和B组患者治疗前后白细胞计数、血清白蛋白和转铁蛋白变化比较 (n = 40, mean ± SD)

分组	时间	白细胞计数($\times 10^9$/L)	血清白蛋白(g/L)	转铁蛋白(mg/dL)
A组	治疗前	6.32 ± 1.26	37.3 ± 2.53	227.21 ± 23.12
	治疗后	7.12 ± 1.34[a]	35.2 ± 1.51[a]	159.32 ± 12.76[a]
B组	治疗前	6.21 ± 1.31	38.1 ± 2.66	238.31 ± 22.72
	治疗后	7.03 ± 1.62[c]	34.88 ± 1.62[c]	149.73 ± 13.25[c]

[a]P<0.05 *vs* A组治疗前; [c]P<0.05 *vs* B组治疗前.

表 2 A组和B组患者住院时间和治疗费用对比分析 (n = 40, mean ± SD)

分组	住院时间(d)	治疗费用(万元)
A组	33.41 ± 11.82	6.36 ± 1.21
B组	39.73 ± 13.72	8.93 ± 2.14
t值	24.1627	8.3536
P值	<0.05	<0.05

表 3 A组和B组术后并发症发生率比较 (n = 40, n(%))

分组	胆漏	胰漏	切口感染	胃瘫	并发症发生率(%)
A组	1(2.5)	2(5.0)	1(2.5)	1(2.5)	12.5
B组	2(5.0)	1(2.5)	2(5.0)	1(2.5)	15.0
χ^2	0.27	0.27	0.27	0.15	0.35
P值	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05

表 4 A组和B组治疗前后体质量变化比较 (n = 40, mean ± SD, kg)

分组	治疗前	治疗后
A组	55.3 ± 4.5	57.3 ± 4.8
B组	54.8 ± 4.7	55.7 ± 4.5
t值	0.5613	6.0242
P值	> 0.05	< 0.05

表 5 A组和B组肠蠕动恢复时间和排气、排便时间比较 (n = 40, mean ± SD, d)

分组	排便时间	肛门排气时间	胃肠道功能恢复时间
A组	3.6 ± 2.2	2.0 ± 0.6	1.1 ± 0.1
B组	4.5 ± 2.2	3.8 ± 1.4	3.5 ± 0.5
t值	6.2175	5.8342	7.0254
P值	< 0.05	< 0.05	< 0.05

2 结果

2.1 两组患者治疗前后白细胞计数、血清白蛋白和转铁蛋白的变化 治疗前, A组和B组患者的白细胞计数、血清白蛋白和转铁蛋白水平比较, 差异无统计学意义(P>0.05); 治疗后, A组和B组患者的白细胞计数、血清白蛋白和转铁蛋白较治疗前有明显的改善, 但是治疗后组间数据比较无统计学意义(P>0.05)(表1).

2.2 两组患者住院时间和治疗费用的比较 A组患者住院时间和治疗费用均明显低于B组患者, 差异有统计学意义(P<0.05)(表2).

2.3 并发症 A组患者术后并发症发生率为12.5%, B组术后并发症发生率为15.0%, 差异无统计学意义(P>0.05)(表3).

2.4 患者体质量比较 治疗前两组的体质量比较, 差异无统计学意义(P>0.05); 治疗后A组患者体质量明显高于B组, 差异有统计学意义(P<0.05)(表4).

2.5 患者肠蠕动恢复时间和排气、排便时间比较 A组患者肠蠕动恢复时间和排气、排便时间均明显的早于B组, 差异有统计学意义(P<0.05)(表5).

3 讨论

胰十二指肠切除术是临床中常见手术方法之一, 具有较高的应用价值, 而术后营养支持治疗是其重要的一个部分, 对患者的术后康复具有重要的影响, 如何有效地选择营养支持方式是医师关注的重点[6].

营养支持方式主要分为肠外营养支持和肠内营养支持以及二者联合营养支持[7,8]. 胃肠外营养支持是临床中常见的营养支持方式, 这种方法能够为患者补充充足的能量, 但是存在营养不全面的情况发生[9]. 随着临床治疗水平的不断提高, 肠内营养支持逐渐地得到临床中应用, 这种支持方式符合生理要求, 且营养补充也比较全面, 价格也比较低廉, 操作也简单, 受到临床医师的高度重视[10]. 同时, 肠内营养支持能够有效地降低术后患者血液内毒素的含量, 尤其

■创新盘点

本研究重点是对临床中主流的营养支持方式进行对比分析, 得出肠内外联合的营养支持方式与完全肠外营养支持效果比较相似, 但是肠内外联合营养支持治疗费用低, 且不增加术后并发症的风险, 值得临床中应用.

■同行评价
本文科学性强, 具有一定临床指导意义.

是对于含有纤维素的肠内营养支持, 一般能够有效地增加内脏组织器官的血流量, 较好地保护患者肠道黏膜, 并加快其胃肠功能的恢复, 促进其伤口的快速愈合[11,12].

本研究结果可知, 胰十二指肠切除术后给予肠内外联合营养与完全胃肠外营养具有较好的应用效果, 但是肠内外联合营养支持治疗费用低, 且缩短患者治疗时间, 且不增加术后并发症的风险. 肠内外联合营养支持治疗能够全面补充患者所需能量, 并且减轻患者机体免疫代谢反应, 较好改善患者预后, 从而更好促进患者伤口的愈合, 进一步的缩短住院治疗时间[13,14]. 同时, 联合营养支持能够更好被小肠吸收, 从而避免营养摄入不足, 提高治疗效果[15]. 由于肠内治疗费用低, 总体治疗费用也降低. 同时, 能够有效改善患者营养状况, 尽早恢复其肠蠕动恢复时间和排气、排便时间, 便于患者术后胃肠功能的恢复.

总之, 胰十二指肠切除术患者术后应用肠内外联合营养与完全胃肠外营养具有较好的应用效果, 但是肠内外联合营养支持治疗能够有效地降低治疗费用和住院治疗时间, 不增加术后并发症的风险, 值得临床中应用与推广.

4 参考文献

1 徐军辉, 丁佑铭, 汪斌, 付海峰, 徐彦哲. 胰十二指肠切除术后早期营养支持治疗方式的比较. 肠外与肠内营养 2013; 20: 228-2301
2 石悦, 张佳林, 葛春林, 王凤山, 刘树荣, 李晓航, 刘永锋. 胰十二指肠切除术后肠内外联合营养支持的临床疗效观察. 辽宁医学杂志 2012; 26: 165-167
3 陈一伟, 夏兆立. 两种不同营养支持方式在胰十二指肠切除术后早期的对照分析. 航空航天医学杂志 2013; 24: 676-677
4 Kirkland LL, Kashiwagi DT, Brantley S, Scheurer D, Varkey P. Nutrition in the hospitalized patient. *J Hosp Med* 2013; 8: 52-58 [PMID: 23065968]
5 吴耀禄, 李晓勇, 梅乐园, 袁泉. 胰十二指肠切除术后早期肠内外联合营养支持临床探讨. 陕西医学杂志 2008; 37: 370-371
6 李勇, 周林, 谭群亚, 赵凯, 严斌, 胡魁. 早期肠内营养对胰十二指肠切除术后发生感染的影响分析. 中华医院感染学杂志 2013; 23: 1351-1353
7 Zhu B, Geng L, Ma YG, Zhang YJ, Wu MC. Combined invagination and duct-to-mucosa techniques with modifications: a new method of pancreaticojejunal anastomosis. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2011; 10: 422-427 [PMID: 21813393]
8 何庆玲. 胰十二指肠切除术后肠内营养支持的观察与护理. 中国医学创新 2012; 9: 55-56
9 戴伟钢, 董文广. 胰十二指肠切除术后胃肠功能的改变. 消化肿瘤杂志(电子版) 2011; 3: 255-259
10 Heverhagen AE, Dietzel K, Waldmann J, Langer P, Fendrich V, Bartsch DK. Harmonic scalpel versus conventional dissection technique in pylorus-preserving partial duodenopancreatectomy. *Dig Surg* 2012; 29: 420-425 [PMID: 23234869]
11 冯志强, 黄志强. 胰十二指肠切除术后营养支持策略探讨. 中华普通外科杂志 2008; 23: 393-396
12 Iqbal N, Lovegrove RE, Tilney HS, Abraham AT, Bhattacharya S, Tekkis PP, Kocher HM. A comparison of pancreaticoduodenectomy with pylorus preserving pancreaticoduodenectomy: a meta-analysis of 2822 patients. *Eur J Surg Oncol* 2008; 34: 1237-1245 [PMID: 18242943]
13 张群. 肠内、肠外营养对胃大部切除术后患者胃肠激素及胃动力的影响. 上海: 第十届全国临床营养支持学术会议, 2006
14 Diener MK, Fitzmaurice C, Schwarzer G, Seiler CM, Antes G, Knaebel HP, Büchler MW. Pylorus-preserving pancreaticoduodenectomy (pp Whipple) versus pancreaticoduodenectomy (classic Whipple) for surgical treatment of periampullary and pancreatic carcinoma. *Cochrane Database Syst Rev* 2011; (5): CD006053 [PMID: 21563148]
15 彭俊生, 陈实. 胰十二指肠切除术的围手术期处理–基于并发症防治的液体管理与营养支持. 中华胃肠外科杂志 2013; 16: 1025-1027

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年5月28日; 22(15): 2183-2189
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

慢性胰腺炎手术和内镜治疗疗效比较的系统评价

杨 骥, 黄 强, 林先盛, 刘臣海, 谢 放, 李瑞阳

杨骥, 黄强, 林先盛, 刘臣海, 谢放, 李瑞阳, 安徽医科大学附属安徽省立医院胆胰外科 肝胆胰安徽省重点实验室 安徽省合肥市 230001
杨骥, 在读硕士, 主要从事胆胰外科的研究.
作者贡献分布: 杨骥与林先盛负责文献检索、文献质量评价、提取资料集及论文撰写; 刘臣海、谢放及李瑞阳负责论文的数据分析及文献审核; 黄强教授负责论文的审阅及修改.
通讯作者: 黄强, 教授, 230001, 安徽省合肥市庐江路17号, 安徽省立医院普外科, 安徽医科大学附属安徽省立医院胆胰外科, 肝胆胰安徽省重点实验室. hq-sohu@sohu.com
收稿日期: 2014-01-28 修回日期: 2014-03-19
接受日期: 2014-04-03 在线出版日期: 2014-05-28

Endoscopic versus surgical treatment of chronic pancreatitis: A systematic review

Ji Yang, Qiang Huang, Xian-Sheng Lin, Chen-Hai Liu, Fang Xie, Rui-Yang Li

Ji Yang, Qiang Huang, Xian-Sheng Lin, Chen-Hai Liu, Fang Xie, Rui-Yang Li, Department of General Surgery, Affiliated Provincial Hospital of Anhui Medical University, Hepato-Biliary and Pancreatic Laboratory of Anhui Province, Hefei 230001, Anhui Province, China
Correspondence to: Qiang Huang, Professor, Department of General Surgery, Affiliated Provincial Hospital of Anhui Medical University, Hepato-Biliary and Pancreatic Laboratory of Anhui Province, 17 Lujiang Road, Hefei 230001, Anhui Province, China. hq-sohu@sohu.com
Received: 2014-01-28 Revised: 2014-03-19
Accepted: 2014-04-03 Published online: 2014-05-28

Abstract

AIM: To compare the long-term clinical outcomes and complications between endoscopic and surgical treatment of chronic pancreatitis.

METHODS: An electronic search of Medline, EMBASE, Science Direct, Springer link, CBM, CNKI, Wan fang and VIP databases (before December 21, 2013) was performed to retrieve the articles reporting endoscopic versus surgical treatment of chronic pancreatitis. The quality of the included trials was assessed according to the inclusive and exclusive criteria, and the data were extracted and analyzed using RevMan 5.2.7 software.

RESULTS: A total of 5 articles involving 393 chronic pancreatitis patients were included in the analysis, including 4 English articles and 1 Chinese article. The meta-analysis showed that the patients undergoing surgical treatment had higher rates of pain relief and complete pain relief ($P < 0.05$), but there were no significant differences in the rate of partial relief, incidence of diabetes at 1, 3, and 5 years after treatment, the incidence of complications, or endocrine and exocrine functions of the pancreas ($P > 0.05$).

CONCLUSION: Surgical treatment is associated with better quality of life than endoscopic treatment. Due to the traumatic risk of surgery, endoscopic treatment is safe, and can be the first choice for treatment of chronic pancreatitis.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Chronic pancreatitis; Endotherapy; Surgery; Pain relief; Complications; Meta-analysis

Yang J, Huang Q, Lin XS, Liu CH, Xie F, Li RY. Endoscopic versus surgical treatment of chronic pancreatitis: A systematic review. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(15): 2183-2189 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2183.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2183

摘要

目的: 通过循证医学的方法来探讨慢性胰腺炎(chronic pancreatitis, CP)手术治疗和内镜治疗的疗效比较.

方法: 计算机检索在2013-12-31前在Medline、EMBASE、Science Direct、Springer link、CBM、中国知网、万方以及维普数据库公开发关于CP手术和内镜治疗疗效比较的文献, 按纳入排除标准由2位研究者独立进行文献筛选、资料提取和方法学质量评价后, 采用RevMan 5.2.7软件进行Meta分析.

结果: 共纳入5篇研究, 其中包含4篇英文文献, 1篇中文文献, 共包含CP患者393例, Meta分析结果显示: 手术组术后的疼痛的总体缓解率以及完全缓解率高于内镜组, 两组的差异具有

■背景资料
慢性胰腺炎(chronic pancreatitis)是指由于各种不同原因引起的胰腺组织和功能的不可逆性的慢性炎症性疾病, 其诊断与治疗目前仍有争议, 手术治疗和内镜治疗各有不同点. 目前暂无治疗方法的选择的相关的系统性研究.

■同行评议者
洪天配, 教授, 北京大学第三医院内分泌科; 陈海龙, 教授, 大连医科大学附属第一医院院办

■研发前沿
由于目前尚无文献系统性文献来探讨慢性胰腺炎的手术治疗与内镜治疗疗效的选择, 因此本文应用系统评价方法来探讨慢性胰腺炎的诊断和治疗方法的选择.

统计学意义(P<0.05), 而手术组和内镜组术后的疼痛的局部缓解率(术后症状减轻)的差异无统计学意义(P>0.05), 手术组和内镜组的随访1、3、5年的糖尿病发生率、并发症的发生率、术后远期的胰腺内外分泌功能的障碍的差异无统计学意义(P>0.05).

结论: 外科手术术后的远期生存质量高于内镜组, 但由于创伤性风险较大, 内镜治疗较为安全, 可以作为CP治疗的一线首选治疗手段.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 慢性胰腺炎; 内镜治疗; 外科手术治疗; 疼痛缓解; 并发症; 系统评价

核心提示: 内镜治疗相对于外科手术治疗较为安全, 并发症较少, 可以作为慢性胰腺炎(chronic pancreatitis, CP)治疗的一线治疗手段. 对于诊断明确的CP患者, 在无相关内镜操作禁忌症情况下, 内镜治疗是一线首选治疗手段.

杨骥, 黄强, 林先盛, 刘臣海, 谢放, 李瑞阳. 慢性胰腺炎手术和内镜治疗疗效比较的系统评价. 世界华人消化杂志 2014; 22(15): 2183-2189 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2183.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2183

0 引言

慢性胰腺炎(chronic pancreatitis, CP)是指由于各种不同原因引起的胰腺组织和功能的不可逆性的慢性炎症性疾病, 主要的病理特征为胰腺腺泡萎缩, 破坏和间质的纤维化. 在临床上的表现为反复发作的上腹部疼痛, 合并或者不合并胰腺的内或者外分泌功能不全, 并可伴有胰腺实质钙化, 胰管扩张、梗阻和胰管结石和胰腺假性囊肿形成等, 我国的发病率为13/10万, 近年来有逐渐增加的趋势[1-5], 根据目前对CP发病机制以及诊断的认识, 目前常用的治疗方法有手术治疗(surgery)和内镜介入治疗(endoscopic treatment or endoscopy or endotherapy), 但目前的研究多为单独研究CP的内镜治疗或外科手术治疗[6-8], 尚很少有文献同时报道内镜治疗和手术治疗疗效的比较以及治疗方法的选择, 本文采用循证医学系统评价的方法, 以期评价CP手术治疗和内镜治疗的疗效的比较.

1 材料和方法

1.1 材料 计算机检索在2013-12-31前在Medline、EMBASE、Science Direct、Springer link、CBM、中国知网、万方以及维普数据库公开发表的文献, 并手工检索国内相关医学杂志. 检索策略: 按照Cochrane协作网手工手册要求制定检索策略, 中文检索词“慢性胰腺炎”、“内镜介入治疗”、外科手术治疗”以及英文检索词“CP or chronic pancreatitis or pancreatitis”、“endoscopic therapy”、“endoscopic”、 “endoscopy”、“surgery”、“surgical therapy”. 并对以上检索词采用不同策略检索, 并追查已经纳入文献或者综述文献的参考文献以尽可能全面收集资料.

1.2 方法

1.2.1 文献纳入标准: (1)纳入研究应是2013-12-31前公开发表研究的中文或者英文文献, 对象应由明确诊断CP诊断标准, 如纳入文献为前瞻性研究, 则需有明确的纳入标准(年龄18-70岁之间、有明确的影像学确诊CP的证据、表现为疼痛且Melzack评分[9]>3分、病程>5年、内科保守治疗无效), 如研究为回顾性研究, 则诊断根据ERCP所见以及手术术中和术后病理为诊断标准; (2)纳入文献应为CP和(或)CP合并相关疾病如胰管梗阻、胆管梗阻等的手术治疗和内镜治疗疗效对比的文献; (3)文献设计应为前瞻性或者回顾性对照研究、队列研究. (4)原始文献应提供能评价手术治疗和内镜治疗疗效的原始数据(或可计算出)如疼痛缓解率(pain relief)、术后并发症(post-interventional complications)发生率、生存率以及死亡率(mortality)等, 连续性变量应给出均数(mean)和标准差(SD); (5)对相同单位或者有重复研究对象的文献, 如随访时间不同, 本文视为不同文献, 予以纳入, 另外如随访时间相同, 则选取质量较高的文献.

1.2.2 排除标准: (1)未交待随访时间或者失仿例数过多; (2)方法学交代不健全的研究, 资料不全的研究, 重复发表或重复利用数据的研究取其中之一, 其他的不予纳入; (3)文献中未给出相关变量或指标说明或评价手术组和内镜组疗效的区别; (4)试验设计缺乏严格对照的文献、综述文献、个案报道等不予以纳入.

1.2.3 文献筛选及资料提取: 由2位研究者独立阅读文献进行筛选, 整个筛选过程采用盲法. 先独立阅读所获文献的题目及摘要, 剔除明显不符合纳入标准的文献, 再对可能符合纳入标准的文献阅读全文, 以确定该文献是否真正符合纳入标准. 对筛选过程中有分歧而难以确定是否

表 1 纳入文献一般资料

研究	国家地区	总病例数(*n*)	内镜组(*n*)	手术组(*n*)	随访时间
Díte等[11], 2003	捷克	140	64	76	5年
Cahen等[12], 2007[1]	荷兰	39	19	20	2年
Hong等[13], 2011	中国山东	62	27	35	5年
Cahen等[14], 2011[1]	荷兰	39	19	20	5年
王伟等[15], 2009	中国上海	113	84	29	12–112 mo
合计	–	393	213	180	–

[1]纳入研究对象相同, 但随访时间不同, 按照纳入排除标准, 本文视为不同文献.

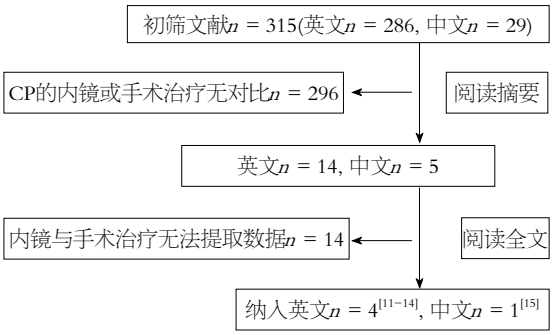


图 1 文献筛选流程图. CP: 慢性胰腺炎.

纳入的文献通过讨论或由第3个研究者决定其是否纳入. 2位研究人员独立地对符合纳入标准的试验进行资料提取, 填写资料提取表格, 并交叉核对提取的资料, 缺乏的资料通过于临床试验人的通讯作者联系予以补充.

1.2.4 文献质量评估: 由于CP的病例较少, 相对缺乏随机对照研究, 本文研究参考非随机对照研究法评估(Minor质量评估)[10]. 具体评分标准有: (1)选题: 是否明确及具有代表性, 选择病例是否来自多中心, 前期准备是否充分, 结果得到的方式; (2)病例组和对照组在设计和分析上是否具有可比性, 重点是否突出, 暴露情况; (3)结果: 是否随机, 随访时间是否大于6 mo, 失访情况等12项, 满分24分进行评价.

统计学处理 本文采用Cochrane协作网提供的RevMan 5.2.7软件进行统计学分析. 显著性水平设定为$P = 0.05$, 用I^2评估异质性大小, I^2<25%提示有轻度异质性, I^2在25%和75%之间提示中度异质性, I^2>75%以上则提示明显异质性, 若存在异质性则进行亚组分析或者敏感性分析. 二项分类资料计算相对危险度(relative risk, RR)为合并统计量, 连续变量资料计算加权均数差(weighted mean difference, WMD)为合并统计量. 统计结果用95%可信区间(confidence interval, CI)表示, 以漏斗图(funnel plot model)判断发表偏倚. 纳入研究进行异质性检验, 异质性检验P>0.05时表示各研究间无明显异质性, 此时合并分析采用固定效应模型(fixed effects model), 否则采用随机效应模型(random effects model).

2 结果

2.1 文献筛选及纳入文献特点 由2位研究者独立进行文献筛选和质量评价, 以不同检索策略在数据库检索, 共检索相关文献315篇, 其中英文文献286篇, 中文文献29篇, 经2位研究者阅读摘要全文后, 剩余英文14篇, 中文5篇, 最终在严格按照纳入排除标准, 纳入本研究文献5篇[11-15], 所有纳入文献的病例对象均为CP患者, 其中前瞻性随机对照研究1篇, 其余文献均为回顾性研究. 具体的文献筛选过程如图1, 纳入文献基本情况如表1. 本文纳入研究病例数为393例, 其中行内镜治疗数为213例, 行外科手术治疗180例.

2.2 纳入文献质量评价 根据Minor质量评分标准, 严格按照标准对纳入的5篇研究进行评分, 评分均在18分以上, 扣分原因主要为未明确交待盲法原则, 随访时间不确定, 或实验前期准备不充分.

2.3 CP内镜组和手术组远期疗效对比

2.3.1 内镜组和手术组疼痛缓解比较: 本组共纳入的5篇文献均有内镜组和手术组疼痛缓解的比较, 其中Cahen等[12]的随访时间为2年, 其余的疼痛缓解率的随访时间均包含5年(60 mo), 共有4篇文献纳入缓解率的比较, 其中内镜组191例, 手术组155例. 合并分析前异质性检验($P = 0.87$, $I^2 = 0\%$), 组间异质性较小, 采用固定效应模型进行合并分析, 结果显示内镜组与手术组术后缓解率差异有统计学意义(P<0.00001), 且手术组术后缓解率高于内镜组. 漏斗图显示基本上对称, 无明显偏倚, 具体的森林图和漏斗图如图2, 3.

■相关报道
以往认为, 慢性胰腺炎的手术治疗与内镜治疗的指证不同, 但是近年来由于内镜技术的发展, 相当手术指证的病例也可以通过内镜操作完成, 本文即对两种方法的选择问题做个初步探讨.

■创新盘点
本文采用系统评价的方法将慢性胰腺炎的两大主要治疗方法进行综合评价, 为临床的治疗方法的选择提供建议.

表 2 纳入研究术后随访的症状以及远期并发症情况

研究	分组	并发症
Díte等[11], 2003	内镜组	1、3、5年糖尿病发生率分别为6.2%、10.9%、18.7%, 总发生率35.9%
	手术组	1、3、5年糖尿病发生率分别为15.8%、13.1%、14.5%, 总发生率43.4%
Cahen等[12], 2007	内镜组	随访2年并发症58%; 死亡率5%
	手术组	随访2年并发症35%; 死亡率0%
Hong等[13], 2011	内镜组	远期胰腺内分泌恶化11%; 胰腺外分泌功能恶化7%
	手术组	远期胰腺内分泌恶化26%; 胰腺外分泌功能恶化7%
Cahen等[14], 2011	内镜组	远期胰腺外分泌功能不足或恶化63%; 远期胰腺内分泌功能恶化25%
	手术组	远期胰腺外分泌功能不足或恶化73%; 远期胰腺内分泌功能恶化27%
王伟等[15], 2009	内镜组	3例死亡, 并发症(胰腺炎, 胆管炎)发生率12.9%
	手术组	1例死亡, 无并发症(胰腺炎, 胆管炎)发生

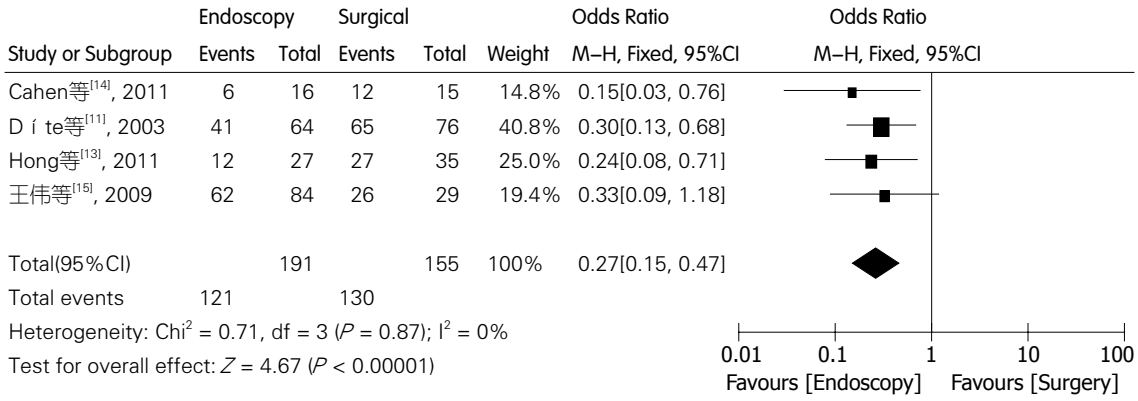


图 2 内镜组与手术组疼痛缓解率比较的森林图.

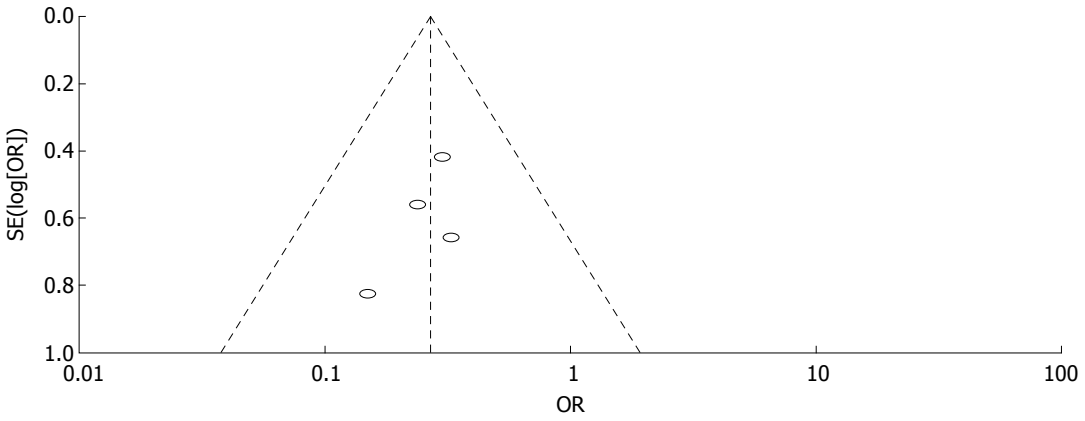


图 3 内镜组与手术组疼痛缓解率比较的漏斗图.

2.3.2 内镜组和手术组疼痛完全缓解比较: 本组共纳入文献3篇, 其中内镜组164例, 手术组120例. 合并分析前异质性检验(P = 0.22, I^2 = 35%), 组间之间的异质性较小, 采用固定效应模型进行合并分析, 结果显示内镜组与手术组术后完全缓解率差异有统计学意义(P<0.003), 且手术组术后完全缓解率高于内镜组. 具体的森林图如图4.

2.3.3 内镜组和手术组疼痛局部缓解比较: 本组共纳入文献3篇, 其中内镜组164例, 手术组120例. 合并分析前异质性检验(P = 0.46, I^2 = 0%), 组间之间的异质性较小, 采用固定效应模型进行合并分析, 结果显示内镜组与手术组术后局部缓解率差异无统计学意义(P = 0.47), 说明术后局部缓解率在两组之间无明显差异. 具体的森林图如图5.

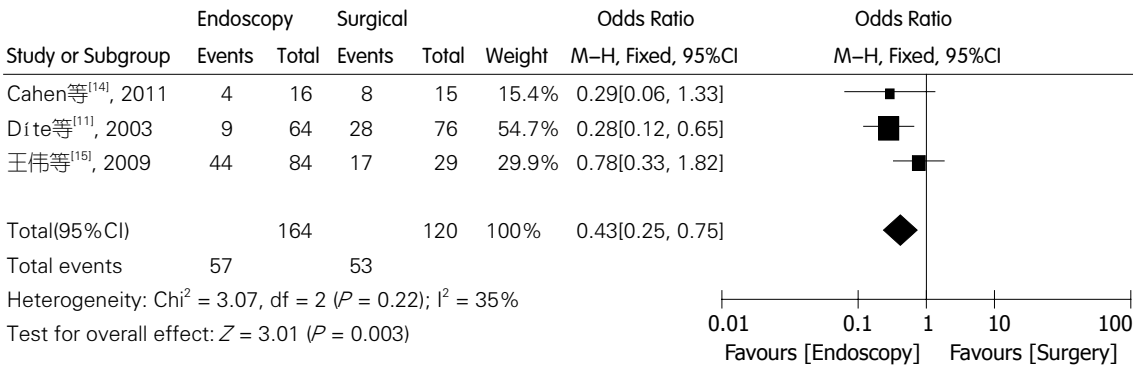


图 4 内镜组与手术组疼痛完全缓解率比较的森林图.

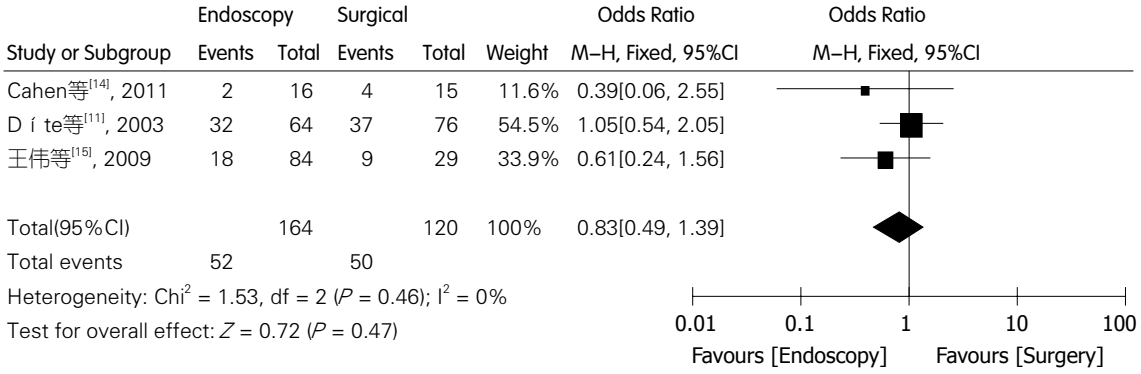


图 5 内镜组与手术组疼痛局部缓解率比较的森林图.

2.4 内镜组及手术组术后并发症以及远期随访的比较 由于各研究的术后随访的间期、随访的项目不同以及并发症的比较的不同, 本研究无法对各文献的术后随访的症状和并发症行综合性的系统评价, 本研究遂列举各研究的随访期间内的症状和远期的并发症(表2). 由表2可知, 各纳入研究的内镜组和手术组的远期随访主要为糖尿病、胰腺的内外分泌功能障碍以及生存死亡率.

3 结论

3.1 CP治疗方法 随着CP的诊断方法提高, CP的发生率逐年上升[1-5], CP的临床表现常为反复的上腹部疼痛和(或)胰腺的内外分泌功能不全或障碍, 且随着疾病的进展, 胰腺的内外分泌功能会逐渐恶化, 如不及时处理, 预后较差, 临床上CP的治疗较难, 常见的治疗方法主要包括内镜下微创治疗、体外震波碎石治疗(extracorporeal shock wave lithotripsy, ESWL)、外科手术治疗、药物治疗[16,17]. 内镜治疗主要是在十二指肠镜下乳头括约肌的切开、扩张胰管、和胰管的支架置入以及胰管取石等[18], 常见的外科手术的手术方式为引流术和切除术, 引流术包括胰尾切除、胰管切开+胰腺空肠吻合术(Duval法)、胰尾+脾切除术等; 切除术包括胰十二指肠切除术(Whipple术), 保留十二指肠的胰头切除术(duodenum preserving pancreatic head resection, DPPHR)等[19,20], 目前药物治疗主要是针对于胰腺内外分泌功能不全的替代治疗, 如胰酶制剂等. 但目前对于CP的治疗方法的选择仍有很多争议, 且目前的研究多是对于CP的单个治疗方法的. 本文即对采用循证医学的方法对CP的手术治疗和内镜治疗进行综合的系统评价.

3.2 CP内镜治疗与手术治疗疗效的比较 本文选择治疗后5年的随访症状缓解率作为比较内镜治疗和外科手术治疗, 本Meta分析的结果显示: 手术组术后的疼痛的总体缓解率以及完全缓解率高于内镜组, 两组的差异具有统计学意义($P<0.05$), 而手术组和内镜组术后的疼痛的局部缓解率(术后症状减轻)的差异无统计学意义($P>0.05$), 与相关研究相似[21]. 由于各研究的随访症状以及并发症的比较指标不同, 我们总结的结果显示: 手术组和内镜组的随访1、3、5年的糖尿病发生率, 并发症的发生率, 术后远期的

■应用要点
本研究提示, 今后对于慢性胰腺炎的治疗方法的选择应综合考虑患者一般情况, 实施个体化治疗方案.

■同行评价
该文通过循证医学的方法来探讨慢性胰腺炎手术治疗和内镜治疗的疗效比较, 有一定科学意义和临床价值. 数据处理方法得当, 分析比较透彻, 结论有一定的指导意义.

胰腺内外分泌功能的障碍的差异无统计学意义(P>0.05). 从本Meta分析我们得出, 术后远期的生存质量(随访5年)手术组大于内镜组, 这可能是因为外科手术的原则[1]是: 手术治疗的原则是用尽可能简单的术式缓解疼痛、控制并发症、延缓胰腺炎症进展和保护内、外分泌功能. 而内镜下治疗仅可解决CP的胰管内结石、取石、解除胰管的梗阻以及狭窄或扩张等, 并不能达到根本性的解除作用, 因此内镜治疗是需要重复多次的, 多次重复的内镜治疗可能会影响患者的生存质量. 所以内镜治疗组的术后的远期生存质量(随访5年)低于外科手术组. 而对比手术组和内镜组的术后的并发症以及远期随访疗效的差异无统计学意义, 这主要是由于内镜操作和外科手术均是缓解患者的疼痛, 而无法改变CP的胰腺组织和胰腺的内外分泌功能的不可逆性损伤[19]. 因此内镜组和手术组的随访症状和并发症等指标无差异(P>0.05).

总之, 本研究从循证医学角度分析得出的结论: 外科手术术后的远期生存质量高于内镜组, 但是由于外科手术时开放性手术, 并且外科手术术后容易产生致命的并发症[22-25]如胰漏、胃排空障碍、出血等. 相比下内镜治疗较为安全, 并发症较少[26-28], 且属于微创操作, 可重复等, 因此可以作为CP治疗的一线治疗手段. 但需要提出的是在内镜下操作难度较大、并且症状无明显缓解, 或怀疑合并癌变等, 外科手术治疗仍是重要治疗手段. 因此, 对于诊断明确的CP患者, 在无相关内镜操作禁忌症情况下, 内镜治疗是一线首选治疗手段.

3.3 本文的不足 Meta分析作为一种观察性研究, 有一定的局限性, 本文的偏倚主要有: (1)本文纳入的文献中仅有前瞻性对照研究1篇, 其余文献均为回顾性研究, 回顾性的研究可能存在对疗效的评价过高而低估并发症以及随访的并发症, 这可能影响试验结果; (2)由于本文的研究数据多数是由随访获得的, 因此随访方法的不同以及失仿的存在会影响试验结果; (3)由于纳入不同国家地区的研究, 因此纳入研究的研究对象的差异不可避免, 存在选择偏倚, 参加对象的人群特征如发病率等不同, 因而影响试验结果; (4)语言选择的偏倚即由于只是检索了公开发表的中文/英文文献, 可能存在文献收录的不完整, 因而影响试验结果. 基于上述不足, 因此今后仍需多中心、大样本、前瞻性随机对照的高质量的关于CP的手术治疗和内镜治疗的疗效比较的研究.

4 参考文献

1 中华胰腺病杂志编委会, 中华医学会消化内镜学分会. 慢性胰腺炎诊治指南(2012, 上海). 中华消化内镜杂志 2012, 29: 301-303
2 Lieb JG, Palma DT, Garvan CW, Leblanc JK, Romagnuolo J, Farrell JJ, Savides TJ, Eloubeidi MA, Draganov PV, Forsmark CE, Wagh MS. Intraobserver agreement among endosonographers for endoscopic ultrasound features of chronic pancreatitis: a blinded multicenter study. *Pancreas* 2011; 40: 177-180 [PMID: 21178649 DOI: 10.1097/MPA.0b013e3182016a25]
3 Rösch T, Daniel S, Scholz M, Huibregtse K, Smits M, Schneider T, Ell C, Haber G, Riemann JF, Jakobs R, Hintze R, Adler A, Neuhaus H, Zavoral M, Zavada F, Schusdziarra V, Soehendra N. Endoscopic treatment of chronic pancreatitis: a multicenter study of 1000 patients with long-term follow-up. *Endoscopy* 2002; 34: 765-771 [PMID: 12244496 DOI: 10.1055/s-2002-34256]
4 Witt H, Apte MV, Keim V, Wilson JS. Chronic pancreatitis: challenges and advances in pathogenesis, genetics, diagnosis, and therapy. *Gastroenterology* 2007; 132: 1557-1573 [PMID: 17466744 DOI: 10.1053/j.gastro.2007.03.001]
5 Braganza JM, Lee SH, McCloy RF, McMahon MJ. Chronic pancreatitis. *Lancet* 2011; 377: 1184-1197 [PMID: 21397320 DOI: 10.1016/S0140-6736(10)61852-1]
6 Sasahira N, Tada M, Isayama H, Hirano K, Nakai Y, Yamamoto N, Tsujino T, Toda N, Komatsu Y, Yoshida H, Kawabe T, Omata M. Outcomes after clearance of pancreatic stones with or without pancreatic stenting. *J Gastroenterol* 2007; 42: 63-69 [PMID: 17322995 DOI: 10.1007/s00535-006-1972-1]
7 Weber A, Schneider J, Neu B, Meining A, Born P, Schmid RM, Prinz C. Endoscopic stent therapy for patients with chronic pancreatitis: results from a prospective follow-up study. *Pancreas* 2007; 34: 287-294 [PMID: 17414050 DOI: 10.1097/mpa.0b013e3180325ba6]
8 Chiang KC, Yeh CN, Hsu JT, Chen HM, Chen HY, Hwang TL, Jan YY, Chen MF. Pancreaticoduodenectomy versus Frey's procedure for chronic pancreatitis: preliminary data on outcome and pancreatic function. *Surg Today* 2007; 37: 961-966 [PMID: 17952526 DOI: 10.1007/s00595-007-3539-z]
9 Melzack R. The McGill Pain Questionnaire: major properties and scoring methods. *Pain* 1975; 1: 277-299 [PMID: 1235985 DOI: 10.1016/0304-3959(75)90044-5]
10 Slim K, Nini E, Forestier D, Kwiatkowski F, Panis Y, Chipponi J. Methodological index for non-randomized studies (minors): development and validation of a new instrument. *ANZ J Surg* 2003; 73: 712-716 [PMID: 12956787 DOI: 10.1046/j.1445-2197.2003.02748.x]
11 Díte P, Ruzicka M, Zboril V, Novotný I. A prospective, randomized trial comparing endoscopic and surgical therapy for chronic pancreatitis. *Endoscopy* 2003; 35: 553-558 [PMID: 12822088 DOI: 10.1055/s-2003-40237]
12 Cahen DL, Gouma DJ, Nio Y, Rauws EA, Boermeester MA, Busch OR, Stoker J, Laméris JS, Dijkgraaf MG, Huibregtse K, Bruno MJ. Endoscopic versus surgical drainage of the pancreatic duct in chronic pancreatitis. *N Engl J Med* 2007; 356: 676-684

[PMID: 17301298 DOI: 10.1056/NEJMoa060610]
13 Hong J, Wang J, Keleman AM, Imagawa DK, Xu K, Wang W, Liu E, Niu W, Wang J, Sun Q, Wang J, Peng C, Zhao W, Niu J. Endoscopic versus surgical treatment of downstream pancreatic duct stones in chronic pancreatitis. *Am Surg* 2011; 77: 1531-1538 [PMID: 22196670]
14 Cahen DL, Gouma DJ, Laramée P, Nio Y, Rauws EA, Boermeester MA, Busch OR, Fockens P, Kuipers EJ, Pereira SP, Wonderling D, Dijkgraaf MG, Bruno MJ. Long-term outcomes of endoscopic vs surgical drainage of the pancreatic duct in patients with chronic pancreatitis. *Gastroenterology* 2011; 141: 1690-1695 [PMID: 21843494 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.07.049]
15 王伟, 廖专, 李兆申, 邹多武, 金震东, 金刚, 胡先贵, 陈洁, 刘岩, 王洛伟, 施新岗, 刘枫, 湛先保, 杜奕奇, 董元航, 孔祥毓, 孙振兴. 慢性胰腺炎胰管结石的内镜介入与手术治疗. 中华肝胆外科杂志 2009; 15: 502-505
16 叶博, 胡良峰, 廖专, 孙涛, 刘牧云, 孙畅, 邹文斌, 辛磊, 邹多武, 金震东, 杜奕奇, 湛先保, 王东, 胡先贵, 金钢, 邵成浩, 郑建明, 陆建平, 李兆申. 2180例慢性胰腺炎临床特征及治疗模式变迁分析. 中华消化内镜杂志 2013; 30: 10-14
17 许元鸿, 郭克建. 慢性胰腺炎诊治的进展. 世界华人消化杂志 2007; 15: 3257-3260
18 Dumonceau JM, Delhaye M, Tringali A, Dominguez-Munoz JE, Poley JW, Arvanitaki M, Costamagna G, Costea F, Devière J, Eisendrath P, Lakhtakia S, Reddy N, Fockens P, Ponchon T, Bruno M. Endoscopic treatment of chronic pancreatitis: European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE) Clinical Guideline. *Endoscopy* 2012; 44: 784-800 [PMID: 22752888 DOI: 10.1055/s-0032-1309840]
19 Wani NA, Parray FQ, Wani MA. Is any surgical procedure ideal for chronic pancreatitis? *Int J Surg* 2007; 5: 45-56 [PMID: 17386915 DOI: 10.1016/j.ijsu.2006.01.011]
20 Neal CP, Dennison AR, Garcea G. Surgical therapy in chronic pancreatitis. *Minerva Gastroenterol Dietol* 2012; 58: 377-400 [PMID: 23207614]
21 Ahmed Ali U, Pahlplatz JM, Nealon WH, van Goor H, Gooszen HG, Boermeester MA. Endoscopic or surgical intervention for painful obstructive chronic pancreatitis. *Cochrane Database Syst Rev* 2012; (1): CD007884 [PMID: 22258975 DOI: 10.1002/14651858.CD007884.pub2]
22 Connor S, Alexakis N, Raraty MG, Ghaneh P, Evans J, Hughes M, Garvey CJ, Sutton R, Neoptolemos JP. Early and late complications after pancreatic necrosectomy. *Surgery* 2005; 137: 499-505 [PMID: 15855920 DOI: 10.1016/j.surg.2005.01.003]
23 DeOliveira ML, Winter JM, Schafer M, Cunningham SC, Cameron JL, Yeo CJ, Clavien PA. Assessment of complications after pancreatic surgery: A novel grading system applied to 633 patients undergoing pancreaticoduodenectomy. *Ann Surg* 2006; 244: 931-937; discussion 931-937; [PMID: 17122618 DOI: 10.1097/01.sla.0000246856.03918.9a]
24 Ito T, Otsuki M, Itoi T, Shimosegawa T, Funakoshi A, Shiratori K, Naruse S, Kuroda Y. Pancreatic diabetes in a follow-up survey of chronic pancreatitis in Japan. *J Gastroenterol* 2007; 42: 291-297 [PMID: 17464458 DOI: 10.1007/s00535-006-1996-6]
25 Kleeff J, Diener MK, Z'graggen K, Hinz U, Wagner M, Bachmann J, Zehetner J, Müller MW, Friess H, Büchler MW. Distal pancreatectomy: risk factors for surgical failure in 302 consecutive cases. *Ann Surg* 2007; 245: 573-582 [PMID: 17414606 DOI: 10.1097/01.sla.0000251438.43135.fb]
26 Provansal-Cheylan M, Bernard JP, Mariani A, Soehendra N, Cremer M, Sahel J, Sarles H. Occluded pancreatic endoprostheses--analysis of the clogging material. *Endoscopy* 1989; 21: 63-69 [PMID: 2468478 DOI: 10.1055/s-2007-1012902]
27 Schmalz MJ, Geenen JE. Therapeutic pancreatic endoscopy. *Endoscopy* 1999; 31: 88-94 [PMID: 10082415 DOI: 10.1055/s-1999-14119]
28 Smits ME, Rauws EA, Tytgat GN, Huibregtse K. Endoscopic treatment of pancreatic stones in patients with chronic pancreatitis. *Gastrointest Endosc* 1996; 43: 556-560 [PMID: 8781932 DOI: 10.1016/S0016-5107(96)70190-6]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年5月28日; 22(15): 2190-2193
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

腹腔镜手术在急性胆源性胰腺炎EST失败后的应用

魏晓平, 胡明道, 杨万雄, 李 伟, 周 健, 田大广

■背景资料
急性胆源性胰腺炎(acute biliary pancreatitis, ABP)是急性胰腺炎中比较常见的临床类型. 目前, 针对ABP的治疗方案, 有关Meta分析表明伴有胆道梗阻或胆管炎者应早期内镜介入治疗, 以期在疾病早期解除梗阻, 通畅引流, 防止疾病的进一步发展. 但治疗性内镜, 尤其是经内镜乳头括约肌切开术(endoscopic sphincterotomy, EST)失败的病例, 临床应如何处理治疗, 是目前临床医生面对的问题. 本文总结了13例EST失败后早期行腹腔镜手术的病例, 进行了归纳总结.

魏晓平, 胡明道, 李伟, 田大广, 昆明医科大学第二附属医院肝胆胰一病区 云南省昆明市 650101
杨万雄, 云南保山市施甸县医院普通外科 云南省保山市 678200
周健, 云南保山市中医院肝胆外科 云南省保山市 678000
魏晓平, 主治医师, 主要从事肝胆胰外科的研究.
作者贡献分布: 本文由魏晓平设计; 治疗过程由魏晓平与田大广主要操作; 杨万雄、李伟及周健辅助完成; 本文论文由魏晓平完成; 胡明道指导修改.
通讯作者: 田大广, 副主任医师, 650101, 云南省昆明市滇缅大道374号, 昆明医科大学第二附属医院肝胆胰一病区.
tiandaguang11@126.com
收稿日期: 2014-03-13 修回日期: 2014-03-31
接受日期: 2014-04-09 在线出版日期: 2014-05-28

Laparoscopic cholecystectomy and laparoscopic common bile duct exploration in the treatment of acute biliary pancreatitis after failure of endoscopic sphincterotomy

Xiao-Ping Wei, Ming-Dao Hu, Wan-Xiong Yang, Wei Li, Jian Zhou, Da-Guang Tian

Xiao-Ping Wei, Ming-Dao Hu, Wei Li, Da-Guang Tian, Hepatobiliary and Pancreatic Department, the Second Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650101, Yunnan Province, China
Wan-Xiong Yang, General Surgery Department, the People's Hospital of Shidian County, Baoshan 678200, Yunnan Province, China
Jian Zhou, Hepatobiliary Surgery Department, the Traditional Chinese Hospital of Baoshan, Baoshan 678000, Yunnan Province, China
Correspondence to: Da-Guang Tian, Associate Chief Physician, the Hepatobiliary and Pancreatic Department of the Second Affiliated Hospital of Kunming Medical University, 374 Dianmian Avenue, Kunming 650101, Yunnan Province, China. tiandaguang11@126.com
Received: 2014-03-13 Revised: 2014-03-31
Accepted: 2014-04-09 Published online: 2014-05-28

Abstract
AIM: To evaluate the efficacy of laparoscopic cholecystectomy (LC) and laparoscopic common bile duct exploration (LCBDE) in the treatment of acute biliary pancreatitis (ABP) after failure of endoscopic sphincterotomy (EST).

METHODS: Thirteen patients who were diagnosed with ABP after failure of EST were treated with LC plus LCBDE in which electrohydraulic lithotripsy and harmonic scalpel were used. The hospital stay, operation time, loss of blood and postoperative complications were recorded.

RESULTS: The procedure was successful in all the patients. The operation time and hospital stay were 95-163 min and 10-14 d, respectively. One of the patients had residual stones (7.7%).

CONCLUSION: LC combined with LCBDE is an effective and safe way to treat ABP after failure of EST.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Laparoscopy; Pancreatitis; Endoscopic sphincterotomy

Wei XP, Hu MD, Yang WX, Li W, Zhou J, Tian DG. Laparoscopic cholecystectomy and laparoscopic common bile duct exploration for treatment of acute biliary pancreatitis after failure of endoscopic sphincterotomy. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(15): 2190-2193
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2190.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2190

摘要
目的: 探讨急性胆源性胰腺炎(acute biliary pancreatitis, ABP)经内镜乳头括约肌切开术(endoscopic sphincterotomy, EST)治疗失败后, 急诊行腹腔镜手术的疗效.

方法: 回顾分析13例ABP患者EST治疗失败后结合液电碎石及超声刀行腹腔镜胆囊切除术(laparoscopic cholecystectomy, LC)联合胆道探查术(laparoscopic common bile duct exploration, LCBDE)临床资料, 记录手术时间、出血量、住院时间及术后并发症发生率.

结果: 手术均获成功, 无1例中转开腹. 手术时间95-163 min, 住院时间10-14 d, 1例(7.7%)发生胆管残余结石.

结论: 针对ABP行EST失败后病例, LC+LCBDE是一种安全有效的治疗方法.

■同行评议者
谭晓冬, 教授, 中国医科大学附属盛京医院

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 腹腔镜; 胰腺炎; 经内镜乳头括约肌切开术

核心提示: 针对梗阻型急性胆源性胰腺炎(acute biliary pancreatitis, ABP), 尤其是重型ABP, 行经内镜乳头括约肌切开术(endoscopic sphincterotomy, EST)加鼻胆管引流后择期行腹腔镜胆囊切除(laparoscopic cholecystectomy)应为更合理的选择. 但作为一种EST失败后的应急措施, 结合超声刀与液电碎石的腹腔镜手术治疗是一种安全可行的治疗方法.

魏晓平, 胡明道, 杨万雄, 李伟, 周健, 田大广. 腹腔镜手术在急性胆源性胰腺炎EST失败后的应用. 世界华人消化杂志 2014; 22(15): 2190-2193 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2190.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2190

0 引言

急性胆源性胰腺炎(acute biliary pancreatitis, ABP)占我国胰腺炎年发病人数50%-70%[1], 其诱因包括胆系结石、胆道蛔虫、Oddis括约肌痉挛、壶腹部狭窄、乳头旁憩室、胆胰合流异常等. 目前, 针对ABP的治疗方案, 有关Meta分析表明伴有胆道梗阻或胆管炎者应早期内镜介入治疗[2]. 但有关内镜治疗失败后的手术治疗, 尚未见相关报道. 我院对2010-10/2013-10急性胆源性胰腺炎行经内镜乳头括约肌切开术(endoscopic sphincterotomy, EST)治疗失败后的13例病例, 结合超声刀及液电碎石, 采用腹腔镜胆囊切除(laparoscopic cholecystectomy, LC)加胆道探查术(laparoscopic common bile duct exploration, LCBDE)治疗, 疗效满意, 现报道如下.

1 材料和方法

1.1 材料 本组(病例均来自于昆明医科大学第二附属医院)13例, 男8例, 女5例, 年龄23-65岁, 平均51岁±8.7岁, 入院后均按中华医学会外科分会胰腺外科学组推荐的急性胰腺炎的临床诊断及分级标准(1996年第二次方案), 排除其他原因引起的急性胰腺炎, 诊断为轻症急性胰腺炎. 行磁共振胰胆管造影(magnetic resonance cholangiopancreatography, MRCP)检查均发现胆囊结石合并肝外胆管结石, 符合ABP诊断. 入院后在常规药物治疗同时, 24 h内给予内镜治疗, 行EST失败后于24 h内将腹腔镜与液电碎石及超声刀结合, 行LC+LCBDE. 液电碎石仪(四川康迪医疗设备公司TNS-2003T型体内冲击波胆道液电碎石仪), 液电碎石电极为可弯曲金属导丝式电极. 超声刀(强生公司, Harmonic 55.5 kHz; 纤维胆道镜), Olympus XP-20型, 配备取石网篮.

1.2 方法 全身麻醉, 患者取头高足低位, 右侧抬高15-20度. 四孔法放置Trocar. 术中先观察胆囊、胆总管及周围网膜情况, 了解有无腹水、粘连、皂化斑等. 超声刀钝性或锐性分离黏连, 胆囊颈部结石嵌顿张力高者先行胆囊底部穿刺减压以良好显露胆囊三角, 胆囊动脉夹闭后离断, 胆囊管于近胆囊壶腹部金属钛夹夹毕或丝线结扎后暂不切除, 留做牵拉. 超声刀切开胆管前壁, 置入纤维胆道镜, 较小结石用取石网篮直接取出; 结石较大者插入液电碎石电极, 接触结石后采用连续激发模式击碎结石. 用取石网篮取出碎石. 取尽结石后, 再次胆道镜检查有无残石, 胆管内放置18-22#T型管, 4/0微荞线缝扎关闭胆管切口, 全部患者温氏孔置管引流. 术后予持续胃肠减压, 保持引流管通畅, 使用能透过血胰屏障的抗生素, 抑制胰液分泌及胰酶活化的药物等治疗.

2 结果

本组13例患者均顺利完成手术, 手术时间95-163 min(平均73 min±10min), 术中失血量15-140 mL(平均30 mL±8 mL) 腹腔引流管于术后48-72 h拔除, 术后7 d行T管造影, 1例示胆管残余结石, 术后2 mo胆道镜取石后无残留. 术后10-14 d出院, 无1例发生胆漏及术后出血, 胰腺炎加重等并发症. 随访4-35 mo, 无因胰腺炎复发及结石再发.

3 讨论

ABP根据胆道疾病诱发部位不同, 又可分为胆囊源性与胆管源性胰腺炎. 胆管源性胰腺炎多由结石嵌顿与Vater壶腹或结石不断运动通过壶腹, 引起Oddis括约肌痉挛, 阻塞胆胰管共同通道所致. 而胆囊源性胰腺炎发病的机制则包括“一过性结石”滑动, 胆囊收缩与十二指肠乳头括约肌开放功能不协调, 胆囊收缩素一促胰酶素和促胰液素分泌增多等因素[3,4]. 但归根结底, 胆管壶腹的梗阻是诱发ABP的最主要原因. 文献报道壶腹部梗阻持续时间与胰腺炎严重程度呈正比, 24 h内几乎病变都是可逆的[5]. 因此对梗阻性ABP, 治疗的关键是尽早去除病因, 解除梗阻. 早期积极治疗可改善胰腺微循环, 降低并发症发生率[6]. 我们于入院24 h内对本组患者行

■研发前沿
目前, 针对ABP的病例, 文献报道壶腹部梗阻持续时间与胰腺炎严重程度呈正相关, 24 h内几乎病变都是可逆的, 超过48 h则出现广泛的出血, 坏死, 因此, 临床已达成的共识是早期行治疗性内镜. 但有关早期行手术治疗的时机, 尚存争议, 部分学者认为应早期(72 h)内手术, 部分认为应待病情缓解后再手术治疗. 而将二者结合, 先行内镜治疗在手术的临床研究也正在开展并总结经验.

■创新盘点
有关EST治疗失败后早期行腹腔镜手术治疗的文章尚未见报道. 本研究将腹腔镜与超声刀, 液电碎石结合, 在EST失败后行手术治疗, 认为其是一种安全可行的治疗方法.

■应用要点
腹腔镜胆囊切除及胆道探查术目前已是广泛开展应用的术式，针对行EST失败的ABP患者，早期开展该术式，技术上成熟可靠. 但由于本研究例数较少，尚无法得出梗阻型ABP是否可将选腹腔镜手术作为首选治疗方法的结论，同时有关可否行经胆囊管取石及采用胰高血糖素冲洗排石等仍有待进一步研究.

内镜治疗，以期解除梗阻，降低胆管内压，但EST治疗失败，转为急诊手术治疗. 分析其原因可能为：(1)炎症致十二指肠黏膜水肿，乳头不易显露或乳头细小，乳头隆起段标志不明显，标准导管及弓式刀难以直接插入胆总管；(2)乳头旁、顶端大憩室，是导致穿孔的最常见原因[7]；(3)误伤十二指肠后动脉或其分支，引发胆管活动性出血，凝血块或电凝后焦痂遮盖乳头. 其发生率可达20.17%[8]. 内镜下取石成功率可达85%-90%[9]，但其失败原因主要包括：(1)结石下方胆总管狭窄；(2)胆总管结石嵌顿；(3)胆总管成角等.

针对梗阻型ABP，是早期手术还是待内镜减压后再二期手术，目前尚有争议，存在较多分歧[10]. 我们于发病48 h内结合超声刀及液电碎石行LC+LCBDE，手术均获成功，术后无1例发生严重并发症，与相关文献报道[11]及常规观点认为的应在炎症发作72 h内手术一致. 分析其原因为：LC成功与否的关键在于能否顺利辨清“三管关系”，而在胆囊炎症早期，胆囊虽有不同程度充血水肿及网膜的包裹，但多为疏松粘连，经钝性剥离或锐性分离后仍可良好显露胆囊三角，游离胆囊管及胆囊动脉. 但若进入亚急性期，则组织严重水肿，粘连致密，多从胆囊体部就开始形成致密粘连，甚至无法寻及胆囊，胆囊三角得不到良好显露，大大增加了手术风险，并易误伤胆管. 同时，我们在手术中利用超声刀不产生热能扩散及精确切割的特性，胆管穿刺后用超声刀继续打开胆管，既可有效防止胆管出血，又避免了胆管壁的热灼伤. 同时胰腺炎腹腔脏器充血水肿，轻轻触碰就易导致组织出血，超声刀进行分离粘连，游离胆囊床等操作，大大减少了出血风险. 而液电碎石的采用，对较大结石或嵌顿于Oddis括约肌的结石则得到了较好的处理，本组2例病例就因结石嵌顿于Oddis括约肌而导致EST失败.

手术中应注意：(1)在探察胆管的过程中，若先切除了胆囊，则肝脏一般容易下垂遮盖胆管，而单纯挑起肝脏则可能因施力不均而误伤肝脏. 而本研究则完成胆道探察，放置T管后才离断胆囊管，切除胆囊. 这样可以在抓持胆囊的同时上挑肝叶，既充分暴露了胆管，又避免戳伤肝脏，造成不必要的损伤；(2)胆囊床的处理. ABP时，腹腔脏器均受炎症影响而充血水肿，胆囊床组织水肿增厚，不易辨清其中的小血管，尤其是门静脉小属枝，且极易在牵拉下撕脱肝床，导致出血. 而采用超声刀夹持水肿系膜的同时凝固，一般可有效闭合小血管及胆管，但应注意避免夹住胆囊壁而引起胆囊破裂. 对胆囊系膜较短者，需先仔细游离后再夹持凝固；(3)ABP多伴Oddis括约肌狭窄或壶腹水肿，难以排除细小结石. 故使用液电碎石仪时，不可将结石击碎过小，一方面多次取石延长了手术时间，另一方面可能残留细小结石再次堵塞胆管出口；若胆管壁出血，可暂停碎石，将胆道镜置于出血处压迫或采用冰盐水冲洗2-5 min，一般出血可停止；(4)胆管内均放置T型管引流，一方面可以引流胆汁，降低胆管内压，进一步降低胰管压力，另一方面可减轻Oddis括约肌水肿，利于其炎症消退；(5)温氏孔置管引流，既可以观察有无出血，胆漏的发生，又可以引流腹腔炎性液体，降低网膜囊压力，有利于胰腺炎的恢复.

由于EST带来的括约肌功能丧失而导致的胆道感染和乳头切开部位瘢痕挛缩引发的乳头狭窄，可能会导致结石复发，反流性胆管炎和胰腺炎等远期并发症[12,13]，随访10年以上并发症发生率约5.8%-24%[14]. 而LCBDE仅切开胆管前壁，有效保留了Oddis括约肌这一“门户”的功能，从而预防了肠液返流及其导致的相关并发症，因此，术后随访期内无胰腺炎复发及结石再发. 但不可否认的是，对于非结石因素，如肿瘤、单纯狭窄等，内镜明显优越于腹腔镜，不仅可通过放置支架，鼻胆管引流等方式解除梗阻，还能组织活检，明确病变性质.

基于“微创化”及“损伤控制”的理论，目前针对梗阻型ABP，尤其是重型ABP，行EST加鼻胆管引流后择期行LC应为更合理的选择[15]. 本研究由于例数较少，并且是EST失败后的应急措施，虽然已表明行该术式是安全有效的，但尚无法得出梗阻型ABP是否可将选腹腔镜手术作为首选治疗方法的结论，同时有关可否行经胆囊管取石及采用胰高血糖素冲洗排石等仍有待进一步研究.

4 参考文献

1 易晓雷，李旭辉，苗雄鹰. 急性胆源性胰腺炎腹腔镜胆囊切除术的手术时机. 中国普通外科杂志 2010; 19: 592-594
2 van Geenen EJ, van Santvoort HC, Besselink MG, van der Peet DL, van Erpecum KJ, Fockens P, Mulder CJ, Bruno MJ. Lack of consensus on the role of endoscopic retrograde cholangiography in acute biliary pancreatitis in published meta-analyses and guidelines: a systematic review. *Pancreas* 2013; 42: 774-780 [PMID: 23774699 DOI: 10.1097/MPA.0b013e318287d208]

3 刘昌阔. 十二指肠镜联合腹腔镜治疗急性胆源性胰腺炎. 肝胆胰外科杂志 2011; 23: 229-231
4 van Geenen EJ, van der Peet DL, Bhagirath P, Mulder CJ, Bruno MJ. Etiology and diagnosis of acute biliary pancreatitis. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2010; 7: 495-502 [PMID: 20703238 DOI: 10.1038/nrgastro]
5 Acosta JM, Rossi R, Galli OM, Pellegrini CA, Skinner DB. Early surgery for acute gallstone pancreatitis: evaluation of a systematic approach. *Surgery* 1978; 83: 367-370 [PMID: 635772]
6 Dubravcsik Z, Hritz I, Fejes R, Balogh G, Virányi Z, Hausinger P, Székely A, Szepes A, Madácsy L. Early ERCP and biliary sphincterotomy with or without small-caliber pancreatic stent insertion in patients with acute biliary pancreatitis: better overall outcome with adequate pancreatic drainage. *Scand J Gastroenterol* 2012; 47: 729-736 [PMID: 22414053 DOI: 10.3109/00365521.2012.660702]
7 Rochester JS, Jaffe DL. Minimizing complications in endoscopic retrograde cholangiopancreatography and sphincterotomy. *Gastrointest Endosc Clin N Am* 2007; 17: 105-127, vii [PMID: 17397779]
8 黄长文, 王开阳, 傅华群. 密切关注内镜下乳头括约肌切开术的并发症. 中华肝胆外科杂志 2011; 17: 793-796
9 Bergman JJ, Huibregtse K. Endoscopic Sphincterotomy and Stone Extraction. *Semin Laparosc Surg* 1995; 2: 140-150 [PMID: 10401075]
10 Canlas KR, Branch MS. Role of endoscopic retrograde cholangiopancreatography in acute pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 6314-6320 [PMID: 18081218]
11 包文中, 孟翔凌, 汤大维, 周高潮, 王家文. 胆囊结石合并急性胰腺炎早期和延期腹腔镜胆囊切除术临床疗效分析. 中国普通外科杂志 2013; 22: 1232-1234
12 Kim KY, Han J, Kim HG, Kim BS, Jung JT, Kwon JG, Kim EY, Lee CH. Late Complications and Stone Recurrence Rates after Bile Duct Stone Removal by Endoscopic Sphincterotomy and Large Balloon Dilation are Similar to Those after Endoscopic Sphincterotomy Alone. *Clin Endosc* 2013; 46: 637-642 [PMID: 24340257 DOI: 10.5946/ce.2013.46.6.637]
13 Mustafa A, Begaj I, Deakin M, Durkin D, Corless DJ, Wilson R, Slavin JP. Long-term effectiveness of cholecystectomy and endoscopic sphincterotomy in the management of gallstone pancreatitis. *Surg Endosc* 2014; 28: 127-133 [PMID: 23982647 DOI: 10.1007/s00464-013-3138-6]
14 Sugiyama M, Atomi Y. Risk factors predictive of late complications after endoscopic sphincterotomy for bile duct stones: long-term (more than 10 years) follow-up study. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 2763-2767 [PMID: 12425545]
15 Sanjay P, Yeeting S, Whigham C, Judson H, Polignano FM, Tait IS. Endoscopic sphincterotomy and interval cholecystectomy are reasonable alternatives to index cholecystectomy in severe acute gallstone pancreatitis (GSP). *Surg Endosc* 2008; 22: 1832-1837 [PMID: 18071797]

编辑 田滢 电编 都珍珍

■同行评价

本文选题贴近临床需求, 有助于解决临床工作中的实际问题. 病例资料回顾分析合理, 数据全面, 详实, 结论可靠, 结果具有较重要的临床指导意义和较高的科学价值.

世界华人消化杂志 2014年5月28日; 22(15): 2194-2197
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

食物特异性IgG抗体检测在儿童慢性消化系统疾病中的应用价值

章幽芳, 黄清选

■背景资料
对于IgG抗体介导的食物不良反应与各种疾病尤其是慢性病的相关性研究的文献报道越来越多. 多数专家认为慢性消化系统疾病可能是由于机体缺乏相应的酶而无法完全消化摄入的一种或几种食物, 以多肽或其他分子形式进入肠道后被识别为外来物质而产生了免疫反应, 从而导致食物特异性IgG抗体的产生, 并引发一系列肠道症状.

章幽芳, 黄清选, 浙江省衢州市人民医院儿科 浙江省衢州市 324000
章幽芳, 主治医师, 主要从事新生儿疾病的研究.
作者贡献分布: 本研究由章幽芳设计; 黄清选参与完成.
通讯作者: 章幽芳, 主治医师, 324000, 浙江省衢州市柯城区新安路, 浙江省衢州市人民医院儿科. gongminfood@163.com
收稿日期: 2014-04-03 修回日期: 2014-04-08
接受日期: 2014-04-28 在线出版日期: 2014-05-28

Value of food-specific IgG antibody detection in children with chronic digestive system diseases

You-Fang Zhang, Qing-Xuan Huang

You-Fang Zhang, Qing-Xuan Huang, Department of Pediatrics, the People's Hospital of Quzhou, Quzhou 324000, Zhejiang Province, China
Correspondence to: You-Fang Zhang, Attending Physician, Department of Pediatrics, the People's Hospital of Quzhou, Xin'an Road, Kecheng District, Quzhou 324000, Zhejiang Province, China. gongminfood@163.com
Received: 2014-04-03 Revised: 2014-04-08
Accepted: 2014-04-28 Published online: 2014-05-28

Abstract

AIM: To explore the value of food-specific IgG antibody detection in children with chronic diseases of the digestive system.

METHODS: One hundred and six children with chronic diseases of the digestive system (experiment group) and 106 children without digestive system disorders (control group) were included in this study. The IgG antibodies against 14 types of food were detected, and the positive rate of serum food-specific IgG antibody detection and feeding patterns in 4 mo after birth between the two groups were compared.

RESULTS: The positive rates of antibodies against eggs (61.32%, 18.87%) and milk (43.40%, 11.32%) were relatively high in the two groups compared with those against other food. The positive rates of antibodies against milk, eggs and soybean in the experiment group were significantly higher than those in the control group (43.40% *vs* 11.32%, 61.32% *vs* 18.87%, 11.32% *vs* 0.00%, $P < 0.05$). The percentages of subjects who were positive for antibodies against 2 or 3 kinds of food as well as the total positive rate in the experiment group were significantly higher than those in the control group (34.91% *vs* 13.21%, 15.09% *vs* 4.72%, 85.85% *vs* 49.06%, $P < 0.05$). The breast-feeding rate in 4 months after birth in the experiment group was significantly lower than that in the control group (43.40% *vs* 76.42%, $P < 0.05$). The rates of artificial feeding and partial breastfeeding in the experiment group were significantly higher than those in the control group (8.49% *vs* 1.89%, 48.11% *vs* 21.70%, $P < 0.05$).

CONCLUSION: Food-specific IgG detection can help identify chronic diseases of the digestive system caused by food. The antibodies against milk and eggs are the most common. Early feeding way is an important factor responsible for food intolerance.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Children; Chronic diseases of the digestive system; Food-specific IgG

Zhang YF, Huang QX. Value of food-specific IgG antibody detection in children with chronic digestive system diseases. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(15): 2194-2197 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2194.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2194

摘要

目的: 探讨食物特异性IgG抗体检测在儿童慢性消化系统疾病中的应用价值.

方法: 比较106例慢性消化系统疾病患儿(观察组)和106例消化系统正常(对照组)患儿14种食物特异性IgG阳性率、血清食物特异性IgG检测阳性率以及出生后4 mo内喂养方式.

结果: 两组患儿14种食物特异性IgG阳性率

■同行评议者
李勇, 主任医师, 教授, 上海中医药大学附属市中医医院消化科

较高的均为鸡蛋(61.32%, 18.87%)和牛奶(43.40%, 11.32%); 观察组患儿牛奶、鸡蛋和大豆阳性率均显著高于对照组(43.40% *vs* 11.32%)、(61.32% *vs* 18.87%)、(11.32% *vs* 0.00%), 差异具有统计学意义(P<0.05). 观察组患儿2种食物阳性、3种及以上食物阳性以及总阳性率均显著高于对照组(34.91% *vs* 13.21%)、(15.09% *vs* 4.72%)、(85.85% *vs* 49.06%), 差异具有统计学意义(P<0.05). 观察组患儿出生后4 mo内母乳喂养率显著低于对照组(43.40% *vs* 76.42%), 人工喂养和混合喂养率均显著高于对照组(8.49% *vs* 1.89%)、(48.11% *vs* 21.70%), 差异具有统计学意义(P<0.05).

结论: 食物特异性IgG抗体检测能够发现由食物不良反应所致的慢性消化系统疾病, 牛奶和鸡蛋为常见食物特异性IgG阳性食物, 早期喂养方式是导致食物不耐受的重要因素.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 儿童; 慢性消化系统疾病; 食物特异性IgG

核心提示: 本研究中观察组患儿食物特异性IgG抗体检测总阳性率为85.85%, 对照组患儿总阳性率为49.06%, 两组差异显著. 表明小儿慢性消化系统疾病中食物特异性IgG抗体检测阳性率较高, 与国外相关文献报道结果一致.

章幽芳, 黄清选. 食物特异性IgG抗体检测在儿童慢性消化系统疾病中的应用价值. 世界华人消化杂志 2014; 22(15): 2194-2197
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2194.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2194

0 引言

儿童慢性消化系统疾病在临床上发生率较高, 多数患儿病因不能完全明确, 临床症状也较为复杂, 给临床治疗增加了较大难度[1]. 患儿若不能及时采取有效治疗干预可引起营养不良、贫血等并发症, 甚至对正常生活和学习产生较大影响[2]. 近几年, 大量文献报道指出食物特异性IgG抗体与慢性消化系统疾病存在紧密联系, 根据食物特异性IgG抗体检测结果可发现引起患儿不耐受的食物, 采取相应饮食回避治疗后可有效改善患儿临床症状[3]. 现回顾性分析我院收治的慢性消化系统疾病患儿食物特异性IgG抗体检测, 分析引发食物不耐受的相关因素, 报道如下.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2013-02/2014-02我院消化科收治的慢性消化系统疾病患儿106例作为观察组研究对象. 入选标准: 年龄6 mo-14岁; 辅食中至少添加14种食物(牛奶、牛肉、猪肉、鸡肉、鸡蛋、鱼、螃蟹、虾、大米、玉米、小麦、大豆、西红柿和蘑菇)中的3-4种; 反复呕吐3 mo以上且经钡餐检查排除器质性病变; 腹痛反复发作3 mo以上且经胃镜或钡餐检查排除器质性病变; 腹泻久治不愈持续2 mo以上且多次大便镜检和培养排除寄生虫和细菌感染的慢性腹泻; 厌食2 wk以上并伴有生长发育迟缓[4]. 排除标准: 入选前接受激素、免疫抑制剂或脱敏治疗者; 近期有输血及输血浆史; 近期有感染史或有免疫缺陷病; 存在过敏史; 辅助检查发现器质性病变者. 选择我院住院部同期收治的106例无消化系统疾病临床症状的患儿作为对照组研究对象.

1.2 方法

1.2.1 取样: 两组患儿均抽取静脉血2-3 mL注入含有抑肽酶40 μL和7.5%EDTA二钠30 μL混合液的离心管中, 在4000 r/min下离心5 min, 分离血清至EP管中, 于-80 ℃低温冰箱中储存备用[5].

1.2.2 检测: 使用食物特异性IgG外检测试剂盒, 采用酶联免疫法(ELISA)测定两组患儿血清样本中14种食物(牛奶、牛肉、猪肉、鸡肉、鸡蛋、鱼、螃蟹、虾、大米、玉米、小麦、大豆、西红柿和蘑菇)特异性IgG抗体[6]. 试剂盒购自美国Sigma公司, 操作步骤按照试剂盒说明进行.

1.2.3 观察指标: 比较两组患儿14种食物特异性IgG阳性率、血清食物特异性IgG检测阳性率以及出生后4 mo内喂养方式.

统计学处理 使用SPSS17.0统计分析, 用mean±SD表示计量资料, 采用t检验, 用百分比表示记数资料, 采用χ^2检验. P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 两组患儿临床资料比较 观察组患儿慢性腹痛58例、慢性腹泻22例、反复呕吐17例、厌食9例. 两组患儿在性别、年龄分布等上差异无统计学意义(P>0.05)(表1), 具有可比性.

2.2 两组患儿14种食物特异性IgG阳性率比较 观察组患儿14种食物特异性IgG阳性率较高的为鸡蛋(61.32%)、牛奶(43.40%)和大豆(11.32%);

■相关报道
近几年, 大量文献报道指出食物特异性IgG抗体与慢性消化系统疾病存在紧密联系, 根据食物特异性IgG抗体检测结果可发现引起患儿不耐受的食物, 采取相应饮食回避治疗后可有效改善患儿临床症状.

■应用要点
物特异性IgG抗体检测能够发现由食物不良反应所致的慢性消化系统疾病, 牛奶和鸡蛋为常见食物特异性IgG阳性食物, 早期采取母乳喂养方式能够降低IgG抗体介导的食物不良反应发生率.

表 1 两组患儿临床资料比较 [n = 106, n(%)]

分组	性别		年龄(岁)				慢性消化系统疾病			
	男	女	≤1	1–3	> 3	平均年龄	慢性腹痛	慢性腹泻	反复呕吐	厌食
观察组	72(67.92)	34(32.08)	31(29.25)	29(27.36)	46(43.40)	4.15 ± 3.73	58(54.72)	22(20.75)	17(16.04)	9(8.49)
对照组	59(55.66)	47(44.34)	29(27.36)	35(33.02)	42(39.62)	4.27 ± 3.51	–	–	–	–

表 2 两组患儿14种食物特异性IgG阳性率比较 [n = 106, n(%)]

分组	牛奶	牛肉	猪肉	鸡肉	鸡蛋	鱼	螃蟹	虾	大米	玉米	小麦	大豆	西红柿	蘑菇
观察组	46 (43.40)[a]	2 (1.89)	2 (1.89)	0 (0.00)	65 (61.32)[a]	2 (1.89)	7 (6.60)	0 (0.00)	11 (10.38)	0 (0.00)	5 (4.72)	12 (11.32)[a]	0 (0.00)	0 (0.00)
对照组	12 (11.32)	3 (2.83)	0 (0.00)	0 (0.00)	20 (18.87)	8 (7.55)	0 (0.00)	3 (2.83)	5 (4.72)	0 (0.00)	5 (4.72)	0(0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)

[a]P<0.05 *vs* 对照组.

表 3 两组患儿血清食物特异性IgG检测阳性率比较 [n = 106, n(%)]

分组	1种食物阳性	2种食物阳性	3种及以上食物阳性	合计
观察组	38(35.85)	37(34.91)[a]	16(15.09)[a]	91(85.85)[a]
对照组	33(31.13)	14(13.21)	5(4.72)	52(49.06)

[a]P<0.05 *vs* 对照组.

表 4 两组患儿出生后4 mo内喂养方式比较 [n = 106, n(%)]

分组	母乳喂养	人工喂养	混合喂养
观察组	46(43.40)[a]	9(8.49)[a]	51(48.11)[a]
对照组	81(76.42)	2(1.89)	23(21.70)

[a]P<0.05 *vs* 对照组.

对照组患儿14种食物特异性IgG阳性率较高的为鸡蛋(18.87%)、牛奶(11.32%)和鱼(7.55%); 观察组患儿牛奶、鸡蛋和大豆阳性率均显著高于对照组, 差异具有统计学意义(P<0.05)(表2).

2.3 两组患儿血清食物特异性IgG检测阳性率比较 观察组患儿2种食物阳性、3种及以上食物阳性以及总阳性率均显著高于对照组, 差异具有统计学意义(P<0.05)(表3).

2.4 两组患儿出生后4 mo内喂养方式比较 观察组患儿出生后4 mo内母乳喂养率显著低于对照组, 人工喂养和混合喂养率均显著高于对照组, 差异具有统计学意义(P<0.05)(表4).

3 讨论

近几年, 对于IgG抗体介导的食物不良反应与各种疾病尤其是慢性病的相关性研究的文献报道越来越多[7]. 多数专家认为慢性消化系统疾病可能是由于机体缺乏相应的酶而无法完全消化摄入的一种或几种食物, 以多肽或其他分子形式进入肠道后被识别为外来物质而产生了免疫反应, 从而导致食物特异性IgG抗体的产生, 并引发一系列肠道症状[8]. IgG抗体介导的食物不良反应与IgE介导的食物过敏反应差异较大. IgE介导的食物过敏反应发病速度快, 临床症状突出, 由某种明确的食物摄入引起发病, 常反复发作[9]; 而IgG抗体介导的食物不良反应为慢性免疫损伤, 由于抗体产生时间较长, 因此多表现为慢性疾病[10]. 本研究中观察组患儿食物特异性IgG抗体检测总阳性率为85.85%, 对照组患儿总阳性率为49.06%, 两组差异显著. 表明小儿慢性消化系统疾病中食物特异性IgG抗体检测阳性率较高, 与国外相关文献报道结果一致[11]. 但需要注意的是健康儿童食物特异性IgG抗体检测阳性率也较高, 因此IgG抗体检测不能作为诊断儿童慢性消化系统疾病的特异性指标.

本研究中两组儿童食物特异性IgG抗体检测阳性率较高的食物中均有鸡蛋(61.32%, 18.87%)

和牛奶(43.40%, 11.32%). 分析原因主要为: (1)鸡蛋和牛奶属于高蛋白食物, 具有酸性等电点糖蛋白的抗原特异性, 对加热、烹调等加工方式具有耐受性, 对肠道消化也有抵抗作用, 因此可成为高免疫原性食物[12]; (2)食物特异性IgG抗体在机体内升高达到一定水平后方可引起疾病或临床症状, 这是一个长期的过程, 而鸡蛋和牛奶是儿童辅食添加中最先接触和接触时间较长的食物, 因此易成为不耐受食物[13]. 另外, 从饮食习惯上来看, 大豆、大米等也是儿童接触较早的食物, 本研究中二者的食物特异性IgG检测阳性率也较高.

另外, 本研究中观察组患儿2种食物阳性率、3种及以上食物阳性率与对照组存在显著差异. 表明IgG抗体介导的食物不良反应多由于2种以上食物引发, 单一食物引发较少. 本研究结果显示, 两组患儿出生后4 mo内喂养方式存在显著差异, 儿童生后4 mo内喂养方式为母乳喂养者IgG抗体介导的食物不良反应发生率较低. 表明减少婴儿早期接触异性蛋白的机会, 采取母乳喂养能够降低儿童IgG抗体介导的食物不良反应发生率. 分析原因主要为: (1)儿童胃肠功能发育不成熟, 易出现食物不良反应[14]; (2)母乳为婴儿喂养最佳食物, 其中含有与肠道生理菌双歧杆菌生长密切相关的生物因子, 有助于提高婴儿免疫力, 改善婴儿消化道微环境[15]. 尤其对于有过敏家族史的儿童更应该推迟奶、蛋等副食的添加时间, 降低儿童食物过敏的发生率[16].

总之, 食物特异性IgG抗体检测能够发现由食物不良反应所致的慢性消化系统疾病, 牛奶和鸡蛋为常见食物特异性IgG阳性食物, 早期采取母乳喂养方式能够降低IgG抗体介导的食物不良反应发生率.

4 参考文献

1 韩煦, 常艳敏. 食物不耐受的研究进展. 医学综述 2012; 18: 1043-1045
2 刘小娟, 竺婷婷, 曾蓉, 常莉, 李丰益, 李文胜, 江咏梅. 儿童食物不耐受临床分析. 中国当代儿科杂志 2013; 15: 550-554
3 白雪, 李会强. 食物不耐受及其IgG抗体检测的临床价值. 医学综述 2011; 17: 2158-2160
4 Bhuiyan MR, Majumder TK, Raihan AA, Roy PK, Farha N, Kamal M. Histopathological alterations in post-infectious irritable bowel syndrome in Bangladeshi population. *Mymensingh Med J* 2010; 19: 275-281 [PMID: 20395926]
5 宓庆梅, 仲人前. 儿童血清中食物特异性IgG检测的临床意义. 检验医学 2009; 24: 296-298
6 陈杰, 王轶, 张剑波, 汪智英, 董巍. 14种食物不耐受血清特异性IgG抗体检测在临床中的应用价值. 实用医院临床杂志 2010; 7: 67-69
7 谭全会, 李兴华. 食物不耐受和功能性胃肠病关系的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21: 2551-2556
8 缪美华, 邵雪君, 朱宏. 儿童食物不耐受与血清中IgG的关系. 中国中西医结合儿科学 2010; 2: 62-64
9 唐吟菡, 许树长, 吴萍. 食物敏感与肠易激综合征研究进展. 世界华人消化杂志 2012; 20: 389-393
10 李玉华, 项立, 肖智辉, 王慧慧. 食物不耐受与儿童慢性腹痛的相关性研究. 中国全科医学 2012; 15: 2170-2172
11 Morcos A, Dinan T, Quigley EM. Irritable bowel syndrome: role of food in pathogenesis and management. *J Dig Dis* 2009; 10: 237-246 [PMID: 19906102 DOI: 10.1111/j.1751-2980.2009.00392.x]
12 庄莹, 林志辉. 食物不耐受及与消化系统疾病关系的研究进展. 国际消化病杂志 2012; 32: 292-295
13 Antico A, Pagani M, Vescovi PP, Bonadonna P, Senna G. Food-specific IgG4 lack diagnostic value in adult patients with chronic urticaria and other suspected allergy skin symptoms. *Int Arch Allergy Immunol* 2011; 155: 52-56 [PMID: 21109748 DOI: 10.1159/000318736]
14 谭全会, 李兴华. 食物特异性IgG抗体指导的限制性饮食治疗肠易激综合征. 世界华人消化杂志 2013; 21: 3094-3097
15 Patel NJ, Jenzarli A. Does food intolerance play a role in recurrent respiratory papillomatosis? *Int Forum Allergy Rhinol* 2012; 2: 85-88 [PMID: 22311847 DOI: 10.1002/alr.20094]
16 朱秀琴, 刘曌宇. 消化系统疾病患者食物不耐受状况及饮食护理. 护理学杂志 2010; 25: 80-81

编辑 田滢 电编 鲁亚静

同行评价

本课题具有一定的临床实际意义.

世界华人消化杂志 2014年5月28日; 22(15): 2198-2201
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

结直肠切除吻合术行胃肠减压的必要性

李 忠, 张 云, 樊振涛

■背景资料
胃肠道手术是临床中常见的手术方法之一, 而术后胃肠减压是临床中胃肠道手术的常规操作步骤之一, 并且在临床中具有一定的应用. 但是, 临床相关学者对胃肠手术患者是否进行放置胃管存在异议. 本研究重点分析术后胃肠减压的必要性, 为临床治疗该病提供参考.

李忠, 张云, 武警后勤学院附属医院普外科 天津市 300162
樊振涛, 天津南开医院普外科 天津市 300100
李忠, 主治医师, 主要从事胃肠外科的研究.
作者贡献分布: 课题设计与论文书写由李忠完成; 数据分析由张云完成; 病例收集由樊振涛完成.
通讯作者: 李忠, 主治医师, 300162, 天津市河东区成林路220号, 武警后勤学院附属医院普外科. blacben@163.com
电话: 02260578839
收稿日期: 2014-02-14 修回日期: 2014-03-18
接受日期: 2014-03-31 在线出版日期: 2014-05-28

Necessity of gastrointestinal decompression after colorectal resection and anastomosis

Zhong Li, Yun Zhang, Zhen-Tao Fan

Zhong Li, Yun Zhang, Department of General Surgery, Affiliated Hospital of the Armed Police Logistics College, Tianjin 300162, China
Zhen-Tao Fan, Department of General Surgery, Tianjin Nankai Hospital, Tianjin 300100, China
Correspondence to: Zhong Li, Attending Physician, Department of General Surgery, Affiliated Hospital of the Armed Police Logistics College, 220 Chenglin Road, Hedong District, Tianjin 300162, China. blacben@163.com
Received: 2014-02-14 Revised: 2014-03-18
Accepted: 2014-03-31 Published online: 2014-05-28

Abstract
AIM: To investigate the necessity and effectiveness of gastrointestinal decompression after colorectal resection and anastomosis.

METHODS: One hundred patients who underwent colorectal resection and anastomosis from January 2013 to December 2013 at our hospital were included in this study. The patients were randomly divided into either a study group or a control group. The control group underwent conventional decompression treatment, while the observation group did not undergo. The times to recovery of bowel sounds, flatus and defecation, postoperative hospital stay and complications were compared between the two groups.

RESULTS: The times to recovery of bowel sounds, flatus and defecation and length of postoperative hospital stay did not differ significantly between the two groups (1.9 d ± 0.6 d *vs* 2.0 d ± 0.5 d, 4.3 d ± 1.6 d *vs* 4.5 d ± 1.3 d, 3.0 d ± 1.2 d *vs* 3.1 d ± 1.1 d, 8.9 d ± 2.1 d *vs* 9.2 d ± 2.0 d, $P > 0.05$). The rates of infection and the incidence of anastomotic fistula also did not differ significantly between the two groups (2.0% *vs* 4.0%, 4.0% *vs* 6.0%, $P > 0.05$). The incidences of pulmonary infection, fever and sore throat were significantly lower in the observation group than in the control group (0.0% *vs* 10.0%, 2.0% *vs* 12.0%, 2.0% *vs* 18.0%, $P < 0.05$).

CONCLUSION: Gastrointestinal decompression after colorectal resection and anastomosis can increase the occurrence of some complications, and gastric tubes should be removed as early as possible to accelerate the rehabilitation of patients and effectively reduce the incidence of fever, lung infection, sore throat and other complications.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Colorectal resection and anastomosis; Decompression; Necessity

Li Z, Zhang Y, Fan ZT. Necessity of gastrointestinal decompression after colorectal resection and anastomosis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(15): 2198-2201
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2198.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2198

摘要
目的: 探讨结直肠切除吻合术行胃肠减压的必要性与效果.

方法: 选取我院2013-01/2013-12行结直肠切除吻合术患者100例为研究对象, 将其按照随机数字法分为观察组和对照组, 对照组患者行常规胃肠减压治疗, 观察组不进行常规胃肠减压治疗, 观察两组患者术后肠鸣音恢复时间、肛门排气恢复时间和肛门排便时间以及术后住院时间与相关并发症发生情况.

结果: 观察组患者术后肠鸣音恢复时间、肛

■同行评议者
孔静, 副教授, 副主任医师, 中国医科大学附属盛京医院胆道、血管外科、微创外科

门排气恢复时间和肛门排便时间以及术后住院时间与对照组比较, 差异无统计学意义(1.9 d±0.6 d *vs* 2.0 d±0.5 d, 4.3 d±1.6 d *vs* 4.5 d±1.3 d, 3.0 d±1.2 d *vs* 3.1 d±1.1 d, 8.9 d±2.1 d *vs* 9.2 d±2.0 d, 均*P*>0.05). 观察组患者伤口感染、吻合口瘘发生率与对照组比较, 差异无统计学意义(2.0% *vs* 4.0%, 4.0% *vs* 6.0%, 均*P*>0.05); 观察组发热、肺部感染和咽喉炎发生率与对照组比较, 差异有统计学意义(0.0% *vs* 10.0%, 2.0% *vs* 12.0%, 2.0% *vs* 18.0%, 均*P*<0.05).

结论: 临床中对于结直肠切除吻合术行胃肠减压治疗并不能达到预期的效果, 反而会增加相关并发症发生, 临床中应尽早的拔除胃管, 加快患者的快速康复, 有效地降低发热、肺部感染和咽喉炎等并发症发生.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 结直肠切除吻合术; 胃肠减压; 必要性

核心提示: 结直肠切除吻合术行胃肠减压治疗并不能达到预期的效果, 反而会增加相关并发症发生, 临床中应尽早的拔除胃管, 加快患者的快速康复, 有效的降低发热、肺部感染和咽喉炎等并发症发生. 临床中应引起足够的重视, 降低相关并发症的发生.

李忠, 张云, 樊振涛. 结直肠切除吻合术行胃肠减压的必要性. 世界华人消化杂志 2014; 22(15): 2198-2201 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2198.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2198

0 引言

术后胃肠减压是临床中胃肠道手术的常规操作步骤之一, 在临床中具有一定的应用. 但是, 临床相关学者对胃肠手术患者是否进行放置胃管存在异议. 国内患者认为, 胃肠术后不需要进行常规胃肠减压, 持续的胃肠减压反而对增加术后肺内感染和咽喉炎等并发症[1]. 因此, 本文重点分析结直肠切除吻合术行胃肠减压的必要性, 具体的分析如下.

1 材料和方法

1.1 材料 本次研究选取我院2013-01/2013-12结直肠切除吻合术患者100例为研究对象, 将其按照随机数字法分为观察组和对照组. 观察组50例, 男性患者24例, 女性患者26例, 患者的年龄为31-79岁, 平均年龄为61.3岁±3.5岁. 结肠癌患者20例, 直肠癌患者30例. 对照组50例, 男性患者25例, 女性患者25例, 患者的年龄为33-79岁, 平均年龄为62.7岁±3.1岁. 结肠癌患者21例, 直肠癌患者29例. 观察组和对照组患者基本资料比较无明显的差异(*P*>0.05), 统计学无意义, 具有可比性.

1.2 方法

1.2.1 纳入标准: (1)年龄在18岁以上对象; (2)术前电子结肠镜证实为结直肠癌, 或者术中病理证实; (3)择期进行开腹结肠和直肠手术, 包括根治性大肠癌手术.

1.2.2 排除标准: (1)术前检查伴有消化系梗阻性疾病; (2)预防性造瘘患者.

1.2.3 治疗: 本次研究的两组患者术前15 min进行常规的放置胃管, 对照组患者在术后肛门排气之后便可拔除胃管, 观察组术后24 h内患者清醒之后便将其拔除. 两组的对象其余治疗均无任何的差异, 术前均积极的控制基础性疾病, 并做好充分的肠道准备工作, 术前30 min给予抗生素进行预防感染. 术后均给予抗感染和营养支持以及雾化吸入与伤口清洗等对症治疗. 同时, 积极的鼓励患者多翻身活动, 从而有效的促进胃肠的蠕动[2].

1.2.4 观察指标: 此次临床研究观察的指标: (1)肠鸣音恢复时间; (2)肛门排气恢复时间; (3)肛门排便时间; (4)术后住院时间; (5)术后并发症(主要包括术后切口感染、肺部感染、吻合口瘘、发热和咽喉炎等).

统计学处理 此次研究的数据资料均采取SPSS18.0的统计学软件进行数据分析与处理, 计量资料采取mean±SD进行表示, 独立样本采取*t*进行检验, 计数资料采取χ^2进行检验, *P*<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 两组肠鸣音恢复时间、肛门排气恢复时间和肛门排便时间以及术后住院时间比较 经过观察组和对照组患者术后肠鸣音恢复时间、肛门排气恢复时间和肛门排便时间以及术后住院时间比较, 观察组与对照组患者术后肠鸣音恢复时间、肛门排气恢复时间和肛门排便时间以及术后住院时间比较无明显的差异(*P*>0.05), 统计学无意义(表1).

2.2 两组术后并发症观察 通过对观察组和对照组患者术后并发症的观察, 观察组和对照组伤口感染、吻合口瘘发生率比较无明显的差异

■研发前沿
本次的临床研究就目前胃肠道手术中的关键性步骤进行分析, 而且临床中对于术后是否放置胃管一直以来存在争议, 并且不同的学者认为留置与不留置的重要性. 本次研究显示对于结直肠切除吻合术行胃肠减压治疗并不能达到预期的效果, 反而会增加相关并发症发生, 临床中应引起足够的重视.

■相关报道
临床研究显示, 部分的学者提出对于结直肠切除吻合术后不给予胃肠减压, 能够有效地降低相关并发症的发生. 本文研究就这一问题进行全面的了解, 从而得出结直肠切除吻合术行胃肠减压治疗并不能达到预期的效果, 反而会增加相关并发症发生, 且这一结论与临床中相关的报道吻合.

■创新盘点
本研究中重点阐述了结直肠切除吻合术行胃肠减压与不进行胃肠减压的效果比较相似, 并不能够达到理想的预期效果. 但是本研究中从其安全性分析, 了解术后行胃肠减压会增加相关并发症的发生, 客观的反应出结直肠切除吻合术行胃肠减压的可行性, 从而更好的引起术者的认识.

表 1 观察组和对照组患者术后肠鸣音恢复时间、肛门排气恢复时间和肛门排便时间以及术后住院时间比较 (n = 50, mean ± SD, d)

分组	肠鸣音恢复	肛门排便	肛门排气恢复	术后住院
观察组	1.9 ± 0.6	4.3 ± 1.6	3.0 ± 1.2	8.9 ± 2.1
对照组	2.0 ± 0.5	4.5 ± 1.3	3.1 ± 1.1	9.2 ± 2.0
t值	0.31	0.26	0.12	0.53
P值	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05

表 2 观察组和对照组患者术后并发症的观察 [n = 50, n(%)]

分组	伤口感染	吻合口瘘	肺部感染	发热	咽喉炎
观察组	1(2.0)	2(4.0)	1(2.0)	0(0.0)	1(2.0)
对照组	2(4.0)	3(6.0)	6(12.0)	5(10.0)	9(18.0)
χ^2	0.31	0.17	6.32	7.02	7.62
P值	>0.05	>0.05	<0.05	<0.05	<0.05

(P>0.05), 无统计学意义; 观察组发热、肺部感染和咽喉炎发生率明显的低于对照组发热、肺部感染和咽喉炎发生率(P<0.05)(表2).

3 讨论

结直肠切除吻合术是临床中常见的手术方法之一, 在临床中具有较高的应用效果, 胃肠减压是其中的一个重要治疗过程, 对促进患者术后胃肠功能恢复具有一定的作用[3]. 随着临床中人们对胃肠减压的了解, 部分的学者提出对于结直肠切除吻合术后不给予胃肠减压, 能够有效地降低相关并发症的发生[4].

通过本次的临床研究分析, 临床中结直肠切除吻合术后行胃肠减压治疗并不能达到预期的效果, 反而会增加相关并发症发生. 观察组与对照组患者术后肠鸣音恢复时间、肛门排气恢复时间和肛门排便时间以及术后住院时间比较无明显的差异(P>0.05), 无统计学意义. 由此分析, 对于结直肠切除吻合术后不进行胃肠减压处理并不会增加患者住院时间和延长术后胃肠功能恢复时间. 吻合口瘘和伤口感染是结直肠切除吻合术后常见并发症之一, 在临床中具有较高的发病率[5]. 传统的观念认为, 术后实施胃肠减压能够有效地减轻患者腹部压力, 降低吻合口的压力, 从而降低吻合口瘘的发生率[6]. 同时, 给予减轻伤口压力, 避免伤口的感染. 但是, 数据显示, 观察组和对照组伤口感染、吻合口瘘发生率比较无明显的差异(P>0.05). 可能是由于胃肠吻合口的压力并不能够因为胃肠减压而减低, 使得在实施和不实施效果并不是很明显[7-10]. 因此, 手术中应尽量的保留吻合肠段的良好血供与无张力, 可不给予实施胃肠减压处理[11,12]. 数据还显示, 观察组发热、肺部感染和咽喉炎发生率明显的低于对照组发热、肺部感染和咽喉炎发生率(P<0.05). 由此分析, 术后实施胃肠减压很容易增加发热、肺部感染和咽喉炎的并发症发生. 可能是由于胃管插管的过程中不顺利, 或者固定效果不好而导致上下活动, 很容易引起咽喉部的黏膜炎性水肿, 从而引发咽喉肿痛和咽喉炎的发生. 同时, 胃管置管后, 很容易影响患者的进食和进水, 使得痰液本来就比较黏稠, 加之咽喉部肿痛, 导致患者不敢用力咳嗽, 进一步增加恶性循环, 最终导致痰液在肺部积压, 大大的增加肺部感染的几率[13,14]. 另外, 放置胃管很容易促使喉部的黏液分泌过多, 使得吞咽反射感受器受到严重的影响, 加之恶心与呕吐的几率增加, 大大的增加肺部感染的风险. 进一步分析, 结直肠切除吻合术后不进行常规的留置胃肠管能够降低发热和肺部感染以及咽喉炎等并发症的发生, 更好地促进患者术后功能的恢复[15].

总之, 结直肠切除吻合术行胃肠减压治疗并不能达到预期的效果, 反而会增加相关并发症发生, 临床中应尽早地拔除胃管, 加快患者的快速康复, 降低相关并发症的发生.

■应用要点
该文章就目前结直肠切除吻合术的主流问题进行探讨, 从而临床实际意义的角度出发, 回顾了大量的临床资料, 进一步的了解结直肠切除吻合术行胃肠减压的可行性以及应用安全. 同时, 对以后术者的临床操作具有较好的指导意义, 进一步的规范手术操作.

4 参考文献

1 尹彪. 胃肠减压在下消化道切除吻合术后应用的必要性评价. 健康之路 2013; 12: 106
2 杨国光. 下消化道切除吻合术应用胃肠减压的临床研究. 中外医学研究 2011; 9: 32-33
3 丁杰, 廖国庆, 张忠民, 潘扬, 倪青, 王润华, 李东苗. 胃

切除术后留置胃肠减压必要性的Meta分析. 中华普通外科杂志 2011; 26: 659-663
4 陈钶, 牟一平, 徐晓武, 谢坤, 周伟. 胃癌根治术后常规留置胃管必要性的荟萃分析. 中华医学杂志 2012; 92: 1841-1844
5 Okada K, Fujisaki J, Kasuga A, Omae M, Hirasawa T, Ishiyama A, Inamori M, Chino A, Yamamoto Y, Tsuchida T, Nakajima A, Hoshino E, Igarashi M. Diagnosis of undifferentiated type early gastric cancers by magnification endoscopy with narrow-band imaging. *J Gastroenterol Hepatol* 2011; 26: 1262-1269 [PMID: 21443667 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2011.06730.x]
6 陈筱民. 胃肠减压在下消化道切除吻合术后应用的必要性评价及相关护理. 中国医学创新 2013; 11: 58-60
7 李靖, 王金桥. 下消化道切除吻合术后应否实施胃肠减压的探讨. 实用医学杂志 2006; 22: 1442-1443
8 Shim JH, Yoo HM, Lee HH, Kim JG, Jeon HM, Song KY, Park CH. Use of laparoscopy as an alternative to computed tomography (CT) and positron emission tomography (PET) scans for the detection of recurrence in patients with gastric cancer: a pilot study. *Surg Endosc* 2011; 25: 3338-3344 [PMID: 21533967 DOI: 10.1007/s00464-011-1722-1]
9 Spizzo G, Öfner D, de Vries A, Lukas P, Steger G, Pluschnig U, Zacherl J, Widder J, Zabernigg A, Gastl G, Mühlmann G. Preoperative chemotherapy with cisplatin and docetaxel followed by surgery and clip-oriented postoperative chemoradiation in patients with localized gastric or gastroesophageal junction adenocarcinoma: results from a phase II feasibility study. *Ann Surg Oncol* 2011; 18: 677-683 [PMID: 21063792 DOI: 10.1245/s10434-010-1388-2]
10 徐香军, 所荣增, 王晖, 甘建琛. 结直肠吻合术后胃肠减压疗效的临床观察. 天津医科大学学报 2012; 18: 120-122
11 宋娟, 牟文莲, 左君, 王群. 腹腔镜结直肠癌术后不行胃肠减压可行性分析. 中国局解手术学杂志 2011; 20: 676
12 侯立朝, 王海久, 樊海宁, 邓勇. 胃肠减压在择期结直肠癌术后有效性和安全性的Meta分析. 中国全科医学 2012; 15: 2071-2074
13 余强芳, 杨翔, 彭渝. 国内消化系统疾病术后胃肠减压必要性的Meta分析. 胃肠病学和肝病学杂志 2013; 22: 877-881
14 丁文俊, 崔龙. 全结直肠切除回肠储袋肛管吻合术治疗溃疡性结肠炎. 中华胃肠外科杂志 2013; 16: 694-695
15 高友福, 孙颢, 陈宏, 吴学勇, 姜波健. 术中肠腔减压在左半结肠癌肠梗阻一期切除吻合术中的临床应用. 结直肠肛门外科 2011; 17: 71-74

编辑 郭鹏 电编 都珍珍

■同行评价

本次研究科学性强, 且在临床实际应用中具有较强的应用价值. 整个文章从临床实际问题出发, 为同行提供更好的指导. 但是, 文章的研究量化指标相对少, 依然需要大量的临床研究而证实, 从而各个方面了解胃肠减压的效果及可行性.

世界华人消化杂志 2014年5月28日; 22(15): 2202-2207
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

结肠癌患者预后临床病理的多因素分析

张宝昕, 潘宏达, 高兆亚, 顾 晋, 赵 军

■背景资料
在判断结肠癌预后的众多因素中, 肿瘤的TNM分期为最重要的因素. 但是因为肿瘤的异质性和诸多临床病理学的预后因素尚未纳入评价系统中, 常常会导致临床病理分期相同的肿瘤预后与治疗效果大相径庭. 如何寻找出不良的预后因素, 可以结合TNM分期更加完善结肠癌患者预后的评价体系, 以便术前就能作出更准确判断, 采取更加积极的治疗策略和更严密的监测随访, 提高生存率及生活质量, 这是我们临床研究中亟待解决的问题.

张宝昕, 河北省沧州中西医结合医院 河北省沧州市 061001
潘宏达, 高兆亚, 顾晋, 赵军, 北京大学肿瘤医院 北京肿瘤医院暨北京市肿瘤防治研究所结直肠肿瘤外科 恶性肿瘤发病机制及转化研究教育部重点实验室 北京市 100142
作者贡献分布: 本课题由赵军设计; 资料标本收集及数据分析由张宝昕、潘宏达及高兆亚完成; 本论文写作由张宝昕完成; 修改及审校由顾晋与赵军完成.
通讯作者: 赵军, 副教授, 副主任医师, 100142, 北京市海淀区阜成路52号, 北京大学肿瘤医院结直肠肿瘤外科.
zhaojun1972@126.com
电话: 010-88196086
收稿日期: 2014-02-25 修回日期: 2014-03-26
接受日期: 2014-04-09 在线出版日期: 2014-05-28

Multivariate analysis of prognostic factors for patients with colon carcinoma

Bao-Xin Zhang, Hong-Da Pan, Zhao-Ya Gao, Jin Gu, Jun Zhao

Bao-Xin Zhang, Cangzhou Hospital of Integrated Traditional and Western Medicine, Cangzhou 061001, Hebei Province, China
Hong-Da Pan, Zhao-Ya Gao, Jin Gu, Jun Zhao, Key Laboratory of Carcinogenesis and Translational Research (Ministry of Education), Department of Colorectal Surgery, Peking University Cancer Hospital & Institute, Beijing Cancer Hospital, Beijing 100142, China
Correspondence to: Jun Zhao, Associate Professor, Associate Chief Physician, Department of Colorectal Surgery, Beijing Cancer Hospital, 52 Fucheng Road, Haidian District, Beijing 100142, China. zhaojun1972@126.com
Received: 2014-02-25 Revised: 2014-03-26
Accepted: 2014-04-09 Published online: 2014-05-28

Abstract

AIM: To investigate the prognostic factors for colon carcinoma by analyzing its clinical and pathological characteristics.

METHODS: We retrospectively reviewed the demographic, clinical, histopathological, and laboratory data for consecutive patients with colon cancer who underwent curative surgery alone from July 2007 to May 2010 at Peking University Cancer Hospital. Unvaried and multivariate analyses were conducted to identify prognostic factors for colon carcinoma.

RESULTS: A total of 226 valid cases were reviewed in this study, and their 3-year overall survival rate was 81.9%. Univariate analysis showed that preoperative CEA level > 5 ng/mL, poor differentiation, age < 40, blood transfusion, higher T stage, higher N stage, metastasis and lymphatic vessel invasion were poor prognostic factors for patients with colon cancer ($P < 0.05$). Multivariate analysis found that preoperative CEA level ($P = 0.017$), higher N stage ($P = 0.005$), poor differentiation ($P = 0.002$), and higher M stage ($P = 0.000$) were the independent prognostic factors for colon carcinoma.

CONCLUSION: Based on the prognostic risk factors such as preoperative CEA level, poor differentiation, higher N stage and metastasis, more accurate risk stratification can be conducted in patients with colon cancer. Patients with such risk factors should be considered as candidates for receiving more intensive treatment and surveillance.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Colon cancer; Prognosis; Multivariate analysis

Zhang BX, Pan HD, Gao ZY, Gu J, Zhao J. Multivariate analysis of prognostic factors for patients with colon carcinoma. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(15): 2202-2207 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2202.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2202

摘要

目的: 探讨影响结肠癌患者术后生存的临床病理因素.

方法: 回顾性分析2007-07/2010-05北京肿瘤医院结直肠外科手术治疗的结肠癌患者临床病理资料, 对可能影响患者生存的因素进行单因素和Cox多因素模型分析. 分析影响结肠癌预后的因素.

结果: (1)全部患者3年总生存率为81.9%; (2)单因素分析发现术前血清癌胚抗原(carcinoembryonic antigen, CEA)水平>5 ng/mL、肿瘤分化程度低、年龄<40岁、更高的T分期、N

■同行评议者
顾国利, 副主任医师, 空军总医院普通外科

分期、M分期、术中输血和脉管癌栓(P<0.05)是影响患者预后的因素; (3)多因素回归分析术前血清CEA水平(P = 0.017)、肿瘤分化程度(P = 0.002)、N分期(P = 0.005)M、分期(P = 0.000)是患者生存的独立预后危险因素.

结论: 根据术前血清CEA水平、肿瘤分化程度、更高N分期、有无远处转移可以对结肠癌具有预后不良因素的患者进行更准确的风险分层, 针对此类高危患者临床上应采取更积极的治疗以及术后更加密切的随访.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 结肠癌; 预后; 多因素分析

核心提示: 本研究明确淋巴结转移、远隔转移、术前血清癌胚抗原(carcino-embryonic antigen, CEA)水平>5 ng/mL、病理分化程度是接受根治性结肠癌术后的独立预后因素, 从而使我们在术前对结肠癌预后作出更准确判断, 采取更加积极的治疗策略, 术后更严密的监测随访, 提高生存率及生活质量.

张宝昕, 潘宏达, 高兆亚, 顾晋, 赵军. 结肠癌患者预后临床病理的多因素分析. 世界华人消化杂志 2014; 22(15): 2202-2207
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2202.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2202

0 引言

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)在世界范围内是常见的恶性肿瘤. 全球范围每年结直肠癌的新发病例及死亡病例数已位居恶性肿瘤的第3位, 每年结直肠癌的新发病例120万例, 死亡约60万例, 严重的危险人民的健康[1]. 在我国, 结直肠癌的发病率也逐渐上升[2]. 卫生部于2010年颁布了《结直肠癌诊疗指南》, 推广结直肠癌的综合诊治, 目前手术治疗仍是唯一根治手段. 虽然采取了积极的手术治疗手段, 但对术后患者的随访发现结肠癌与直肠癌的预后存在差异. 因此, 在临床实践中, 外科医生迫切需要明确影响结肠癌患者预后的临床病理因素, 从而采取针对性治疗. 我们对北京大学肿瘤医院结直肠外科2007-07/2010-05经治的、具备完整临床随访资料的226例患者进行回顾性分析. 探讨影响结肠癌患者生存预后的因素, 为结肠癌预后的判断、临床治疗决策的选择及提供依据.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2007-07/2010-05于北京大学肿瘤医院结直肠外科治的、具备完整临床随访资料的226例患者进行回顾分析. 226例患者中男女各113例, 中位年龄为63岁(28-89岁). 入组标准: (1)结肠原发性肿瘤; (2)有明确病理诊断; (3)术中完整切除肿瘤; (4)排除既往肿瘤病史; (5)排除家族性息肉病性结肠癌、遗传性非息肉病性结肠癌和克隆氏病、溃疡性结肠炎恶变; (6)排除同时性多原发肿瘤; (7)有完整的临床及随访资料.

1.2 方法

1.2.1 手术治疗: 所有患者都接受了开放的根治性结肠切除术, 符合目前所提倡的全结肠系膜切除的标准[3]. 手术采用吻合器进行肠道重建, 并常规手工加固和留置无负压吸引的引流管.

1.2.2 术后随访: 所有患者术后均按照NCCN结肠癌治疗指南进行随访: 患者术后2年内每3 mo随访, 3-5年每6 mo随访. 检查项目包括体检、血清癌胚抗原(carcinoembryonic antigen, CEA)、血常规及生化、胸片、腹盆腔CT或超声. 对于肿瘤局部复发或远隔转移的判断, 以影像学诊断为主. 随访时间1.8-44.9 mo, 中位随访时间25.3 mo. 其中失访12例, 随访率94.7%.

统计学处理 应用SPSS17.0软件进行统计分析. 以患者术后3年无病生存率作为观测指标, 按Kaplan-Meier法进行分析, 生存率的比较采用时序检验Log-rank法. 采用Backward: LR方式进行Cox回归多因素回归分析. P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 临床特点 226例患者中男女各113例(50.0%), 中位年龄为63岁(28-89岁). 术前存在贫血诊断者88例[女: 血红蛋白(hemoglobin, Hb)<110 g/L, 男: Hb<120 g/L]. 术前血清CEA升高者110例(48.7%). 肿瘤部位: 升结肠癌或横结肠癌99例, 左半结肠或乙状结肠癌127例. 病理检查提示中位淋巴结检出数量为18(4-56)枚, 共有86.3%的患者获取淋巴结数>12枚. 镜下诊断可见有39.8%(90/226)患者肿瘤分化不良, 25.7%(58/226)的患者存在脉管癌栓. 本组226例患者总的3年无病生存率为81.9%.

2.2 单因素分析 影响预后的指标有: 年龄、术中输血、术前血清CEA水平>5 ng/mL、肿瘤分化程度低、肿瘤侵犯深度、淋巴结转移、远处转移和脉管癌栓(P<0.05). 而性别、贫血、肿瘤部位、肿瘤大小、检出淋巴结数目、术前有

■研发前沿
全球范围每年结直肠癌的新发病例及死亡病例数已位居恶性肿瘤的第3位. 在我国, 结直肠癌的发病率也逐渐上升, 已越来越为人们所重视. 然而, 尽管采取了积极的治疗手段, 但患者的预后仍不尽如人意. 在临床实践中, 医生迫切需要了解影响结肠癌患者预后的病理因素, 从而做出更准确的判断及针对性治疗.

■相关报道
国内外多数报道表明：更高N分期、更高M分期、术前血清CEA水平、肿瘤直径≥5 cm、肿瘤侵犯深度、年龄、送检淋巴结总数、肿瘤根治度、脉管癌栓、围手术期输血等是结肠癌预后的独立危险因素，不同的研究结论略有不同.

表 1 226例结肠癌患者预后单因素分析

临床病理因素	n	3年生存率(%)	P值
性别			
男	113	81.4	0.891
女	113	82.3	
年龄(岁)			
≤40	10	70.0	0.041
40–65	108	88.0	
>65	108	76.9	
血清CEA(ng/mL)			
≤5	116	92.2	0.000
>5	110	70.9	
血红蛋白(g/L)			
女<110, 男<120	88	77.3	0.153
女≥110, 男≥120	138	84.8	
肿瘤部位			
右侧结肠	99	80.8	0.766
左侧结肠	127	82.7	
肿瘤分化			
高、中分化	136	87.5	0.004
低分化、黏液腺癌	90	73.3	
肿瘤直径(cm)			
<5	93	82.8	0.689
≥5	133	51.5	
T分期			
T1	6	100.0	0.010
T2	15	100.0	
T3	173	82.7	
T4	32	65.6	
N分期			
N0	111	92.8	0.000
N1	56	85.7	
N2	59	57.6	
M分期			
M0	216	84.7	0.000
M1	10	20.0	
淋巴结总数			
<12	20	85.0	0.736
≥12	206	81.6	
脉管癌栓			
无	167	87.4	0.000
有	58	65.5	
输血			
无	201	83.6	0.008
有	25	68.0	
体质量减轻			
有	69	81.2	0.820
无	157	82.2	

CEA: 癌胚抗原.

无体质量减轻等因素则未显示对预后有影响(P>0.05)(表1).

2.3 多因素分析 将临床病理学因素引入Cox比例风险模型进行多因素回归分析，采用Backward: LR方式计算. 发现术前血清CEA水平，肿瘤分化程度，淋巴结转移，远处转移是影响结肠癌预后的独立因素，而其余因素未能进入Cox多因素模型(表2，图1).

3 讨论

3.1 概述 在判断结肠癌预后的众多因素中，肿瘤的TNM分期为最重要的因素. 但是因为肿瘤的异质性和诸多临床病理学的预后因素尚未纳入评价系统中，常常会导致相同临床病理分期的肿瘤预后与治疗效果大相径庭. NCCN指南推荐对II期结肠癌伴有高危因素的患者可行术后辅助治疗. 我们从中获得启发，能否寻找出不良的预后因素，可以结合TNM分期更加完善结肠癌患者预后的评价体系，以便术前就能作出更准确判断，采取更加积极的治疗策略，术后更严密地监测随访，提高生存率及生活质量，这是我们临床研究中亟待解决的问题.

3.2 预后因素 本研究回顾性总结了262例结肠癌患者的临床病理资料，统计分析显示：淋巴结转移、远隔转移、术前CEA水平升高、肿瘤分化程度成为患者独立的预后因素.

3.2.1 淋巴结转移：美国癌症联合会(American Joint Committee on Cancer, AJCC)指南中II期和III期结肠癌的5年生存率分别为82.5%和59.5%，有明显差异，其根本区别在于有无转移淋巴结. 淋巴结转移代表了肿瘤在局部除了浸润深度外，向外扩张的程度，反映了肿瘤的生物学行为，可以代表恶性程度的高低，与生存密切相关[4,5]. 7版AJCC指南较6版引入N1c，新分期中对于N的精细分期也是基于淋巴结数目影响预后的新研究数据，并且反映了原发肿瘤淋巴引流区域有肿瘤种植的预后价值的研究数据，在相同的T分期下，N1a的患者的5年生存率较N1b患者高3%-10%. N2a患者5年生存率较N2b高5%-20%[6].

有研究[7,8]认为淋巴结检出数目是预测结直肠癌预后的重要因素. 5年生存率的比较中，获得淋巴结总数≤9枚的患者较获得淋巴结总数>27枚的II期结肠癌中低6.4%，在III期结肠癌患者中要低8.8%. 但统计学上未找到一个淋巴结数量的临界点，尽可能检查更多的淋巴结是有益的. 有不少学者在Swanson等[9]、Tsai等[10]及Vather等[11]研究的基础上找到了临界点，认为至少要检出个淋巴结总数要>13、18或16枚，才能

■同行评价
本文具有一定指导意义.

表 2 226例结肠癌患者预后的多因素分析

影响因素	回归系数(β)	标准误(SE)	Wald值	*P*值	相对危险度	95%可信区间
CEA数据化	0.943	0.395	5.705	0.017	2.568	1.184–5.569
病理分化	1.118	0.367	9.282	0.002	3.059	1.490–6.279
N分期	0.651	0.230	7.990	0.005	1.917	1.221–3.009
M分期	2.291	0.474	23.387	0.000	9.886	3.906–25.021

CEA: 癌胚抗原.

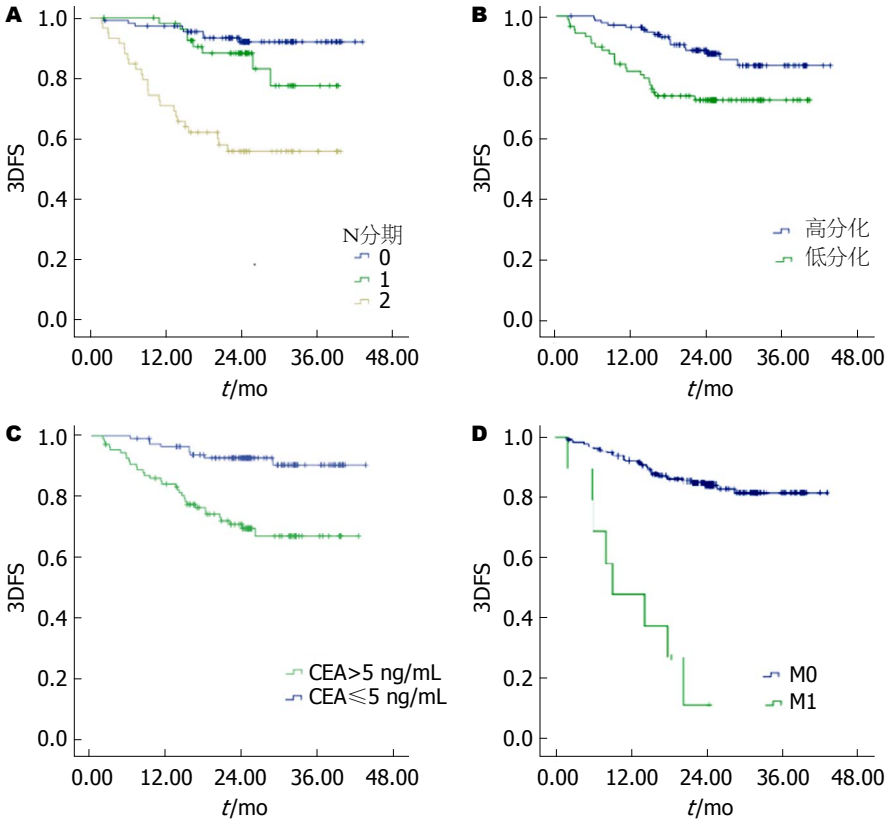


图 1 相关因素对患者3年无病生存率的影响. A: 淋巴结转移; B: 肿瘤分化程度; C: 术前CEA水平; D: 远处转移. CEA: 癌胚抗原.

对患者的淋巴结有无转移作出准确的判断. 同样AJCC指南中指出淋巴结数目不足12枚是Ⅱ期结直肠癌的高危因素. 这可能因为淋巴结检出数目不足导致临床分期被低估.

我们的研究显示更高的N分期是影响预后的主要因素(表1). 多因素分析显示, 更高的N分期也是影响预后的独立因素(表2). 这与一般认为淋巴结转移是影响结肠癌预后的独立因素的观点相符. 关于清扫淋巴结总数, 根据NCCN指南, 我们将12枚作为分界点, 未能发现淋巴结总数与预后相关.

3.2.2 病理分化程度: 一般认为病理类型是影响预后的重要因素, 肿瘤分化越差, 恶性程度越高, 局部侵袭和远处转移能力强, 预后越差[12,13]. O'Connell[5]比较Ⅱ、ⅢI、Ⅳ期结肠癌患者的预后, 发现低分化组的5年生存率明显低于高分化组, 有明显的统计学差异. 关于分化程度的界定, 有些研究提出四分法即: 高分化、中分化、低分化、未分化[14]. 亦有学者建议将病理分级简化为高分化(高分化+中分化)和低分化(低分化+未分化)两级, 以更有利于的判断预后[15]. 此外, 还有一些其他的研究认为, 黏液腺癌应当作为一种分化程度高但恶性程度高的特殊类型[16]. 本组病例将分化程度分为两级, 经多因素分析证实病理分化程度是影响预后的独立因素.

3.2.3 术前血清CEA水平: CEA水平在结直肠癌

患者的预后判断、疗效观察以及复发、转移的检测中具有重要临床意义[17,18]. 美国癌症协会和病理联合会推荐通过测定术前CEA水平来预测结直肠癌患者预后, 认为CEA是具有较大价值的判断指标之一, 可被当作对TNM系统的补充[19,20]. 许多的临床研究证实术前血清CEA水平是重要的预后指标, 并且独立于肿瘤的TNM分期和组织学分级[21]. 尽管存在不同意见[22]. 但大多数观点认为CEA是预测预后的重要指标. 相比其他手段, 术前测定血清CEA水平的测定简单、资料采集方便、操作无创、卫生经济学优势明显.本组病例资料结果显示: 术前CEA增高(≥5 ng/mL)的结肠癌患者术后3年的生存率明显低于CEA正常的患者.测定患者术前CEA水平, 对于在术前预测患者预后以及术后的随访具有重要意义.

3.2.4 远处转移: 有远处转移的患者, 从TNM分期来说属于Ⅳ期, 预后最差[4,23]. 日本的数据显示Ⅳ期5年生存率仅为14.3%, 显著低于Ⅲ期5年生存率62.1%-76.1%[24]. 对于转移灶普遍认为手术切除转移灶的患者生存获益明显增加, 并且转移灶的多少影响预后[24,25]. 本文显示远处转移是影响患者生存的非常显著的独立因素. 术前出现远处转移患者的生存率极差, 3年生存率仅为20.0%, 较无转移者84.7%有明显的统计学差异.

总之, 本研究回顾了226例结肠癌患者的临床病理学资料, 统计分析发现, 年龄、术中输血、术前血清CEA水平>5 ng/mL、肿瘤分化程度低、肿瘤侵犯深度、淋巴结转移、远隔转移和脉管癌栓与预后相关, 多因素分析提示: 淋巴结转移、远隔转移、术前血清CEA水平>5 ng/mL、病理分化程度是独立预后因素. 对于具有不良预后因素的患者我们建议术后行更积极的治疗并加强术后随访, 以减少术后复发转移的机会, 从而提高术后生存期及改善生存质量. 这些预测因素有待进一步的前瞻性研究证实.

4 参考文献

1 Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 69-90 [PMID: 21296855 DOI: 10.3322/caac.20107]

2 Li M, Gu J. Changing patterns of colorectal cancer in China over a period of 20 years. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 4685-4688 [PMID: 16094710]

3 Hohenberger W, Weber K, Matzel K, Papadopoulos T, Merkel S. Standardized surgery for colonic cancer: complete mesocolic excision and central ligation--technical notes and outcome. *Colorectal Dis* 2009; 11: 354-364; discussion 364-365 [PMID: 19016817]

4 Compton CC, Fielding LP, Burgart LJ, Conley B, Cooper HS, Hamilton SR, Hammond ME, Henson DE, Hutter RV, Nagle RB, Nielsen ML, Sargent DJ, Taylor CR, Welton M, Willett C. Prognostic factors in colorectal cancer. College of American Pathologists Consensus Statement 1999. *Arch Pathol Lab Med* 2000; 124: 979-994 [PMID: 10888773]

5 O'Connell JB, Maggard MA, Ko CY. Colon cancer survival rates with the new American Joint Committee on Cancer sixth edition staging. *J Natl Cancer Inst* 2004; 96: 1420-1425 [PMID: 15467030 DOI: 10.1093/jnci/djh275]

6 Gunderson LL, Jessup JM, Sargent DJ, Greene FL, Stewart A. Revised tumor and node categorization for rectal cancer based on surveillance, epidemiology, and end results and rectal pooled analysis outcomes. *J Clin Oncol* 2010; 28: 256-263 [PMID: 19949015 DOI: 10.1200/JCO.2009.23.9194]

7 Kotake K, Honjo S, Sugihara K, Hashiguchi Y, Kato T, Kodaira S, Muto T, Koyama Y. Number of lymph nodes retrieved is an important determinant of survival of patients with stage II and stage III colorectal cancer. *Jpn J Clin Oncol* 2012; 42: 29-35 [PMID: 22102737 DOI: 10.1093/jjco/hyr164]

8 Chang GJ, Rodriguez-Bigas MA, Skibber JM, Moyer VA. Lymph node evaluation and survival after curative resection of colon cancer: systematic review. *J Natl Cancer Inst* 2007; 99: 433-441 [PMID: 17374833 DOI: 10.1093/jnci/djk092]

9 Swanson RS, Compton CC, Stewart AK, Bland KI. The prognosis of T3N0 colon cancer is dependent on the number of lymph nodes examined. *Ann Surg Oncol* 2003; 10: 65-71 [PMID: 12513963]

10 Tsai HL, Lu CY, Hsieh JS, Wu DC, Jan CM, Chai CY, Chu KS, Chan HM, Wang JY. The prognostic significance of total lymph node harvest in patients with T2-4N0M0 colorectal cancer. *J Gastrointest Surg* 2007; 11: 660-665 [PMID: 17468927 DOI: 10.1007/s11605-007-0119-x]

11 Vather R, Sammour T, Kahokehr A, Connolly AB, Hill AG. Lymph node evaluation and long-term survival in Stage II and Stage III colon cancer: a national study. *Ann Surg Oncol* 2009; 16: 585-593 [PMID: 19116751 DOI: 10.1245/s10434-008-0265-8]

12 Oñate-Ocaña LF, Montesdeoca R, López-Graniel CM, Aiello-Crocifoglio V, Mondragón-Sánchez R, Cortina-Borja M, Herrera-Goepfert R, Oros-Ovalle C, Gallardo-Rincón D. Identification of patients with high-risk lymph node-negative colorectal cancer and potential benefit from adjuvant chemotherapy. *Jpn J Clin Oncol* 2004; 34: 323-328 [PMID: 15333684 DOI: 10.1093/jjco/hyh054]

13 Radespiel-Tröger M, Hohenberger W, Reingruber B. Improved prediction of recurrence after curative resection of colon carcinoma using tree-based risk stratification. *Cancer* 2004; 100: 958-967 [PMID: 14983491 DOI: 10.1002/cncr.20065]

14 André T, Sargent D, Tabernero J, O'Connell M, Buyse M, Sobrero A, Misset JL, Boni C, de Gramont A. Current issues in adjuvant treatment of stage II colon cancer. *Ann Surg Oncol* 2006; 13: 887-898 [PMID: 16614880 DOI: 10.1245/ASO.2006.07.003]

15 Treanor D, Quirke P. Pathology of colorectal cancer. *Clin Oncol* (R Coll Radiol) 2007; 19: 769-776 [PMID: 17950585 DOI: 10.1016/j.clon.2007.08.012]

16 Nozoe T, Anai H, Nasu S, Sugimachi K. Clinicopathological characteristics of mucinous carcinoma of the colon and rectum. *J Surg Oncol* 2000; 75: 103-107 [PMID: 11064389]
17 Kanellos I, Zacharakis E, Kanellos D, Pramateftakis MG, Tsahalis T, Altsitsiadis E, Betsis D. Prognostic significance of CEA levels and detection of CEA mRNA in draining venous blood in patients with colorectal cancer. *J Surg Oncol* 2006; 94: 3-8 [PMID: 16788936]
18 Kim SB, Fernandes LC, Saad SS, Matos D. Assessment of the value of preoperative serum levels of CA 242 and CEA in the staging and postoperative survival of colorectal adenocarcinoma patients. *Int J Biol Markers* 2003; 18: 182-187 [PMID: 14535588]
19 Compton C, Fenoglio-Preiser CM, Pettigrew N, Fielding LP. American Joint Committee on Cancer Prognostic Factors Consensus Conference: Colorectal Working Group. *Cancer* 2000; 88: 1739-1757 [PMID: 10738234]
20 Peng Y, Wang L, Gu J. Elevated preoperative carcinoembryonic antigen (CEA) and Ki67 is predictor of decreased survival in IIA stage colon cancer. *World J Surg* 2013; 37: 208-213 [PMID: 23052808 DOI: 10.1007/s00268-012-1814-7]
21 Reiter W, Stieber P, Reuter C, Nagel D, Lau-Werner U, Lamerz R. Multivariate analysis of the prognostic value of CEA and CA 19-9 serum levels in colorectal cancer. *Anticancer Res* 2000; 20: 5195-5198 [PMID: 11326694]
22 Wiggers T, Arends JW, Volovics A. Regression analysis of prognostic factors in colorectal cancer after curative resections. *Dis Colon Rectum* 1988; 31: 33-41 [PMID: 3366023]
23 Edge SB, Compton CC. The American Joint Committee on Cancer: the 7th edition of the AJCC cancer staging manual and the future of TNM. *Ann Surg Oncol* 2010; 17: 1471-1474 [PMID: 20180029 DOI: 10.1245/s10434-010-0985-4]
24 Watanabe T, Itabashi M, Shimada Y, Tanaka S, Ito Y, Ajioka Y, Hamaguchi T, Hyodo I, Igarashi M, Ishida H, Ishiguro M, Kanemitsu Y, Kokudo N, Muro K, Ochiai A, Oguchi M, Ohkura Y, Saito Y, Sakai Y, Ueno H, Yoshino T, Fujimori T, Koinuma N, Morita T, Nishimura G, Sakata Y, Takahashi K, Takiuchi H, Tsuruta O, Yamaguchi T, Yoshida M, Yamaguchi N, Kotake K, Sugihara K. Japanese Society for Cancer of the Colon and Rectum (JSCCR) guidelines 2010 for the treatment of colorectal cancer. *Int J Clin Oncol* 2012; 17: 1-29 [PMID: 22002491 DOI: 10.1007/s10147-011-0315-2]
25 Pfannschmidt J, Muley T, Hoffmann H, Dienemann H. Prognostic factors and survival after complete resection of pulmonary metastases from colorectal carcinoma: experiences in 167 patients. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2003; 126: 732-739 [PMID: 14502146]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年5月28日; 22(15): 2208-2212
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

经肛型肠梗阻减压管治疗结直肠癌梗阻

曹峰瑜, 吴 彪

■背景资料
我国结直肠癌发病率的不断增加, 而约7%-28%的患者的首发症状表现为完全或不完全性肠梗阻. 对于左半结肠和直肠癌导致梗阻的治疗, 目前多为急诊手术治疗, 行姑息性肿瘤切除、远端肠管封闭加近端造口术, 不仅需要二次手术, 而且围手术期并发症发生率及病死率较高.

曹峰瑜, 吴彪, 武汉市第一医院胃肠外科 湖北省武汉市 430022
曹峰瑜, 主要从事胃肠道肿瘤的防治及临床研究.
作者贡献分布: 临床资料整理、文章起草及数据分析由曹峰瑜完成; 课题设计、文章修改和审阅由吴彪完成.
通讯作者: 吴彪, 副教授, 副主任医师, 430022, 湖北省武汉市硚口区中山大道215号, 武汉市第一医院胃肠外科.
915766973@qq.com
收稿日期: 2014-03-05 修回日期: 2014-04-24
接受日期: 2014-04-28 在线出版日期: 2014-05-28

Transanal ileus tube decompression for treatment of bowel obstruction due to colorectal cancer

Feng-Yu Cao, Biao Wu

Feng-Yu Cao, Biao Wu, Department of Gastrointestinal Surgery, Wuhan No.1 Hospital, Wuhan 430022, Hubei Province, China
Correspondence to: Biao Wu, Associate Professor, Chief Physician, Department of Gastrointestinal Surgery, Wuhan No.1 Hospital, 215 Zhongshan Street, Qiaokou District, Wuhan 430022, Hubei Province, China. 915766973@qq.com
Received: 2014-03-05 Revised: 2014-04-24
Accepted: 2014-04-28 Published online: 2014-05-28

Abstract

AIM: To assess the clinical effect of transanal ileus tube decompression in the treatment of bowel obstruction due to colorectal cancer, and to analyze the differences between emergency surgery and elective surgery after transanal ileus tube decompression.

METHODS: Fifty-four patients with bowel obstruction due to colorectal cancer treated at our hospital between October 2009 and October 2012 were included, of whom 25 underwent transanal ileus tube decompression. After this treatment, 20 cases received first-stage resection and anastomosis. A case-control study was used to compare the rate of first-stage resection and anastomosis, perioperative recovery and complications rate between patients undergoing transanal ileus tube decompression (observation group) and those undergoing emergency surgery (control group).

RESULTS: In the observation group, 25 cases were successfully treated by transanal ileus tube decompression, of whom 20 underwent laparoscopic first-stage resection and anastomosis. The rate of first-stage anastomosis was significantly higher in the observation group than in the control group (80% *vs* 37.9%, $P < 0.05$). In the perioperative period, the differences in hospital stay and operative time between the two groups were not statistically significant. The amount of bleeding was less and the time to intestinal function recovery was shorter in the observation group. The number of resected lymph nodes in the observation group was significantly more than that in the control group. The overall incidence of complications in the observation group was significantly lower than that in the control group (12.0% *vs* 37.9%, $P < 0.05$).

CONCLUSION: Transanal ileus tube decompression can improve the rate of first-stage anastomosis and reduce perioperative morbidity and mortality in the treatment of bowel obstruction due to colorectal cancer.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Transanal ileus tube decompression; Colorectal cancer; Obstruction

Cao FY, Wu B. Transanal ileus tube decompression for treatment of bowel obstruction due to colorectal cancer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(15): 2208-2212 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2208.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2208

摘要

目的: 探讨经肛型肠梗阻减压管在结直肠癌性梗阻治疗中的临床应用, 并分析比较使用该方法后的择期手术与急诊手术的差异.

方法: 回顾性分析2009-10/2012-10我科收治的结直肠癌梗阻病例54例, 其中25例给予经肛型肠梗阻减压管治疗, 治疗后20例实施手术切除并一期吻合. 采用病例对照研究方法比较使用经肛型肠梗阻减压管治疗后择期手术组(观察

■同行评议者
茅爱武, 教授, 上海同仁医院介入中心

组)和急诊手术组(对照组)Ⅰ期手术率、围手术期恢复情况及并发症发生率.

结果: (1)观察组25例均一次性操作成功, 经准备后, 其中20例行腹腔镜肿瘤根治术并Ⅰ期吻合, Ⅰ期吻合率为80%, 与对照组的37.9%相比, 其差异有统计学意义; (2)围手术期, 两组住院天数和手术时间的差异均无统计学意义.观察组的术中出血量为296.00 mL±18.38 mL, 术后通气时间为67.60 h±3.72 h, 明显少于对照组的318 mL±22.01 mL和72.30 h±3.77 h, 其差异有统计学意义. 观察组淋巴结清扫数量明显多于对照组, 其差异有统计学意义; (3)观察组并发症总体发生率为12.0%, 明显低于对照组的37.9%, 其差异有统计学意义.

结论: 经肛型肠梗阻减压管治疗结直肠癌梗阻, 可以提高Ⅰ期吻合率, 降低围手术期并发症发生率和病死率.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 经肛型肠梗阻减压管; 结直肠癌; 肠梗阻

核心提示: 对于左半结肠及直肠癌性患者, 应用经肛型肠梗阻减压管, 具有以下优点: (1)可以引流、减压, 有效地缓解梗阻症状; (2)可以提高Ⅰ期吻合率; (3)可以降低围手术期并发症发生率及病死率.

曹峰瑜, 吴彪. 经肛型肠梗阻减压管治疗结直肠癌梗阻. 世界华人消化杂志 2014; 22(15): 2208-2212 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2208.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2208

0 引言

随着我国结直肠癌发病率的不断增加, 结直肠肿瘤所致的肠梗阻的病例也不断增加. 传统的治疗方法为急诊手术治疗, 行姑息性肿瘤切除、远端肠管封闭加近端造口术, 这不仅为患者增加二次手术的痛苦, 并且据报道, 急诊手术的术后30 d的病死率为14.9%, 而择期手术为5.8%[1,2]. 本研究通过病例对照的方式, 探讨经肛型肠梗阻减压管在缓解结直肠癌性梗阻及为择期手术做过渡的作用.

1 材料和方法

1.1 材料 选择2009-10/2012-10我科共收治左半结肠及直肠癌致肠梗阻患者54例, 其中25例做为观察组, 接受经肛型肠梗阻减压管治疗; 其中男14例, 女11例, 年龄23-78岁, 平均年龄54.7岁. 另29例做为对照组, 均行急诊手术治疗; 其中男17例, 女12例, 年龄34-81岁, 平均52.9岁. 所有患者均签署知情同意书, 详细记录每位患者的围手术期一般资料及术后并发症等临床资料. Create公司产经肛型肠梗阻减压导管配件、Olympus点子肠镜系统、数字X机、60%泛影葡胺等.

表 1 两组一般资料对比

	观察组	对照组	χ^2/t	*P*值
性别				
男	14	17	0.038	0.846
女	11	12		
年龄(岁)	54.7 ± 15.29	52.9 ± 13.35	0.028	0.782
肿瘤位置				
结肠	17	19	0.037	0.847
直肠	8	10		
组织学类型				
腺癌	20	22	0.133	0.715
黏液腺癌	5	7		

1.2 方法 清洁灌肠后, 给予肠镜检查.发现肿块的位置, 置入导丝越过梗阻的肿块, 通过导丝置入造影的导管, 透视确定梗阻的位置后, 保留造影导管退镜, 在导丝的引导下置入扩张器, 扩开狭窄部位后, 退出扩张器, 并置入肠梗阻减压管, 水囊内注入15 mL生理盐水, 以固定导管.接"Y"型接头, 观察引流效果, 并可用生理盐水或甲硝唑进行冲洗.

统计学处理 应用SPSS17.0软件包进行统计学处理, 计数资料使用χ^2检验或Fisher确切概率法进行数据分析, 计量资料使用*t*检验进行分析. *P*<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 减压管置入近期疗效 25例患者均一次性成功置入经肛型减压管, 减压管置入后, 其中21例随即有大量粪便及肠液排出, 患者腹痛、腹胀的不适随即得到缓解, 4例梗阻时间较长的患者2-3 d出现排气通便, 临床症状出现缓解.

2.2 两组一般资料及Ⅰ期手术率对比 两组病例在性别、年龄、肿瘤发生部位、术后组织学分型等方面差异均无统计学差异(表1). 观察组25例患者中, 20例经过精心准备后, 施行Ⅰ期于腹腔镜下施行根治性手术, 1例冰冻骨盆, 行姑息性造口术, 4例出现腹腔或远处转移, 症状缓解后, 转肿瘤科继续治疗. 因而观察组Ⅰ期手术率

■研发前沿

近年来, 有学者尝试进行术中结肠灌洗, 及金属支架对左半结肠及直肠癌性梗阻进行治疗, 然而两种方法均有一定的局限性. 因而我们使用经肛型肠梗阻减压管治疗左半结肠及直肠癌性梗阻, 对于使用经肛型肠梗阻减压管后, 手术时机、化疗及手术的选择, 仍是需要解决的问题.

■创新盘点
本文应用病例对照研究的方式, 比较了使用肠梗阻减压管组及急诊手术组的一期吻合率, 围手术并发症发生率等情况, 得出使用肠梗阻减压管组一期吻合率较高, 并发症较少等结论, 并分析了两组之间差别的相关原因.

表 2 两组Ⅰ期手术率对比

Ⅰ期手术	对照组	病例组	总计	χ^2值	*P*值
有	20	11	31	9.718	0.002
无	5	18	23		
总计	25	29	54		

为80%. 对照组的29例患者中, 其中26例患者急诊开腹手术, 11例经过经术中肠道灌洗后, 行Ⅰ期吻合术, 15例患者行肿瘤切除, 近端造口+远端暂时性封闭手术, 3例患者因出现冰冻骨盆, 行姑息性造口术. 对照组Ⅰ期吻合率为37.9%, 两组一期手术率比较有差异, 具有统计学意义(表2).

2.3 两组围手术期一般资料对比 观察组术中出血量、术后通气时间明显少于对照组, 而淋巴结清扫数量多于对照组, 两组间住院天数及手术时间差异, 无统计学意义(表3).

2.4 两组术后并发症对比 观察组发生切口感染1例, 肺部感染2例, 并发症发生率为12.0%; 对照组发生切口感染4例, 肺部感染3例, 吻合口瘘2例, 多器官功能障碍综合征(multiple organ dysfunction syndrome, MODS)1例, 腹腔感染1例, 并发症发生率为37.9%, 两组并发症发生率比较, 差异, 有统计学意义(表4).

3 讨论

目前对于治疗左半结肠癌和直肠癌导致的肠梗阻尚无统一的标准, 由于左半结肠和直肠导致的癌性梗阻常导致闭袢型肠梗阻, 病情发展快, 常导致严重的感染, 并伴有水、电解质及酸碱平衡的紊乱, 而且多数患者并发有基础疾病, 如肺部感染、高血压、糖尿病等, 导致较高的围手术期并发症发生率及病死率[3]. 由于梗阻, 导致近端肠管扩张、水肿明显, 切除后上下端肠管管径不同, 且供血不佳, 大部分学者认为行Ⅰ期吻合, 术后吻合口瘘的发生率较高, 因而应行分期手术[4]. 然而分期手术存在很多缺点: (1)两次手术给患者身体、心理造成两次伤害; (2)手术可能引起肿瘤的腹腔种植及远处转移, 使部分患者失去进行第二次手术的机会; (3)由于部分患者并发有基础疾病, 及梗阻导致的感染及水电解质紊乱等, 因需要行急诊手术, 而无法进行纠正和治疗, 再加上手术和麻醉的应激, 致围手术期并发症发生率及病死率较高. 因而, 左半结肠及直肠癌性梗阻的治疗, 需要考虑: (1)保证手术安全, 降低围手术期的并发症发生率及病死率; (2)符合肿瘤手术根治的原则, 提高患者术后5年的生存率[5].

鉴于分期手术的缺点, 及左半结肠及直肠癌性梗阻治疗的特殊性, 近年来, 部分学者尝试进行术中结肠灌洗及金属支架对左半结肠及直肠癌性梗阻进行治疗[6,7]. 然而, 此两种方法均有其局限性. 进行术中结肠灌洗, 要求大量液体在术中对结肠进行充分灌洗, 无疑会增加手术时间; 其次, 腹腔暴露时间增长, 导致腹腔感染的机会增加; 另外, 术中灌洗结肠并不能解决梗阻近端肠壁水肿, 上下端肠管口径不一, 因而并不能降低术后吻合口瘘的发生率[8,9]. 对于金属支架, 首先其造价较高; 其次由于结肠弯曲较多, 其操作难度较大, 即使成功放置, 由于易发生粪便堵塞及移位等并发症, 一定程度上限制了其使用[10,11].

本研究中, 对于左半结肠及直肠癌性梗阻患者, 我们使用经肛型肠梗阻减压管, 所有患者均一次性操作成功, 其中20例随即有大量粪便及肠液排出, 患者腹痛、腹胀的不适随即得到缓解, 4例梗阻时间较长的患者2-3 d出现排气通便, 临床症状出现缓解. 在患者一般情况好转后, 小剂量配合利尿剂, 适当予以液体负平衡, 减轻肠道水肿. 并在患者肠梗阻症状缓解的情况下, 控制感染, 纠正水、电解质及酸碱平衡紊乱, 积极治疗基础疾病, 待一般情况好转后, 再通过经肛型减压管进行肠道清洗, 使肠道达到Ⅰ期吻合的标准. 本组25例患者中, 有20例经过精心准备7 d左右后, 行腹腔镜下结直肠癌根治术, 全部进行Ⅰ期吻合, 术后未发生吻合口瘘、切口感染等术后并发症. Ⅰ期吻合率为80%. 而对照组Ⅰ期手术率为37.9%, 两组Ⅰ期吻合率比较, 观察组Ⅰ期吻合率明显高于对照组, 其差异有统计学意义. 因而, 对于左半结肠及直肠癌性梗阻患者, 给予经肛型肠梗阻减压管治疗后, 可以提高患者的Ⅰ期吻合率, 减少患者二次手术的痛苦.

本研究的观察组与对照组在围手术期, 其两组间住院天数及手术时间差异无统计学意义. 虽然观察组肠梗阻减压和肠道准备需要时间, 然而术后恢复较快, 围手术期并发症发生率较低, 因而总体上并不延长患者住院时间. 观察组的20例手术, 我们全部行腹腔镜下肿瘤根治术, 总体上不延长手术时间的情况下, 对患者机体损伤较小, 并且术中出血量明显小于对照组, 其差异亦均有统计学意义. 在两组淋巴结清扫数量的对比中, 观察组淋巴结清扫数量明显多于

表 3 两组围手术期一般资料对比 (mean ± SD)

一般资料	观察组	对照组	*t*值	*P*值
住院天数(d)	13.10 ± 1.60	14.30 ± 2.00	1.482	0.156
术中出血量(mL)	296.00 ± 18.38	318.00 ± 22.01	−2.426	0.026
手术时间(min)	223.50 ± 16.68	212.50 ± 19.04	1.374	0.186
术后通气时间(h)	67.60 ± 3.72	72.30 ± 3.77	−2.820	0.012
淋巴结清扫数量(个)	15.60 ± 2.50	12.40 ± 1.58	3.420	0.003

表 4 两组术后并发症对比

并发症	观察组	对照组	χ^2	*P*值
切口感染	1	4		
肺部感染	2	3		
吻合口瘘	0	2		
MODS	0	1		
腹腔感染	0	1		
并发症总数	3	11	4.701	0.030

对照组, 其原因可能为急诊手术时, 由于患者全身情况较差, 不能耐受精细的肿瘤根治术, 迫使医生尽量简化手术, 抢救患者生命. 然而经过经肛型减压管解除梗阻, 控制感染, 治疗基础疾病后, 使得患者可以耐受更为标准的肿瘤根治术.

在并发症发生方面, 对照组发生切口感染4例, 肺部感染3例, 吻合口瘘2例, MODS 1例, 腹腔感染1例 , 并发症发生率为37.9%.11例术中进行结肠灌洗的患者, 术后有2例发生了吻合口瘘, 1例切口感染, 因为在不解决肠壁水肿、管径不一的情况下, 即使进行术中灌洗, 术后吻合口瘘这一严重并发症的发生率也并没有降低, 相反术中灌洗增加了手术时间, 增加了腹腔感染的机率. 亦有报道[12], 急诊手术的并发症多见, 是由于严重感染所致的心肺功能障碍, 患者术后恢复延迟, 对照组中1例患者, 虽经手术解除了梗阻, 然而由于感染严重, 术后出现MODS, 抢救无效后死亡, 教训惨痛.而在观察组, 发生切口感染1例, 肺部感染2例, 无死亡病例, 其并发症发生率明显低于对照组. 造成两组术后并发症及病死率显著差异的原因可能为: (1)经过减压管减压后, 肠梗阻症状缓解, 肠道细菌移位所致菌血症得到纠正; (2)避免急诊手术后, 可以赢得时间, 以控制梗阻导致的感染, 调整水电解质及酸碱平衡的紊乱; (3)经有效治疗高血压、糖尿病、肺部感染等基础疾病后, 全身状况得到显著改善, 心肺功能增强, 免疫功能得到改善等.

总是, 对于左半结肠及直肠癌性梗阻的治疗, 经肛型肠梗阻减压管的应用, 可以提高Ⅰ期吻合率, 减少患者接受二次手术的痛苦; 为接受限期手术赢得时间, 经过准备后, 可以耐受更标准的肿瘤根治术; 并可以避免急诊手术, 降低围手术期并发症发生率和病死率. 有学者报道, 对于解除梗阻后的结直肠癌可先进行新辅助化疗[13], 然而我们仍然缺少这方面的经验, 对于手术、新辅助化疗的选择, 以及化疗后手术时机的选择是我们接下来将进行研究的方向.

■应用要点

对于左半结肠及直肠癌性患者, 有条件的单位可以使用经肛型肠梗阻减压管, 可以迅速缓解梗阻症状, 避免急诊手术后, 可以充分进行肠道准备, 在一般情况改善、肠壁水肿消除后, 行手术治疗, 可以降低围手术期并发症发生率.

4 参考文献

1 李明琦, 张博淼, 陈海鹏, 王锡山. 关于结直肠癌梗阻患者肠道吻合研究进展. 中华普外科手术学杂志(电子版) 2011; 5: 352-354

2 Morris EJ, Taylor EF, Thomas JD, Quirke P, Finan PJ, Coleman MP, Rachet B, Forman D. Thirty-day postoperative mortality after colorectal cancer surgery in England. *Gut* 2011; 60: 806-813 [PMID: 21486939 DOI: 10.1136/gut.2010.232181]

3 魏晓军, 梁振家, 李世拥, 陈光, 徐一石. 内支架置入后手术治疗结直肠癌梗阻围手术期疗效观察. 人民军医 2010; 53: 660-661

4 Pirlet IA, Slim K, Kwiatkowski F, Michot F, Millat BL. Emergency preoperative stenting versus surgery for acute left-sided malignant colonic obstruction: a multicenter randomized controlled trial. *Surg Endosc* 2011; 25: 1814-1821 [PMID: 21170659 DOI: 10.1007/s00464-010-1471-6.]

5 张祖案, 庄建良, 潘群雄, 黄子成, 朱聪辉. 金属内支架置入术在结直肠癌梗阻中的临床研究. 中外医疗 2010; 29: 51-53,55

6 Zheng C, Wu YL, Li Q. Preoperative intestinal stent decompression with primary laparoscopic surgery to treat left-sided colorectal cancer with obstruction: a report of 21 cases. *Cancer Biol Med* 2013; 10: 99-102 [PMID: 23882425 DOI: 10.7497/j.issn.2095-3941.2013.02.006]

7 王栋亭, 王学祥. 左半结肠癌并急性肠梗阻一期切除吻合术治疗体会. 结直肠肛门外科 2011; 17: 89-91

8 潘茂华. 左半结肠癌梗阻Ⅰ期消化道重建方式的选择. 结直肠肛门外科 2012; 18: 186-188

9 林锡汉, 庄丹, 袁炜嗣, 庄俊峰, 刘金炎. 术中结肠灌洗与常规手术在梗阻性左半结肠癌Ⅰ期吻合中应用的比较. 广东医学 2012; 33: 1458-1459

10 Lujan HJ, Barbosa G, Zeichen MS, Mata WN, Maciel V, Plasencia G, Hartmann RF, Viamonte M, Fogel R. Self-expanding metallic stents for palliation and as a bridge to minimally invasive surgery in colorectal

■同行评价
本文在提高Ⅰ期吻合率, 降低围手术期并发症发生率和病死率方面作出积极的探索, 具有一定的指导意义.

obstruction. *JSLS* 2013; 17: 204-211 [PMID: 23925013 DOI: 10.4293/108680813X13654754534990]
11 陈涛, 董乐, 刘懿. 结直肠支架的临床应用. 国际消化病杂志 2013; 33: 394-398
12 Baqué P, Chevallier P, Karimdjee Solihi F, Rahili MA, Iannelli A, Benizri EI, Bernard JL, Bereder JM, Oddo F, Padovani B, Gugenheim J, Benchimol D, Bourgeon A. [Colostomy vs self-expanding metallic stents: comparison of the two techniques in acute tumoral left colonic obstruction]. *Ann Chir* 2004; 129: 353-358 [PMID: 15297225]
13 Karoui M, Charachon A, Delbaldo C, Loriau J, Laurent A, Sobhani I, Tran Van Nhieu J, Delchier JC, Fagniez PL, Piedbois P, Cherqui D. Stents for palliation of obstructive metastatic colon cancer: impact on management and chemotherapy administration. *Arch Surg* 2007; 142: 619-623; discussion 623 [PMID: 17638798]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

• 消息 •

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

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

世界华人消化杂志 2014年5月28日; 22(15): 2213-2216
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

便通胶囊联合莫沙必利治疗老年痔患者术后便秘的临床疗效

韩 柯, 向 前

韩柯, 向前, 河南省南阳市中心医院肛肠科 河南省南阳市 473000
韩柯, 副主任医师, 主要从事中西医结合治疗肛肠疾病的研究.
作者贡献分布: 本研究设计由韩柯完成, 向前参与; 文章写作由韩柯完成.
通讯作者: 韩柯, 副主任医师, 473000, 河南省南阳市工农路312号, 河南省南阳市中心医院肛肠科. hankehanke@163.com
收稿日期: 2014-02-14 修回日期: 2014-03-30
接受日期: 2014-04-03 在线出版日期: 2014-05-28

Curative effect of Biantong capsules combined with mosapride in treatment of constipation after hemorrhoid surgery in elderly patients

Ke Han, Qian Xiang

Ke Han, Qian Xiang, Department of Proctology, Nanyang Central Hospital, Nanyang 473000, He'nan Province, China
Correspondence to: Ke Han, Associate Chief Physician, Department of Proctology, Nanyang Central Hospital, 312 Gongnong Road, Nanyang 473000, He'nan Province, China. hankehanke@163.com
Received: 2014-02-14 Revised: 2014-03-30
Accepted: 2014-04-03 Published online: 2014-05-28

Abstract

AIM: To assess the curative effect of Biantong capsules combined with mosapride in the treatment of constipation in elderly patients after hemorrhoid surgery.

METHODS: Seventy-eight elderly patients with constipation who had undergone hemorrhoid surgery at Nanyang Central Hospital were randomly divided into either an observation group or a control group (n = 39 for each). The observation group was treated with Biantong capsules plus mosapride, and the control group was treated with mosapride alone. The curative effect was compared between the two groups.

RESULTS: Two patients in the observation group developed loose stool, which was relieved after continued treatment. Six patients in the control group developed abdominal pain, which was resolved after enema administration. No liver function abnormalities were observed in either group. In the observation group, 26 (66.7%) cases were cured, 7 (17.9%) cases showed a significant response, 4 (10.3%) cases showed a partial response, and 2 (5.1%) cases showed no response; the corresponding figures in the control group were 17 (43.6%), 4 (10.3%), 10 (25.9%) and 8 (20.5%), respectively. The total response rate was significantly higher in the treatment group than in the control group (94.9% *vs* 79.5%, $P < 0.05$).

CONCLUSION: Biantong capsules combined with mosapride has a good curative effect in the treatment of constipation in elderly patients after hemorrhoid surgery.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Biantong capsules; Mosapride; Constipation; Hemorrhoids

Han K, Xiang Q. Curative effect of Biantong capsules combined with mosapride in treatment of constipation after hemorrhoid surgery in elderly patients. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(15): 2213-2216 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2213.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2213

摘要

目的: 探讨便通胶囊联合莫沙必利治疗老年痔患者术后便秘患者的临床疗效, 为临床治疗老年痔患者术后便秘提供参考.

方法: 收集河南省南阳市中心医院肛肠科收治的78例老年痔术后便秘患者, 随机分为观察组和对照组, 各39例, 观察组采用便通胶囊+莫沙必利治疗, 对照组采用莫沙必利治疗, 比较两组患者临床治疗效果. 观察组2例大便不成形, 坚持服用药物治疗后患者的临

■背景资料
老年人随着年龄增长, 大肠肌张力减低, 肠腺分泌减少等多种自身因素影响, 更易发生便秘, 表现为便意少, 次数减少及排便艰难、费力、不畅等. 痔术后便秘会引起伤口水肿、疼痛甚至是继发性大出血, 影响伤口正常生长愈口, 老年痔术后便秘还易造成其他并发症或后遗症, 诱发或加重冠心病、心力衰竭、脑梗塞等心脑血管疾病.

■同行评议者
王道荣, 主任医师, 江苏省苏北人民医院胃肠外科

床症状缓解; 对照组6例腹痛胀, 经过排便灌肠之后缓解. 两组的对象均无肝肾功能异常的情况.

结果: 观察组患者治疗痊愈26例(66.7%), 显效7例(17.9%), 有效4例(10.3%), 无效2例(5.1%), 总有效率94.9%; 对照组患者痊愈17例(43.6%), 显效4例(10.3%), 有效10例(25.9%), 无效8例(20.5%), 总有效率为79.5%, 差异具有统计学意义(P<0.05).

结论: 通便胶囊具有健脾益肾、润肠通便的作用, 莫沙必利能促进胃肠蠕动, 将两者联合用于治疗老年痔术后便秘取得良好的效果, 值得临床推广应用.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 便通胶囊; 莫沙必利; 便秘; 痔

核心提示: 本文采用通便胶囊联合莫沙必利治疗老年痔术后便秘39例患者, 痊愈率(66.7%)和总有效率(94.9%)均明显优于单纯使用莫沙必利治疗的患者的痊愈率(43.6%)和总有效率(79.5%), 中药可使脾胃气旺, 精血充盈, 大肠濡润, 西药见效快、缓解症状明显, 中西药结合, 发挥各自优势, 疗效确切, 有效减少或防止老年痔术后便秘的发生, 对疼痛、出血等症状也有改善作用, 很大程度提高了老年患者的生活质量, 值得临床推广应用.

韩柯, 向前. 便通胶囊联合莫沙必利治疗老年痔患者术后便秘的临床疗效. 世界华人消化杂志 2014; 22(15): 2213-2216
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2213.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2213

0 引言

痔是肛肠科常见多发疾病, 占所有肛肠疾病的40%-50%, 多需手术治疗. 由于手术时肛门正常结构受到损伤, 术后患者活动减少, 一定程度上影响肠道蠕动功能, 易导致发生便秘[1]. 老年人随着年龄增长, 大肠肌张力减低, 肠腺分泌减少等多种自身因素影响, 更易发生便秘[2], 表现为便意少, 次数减少及排便艰难、费力、不畅等. 痔术后便秘会引起伤口水肿、疼痛甚至是继发性大出血, 影响伤口正常生长, 老年痔术后便秘还易造成其他并发症或后遗症, 诱发或加重冠心病、心力衰竭、脑梗塞等心脑血管疾病. 目前便秘主要应用药物治疗, 本文采用中药便通胶囊联合莫沙必利治疗老年痔术后便秘患者, 取得良好的效果, 具体报道如下.

1 材料和方法

1.1 材料 收集2012-05/2013-09河南省南阳市中心医院肛肠科收治的痔术后便秘老年患者78例, 男41例, 女37例, 年龄最大80岁, 最小55岁, 平均年龄(62.4±5.6)岁, 病程1-30年不等, 平均病程19.2年±8.3年, 随机分为观察组(39例)和对照组(39例). 选择标准: (1)55岁以上的男女老年患者; (2)排便时间延长, 3 d以上1次, 粪便干燥坚硬; (3)重者大便艰难, 干燥如粟, 可伴有少腹胀急. 神疲乏力, 胃纳减退等. 排除标准: (1)混合痔同时合并肛瘘、肛周脓肿、肛裂等其他肛肠疾病患者; (2)伴有严重血液系统、心脑血管及心肝肾等疾病不能耐受手术患者, 身体其他脏器病变引起者如: 尿毒症、糖尿病、甲状腺功能低下等; (3)合并有不明原因腹痛及肠梗阻等用药禁忌. 两组在性别、年龄、病程等方面均无显著差异(P>0.05).

1.2 方法

1.2.1 治疗: 观察组口服便通胶囊(国药准字: Z19990071, 武汉健民药业集团股份有限公司生产), 3粒/次, 2次/d, 同时服用莫沙必利(国药准字: H20031110, 成都康弘药业集团股份有限公司生产), 5 mg/次, 2次/d; 对照组服用莫沙必利, 5 mg/次, 2次/d, 疗程为10 d, 所有患者术后均常规换药、抗感染及对症治疗, 不服用其他通便药物, 观察和记录患者药物治疗后排便情况, 比较两组临床治疗效果.

1.2.2 疗效判定: (1)痊愈: 患者大便正常, 排便间隔<2 d, 与排便困难相关的临床症状基本消失, 3 mo内无复发; (2)显效: 患者便秘明显改善, 排便顺畅, 与排便困难相关的临床症状消失70%以上; (3)有效: 患者排便略顺畅, 排便间隔2-3 d, 与排便困难相关的临床症状消失减少; (4)无效: 临床症状无改善甚至加重.

统计学处理 研究中所得到的相关数据采用SPSS12.0统计学数据处理软件进行处理分析, 各项参数以mean±SD表示, 采用t和χ^2检验, P<0.05为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 临床疗效 观察组患者痊愈26例(66.7%), 显效7例(17.9%), 有效4例(10.3%), 无效2例(5.1%), 总有效率94.9%; 对照组痊17例(43.6%), 显效4例(10.3%), 有效10例(25.9%), 无效8例(20.5%), 总有效率为79.5%, 两组对比有显著差异, 具有统计学意义(P<0.05)(表1).

■研发前沿
大便干结或用力排便会使部分愈合的伤口裂开导致延期愈合, 加重伤口出血和疼痛, 直接影响手术效果和预后, 降低患者生活质量, 若能及时采取有效合理治疗, 减轻患者身心痛苦, 还能预防种种不良情况的发生.

■相关报道
中医认为, 便秘是由于脏腑功能紊乱, 脾胃运化失司, 属于“燥秘”、“虚秘”、“气秘”范畴, 为大肠传导功能失常所致. 糟粕内停, 或热伤津, 津液不足而不能下润大肠, 致使大肠干结; 或气血两虚, 大肠传导无能.

表 1 观察组和对照组治疗后效果比较 [n = 39, n(%)]

分组	痊愈	显效	有效	无效	总有效率(%)
观察组	26(66.7)	7/17.9	4/10.3	2/5.1	94.9
对照组	17/43.6	4/10.3	10/25.6	8/20.5	79.5
χ^2	4.19	0.95	3.13	4.13	9.81
P值	<0.05	>0.05	>0.05	<0.05	<0.05

2.2 不良反应 观察组2例大便不成形, 坚持服用药物治疗后患者的临床症状缓解; 对照组6例腹痛胀, 经过排便灌肠之后缓解. 两组的对象均无肝肾功能异常的情况.

3 讨论

便秘是痔疮患者术后常见并发症之一, 临床表现为大便量过少、过硬、排除困难或合并一些特殊症状, 如长时间用力排便, 直肠胀感、排便不尽, 在不使用泻药的情况下, 7 d内自发排空粪便不超过2次或长期无便意, 其发生会使患者感到焦虑不安, 长期便秘会引起老年人食欲不振、失眠多梦、情绪起伏大等[3,4]. 大便干结或用力排便会使部分愈合的伤口裂开导致延期愈合, 加重伤口出血和疼痛, 直接影响手术效果和预后, 降低患者生活质量, 若能及时采取有效合理治疗, 减轻患者身心痛苦, 还能预防种种不良情况的发生.

中医认为, 便秘是由于脏腑功能紊乱, 脾胃运化失司, 属于“燥秘”、“虚秘”、“气秘”范畴, 为大肠传导功能失常所致. 糟粕内停, 或热伤津, 津液不足而不能下润大肠, 致使大肠干结; 或气血两虚, 大肠传导无能[5,6]. 痔疮手术后发生便秘主要有几个方面因素: 痔疮术后患者切口疼痛, 患者不敢用力或用力排便切口张力增加, 疼痛加重, 患者有意识地抑制正常排便; 切口疼痛、出血, 患者担心切口感染愈合而产生紧张、焦虑、恐惧等情绪, 引起交感神经兴奋, 减弱胃肠蠕动, 导致食欲不振与便秘; 心理障碍尤其是焦虑可导致盆底肌群紧张, 引起排便时肛门直肠运动异常, 导致便秘; 痔疮手术后患者体力不足、疼痛、出血等, 使患者行动不便或不愿下床活动, 减少肠蠕动导致便秘; 术后排便体位改变不能利用重力和腹内压促进排便; 患者进食量较少, 对肠胃道的刺激相对也降低, 很容易出现结肠反射和肠蠕动减慢的症状, 肠内容物在肠腔内运动缓慢, 水分被过分吸收而使粪便干结, 食物过于精细, 纤维含量少也不能刺激正常肠蠕动; 患者缺乏疾病的相关知识, 对术后能否排便, 便后对伤口的处理的知识缺乏而不敢排便.

老年人由于膈肌、腹肌、平滑肌等收缩力普遍下降, 结肠和直肠蠕动减弱, 缺乏排便动力, 粪便传输缓慢; 唾液腺、胰腺和胃肠道的消化酶随年龄增长而减少, 导致小肠对营养的吸收, 老年人因脑神经细胞、肠肌间神经丛与黏膜下神经丛减少与变性, 导致排便反射及敏感性降低等多种因素, 更易发生便秘. 中医治疗以滋补脾胃、补气生津为主. 以调节自身机能为原则, 标本兼治. 对于便秘患者来说, 应当避免用单纯的泻药, 久泄必伤脾胃, 应尽量使用润下、缓泻的中药方剂[7,8]. 通便胶囊由白术、肉苁蓉、当归、桑葚、枳实、芦荟组成, 炒白术健脾, 肉苁蓉填精补肾, 润肠, 当归养血活血调肝, 除大肠风燥, 用桑葚滋肝肾、生精血[9,10].

莫沙必利是促胃肠道动力药, 选择性作用于胆碱能神经节后纤维的5-羟色胺受体, 促进乙酰胆碱的释放, 从而促进消化道平滑肌运动, 恢复或增强肠道推进性运动, 利于大便排出体外[11,12]. 莫沙必利能缩短结肠转运时间, 降低肛门外括约肌抑制松弛阈值和清醒状态下直肠敏感性阈值[13-15].

本文采用通便胶囊联合莫沙必利治疗老年痔术后便秘39例患者, 痊愈率(66.7%)和总有效率(94.9%)均明显优于单纯使用莫沙必利治疗的患者的痊愈率43.6%)和总有效率(79.5%), 中药可使脾胃气旺, 精血充盈, 大肠濡润, 西药见效快、缓解症状明显, 中西药结合, 发挥各自优势, 疗效确切, 有效减少或防止老年痔术后便秘的发生, 对疼痛、出血等症状也有改善作用, 很大程度提高了老年患者的生活质量, 值得临床推广应用.

■应用要点
莫沙必利是促胃肠道动力药, 选择性作用于胆碱能神经节后纤维的5-羟色胺受体, 促进乙酰胆碱的释放, 从而促进消化道平滑肌运动, 恢复或增强肠道推进性运动, 利于大便排出体外.

4 参考文献

1 孙丽英. 120例老年习惯性便秘患者痔术后护理的临床体会. 福建中医药 2010; 41: 59-60
2 张小平. 便秘通胶囊治疗老年性习惯性便秘临床观察. 湖北中医药大学学报 2013; 15: 57

■同行评价
本研究有一定可参考价值, 但是创新性一般, 望后续深入研究.

3 潘琼, 张雅丽. 肛肠科良性疾病手术后便秘的护理进展. 护理研究 2013; 27: 2952-2954
4 魏巍. 老年性便秘的中医药治疗与预防. 现代医药卫生 2013; 29: 3354-3355
5 夏小琴. 莫沙必利治疗198例老年性便秘的临床效果探究. 健康必读(中旬刊) 2013; 12: 279-280
6 齐中普. 莫沙必利联合甘露醇对便秘患者行结肠镜检查前肠道的清洁效果. 中国全科医学 2009; 12: 808-809
7 张喻. 清肠合剂治疗肛肠疾病术后便秘的临床疗效观察. 中国临床护理 2011; 3: 21-23
8 Sim YL, Yusof NS, Ariffin A, Niyaz Khan M. Effects of nonionic micelles on the rate of alkaline hydrolysis of N-(2'-methoxyphenyl)phthalimide (1): kinetic and rheometric evidence for a transition from spherical to rodlike micelles under the typical reaction conditions. *J Colloid Interface Sci* 2011; 360: 182-188 [PMID: 21549387 DOI: 10.1016/j.jcis.2011.04.021]
9 Yik YI, Cain TM, Tudball CF, Cook DJ, Southwell BR, Hutson JM. Nuclear transit studies of patients with intractable chronic constipation reveal a subgroup with rapid proximal colonic transit. *J Pediatr Surg* 2011; 46: 1406-1411 [PMID: 21763843 DOI: 10.1016/j.jpedsurg.2011.02.049]
10 Holzer P. Non-analgesic effects of opioids: management of opioid-induced constipation by peripheral opioid receptor antagonists: prevention or withdrawal? *Curr Pharm Des* 2012; 18: 6010-6020 [PMID: 22747544 DOI: 10.2174/138161212803582388]
11 戎艳莉, 王坤, 郭光丽, 梁红. 混合痔术后便秘的中西医结合护理干预. 河北中医 2013; 35: 1078-1079
12 田玉霞. 便秘患者108例临床分析. 吉林医学 2012; 33: 2598-2599
13 张永祺. 关于老年人便秘中西医治疗进展. 中国保健营养 2012; 22: 605-606
14 张耕, 张春冬. 活血润燥汤治疗功能性便秘61例疗效观察. 河北中医 2013; 35: 1142-1143
15 陈爱霞, 张磊, 李静君. 加味一贯煎治疗结肠慢传输型便秘60例临床观察. 河北中医 2011; 33: 854-855

编辑 郭鹏 电编 都珍珍

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费

本刊讯 为了方便作者来稿, 保证稿件尽快公平、公正的处理, 《世界华人消化杂志》编辑部研究决定, 从2011年开始对所有来稿不再收取审稿费. 审稿周期及发表周期不变. (《世界华人消化杂志》编辑部)

世界华人消化杂志 2014年5月28日; 22(15): 2217-2220
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

幽门螺杆菌阳性消化性溃疡的治疗及护理效果

俞惠敏, 诸景辉

俞惠敏, 诸景辉, 余姚市第二人民医院 浙江省余姚市 315400
俞惠敏, 主要从事消化内科方面的研究.
作者贡献分布: 俞惠敏设计实验, 书写论文; 诸景辉收集数据.
通讯作者: 诸景辉, 副主任医师, 315400, 浙江省余姚市梨洲街道学弄49号, 余姚市第二人民医院. zsf16752111@126.com
电话: 18905847818
收稿日期: 2014-02-24 修回日期: 2014-04-01
接受日期: 2014-04-04 在线出版日期: 2014-05-28

Therapeutic and nursing effects of *Helicobacter pylori* positive peptic ulcer

Hui-Min Yu, Jing-Hui Zhu

Hui-Min Yu, Jing-Hui Zhu, the Second Hospital of Yuyao City, Yuyao 315400, Zhejiang Province, China
Correspondence to: Jing-Hui Zhu, Associate Chief Physician, the Second Hospital of Yuyao City, 49 Lizhou Street, Yuyao 315400, Zhejiang Province, China. zsf16752111@126.com
Received: 2014-02-24 Revised: 2014-04-01
Accepted: 2014-04-04 Published online: 2014-05-28

Abstract

AIM: To investigate the therapeutic effect of quadruple therapy and comprehensive nursing care for *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) positive peptic ulcer.

METHODS: One hundred and ninety-eight patients with *H. pylori* positive peptic ulcer treated at our hospital from March 2012 to December 2013 were randomly divided into two groups: an observation group (n = 99) and a control group (n = 99). The observation group was treated with the quadruple therapy (citrate bismuth potassium + amoxicillin + clarithromycin + esomeprazole) and given comprehensive nursing care, while the control group received the triple therapy (amoxicillin + clarithromycin + esomeprazole) and routine nursing care. The treatment lasted two weeks. After treatment, endoscopy was performed to observe therapeutic and nursing effects.

RESULTS: In the observation group, 28 (28.3%) patients were cured, 60 (60.1%) had significant response 5 (5.1%) had partial response, 6 (6.1%) showed no response, and the total response rate was 93.9%, and the corresponding values in the control group were 16 (16.2%), 42 (42.4%), 15 (15.1%), 26 (26.3%) and 73. 4%, respectively. The treatment effect was significantly different between the two groups (P < 0.05). At the end of treatment, 89 patients in the observation group were *H. pylori* negative, and the rate of *H. pylori* eradication was 89.9%, while in the control group, 62 were *H. pylori* negative, and the rate of *H. pylori* eradication was 62.6%. There was a significant difference between the two groups in the rate of *H. pylori* eradication (P < 0.05).

CONCLUSION: Quadruple therapy combined with comprehensive nursing care can effectively eradicate *H. pylori* and show a good therapeutic effect in the treatment of *H. pylori*-positive peptic ulcer.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: *Helicobacter pylori*; Peptic ulcer; Comprehensive nursing care

Yu HM, Zhu JH. Therapeutic and nursing effects of Helicobacter pylori positive peptic ulcer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(15): 2217-2220 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2217.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2217

摘要

目的: 探讨幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)阳性消化性溃疡采用四联疗法治疗及给予综合系统护理的临床疗效.

方法: 收集余姚市第二人民医院2012-03/2013-10收治的198例*H. pylori*阳性消化性溃疡患者, 随机分为两组, 观察组99例, 对照组99例, 观察组采用对枸橼酸铋钾+阿莫西林+克拉霉素+埃索美拉唑四联治疗及给予综合系统护理, 疗程为2 wk, 对照组采取阿莫西林+克拉霉素+埃索美拉唑三联治疗及一般常规护理, 治疗结束复查胃镜, 观察两组患者治疗及护理效果.

■背景资料
消化性溃疡主要指发生在胃和十二指肠的慢性溃疡, 多项研究证实幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染与慢性胃炎、消化性溃疡、胃癌等胃黏膜相关性疾病有关, 是消化性溃疡发病和复发的主要原因之一. 临床中常常采取三联法或者四联法进行治疗, 但是经过内科治疗后多数的患者对病情发展的严重性缺乏认识, 因此治疗中加强针对性的护理是很有必要的.

■同行评议者
江学良, 教授, 主任医师, 中国人民解放军济南军区总医院消化科

结果: 观察组治疗痊愈28例(28.3%), 显效60例(60.1%), 有效5例(5.1%), 无效6例(6.1%), 总有效率93.9%, 对照组治疗后痊愈16例(16.2%), 显效42例(42.4%), 有效15例(15.1%), 无效26例(26.3%), 总有效率73.4%, 治疗效果有显著差异(P<0.05); 治疗结束后4 wk观察组*H. pylori*阴性89例, *H. pylori*根除率为89.9%, 对照组*H. pylori*阴性62例, *H. pylori*根除率为(62.6%), 有显著差异, 具有统计学意义(P<0.05).

结论: 应用四联疗法治疗配合综合系统的护理*H. pylori*患者, 能有效根除*H. pylori*, 对治疗*H. pylori*阳性消化性溃疡患者有良好的治疗效果, 值得临床推广应用.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 幽门螺杆菌; 消化性溃疡; 综合系统护理

核心提示: 根除幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染是治疗消化性溃疡的关键, 四联疗法治疗*H. pylori*阳性消化性溃疡患者, 联合综合系统护理, 临床疗效确切, 且提高治愈率和*H. pylori*的消除率, 整体方法科学性强, 值得临床中应用.

俞惠敏, 诸景辉. 幽门螺杆菌阳性消化性溃疡的治疗及护理效果. 世界华人消化杂志 2014; 22(15): 2217-2220 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2217.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i15.2217

0 引言

消化性溃疡主要指发生在胃和十二指肠的慢性溃疡, 是消化系统的一种常见多发病, 我国的发病率为10%-20%, 患者有周期性上腹部疼痛、反酸、嗳气等症状, 易反复发作[1]. 幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)是一种生活在上消化道的螺旋状细菌, 多项研究证实*H. pylori*感染与慢性胃炎、消化性溃疡、胃癌等胃黏膜相关性疾病有关, 是消化性溃疡发病和复发的主要原因之一[2-4]. 典型的消化性溃疡具有慢性过程、周期性发作、节律性疼痛等特点, 经过内科治疗后腹痛、反酸、嗳气等症状短时间能得到控制, 患者对病情发展的严重性缺乏认识, 无护理干预下容易中断治疗, 病情反复[5]. 本文对我院收治的*H. pylori*阳性消化性溃疡患者应用四联疗法并配合综合系统的护理, 获得比较满意的治疗及护理效果, 具体报告如下.

1 材料和方法

1.1 材料 收集我院2012-03/2013-10收治的*H. pylori*阳性消化性溃疡患者198例, 男146例, 女52例. 年龄最大65岁, 最小19岁, 平均年龄为37.6岁±9.2岁, 病程3 mo-14年不等, 其中十二指肠溃疡109例, 胃溃疡73例, 复合性溃疡16例, 所有患者均经过胃镜诊断为活动期溃疡, 并作^{14}C尿素呼吸实验检查为*H. pylori*阳性. 排除标准: 长期、严重、年龄较大患者; 有大出血或穿孔倾向患者; 瘢痕收缩梗阻、有癌变倾向的消化性溃疡患者. 随机分为观察组(99例)和对照组(99例), 两组在性别、年龄、溃疡类型等方面均无显著差异, 不具有统计学意义(P>0.05)(表1).

1.2 方法

1.2.1 治疗: 对照组: 对患者给予口服阿莫西林500 mg, 克拉霉素250 mg, 埃索美拉唑20 mg, 观察组: 对患者给予口服枸橼酸铋钾120 mg, 阿莫西林500 mg, 埃索美拉唑20 mg, 克拉霉素250 mg, 2次/d, 抗生素服药时间为每天午餐和晚餐后30 min, 埃索美拉唑服药时间为早餐前和睡前, 疗程为2 wk.

1.2.2 综合系统护理: (1)按消化系统疾病一般护理给予常规护理, 急性发作、疼痛或伴有胃肠道出血患者应卧床休息, 病情稳定后可适当活动. 饮食以清淡为主, 忌食坚硬、辛辣、生冷、油煎等刺激性食物, 高纤维素饮食存在一种脂溶性保护因子具有防止溃疡复发的作用, 鼓励多食. 少吃多餐, 避免饥饿或过饱. 患者疼痛发作时可用热水袋敷在胃部, 减轻痉挛、腹痛, 采取转移注意力的方式减轻患者的疼痛感; (2)在临床治疗中, 护士应常与患者接触交谈, 观察其心理变化, 对其说明溃疡病知识及治疗效果, 增强患者对治疗的信心; (3)对患者积极进行卫生宣传教育, 注意家庭内感染, 做好餐具的消毒, 培养规律的生活方式和良好的饮食习惯, 注意保暖, 避免过度劳累、睡眠不足和精神紧张, 忌烟酒. 嘱患者禁止使用致溃疡病药物如阿司匹林、咖啡因、非甾体药物等, 以防溃疡出血. 指导患者按疗程服药, 坚持治疗, 以达到彻底根治的目的. 指导患者正确用药并观察药物药效和不良反应, 不随便停药, 嘱患者停药4 wk后复查, 出血急性发作、疼痛或出现呕血、黑便应立即来院就医.

1.2.3 疗效判定: 复查胃镜检查, 痊愈: 溃疡愈合, 周围炎症消失; 显效: 溃疡愈合, 周围炎症存在; 有效: 为溃疡缩50%以上; 无效: 溃疡大小无变化. *H. pylori*根除标准为药物治疗结束后的4 wk

■研发前沿
本研究中重点分析临床中*H. pylori*阳性消化性溃疡采用四联疗法治疗治疗的安全性和临床疗效. 同时, 在患者的临床治疗过程中加强综合系统法的护理, 从而提高患者对疾病的认识, 更能够注意治疗中的问题, 且采取的治疗方法是临床中比较流行性的治疗方式.

■相关报道
随着临床中人们对*H. pylori*阳性消化性溃疡的不断认识, 传统的治疗中常常采取三联法, 但是不良反应比较多. 而四联法逐渐的得到临床中应用, 并且取得了多数人的认可. 本研究也采取比较流行的四联法进行治疗, 并且治疗中加强综合性系统护理, 从而大大提高整体治疗效果.

表 1 观察组和对照组一般资料比较 (n = 99)

一般资料	观察组	对照组	χ^2	P值
男/女	74/25	72/27	0.10	>0.05
平均年龄(岁)	38.9 ± 7.5	37.1 ± 10.7	1.37	>0.05
溃疡类型				
胃溃疡	39	34	0.54	>0. 05
十二指肠溃疡	53	56	0.18	>0. 05
复合性溃疡	7	9	0.27	>0. 05

表 2 观察组和对照组*H. pylori*阳性消化性溃疡患者治疗及护理效果对比 (n = 99)

分组	治愈	显效	有效	无效	总有效率(%)	*H. pylori*阴性	*H. pylori*根除率(%)
观察组	28	60	5	6	93.9	89	89.9%
对照组	16	42	15	26	73.4	62	62.6%
χ^2值	4.27	6.56	5.56	14.91	15.37	20.3	20.58
P值	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

H. pylori: 幽门螺杆菌.

复查^{14}C尿素呼气试验为阴性.

统计学处理 将所得数据进行SPSS19.0的统计学软件进行数据分析, 计量数据使用χ^2进行检验, P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

观察组治疗痊愈28例(28.3%), 显效60例(60.1%), 有效5例(5.1%), 无效6例(6.1%), 总有效率93.9%, 对照组治疗后痊愈16例(16.2%), 显效42例(42.4%), 有效15例(15.1%), 无效26例(26.3%), 总有效率73.4%, 治疗效果有显著差异(P<0.05); 治疗结束后4 wk观察组*H. pylori*阴性89例, *H. pylori*根除率为89.9%, 对照组*H. pylori*阴性62例, *H. pylori*根除率为(62.6%), 两组对比差异具有统计学意义(表2).

3 讨论

胃酸过多、*H. pylori*感染、胃黏膜保护减弱是溃疡产生的主要因素, 其中*H. pylori*会产生大量尿素酶, 在胃中生成氨, 改变胃的生理条件, 造成胃泌素和生长抑制的分泌紊乱, 引起胃黏膜炎症, 使胃酸分泌过多, 破坏正常胃黏膜屏障, 诱发胃十二指肠溃疡, 是慢性胃炎、消化性溃疡的主要发病因素之一[6,7]. *H. pylori*感染后引起炎性改变, 释放强力炎性介质, 刺激痛觉神经末梢, 引起平滑肌不规则收缩, 引起腹痛、嗳气等症状, 因此, 抗*H. pylori*感染治疗消化性溃疡的重要方面. 克拉霉素具有抗菌谱广的特点, 能抑制细菌合成和复制, 铋剂可在*H. pylori*菌体中沉积, 在细胞质内引发空泡样变, 阿莫西林具有增加胃及十二指肠黏膜血流, 保护黏膜的左右, 从而促进溃疡愈合, 有效根除*H. pylori*感染, 消除胃黏膜炎症和降低溃疡复发率[8-10]. 本次的临床研究也显示, 观察组总有效率93.9%, 明显的高于对照组的73.4%, 治疗效果有显著差异(P<0.05); 同时, 观察组治疗结束后4周*H. pylori*根除率为89.9%, 明显的高于对照组的62.6%. 进一步分析这种治疗方法的优越性.

在传统药物治疗的同时, 临床上还要加强患者期间的护理工作, 消化性溃疡是典型的心神疾病之一, 保持乐观、平和、积极的心态, 有利于消化性溃疡的治疗[11]. 护理人员给患者及家属讲解疼痛原因, 使患者了解消化性溃疡的知识, 减少诱因, 避免食用刺激性食物, 戒烟戒酒, 引导患者以良好的心态应对疾病, 对治疗建立信心[12]; 同时护理人员指导患者按时服药, 养成良好的生活习惯, 遵医正确用药, 观察效果和不良反应, 提高依从性[13-15].

根除*H. pylori*感染是治疗消化性溃疡的关键, 除了药物的耐药性外, 患者对治疗的依从性也很重要, 本文应用四联疗法治疗*H. pylori*阳性消化性溃疡患者, 联合综合系统护理, 取得了较好的临床疗效, 提高*H. pylori*消化性溃疡的治愈率和*H. pylori*的消除率, 值得临床应用推广.

4 参考文献

1 杨伶俐, 徐帆, 李全秀. 幽门螺旋杆菌所致消化性溃疡

■创新盘点
本研究中进一步阐述*H. pylori*阳性消化性溃疡采用四联疗法治疗的安全性和疗效性, 从*H. pylori*根除率方面进行分析, 指标观察具有针对性. 同时, 在整个治疗的过程中引入综合系统护理, 提高了患者对疾病的认识, 从而大大的配合临床治疗, 提高有效率.

■应用要点
本研究从临床实际问题处理, 对目前*H. pylori*阳性消化性溃疡采用四联疗法治疗中的问题进行分析, 从而合理的引入综合系统护理, 使得相关的问题能够得到及时的解决, 并且进一步的提高患者的认识. 这种治疗过程中, 加强针对性的护理干预方法可行, 且得到患者的认可.

■同行评价

本研究以临床中最新的研究成果进行分析，重点观察*H. pylori*阳性消化性溃疡采用四联疗法的安全性，并且整个治疗中采取综合性护理，想法独特，且具有明显的临床应用价值. 同时，整体的统计学方法正确，具有一定的意义.

治疗研究进展. 中国医药导报 2009; 6: 7-8
2 王文静. 76例幽门螺杆菌阳性消化性溃疡的治疗和护理. 中国当代医药 2013; 20: 186-187
3 齐越, 秦杰, 邱坤鹏, 柳迪, 陈楠, 蔡林. Orem自护理论在消化性溃疡患者自我护理能力及疗效中的应用效果观察. 中华现代护理杂志 2013; 19: 2900-2902
4 阮华娟, 陈凌云, 许湛珠. 个性化护理干预对消化性溃疡合并HP感染患者遵医行为的影响. 齐鲁护理杂志 2011; 17: 57-59
5 张亚洁, 白传军. 68例幽门螺杆菌阳性消化性溃疡诊疗分析. 大家健康 2013; 7: 121-122
6 王芳婷, 杨小丽, 王萍, 郭百叶. 细节护理在消化性溃疡患者的应用效果. 国际护理学杂志 2013; 32: 2495-2497
7 龙春华. 治疗幽门螺旋杆菌感染有效预防消化性溃疡复发的临床研究. 吉林医学 2012; 33: 953-954
8 戴巧君, 舒小莉. 影响幽门螺杆菌阳性消化性溃疡患者病原菌根除效果的相关因素分析. 中国现代医生 2013; 51: 9-11
9 Koizumi W, Tanabe S, Nakatani K, Ishido K, Nishimura K, Azuma M, Ae T, Sasaki T, Higuchi K, Katada C, Nakayama N, Saigenji K. Quadruple therapy with ecabet sodium, omeprazole, amoxicillin and metronidazole is effective for eradication of Helicobacter pylori after failure of first-line therapy (KDOG0201 Study). *J Clin Pharm Ther* 2010; 35: 303-307 [PMID: 20831531 DOI: 10.1111/j.1365-2710.2009.01092.x]
10 Shiotani A, Nishi R, Yamanaka Y, Murao T, Matsumoto H, Tarumi K, Kamada T, Sakakibara T, Haruma K. Renin-angiotensin system associated with risk of upper GI mucosal injury induced by low dose aspirin: renin angiotensin system genes' polymorphism. *Dig Dis Sci* 2011; 56: 465-471 [PMID: 20824505 DOI: 10.1007/s10620-010-1382-3]
11 Sardarian H, Fakheri H, Hosseini V, Taghvaei T, Maleki I, Mokhtare M. Comparison of hybrid and sequential therapies for Helicobacter pylori eradication in Iran: a prospective randomized trial. *Helicobacter* 2013; 18: 129-134 [PMID: 23121338 DOI: 10.1111/hel.12017]
12 林根友, 肖兆群, 陆维宏. 中西医结合补救治疗幽门螺杆菌感染的临床研究. 中国现代医生 2013; 51: 93-96
13 由丽娜, 高璇, 热依汗古丽•乌修尔, 黄伍奎, 宋国宏. 中西医结合治疗脾胃湿热型幽门螺杆菌相关性慢性胃炎的临床观察. 中国全科医学 2012; 15: 1891-1892
14 马成芳, 金巧馨. 护理干预辅助治疗消化性溃疡临床分析察. 护士进修杂志 2013; 28: 279-280
15 李见好. 幽门螺旋杆菌阳性消化性溃疡的治疗及护理效果观察. 全科护理 2013; 11: 2137-2138

编辑 郭鹏 电编 都珍珍

世界华人消化杂志 2014年5月28日; 22(15): Ⅰ-Ⅴ
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

《世界华人消化杂志》投稿须知

《世界华人消化杂志》为保证期刊的学术质量, 对所有来稿均进行同行评议, 是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊2012年版)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》收录的学术期刊.

1 投稿总则

1.1 性质 《世界华人消化杂志(*World Chinese Journal of Digestology*, *WCJD*, ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569)》是一份同行评议和开放获取期刊(Open Access Journal, OAJ), 创始于1993-01-15, 旬刊, 每月8、18和28号出版. 《世界华人消化杂志》编辑委员会成员, 由483位专家组成, 分布在30个省市、自治区和特别行政区.

《世界华人消化杂志》的首要任务是出版胃肠病学, 肝病学, 消化系内镜学, 消化系外科学, 消化系肿瘤学, 消化系影像学, 消化系介入治疗, 消化系病理学, 消化系感染学, 消化系药理学, 消化系病理生理学, 消化系病理学, 消化系循证医学, 消化系管理学, 胰腺病学, 消化系检验医学, 消化系分子生物学, 消化系免疫学, 消化系微生物学, 消化系遗传学, 消化系转化医学, 消化系诊断学, 消化系治疗学和糖尿病等领域的原始创新性文章, 综述文章和评论性的文章. 最终目的是出版高质量的文章, 提高期刊的学术质量, 使之成为指导本领域胃肠病学和肝病学实践的重要学术性期刊, 提高消化系疾病的诊断和治疗水平.

《世界华人消化杂志》由百世登出版集团有限公司(Baishideng Publishing Group, BPG)主办和出版的一份印刷版, 电子版和网络版三种版本的学术类核心期刊, 由北京百世登生物医学科技有限公司生产制作, 所刊载的全部文章存储在《世界华人消化杂志》网站上. OAJ最大的优点是出版快捷, 一次性缴纳出版费, 不受版面和彩色图片限制, 作者文章在更大的空间内得到传播, 全球读者免费获取全文PDF版本, 网络版本和电子期刊. 论文出版后, 作者可获得高质量PDF, 包括封面、编委会成员名单、目次、正文和封底, 作为稿酬, 样刊两本. BPG拥有专业的编辑团队, 涵盖科学编辑、语言编辑和电子编辑.目前编辑和出版42种临床医学OAJ期刊, 其中英文版41种, 具备国际一流的编辑与出版水平.

《世界华人消化杂志》被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊 2012年版)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》, 《Chemical Abstracts》, 《EMBASE/Excerpta Medica》, 《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录. 《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号.《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学研究领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊.

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

2 撰稿要求

2.1 总体标准 文稿撰写应遵照国家标准GB7713科学技术报告、学位论文和学术论文的编写格式, GB6447文摘编写规则, GB7714文后参考文献著录规则, GB/T 3179科学技术期刊编排格式等要求; 同时遵照国际医学期刊编辑委员会(International Committee of Medical Journal Editors)制定的《生物医学期刊投稿的统一要求(第5版)》(Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals). 见: *Ann Intern Med* 1997; 126: 36-47.

2.2 名词术语 应标准化, 前后统一, 如原词过长且多次出现者, 可于首次出现时写出全称加括号内注简称, 以后直接用简称. 医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准, 药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准, 国家食品药品监督管理局批准的新药, 采用批准的药名; 创新性新药, 请参照我国药典委员会的“命名原则”, 新译名词应附外文. 公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称), 如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD50, HBsAg, HCV

《世界华人消化杂志》英文摘要被《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录.

RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等. 为减少排印错误, 外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上. 中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者, 直接采用原有英语词, 如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词, 如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者, 宜用汉语拼音, 如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤). 通常应小写.

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

2.4 计量单位 采用国际单位制并遵照有关国家标准, GB3100-3102-93量和单位. 原来的“分子量”应改为物质的相对分子质量. 如 30 kD改为M_r 30 000或30 kDa(M大写斜体, r小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即A_r(A大写斜体, r小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u(小写正体). 计量单位在+、－及-后列出. 在±前后均要列出, 如37.6 ℃±1.2 ℃, 45.6岁±24岁, 56.4 d±0.5 d. 3.56±0.27 pg/ml应为3.56 ng/L±0.27 ng/L. BP用kPa(mmHg), RBC数用1×10^{12}/L, WBC数用1×10^{9}/L, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L. M_r明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示. 1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸. 长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm×6 cm×4 cm. 生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO_2结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L. 年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁. 例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把1×10^{-3} g与5×10^{-7} g之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm. 国际代号不用于无数字的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d. 在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg•d), 且在整篇文章内应统一. 单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs. 半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L乙醇; 5% CO_2, 50 mL/L CO_2; 1∶1 000肾上腺素, 1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg, 改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm = 45×10^{-6}; 离心的旋转频率(原称转速)用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示.

2.5 统计学符号 (1)*t*检验用小写*t*; (2)*F*检验用英文大写*F*; (3)卡方检验用希文小写χ^2; (4)样本的

相关系数用英文小写r; (5)自由度用希文小写υ; (6)样本数用英文小写n; (7)概率用英文斜体大写P. 在统计学处理中在文字叙述时平均数±标准差表示为mean±SD, 平均数±标准误为mean±SE. 统计学显著性用$^{a}P<0.05$, $^{b}P<0.01$($P>0.05$不注). 如同一表中另有一套P值, 则$^{c}P<0.05$, $^{d}P<0.01$; 第三套为$^{e}P<0.05$, $^{f}P<0.01$等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字, 如1 000-1 500 kg, 3.5 mmol/L±0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6 347意指6 000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的mean±SD应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3 614.5 g±420.8 g, SD的1/3达一百多g, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6 kg±0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm±0.27 cm, 其SD/3 = 0.09 cm, 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位. 有效位数以后的数字是无效的, 应该舍. 末尾数字, 小于5则舍, 大于5则进, 如恰等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 末尾时只可1次完成, 不得多次完成. 例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该23.48→23.5→24. 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写. 如1985年4月12日, 可写作1985-04-12; 1985年4月, 写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止, 写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止, 写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30. 百分数的有效位数根据分母来定:分母≤100, 百分数到个位; 101≤分母≤1 000, 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1 486 800.475 65. 完整的阿拉伯数字不移行!

2.7 标点符号 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律用逗号分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末. 标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU. 外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体.

3 稿件格式

3.1 题名 简明确切地反映论文的特定内容, 鲜明而有特色, 阿拉伯数字不宜开头, 不用副题名, 一般20个字. 避免用“的研究”或“的观察”等非特定词.

3.2 作者 论文作者的署名，按照国际医学杂志编辑委员会(ICMJE, International Committee of Medical Journal Editors)作者资格标准执行. 作者标准为: (1)对研究的理念和设计、数据的获得、分析和解读做出重大贡献; (2)起草文章, 并对文章的重要的知识内容进行批评性修改; (3)接受对准备发表文章的最后一稿. 作者应符合条件1, 2, 3, 对研究工作有贡献的其他人可放入志谢中. 作者署名的次序按贡献大小排列, 多作者时姓名间用逗号, 如是单名, 则在姓与名之间空1格(正文和参考文献中不空格). 《世界华人消化杂志》要求所有署名人写清楚自己对文章的贡献. 世界华人消化杂志不设置共同第一作者和共同通信作者.

3.3 单位 作者后写单位的全称空1格后再写省市及邮政编码. 格式如: 张旭晨, 梅立新, 承德医学院病理教研室 河北省承德市 067000

3.4 第一作者简介 格式如: 张旭晨, 1994年北京中医药大学硕士, 讲师. 主要从事消化系统疾病的病理研究.

3.5 作者贡献分布 格式如: 陈湘川与庞丽娟对此文所作贡献两均等; 此课题由陈湘川、庞丽娟、陈玲、杨兰、张金芳、齐妍及李洪安设计; 研究过程由陈玲、杨兰、张金芳、蒋金芳、杨磊、李锋及曹秀峰操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由曹秀峰提供; 数据分析由陈湘川、杨兰及庞丽娟完成; 本论文写作由陈湘川、庞丽娟及李洪安完成.

3.6 同行评议者 为了确保刊出文章的质量, 本刊即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名, 职称, 机构的名称与文章一同在脚注出版. 格式如: 房静远, 教授, 上海交通大学医学院附属医院仁济医院, 上海市消化疾病研究所.

《世界华人消化杂志》编辑部, 100025, 北京市朝阳区, 东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893, Email: wcjd@wjgnet.com; http://www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》自2006-01-01起改为旬刊发行, 每月8、18、28日出版.

3.7 基金资助项目 格式如: 国家自然科学基金资助项目, No. 30224801

3.8 通讯作者 格式如: 通讯作者: 黄缘, 教授, 330006, 江西省南昌市民德路1号, 南昌大学第二附属医院消化内科, 江西省分子医学重点实验室. huang9815@yahoo.com

电话: 0351-4078656 传真: 0351-4086337

收稿日期: 修回日期:

3.9 英文摘要

题名 文章的题名应言简意赅, 方便检索, 英文题名以不超过10个实词为宜, 应与中文题名一致.

作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名, 后姓; 首字母大写, 双名之间用半字线“-”分开, 多作者时姓名间加逗号. 格式如: “潘伯荣”的汉语拼写法为“Bo-Rong Pan”.

单位 先写作者, 后写单位的全称及省市邮政编码. 例如: Xu-Chen Zhang, Li-Xin Mei, Department of Pathology, Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China

基金资助项目 格式如: Supported by National Natural Science Foundation of China, No.30224801

通讯作者 格式如: Correspondence to: Dr. Lian-Sheng Ma, Taiyuan Research and Treatment Center for Digestive Diseases, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China. wcjd@wjgnet.com

收稿及修回日期 格式如: Received: Revised:

摘要 包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致.

3.10 中文摘要 必须在300字左右, 内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的), 方法(必须包括材料或对象. 应描述课题的基本设计, 双盲、单盲还是开放性, 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度. 研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征. 如研究对象是患者, 应阐明其临床表现, 诊断标准. 如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不良反应而中途停止研究), 结果(应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确、具体, 所列数据经用何种统计学方法处理; 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值; 概率写*P*, 后应写出相应显著性检验值), 结论(全文总结, 准确无误的观点及价值).

3.11 正文标题层次 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献. 序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文. 正文内序号连排用(1), (2), (3). 以下逐条陈述.

0 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系.

1 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验. 对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可.

2 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论.

3 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾.

图表的数量要精选. 表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容. 表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出. 图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出. 同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述. 如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化. A: …; B: …; C: …; D: …; E: …; F: …; G: …. 曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号. 统计学显著性用: $^{a}P<0.05$, $^{b}P<0.01$($P>0.05$不注). 如同一表中另有一套*P*值, 则$^{c}P<0.05$, $^{d}P<0.01$; 第3套为$^{e}P<0.05$, $^{f}P<0.01$. *P*值后注明何种检验及其具体数字, 如$P<0.01$, $t = 4.56$ *vs* 对照组等, 注在表的左下方. 表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐. “空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等. 表图勿与正文内容重复. 表图的标目尽量用*t*/min, *c*/(mol/L), *p*/kPa, *V*/mL, *t*/℃表达.

志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐.

4 参考文献 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序. 提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码. 文中如列作者姓名, 则需在“Pang等”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在该论述的句末右上角注码号. 如马连生[1]报告……, 潘伯荣等[2-5]认为……;

PCR方法敏感性高[6-7]. 文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]. 所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed, 《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献. 期刊: 序号, 作者(列出全体作者). 文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID和DOI编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部),书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页.

5 网络版的发表前链接 本刊即将开始实行网络版的每篇文章上都有该文发表前纪录的链接, 包括首次提交的稿件, 同行评议人报告, 作者给审稿人回信和作者修回稿, 以PDF格式上传. 读者可以针对论文、审稿意见和作者的修改情况发表意见, 指出问题与不足; 作者也可以随时修改完善自己发表的论文, 使文章的发表成为一个编者、同行评议者、读者、作者互动的动态过程.

4 写作格式实例

4.1 述评写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/sp.asp

4.2 研究原著写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjyz.asp

4.3 焦点论坛写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/jdlt.asp

4.4 文献综述写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/wxzs.asp

4.5 研究快报写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjkb.asp

4.6 临床经验写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/lcjy.asp

4.7 病例报告写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/blbg.asp

5 投稿方式

接受在线投稿, 不接受其他方式的投稿, 如E-mail、打印稿. 在线投稿网址: http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx. 无法在线提交的通过submission@wjgnet.com, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893寻求帮助. 投稿须知下载网址http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.pdf. 审稿过程平均时间需要14-28天. 所有的来稿均经2-3位同行专家严格评审, 2位或以上通过为录用, 否则将退稿或修改后再审.

6 修回稿须知

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

6.2 稿件修改 来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删节时, 本刊编辑部将把退修稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改, 而作者必须于15天内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期寄回, 所造成的问题由作者承担责任.

6.3 版权 本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负. 作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期): 起止页码. 如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有.

《世界华人消化杂志》编辑部
北京百世登生物医学科技有限公司
100025, 北京市朝阳区东四环中路62号
远洋国际中心D座903室
电话: 010-5908-0035
传真: 010-8538-1893
E-mail: wcjd@wjgnet.com
http: //www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》坚持开放获取(open access, OA)的出版模式, 编辑出版高质量文章, 努力实现编委、作者和读者利益的最大化, 努力推进本学科的繁荣和发展, 向专业化、特色化和品牌化方向迈进.

世界华人消化杂志 2014年5月28日; 22(15): I
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

2014年国内国际会议预告

2014-03-12/15
2014年亚太肝病研究协会肝病周(APASL)
会议地点: 澳大利亚
联系方式: http://apasl2014.com/

2014-04-05/09
2014年美国癌症研究协会大会(AACR)
会议地点: 美国
联系方式: http://www.aacr.org/home/scientists/meetings--workshops/meetings--workshops-calendar.aspx

2014-04-09/13
2014年第49届欧洲肝病研究协年会(EASL)
会议地点: 英国
联系方式: http://www.easl.eu/_the-international-liver-congress/general-information

2014-04-18/05-20
2014中国超声医学学术大会
会议地点: 北京市
联系方式: http://www.cuda.org.cn/new/meeting

2014-04-26/27
中华医学会临床药学分会2014年全国学术会议
会议地点: 成都市
联系方式: http://www.cncscp.org/

2014-05-04/06
2014年美国消化疾病周(DDW)
会议地点: 美国
联系方式: http://www.ddw.org/attendees/faqs

2014-05-16/18
2014第七届世界癌症大会
会议地点: 南京市
联系方式: http://www.bitlifesciences.com/cancer2014/cn/meeting.asp

2014-05-23/24
第六届药源性疾病与安全用药中国论坛-消化系统与肝病药物专题研讨会
会议地点: 北京市
联系方式: adrhuiyi@126.com

2014-05-30/06-03
2014年美国临床肿瘤协会年会(ASCO)
会议地点: 美国
联系方式: http://www.asco.org/meetings/calendar-events

2014-06-04/07
2014年第20届国际肝移植协会年会(ILTS)
会议地点: 英国
联系方式: http://www.ilts.org/meetings/

2014-06-09/12
2014年第47届欧洲儿科胃肠病, 肝病和营养学协会大会(ESPGHAN)
会议地点: 以色列
联系方式: http://www.espghan2014.org/

2014-06-18/21
2014年欧洲胃肠与腹部放射学协会肝部成像研讨会(ESGAR)
会议地点: 奥地利
联系方式: http://www.esgar.org/files/File/ESGAR14

2014-06-25/28
2014年世界胃肠癌大会(WGIC)
会议地点: 西班牙
联系方式: http://worldgicancer.com/WCGI

2014-06-25/28
2014年第14届欧洲内窥镜手术协会国际大会(EAES)
会议地点: 法国
联系方式: hdimcs@163.com

2014-06-27/28
2014中华医学会肝病与代谢学术研讨会
会议地点: 上海市
联系方式: lilyjia@163.com

2014-07-26/31
2014年世界移植大会
会议地点: 美国
联系方式: http://www.wtc2014.org/

2014-07-28/30
第3届国际肠胃病学与泌尿学大会
会议地点: 美国
联系方式: http://www.omicsgroup.com/gastroenterology-urology-conference-2014/registration.php

2014-09-05/07
2014年第8届国际肝癌协会大会(ILCA)
会议地点: 日本
联系方式: http://www.ilca2014.org/

2014-09-26/30
2014年欧洲临床肿瘤协会年会(ESMO)
会议地点: 西班牙
联系方式: http://www.esmo.org/

2014-10-18/22
2014年第22届欧洲联合胃肠病学周(UEG)
会议地点: 奥地利
联系方式: http://www.ueg.eu/week/past-future/future-ueg-week/

世界华人消化杂志 2014年5月28日; 22(15): I
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

志谢世界华人消化杂志编委

本期文章审稿中(包括退稿), 我刊编委付出了宝贵的时间和大量的精力, 提高了《世界华人消化杂志》的学术质量, 在此表示衷心感谢!

蔡开琳 副教授
华中科技大学同济医学院附属协和医院普通外科

崔清波 副主任医师
哈尔滨医科大学附属第二医院儿外科

戴朝六 教授
中国医科大学第二临床学院(盛京医院)肝胆外科

杜奕奇 副教授
中国人民解放军第二军医大学长海医院

樊晓明 教授
复旦大学附属金山医院消化科

葛海燕 教授
同济大学附属第十人民医院普通外科

郭永红 副主任医师
西安交通大学医学院第二附属医院感染科

何敏 教授
广西医科大学医学科学实验中心

侯风刚 副主任医师
上海中医药大学附属市中医医院肿瘤科

胡国信 副教授
南昌大学第一附属医院传染科

李孟森 教授
海南医学院/海南省肿瘤发生和干预重点实验室

李苏宜 教授
东南大学附属中大医院肿瘤科

李瑜元 教授
广州市第一人民医院内科

刘克辛 教授
大连医科大学临床药理学教研室

麻勇 副研究员
哈尔滨医科大学附属第一医院肝脏外科

马大烈 教授
长海医院病理科

沈薇 教授
重庆医科大学附属第二医院消化内科

谭学瑞 教授
汕头大学医学院第一附属医院内科

汤朝晖 副主任医师
上海交大医学院附属新华医院普外科

王德盛 副主任医师
中国人民解放军第四军医大学西京医院肝胆外科

吴军 研究员
军事医学科学院生物工程研究所

肖恩华 教授
中南大学湘雅二医院放射教研室

许剑民 教授
上海市复旦大学附属中山医院普外科

许玲 主任医师
上海中医药大学附属龙华医院肿瘤科

宣世英 教授
市立医院肝病内科

杨柏霖 副主任医师
南京中医药大学附属医院

袁红霞 研究员
天津中医药大学

袁建业 副研究员
上海中医药大学附属龙华医院/脾胃病研究所

张凤春 教授
上海交通大学医学院附属仁济医院

张小晋 主任医师
北京积水潭医院

赵春玲 副教授
潍坊医学院细胞生物学教研室

郑培永 副教授
上海中医药大学附属龙华医院消化内科

世界华人消化杂志
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

《中文核心期刊要目总览》收录证书

《中文核心期刊要目总览》入编通知

尊敬的主编先生/女士：

我们谨此郑重通知：依据文献计量学的原理和方法，经研究人员对相关文献的检索、统计和分析，以及学科专家评审，贵刊《**世界华人消化杂志**》入编《中文核心期刊要目总览》2011 年版（即第六版）之 **临床医学/特种医学类** 的核心期刊。该书由北京大学出版社出版。书中按《中国图书馆分类法》的学科体系，列出了 73 个学科的核心期刊表，并逐一对核心期刊进行了著录。著录项目包括：题名、并列题名、主办单位、创刊时间、出版周期、学科分类号、ISSN 号、CN 号、邮发代号、编辑部地址、邮政编码、电话、网址、电子邮箱、内容简介等。

评选核心期刊的工作，是运用科学方法对各种刊物在一定时期内所刊载论文的学术水平和学术影响力进行综合评价的一种科研活动，研究工作量浩大。北京地区十几所高校图书馆、中国科学院国家科学图书馆、中国社会科学院文献信息中心、中国人民大学书报资料中心、中国学术期刊（光盘版）电子杂志社、中国科学技术信息研究所、北京万方数据股份有限公司、国家图书馆等相关单位的百余名专家和期刊工作者参加了研究。

课题组对核心期刊的评价理论、评价方法等问题进行了深入研究，进一步改进了核心期刊评价方法，使之更趋科学合理，力求使评价结果符合客观实际。对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被索量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web 下载量等 9 个评价指标，选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到 60 余种，统计到的文献数量共计 221177 余万篇次，涉及期刊 14400 余种。参加核心期刊评审的学科专家达 8200 多位。经过定量筛选和专家定性评审，从我国正在出版的中文期刊中评选出 1982 种核心期刊。

需要特别指出的是，该研究成果只是一种参考工具书，主要是为图书情报界、出版界等需要对期刊进行评价的用户提供参考，例如为各图书情报部门的中文期刊采购和读者导读服务提供参考帮助等，不应作为评价标准。谨此说明。

顺颂

撰安

《中文核心期刊要目总览》2011 年版编委会

代章：

2012 年 1 月

Published by **Baishideng Publishing Group Inc**
8226 Regency Drive, Pleasanton,
CA 94588, USA
Fax: +1-925-223-8242
Telephone: +1-925-223-8243
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com



ISSN 1009-3079



百世登出版集团有限公司

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

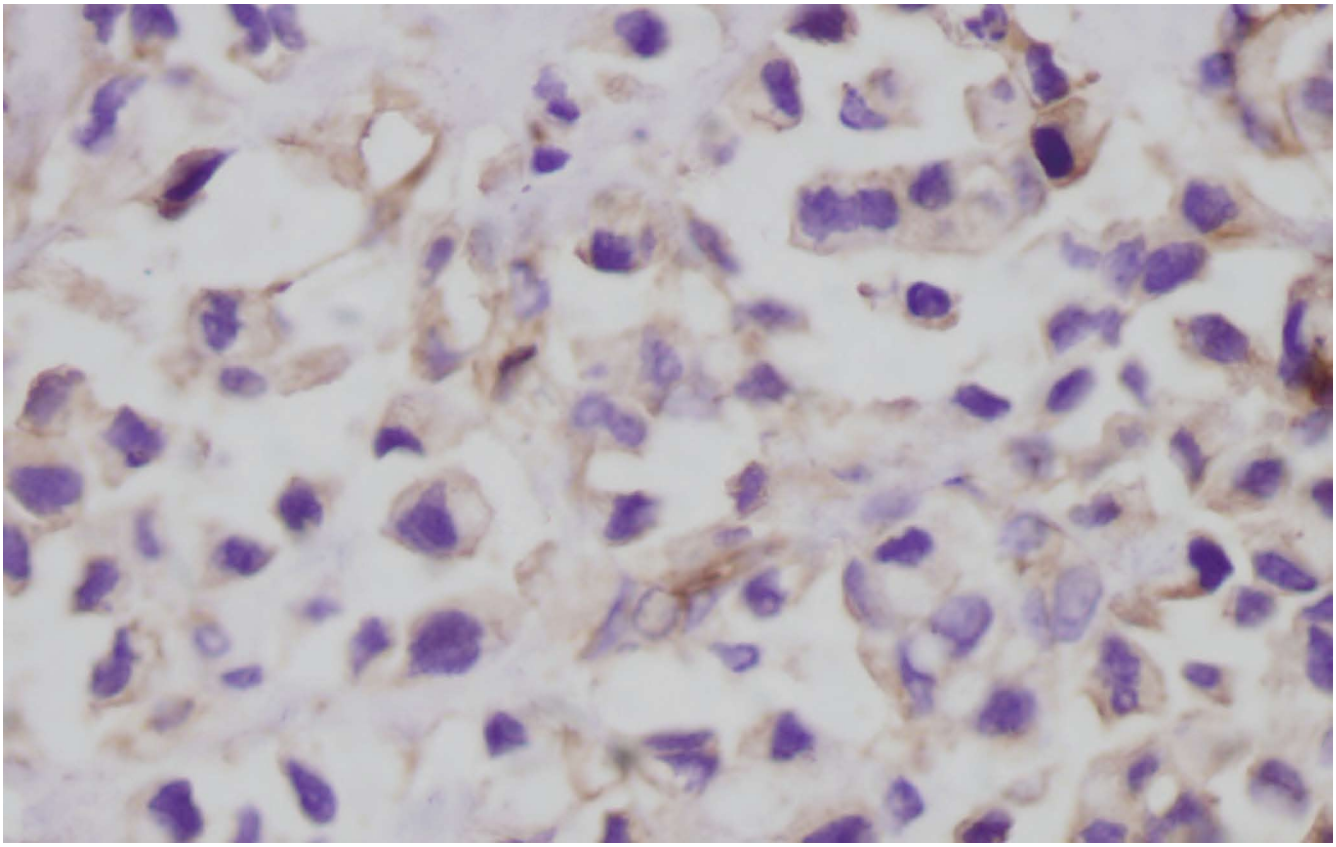
ISSN 1009-3079 (print)
ISSN 2219-2859 (online)

世界华人消化杂志®

WORLD CHINESE JOURNAL OF DIGESTOLOGY

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2014 年 6 月 8 日　　第 22 卷　　第 16 期　(Volume 22 Number 16)



16/2014

ISSN 1009-3079
16>
9 771009 307056

《世界华人消化杂志》是一份同行评议性的旬刊，是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊 2012年版)》和《中文核心期刊要目总览(2011年版)》收录的学术类期刊.《世界华人消化杂志》的英文摘要被《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录.

世界华人消化杂志 www.wjgnet.com 二零一四年六月八日 第二十二卷 第十六期

世界华人消化杂志®

编辑委员会

2012-01-01/2014-12-31

wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

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

总顾问

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

名誉主编

潘伯荣教授

主编

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

编委

消化内科学

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

消化外科学

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

世界华人消化杂志®

编辑委员会

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

消化感染病学

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

消化中医药学

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

消化肿瘤学

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

消化影像学

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

消化内镜及介入治疗学

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

消化中西医结合学

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

消化基础研究

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

消化病理学

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

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目　次 ●　2014 年 6 月 8 日　第 22 卷　第 16 期　(总第456期)

基础研究

2221 下调*GPC-3*基因转录对肝癌细胞侵袭及血管新生的抑制作用
邰伯军, 姚敏, 王理, 钱琦, 时杨, 蔚丹丹, 陆少林, 姚登福

2229 CXCR4转染的骨髓间充质干细胞靶向治疗急性肝衰竭
马虎成, 施晓雷, 任昊桢, 袁献温, 丁义涛

临床研究

2237 DC-CIK细胞治疗联合TACE及RFA治疗小肝癌的疗效
张泉成, 潘国政, 李国强, 袁庆忠, 徐教邦, 孔阳, 王立明

文献综述

2243 原发性胆汁性肝硬化诊断和治疗的进展
黄颖秋

2252 腺泡细胞自噬与急性胰腺炎
邓力珲, 夏庆

2258 白介素-22在炎症性肠病中的作用
孟娅, 王烜

2265 肛瘘术前评估方法的研究进展
王永刚, 丁健华, 赵克

2271 幽门螺杆菌对甲硝唑耐药机制的研究进展
马春婷, 高峰

研究快报

2277 番木瓜种子提取物异硫氰酸苄酯对肝癌细胞凋亡的影响
朱明月, 李伟, 鲁琰, 蔡小妹, 董栩, 陈杉, 郭峻莉, 李孟森

2285 胃饥饿素对大鼠急性重症胰腺炎AMY、IL-6和TNF-α水平及病理学的影响
哈红萍, 李建华

临床经验

2290 长期鼻饲老年患者硅胶胃管在胃内留置的安全时间
俞冬丽, 叶建虹, 胡芝萍

2294 内镜下晚期胃癌缩瘤术联合深部热疗对患者长期生存状况的改善
胡健, 李明峰, 赵建华, 顾剑锋, 曾玥, 丁威, 李婷婷

2300 MMP-14和COX-2蛋白在胃癌侵袭转移过程中的表达和关系
谷倬宇, 李思源, 李军, 肖智伟, 周婷

2306 中国人群乙型肝炎病毒基因分型不同方法和标准的比较
李可可, 刘莹, 姚品芳, 陈真, 王红, 李劲

2317 个体化治疗转氨酶正常的慢性丙型肝炎73例
徐成军, 张翠萍, 王晓宏, 刘丽君, 周珊珊, 王久恒, 何秋杰, 王云中, 郭文山, 朱万柏, 江勇

2323 慢性丙型肝炎合并非酒精性脂肪肝抗病毒疗效及其相关因素
曹文玺, 丁虹, 王新国, 张波, 金慧涵

2327 茵陈蒿汤加减治疗非酒精性脂肪肝的随机对照试验系统评价与Meta分析
张良登, 魏玮, 孙晓红, 姚魁武

2338 肝硬化肝细胞癌术后标准残肝体积与肝功能代偿不全的相关性
李瑞东, 周文斌

2343 血清IL-6、IL-8和PCT对急性重症胰腺炎继发感染的诊断价值
高科, 张龙久, 王广益, 李军, 张辉

2347 外源性白蛋白在胃肠内科急危重患者治疗中的应用评价
耿雪荞

2351 伊马替尼辅助治疗时间对中高度复发风险胃肠间质瘤患者无复发生存的影响
王晓媚

2357 胃肠肿瘤术后消化系出血的原因及治疗
陶应田, 何磊, 余超, 朱广玉, 涂从银, 文刚

2361 美沙拉嗪对溃疡性结肠炎主要不良反应及最佳给药方式
韩柯, 王永生, 向前

2365 补充营养并预防院内感染对新生儿窒息后血糖异常的改善作用
郑燕珠, 彭雪东

2370 Wnt-1与Snail在结肠癌组织中的表达及其临床意义
郭云霞, 王郁杰, 王瑞勤, 郭娜
2375 双歧杆菌四联活菌片与荆花胃康胶丸根除幽门螺杆菌的临床疗效
张廷锐, 连瑞军, 高鹏飞

附　录
I－V 《世界华人消化杂志》投稿须知
I 2014年国内国际会议预告

志　谢
I 志谢世界华人消化杂志编委

消　息
2251《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版)
2276《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊
2322《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费
2369《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号

封面故事
谷倬宇, 李思源, 李军, 肖智伟, 周婷. MMP-14和COX-2蛋白在胃癌侵袭转移过程中的表达和相互关系. 世界华人消化杂志 2014; 22(16): 2300-2305
http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2300.asp
http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i16.2300

本期责任人
编务 李香; 送审编辑 鲁亚静, 郭鹏; 组版编辑 鲁亚静; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 郭鹏; 形式规范审核编辑部主任 田滢; 最终清样审核总编 马连生

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平　题写封面刊名
陈可冀　题写版权刊名
(旬刊)

创　刊 1993-01-15
改　刊 1998-01-25
出　版 2014-06-08
原刊名 新消化病学杂志

期刊名称
世界华人消化杂志

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

主编
程英升, 教授, 200233, 上海市, 上海交通大学附属第六人民医院放射科
党双锁, 教授, 710004, 陕西省西安市, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科
江学良, 教授, 250031, 山东省济南市, 中国人民解放军济南军区总医院消化科
刘连新, 教授, 150001, 黑龙江省哈尔滨市, 哈尔滨医科大学第一临床医学院普外科
刘占举, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院消化内科
吕宾, 教授, 310006, 浙江省杭州市, 浙江中医药大学附属医院(浙江省中医院)消化科
马大烈, 教授, 200433, 上海市, 中国人民解放军第二军医大学附属长海医院病理科
王俊平, 教授, 030001, 山西省太原市, 山西省人民医院消化科
王小众, 教授, 350001, 福建省福州市, 福建医科大学附属协和医院消化内科
姚登福, 教授, 226001, 江苏省南通市, 南通大学附属医院临床医学研究中心
张宗明, 教授, 100016, 北京市, 清华大学第一附属医院消化医学中心

编辑部
田滢, 主任
《世界华人消化杂志》编辑部
100025, 北京市朝阳区东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室
电话: 010-59080035　手机: 13901166126
传真: 010-85381893
E-mail: wcjd@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com

出版
百世登出版集团有限公司
Baishideng Publishing Group Inc
8226 Regency Drive, Pleasanton, CA 94588, USA
Fax: +1-925-223-8242
Telephone: +1-925-223-8243
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊 2012年版)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》, 《Chemical Abstracts》, 《EMBASE/Excerpta Medica》, 《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录.

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

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

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

定价
每期90.67元 全年36期3264.00元

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

World Chinese Journal of Digestology

June 2014 Contents in Brief Volume 22 Number 16

BASIC RESEARCH

2221 Down-regulation of glypican-3 gene transcription inhibits hepatoma cell invasion and angiogenesis
Tai BJ, Yao M, Wang L, Qian Q, Shi Y, Yu DD, Lu SL, Yao DF

2229 Genetically modified mesenchymal stem cells overexpressing CXCR4 show increased colonization ability and confer better liver regeneration in mice
Ma HC, Shi XL, Ren HZ, Yuan XW, Ding YT

CLINICAL RESEARCH

2237 DC-CIK cell therapy combined with transcatheter arterial chemoembolization and radiofrequency ablation for treatment of small hepatocellular carcinoma
Zhang QC, Pan GZ, Li GQ, Yuan QZ, Xu JB, Kong Y, Wang LM

REVIEW

2243 Recent advances in diagnosis and treatment of primary biliary cirrhosis
Huang YQ

2252 Autophagy in pancreatic acinar cells and pathogenesis of acute pancreatitis
Deng LH, Xia Q

2258 Role of IL-22 in inflammatory bowel disease
Meng Y, Wang X

2265 Methods for preoperative assessment of anal fistula
Wang YG, Ding JH, Zhao K

2271 Mechanisms underlying resistance of *Helicobacter pylori* to metronidazole
Ma CT, Gao F

RAPID COMMUNICATION

2277 Benzyl isothiocyanate induces apoptosis of hepatocarcinoma cells
Zhu MY, Li W, Lu Y, Cai XM, Dong X, Chen Y, Guo JL, Li MS

2285 Effect of ghrelin on serum levels of amylase, interleukin-6 and tumor necrosis factor-α in rats with severe acute pancreatitis
Ha HP, Li JH

CLINICAL PRACTICE

2290 Optimal placement time of long-term indwelling stomach tube in elderly patients
Yu DL, Ye JH, Hu ZP

2294 Locally endoscopic cytoreductive surgery combined with inner diathermy improves survival in patients with advanced gastric cancer
Hu J, Li MF, Zhao JH, Gu JF, Zeng Y, Ding W, Li TT

2300 Expression of MMP-14 and COX-2 in gastric cancer
Gu ZY, Li SY, Li J, Xiao ZW, Zhou T

2306 Comparison of different genotyping methods for hepatitis B virus in a Chinese population
Li KK, Liu Y, Yao PF, Chen Z, Wang H, Li J

2317 An individualized strategy for treatment of hepatitis C virus carriers with normal aminotransferase levels: Analysis of 73 cases
Xu CJ, Zhang CP, Wang XH, Liu LJ, Zhou SS, Wang JH, He QJ, Wang YZ, Guo WS, Zhu WB, Jiang Y

2323 Antiviral efficacy and related factors in chronic hepatitis C patients with nonalcoholic fatty liver disease
Cao WX, Ding H, Wang XG, Zhang B, Jin HH

2327 Yinchenhao decoction adjustment for treatment of nonalcoholic fatty liver disease: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials
Zhang LD, Wei W, Sun XH, Yao KW

2338 Correlation between standard remnant liver volume and liver function decompensation in patients after surgery for hepatocellular carcinoma
Li RD, Zhou WB

2343 Role of serum IL-6, IL-8 and procalcitonin in diagnosis of secondary infection in severe acute pancreatitis
Gao K, Zhang LJ, Wang GY, Li J, Zhang H

2347 Clinical effects of exogenous albumin in critically ill patients with gastrointestinal diseases
Geng XQ

2351 Influence of imatinib as adjuvant therapy on relapse-free survival in patients with gastrointestinal stromal tumors at moderate to high risk of recurrence
Wang XM

2357 Gastrointestinal bleeding in patients with gastrointestinal tumors after surgery: Causes and treatments
Tao YT, He L, Yu C, Zhu GY, Tu CY, Wen G

2361 Adverse reactions and optimal administration of mesalazine in patients with ulcerative colitis
Han K, Wang YS, Xiang Q

2365 Nutritional supplement and nosocomial infection prevention for improvement of abnormal blood glucose after neonatal asphyxia
Zheng YZ, Peng XD

2370 Clinical significance of expression of Wnt-1/Snail in colon cancer
Guo YX, Wang YJ, Wang RQ, Guo N

	2375 Efficacy of Bifidobacterium tetravaccine tablets and Jinghua Weikang capsules in eradication of *Helicobacter pylori* *Zhang TR, Lian RJ, Gao PF*
APPENDIX	I – V Instructions to authors of *World Chinese Journal of Digestology* I Meeting events calendar in 2014
ACKNOWLEDGMENT	I Acknowledgments to reviewers of *World Chinese Journal of Digestology*
COVER	*Gu ZY, Li SY, Li J, Xiao ZW, Zhou T.* Expression of MMP-14 and COX-2 in gastric cancer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(16): 2300-2305 http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2300.asp http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i16.2300
RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE	Assistant Editor: *Xiang Li* Review Editor: *Ya-Jing Lu, Peng Guo* Electronic Page Editor: *Ya-Jing Lu* English Language Editor: *Tian-Qi Wang* Editor-in-Charge: *Peng Guo* Proof Editor: *Ying Tian* Layout Editor: *Lian-Sheng Ma*

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

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993
Renamed on January 25, 1998
Publication date June 8, 2014

NAME OF JOURNAL
World Chinese Journal of Digestology

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

EDITOR-IN-CHIEF
Ying-Sheng Cheng, Professor, Department of Radiology, Sixth People's Hospital of Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200233, China
Shuang-Suo Dang, Professor, Department of Infectious Diseases, the Second Affiliated Hospital of Medical School of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, Shaanxi Province, China
Xue-Liang Jiang, Professor, Department of Gastroenterology, General Hospital of Jinan Military Command of Chinese PLA, Jinan 250031, Shandong Province, China
Lian-Xin Liu, Professor, Department of General Surgery, the First Clinical Medical College of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China
Zhan-Ju Liu, Professor, Department of Gastroenterology, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China
Bin Lv, Professor, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310006, Zhejiang Province, China
Da-Lie Ma, Professor, Department of Pathology, Changhai Hospital, the Second Military Medical University of Chinese PLA, Shanghai 200433, China
Jun-Ping Wang, Professor, Department of Gastroenterology, People's Hospital of Shanxi, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China
Xiao-Zhong Wang, Professor, Department of Gastroenterology, Union Hospital, Fujian Medical University, Fuzhou 350001, Fujian Province, China
Deng-Fu Yao, Professor, Clinical Research Center, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China
Zong-Ming Zhang, Professor, Department of General Surgery, Digestive Medical Center, the First Affiliated Hospital, School of Medicine, Tsinghua University, Beijing 100016, China

EDITORIAL OFFICE
Ying Tian, Director
World Chinese Journal of Digestology
Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China
Telephone: +86-10-59080035 13901166126
Fax: +86-10-85381893
E-mail: wcjd@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com

PUBLISHER
Baishideng Publishing Group Inc
8226 Regency Drive, Pleasanton, CA 94588, USA
Fax: +1-925-223-8242
Telephone: +1-925-223-8243
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com

PRINT SUBSCRIPTION
RMB 90.67 Yuan for each issue
RMB 3264 Yuan for one year

COPYRIGHT
© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. Articles published by this Open Access journal are distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-commercial License, which permits use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited, the use is non commercial and is otherwise in compliance with the license.

SPECIAL STATEMENT
All articles published in journals owned by the Baishideng Publishing Group (BPG) represent the views and opinions of their authors, and not the views, opinions or policies of the BPG, except where otherwise explicitly indicated.

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

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com
世界华人消化杂志 2014年6月8日; 22(16): 2221-2228
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

基础研究 BASIC RESEARCH

下调*GPC-3*基因转录对肝癌细胞侵袭及血管新生的抑制作用

郜伯军, 姚 敏, 王 理, 钱 琦, 时 杨, 蔚丹丹, 陆少林, 姚登福

郜伯军, 南通大学附属医院感染性疾病科 江苏省南通市 226001
姚敏, 南通大学医学院免疫学教研室 江苏省南通市 226001
王理, 南通大学医学院医学信息学教研室 江苏省南通市 226001
钱琦, 蔚丹丹, 南通大学附属医院肿瘤科 江苏省南通市 226001
时杨, 陆少林, 姚登福, 南通大学附属医院临床医学研究中心 江苏省南通市 226001
郜伯军, 副主任医师, 主要从事肝癌的早期诊断与发病机制的研究.
国家国际科技合作专项基金资助项目, No. 2013DFA32150
中国博士后科学基金资助项目, No. 2013M531395
江苏省博士后基金资助项目, No. 苏人社发(2012)468号
作者贡献分布: 此课题由郜伯军与姚敏共同设计; 实验与数据整理由姚敏、蔚丹丹及王理完成; 样本收集及统计学处理由钱琦、时杨、蔚丹丹及陆少林完成; 论文写作由姚敏与姚登福共同完成.
通讯作者: 姚敏, 副教授, 226001, 江苏省南通市启秀路19号, 南通大学医学院免疫学教研室. yaodf@ahnmc.com
电话: 0513-85052297
收稿日期: 2014-02-24 修回日期: 2014-04-13
接受日期: 2014-04-17 在线出版日期: 2014-06-08

Down-regulation of glypican-3 gene transcription inhibits hepatoma cell invasion and angiogenesis

Bo-Jun Tai, Min Yao, Li Wang, Qi Qian, Yang Shi, Dan-Dan Yu, Shao-Lin Lu, Deng-Fu Yao

Bo-Jun Tai, Department of Infectious Diseases, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China.
Min Yao, Department of Immunology, Medical School, Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China
Li Wang, Department of Medical Informatics, Medical School, Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China
Qi Qian, Dan-Dan Yu, Department of Oncology, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China
Yang Shi, Shao-Lin Lu, Deng-Fu Yao, Research Center of Clinical Medicine, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China
Supported by: the International S&T Cooperation Program of China, No. 2013DFA 32150; the Chinese Postdoctoral Scientific Funds, No. 2013M531395; and the Jiangsu Postdoctoral Scientific Funds, No. JS2012-468
Correspondence to: Min Yao, Associate Professor, Department of Immunology, Medical School, Nantong University, 19 Qixiu Road, Nantong 226001, Jiangsu Province, China. yaodf@ahnmc.com
Received: 2014-02-24 Revised: 2014-04-13
Accepted: 2014-04-17 Published online: 2014-06-08

Abstract

AIM: To investigate whether down-regulation of glypican-3 (*GPC-3*) gene transcription by short hairpin RNAs (shRNAs) inhibits hepatoma MHCC-97H cell invasion and angiogenesis.

METHODS: Specific GPC-3 shRNAs were transfected into MHCC-97H cells. GPC-3 mRNA and protein expression was analyzed by fluorescence quantitative PCR and Western blot, respectively. Hepatoma cell proliferation was detected by 5-ethynyl-2′-deoxyuridine and sulforhodamine B assay, and cell migration and invasion were assessed by wound healing and transwell assays.

RESULTS: After MHCC-97H cells were transfected with shRNA1, GPC-3 mRNA expression was down-regulated by 75.6% (t = 15.473, P < 0.001), cell proliferation was inhibited significantly, and cell migration and invasion were decreased. β-catenin expression was down-regulated by 67.7%, and glioma-associated oncogene 1 (Gli1) expression was up-regulated by 53.5% in MHCC-97H cells. The expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) was significantly decreased (54.2%, t = 46.746, P < 0.001) in cells transfected with shRNA1 compared with control cells.

CONCLUSION: shRNA-mediated GPC-3 knockdown inhibits the migration, invasion and angiogenesis of hepatoma cells possibly through Wnt/β-catenin and Hh signaling pathways.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Hepatocellular carcinoma; GPC-3; shRNA; Angiogenesis

Tai BJ, Yao M, Wang L, Qian Q, Shi Y, Yu DD, Lu SL, Yao

■背景资料
肝癌是我国常见的恶性肿瘤, 他的早期诊断与转移监测是全球医学界的难题. 胎肝和肝癌组织中磷脂酰肌醇蛋白多糖-3(glypican-3, GPC-3)过表达, GPC-3分析已是肝癌特异诊断的生物标志, 有望成为抑制肝癌生长与转移的靶目标.

■同行评议者
高润平, 教授, 吉林大学第一医院肝胆胰内科

■研发前沿
癌胚型GPC-3激活促进肝细胞恶性转化与肝癌的转移发生，新近证实GPC-3表达与Wnt/β-catenin信号通路与肝癌发展密切相关，调控肝细胞生长、分化、增殖和凋亡，可为肝癌基因治疗带来新契机.

DF. Down-regulation of glypican-3 gene transcription inhibits hepatoma cell invasion and angiogenesis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(16): 2221-2228 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2221.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i16.2221

摘要

目的: 观察以短发夹RNA(short hairpin RNA, shRNA)下调磷脂酰肌醇蛋白多糖-3(glypican-3, *GPC-3*)基因转录, 对抑制肝癌MHCC-97H细胞侵袭和血管新生的作用与机制.

方法: 将对GPC-3特异性shRNA转染肝癌MHCC-97H细胞, 以荧光定量PCR和Western blot分析GPC-3 mRNA及蛋白表达; 以5-ethynyl-2'-deoxyuridine(EdU)和Transwell法等评估细胞增殖、迁移和侵袭能力.

结果: shRNA1转染MHCC-97H细胞, GPC-3在mRNA水平下降75.6%(t = 15.473, P<0.001), 蛋白表达同步下调; 干预*GPC-3*基因转录, 可抑制肝癌细胞增殖, 细胞迁移与侵袭能力减低, 与抗癌药物具协同作用; Wnt/β-catenin中β-catenin表达下调67.7%; Hedgehogs通路中脑胶质瘤相关癌基因1(glioma-associated oncogene 1, *Gli1*)表达上调53.3%; shRNA1转染72 h细胞血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)表达下调54.2%(t = 46.746, P<0.001).

结论: shRNA下调GPC-3转录, 经Wnt/β-catenin和Hh信号通路抑制癌细胞迁移、侵袭和血管新生, 为肝癌基因治疗潜在的分子靶目标.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 肝细胞性癌; 磷脂酰肌醇蛋白聚糖-3; shRNA; 血管新生

核心提示: 以特异性短发夹RNA(short hairpin RNA, shRNA)沉默磷脂酰肌醇蛋白多糖-3(glypican-3, *GPC-3*)基因转录, 分析Wnt/β-catenin通路β-catenin和Hedgehogs通路中脑胶质瘤相关癌基因1(glioma-associated oncogene 1, Gli1)表达的作用, 干预GPC-3转录抑制肝癌细胞侵袭和血管新生.

邵伯军, 姚敏, 王理, 钱琦, 时杨, 蔚丹丹, 陆少林, 姚登福. 下调*GPC-3*基因转录对肝癌细胞侵袭及血管新生的抑制作用. 世界华人消化杂志 2014; 22(16): 2221-2228 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2221.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i16.2221

0 引言

磷脂酰肌醇蛋白聚糖-3(glypican-3, GPC-3)在正常肝组织中未见表达, 胎肝和肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)组织呈过表达状态[1,2], 是HCC肝癌特异诊断最有应用前景的生物标志[3,4]. HCC进展快、复发率高和预后差, 与肝癌的血管新生、癌细胞的高侵袭性等诸多因素相关[5,6]. GPC-3蛋白锚定于细胞膜, 与Wnt/β-catenin和Hedgehogs(Hh)等信号通路密切相关[7,8]; 肝癌发生发展过程中, Wnt/β-catenin通路异常激活, β-连环蛋白积聚, 对肝癌细胞增殖和生长起促进作用; Hh通路信号增强, 激活锌指转录因子脑胶质瘤相关癌基因1(glioma-associated oncogene 1, *Gli1*), 在组织架构、癌细胞增殖和分化方面发挥作用[9-11]; 然而, 肝组织GPC-3过表达与肝癌细胞侵袭和血管新生的关系以及作用机制尚待阐明[12,13]. 本文以特异性shRNA沉默*GPC-3*基因转录, 观察对Wnt/β-catenin通路中β-catenin和Hh通路中Gli1表达的作用, 分析干预GPC-3转录对肝癌细胞迁移侵袭和血管新生的影响.

1 材料和方法

1.1 材料 人HepG2及MHCC-97H细胞株购自中科院上海细胞库; DMEM完全培养基购自Gibco公司; GPC-3和GAPDH引物由TaKaRa公司设计合成; β-catenin和Gli1引物由Invitrogen公司合成; TRIzol试剂、LipoD293™和GenJet™转染试剂均购自Invitrogen公司; GPC-3购自美国Abcam公司; 基质胶购自BD公司; 血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)ELISA检测试剂盒购自上海蓝基公司.

1.2 方法

1.2.1 质粒构建和转染: 按文献[14]合成并构建4种干扰序列和阴性对照序列. 细胞以含10%FBS DMEM完全培养基于37 ℃含5%CO_2培养箱培养. 转染前24 h将融合度为70%左右细胞接种6孔板中, 于转染前1 h更换新培养基. 最有效的shRNA1(正向: 5'-CACCGCGGTTACTGCAATGTGGTCATTCAAGAGATGACCA CATTGCAGTAACCGCTTTTTTG-3', 反向: 5'-GATCCAAAAAAGCGGTTACTGCAATGTGGTCATCTCTTGAATGACCACATTGCAGTAACCGC-3')作为干扰组及阴性对照(正向: 5'-CACCGTTCTCCGAACGTGTCACGTCAAGAGAT-

TACGTGACACGTTCGGAGAATTTTTTG-3', 反向5'-GATCCAAAAAATTCTCCGAACGTGTCACGTAATCTCTTGACGTGACACGTTCGGAGAAC-3')质粒作为阴性对照组分别用LipoD293^{TM}转染试剂转染至MHCC-97H细胞, 并培养未处理细胞作为空白对照. 将shRNA(沉默GPC-3有效序列)作为干扰组及阴性对照质粒作为阴性对照组分别用GenJet^{TM}(Ver Ⅱ for HepG2细胞)转染试剂转染至HepG2细胞, 培养未处理HepG2细胞作为空白对照. 12-18 h后换液, 继续培养.

1.2.2 总RNA提取、引物及荧光定量PCR: MHCC-97H细胞分别设转染组4组, 阴性对照及空白对照(n = 3). 转染48 h后, 以TRIzol试剂提取细胞总RNA. 检测总RNA及$A_{260/280}$. 引物序列(5'-3'): GPC-3(NM_004484), F-CGAGATAAGCACCTTTCACAACC和R-AGAAGAAGCACACCACCGAGA; β-catenin(NM-001904), F-AAAGCGGCTGTTAGTCACTGG和R-AAAGCGGCTGTTAGTCACTGG; Gli1(NM-005269), F-GCACCACATCAACAGTGAGC和R-GCGTCTTGAGGTTTTCAAGG; GAPDH(NM_017008), F-CAAGGTCATCCATGACAACTTTG和R-GTCCACCACCCTGTTGCTGTAG. RT-PCR扩增参数如下: 95 ℃ 30 s, 94 ℃ 5 s, 60 ℃ 45 s, 40个循环, 4 ℃保存. 以Ct比较法对*GPC-3*基因相对定量: 即ΔCt = $Ct_{目的基因}$-$Ct_{内参基因}$, 相对表达量 = $2^{-\Delta\Delta Ct}$.

1.2.3 Western blot检测蛋白浓度: 转染细胞及空白对照细胞, 于转染48 h后收集细胞, 提取蛋白后以BCA法定量. 制备10%SDS聚丙烯酰胺凝胶, 每泳道蛋白量50 μg, 加5×SDS上样缓冲液, 封口膜封口后于沸水煮8 min上样, 电泳恒压60 V×40 min, 后110 V×60 min, 转移至PVDF膜(膜在甲醇浸泡于转膜缓冲液中平衡10 min), 配制5%脱脂牛奶封闭液(脱脂奶粉2.5 g+TBS-T 50 mL)于玻璃平皿中, 室温下脱色摇床封闭1 h. 取膜用TBS-T漂洗5 min×4次. 加兔抗人GPC-3(1∶250)或β-catenin(美国CST公司, 1∶1000)或Gli1(美国CST公司, 1∶1000), β-actin抗体(1∶1000)作为内参, 4 ℃过夜, 洗涤, 辣根过氧化物酶标记的羊抗兔及羊抗鼠IgG二抗(1∶1000)孵育1 h, 洗涤后ECL显色并拍照.

1.2.4 细胞增殖分析: 细胞转染48 h后, 胰蛋白酶消化细胞, 调整细胞浓度为1×10^4/孔, 细胞贴壁后每孔加入100 μL 50 μmol/L EdU培养基孵育2 h, PBS洗涤2遍, 加4%多聚甲醛固定液, 室温孵育30 min, 每孔加入100 μL 1×Apollo®染色反应液, 室温、避光、脱色摇床孵育30 min后加入100 μL含0.5%TritonX-100的PBS脱色摇床清洗3次, 每孔加入100 μL 1×Hoechst33342反应液, 避光、室温、脱色摇床孵育30 min, PBS漂洗3遍, 立即于倒置荧光显微镜下观察并拍照.

1.2.5 划痕试验分析细胞愈合能力: MHCC-97H细胞于转染48 h后, 当融合度为90%左右时, 用10 μL无菌移液器枪头在培养细胞的6孔板平皿中央划出一条直径为1 mm左右的直线划痕, PBS轻洗3遍, 洗去漂浮的脱落细胞, 每孔加入2 mL无血清培养基, 在倒置相差显微镜下取划痕处几个不同视野拍照(0 h), 继续于37 ℃含5%CO_2培养箱中培养24 h并拍照, 观察各组细胞由划痕边缘向划痕中央迁移后剩下距离(mm, ×200), 根据划痕部位细胞愈合的相对距离判断细胞运动能力. 划痕愈合率(%) = (0 h划痕宽度-24 h划痕宽度)/0 h划痕宽度×100%.

1.2.6 Transwell法分析迁移能力: 先将Matrigel胶用无血清DMEM-H培养基1∶3稀释, 每个侵袭小室加60 μL, 迁移实验不加Matrigel. 各细胞转染48 h后, 胰蛋白酶消化, PBS洗涤2遍, 用无血清培养基调整细胞浓度为1.0×10^6/mL, 每孔取100 μL接种于Transwell小室上室, 下室加入600 μL完全培养基, 37 ℃, 5%CO_2培养箱培养24 h后检测, 迁移20 h后检测. 棉签擦去滤膜上层贴壁生长但未能穿过膜细胞, 将上室置于950 mL/L乙醇室温固定30 min, 0.1%结晶紫染色15 min后, 置显微镜下观察并拍照, 任取中央及四周5个低倍视野(200×)细胞计数(n = 3), 计算平均值; 33%醋酸脱色, 酶标仪测A_{570}, 侵袭抑制率(%) = [(A对照-A转染)/A对照]×100%.

1.2.7 β-catenin及胰岛素样生长因子Ⅱ(insulin-like growth factor Ⅱ, IGF-Ⅱ)荧光分析: 转染48 h后, 胰酶消化细胞, 调整细胞为2×10^5/mL, 接种于铺有无菌盖玻片6孔板内, 培养24 h后细胞贴壁爬片, 取出盖玻片, PBS洗3遍, 用4%多聚甲醛固定30 min, 0.5%Triton-100透膜处理15 min, PBS洗3遍后用含5%BSA封闭1 h, PBS漂洗, 兔抗人β-catenin抗体(1∶100)、鼠抗人IGF-Ⅱ抗体(1∶100)分别于4℃过夜, PBS漂洗3遍后用Cy3标记抗兔或抗小鼠荧光二抗(1∶1000)室温避光孵育1 h, PBS漂洗3遍, 添加DAPI避光染色15 min, 洗涤后滴加抗荧光淬灭封闭液封片, 于倒置荧光显微镜下观察并拍照.

■相关报道

Yao等报道人肝癌组织GPC-3阳性率为80.6%, 远癌组织未见阳性; 肝癌患者外周血GPC-3 mRNA阳性率为70.7%, 肝癌伴远处转移患者阳性为100%, 提示GPC-3及基因转录与肝癌密切相关, 是否具有基因治疗价值有待证实.

■创新盘点

本研究构建靶向肝癌GPC-3的高效、特异的shRNA干扰质粒，在体外，成功转染具高转移潜能MHCC-97H细胞，下调*GPC-3*基因转录明显抑制肝癌细胞增殖，证实其机制为抑制Wnt/β-catenin通路关键信号分子发挥作用.

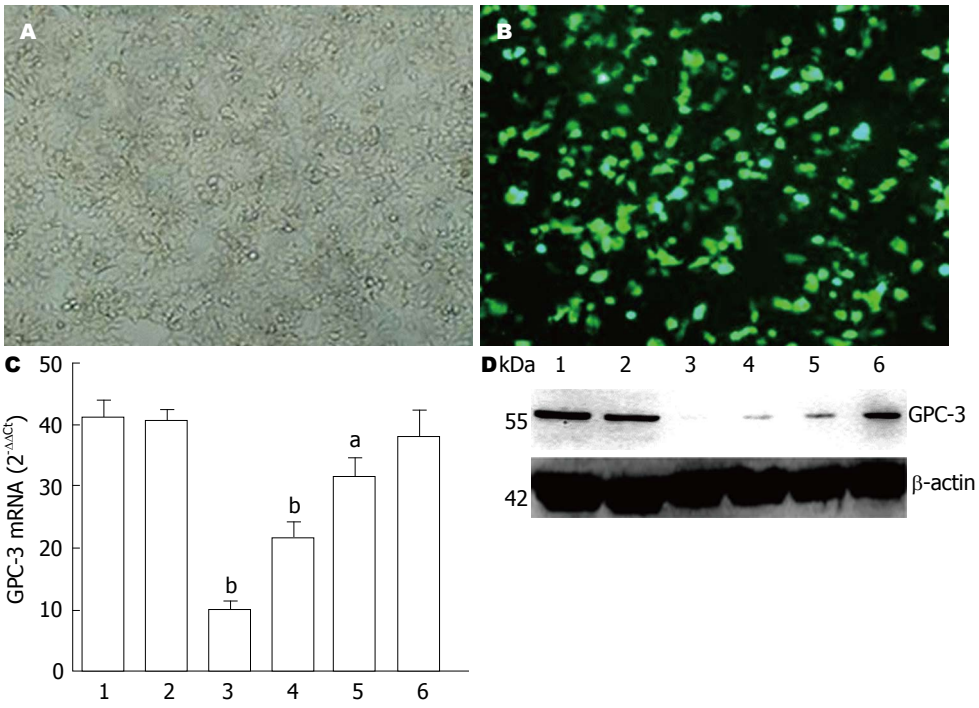


图 1 shRNA1转染影响肝癌细胞GPC-3转录与蛋白表达. A: MHCC97H细胞转染明场图; B: 荧光图(×100); C: 采用实时定量PCR检测GPC-3 mRNA表达. ^aP<0.05, ^bP<0.01 *vs* 空白组; D: Western blot分析MHC-97H细胞GPC-3表达. 1: 空白组; 2: 阴性组; 3: GPC-3 shRNA1; 4: GPC-3 shRNA2; 5: GPC-3 shRNA3; 6: GPC-3 shRNA4. GPC-3: 磷脂酰肌醇蛋白多糖-3.

1.2.8 VEGF定量: 将shRNA1质粒及阴性对照转染至细胞, 设置未处理细胞为空白组, 分别于24、48和72 h收集细胞上清液(n = 3), 按ELISA试剂盒说明操作检测VEGF含量.

统计学处理 所有数据采用SPSS17.0和GraphPad Prism 5.0统计分析软件进行分析处理及作图, 所有计量资料以mean±SD表示, 样本均数两两比较采用独立样本t检验, 多样本均数比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA), P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 shRNA转染下调肝癌细胞GPC-3转录与表达 将GPC-3特异的shRNA转染人肝癌MHCC-97H细胞, 培养、荧光显微镜观察(n = 5)、拍照, 计算转染效率(图1A, B). 结果显示转染效率在80%以上, 4种shRNA转染对MHCC-97H细胞GPC-3 mRNA均有干扰, shRNA1、shRNA2、shRNA3和shRNA4分别为75.6%、47.5%、22.8%和6.7%, 其中shRNA1对MHCC-97H细胞GPC-3 mRNA转录沉默效果最佳(图1C), (t =15.473, P<0.001); 在MHCC-97H细胞GPC-3蛋白水平上, Western blot分析显示以shRNA1明显抑制GPC-3蛋白表达, 干扰效果最好(图1D).

2.2 shRNA抑制肝癌细胞迁移及侵袭能力 干预MHCC-97H细胞GPC-3转录后, 空白组、对照组和干扰组划痕实际平均宽度(n = 3), 0 h分别为210.7、201.3和228.3 mm, 24 h分别为142.7、141.6和213.6 mm, 划痕愈合率(图2A)分别为32.2%、27.4%和6.4%, 干扰组MHCC-97H细胞的划痕愈合速度明显慢于空白组(t = 32.697, P< 0.001), (图2B); 以Transwell法分析MHCC-97H细胞侵袭能力, 沉默GPC-3表达后显示肝癌细胞侵袭力明显受抑. 与空白组相比, MHCC-9H细胞侵袭抑制率为69.1%(t = 39.647, P<0.001).

2.3 shRNA转染影响β-catenin和Gli1表达 转染GPC-3-shRNA1及阴性对照质粒于HCC细胞, 检测β-catenin及Gli1mRNA水平, 显示下调β-catenin mRNA(图3A)并上调Gli1 mRNA表达(图3B); 与空白组相比, MHCC97-H细胞中β-catenin mRNA抑制67.7%(t = 18.4, P<0.001); Gli1 mRNA上调53.3%(t = -4.824, P = 0.008); Western blot分析显示β-catenin明显下调, Gli1明显上调(图3C).

2.4 shRNA转染下调IGF-Ⅱ表达 免疫荧光显示IGF-Ⅱ广泛存在于MHCC-97H细胞膜、细胞浆和细胞核; shRNA1转染沉默MHCC-97H细胞中GPC-3表达后, 细胞中IGF-Ⅱ表达明显下调, MHCC-97H细胞凋亡明显增加(图4).

2.5 shRNA转染下调VEGF表达 ELISA法检测

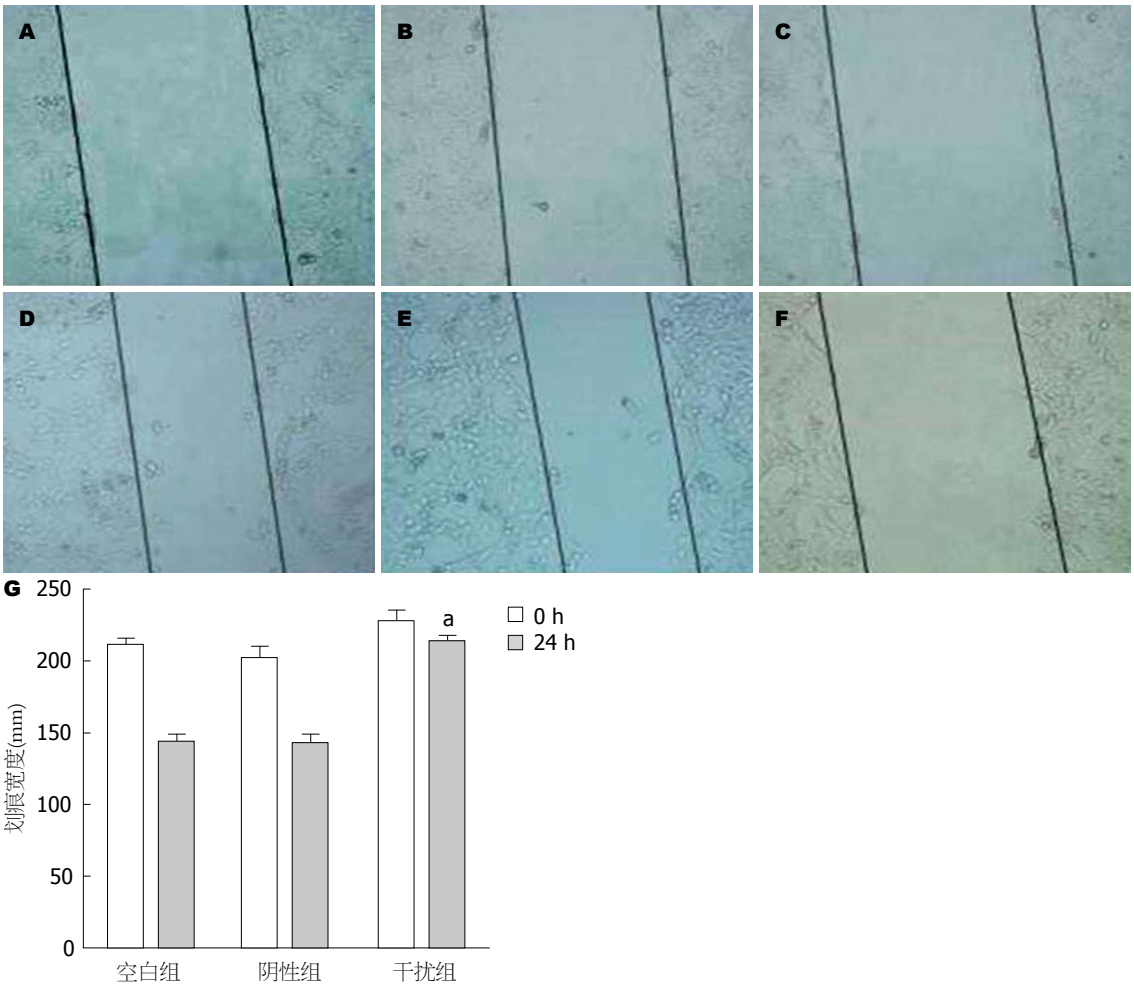


图 2 沉默GPC-3后MHCC-97H细胞划痕结果. A: 0 h空白组; B: 0 h阴性组; C: 0 h干扰组; D: 24 h空白组; E: 24 h阴性组; F: 24 h干扰组; G: MHCC-97H细胞划痕后0和24 h的实际宽度(mm). ^{a}P<0.001 *vs* 空白组. GPC-3: 磷脂酰肌醇蛋白多糖-3.

MHCC-97H细胞中VEGF表达, 显示下调MHCC-97H细胞中GPC-3的表达后VEGF明显下调且呈时间依赖性. MHCC-97H细胞干扰组24、48和72 h与MHCC-97H细胞空白组相比, VEGF表达分别下降36.8%(t_{24} = 14.543, P<0.001)、46.2%(t_{48} = 55.212, P<0.001)和54.2%(t_{72} = 46.746, P< 0.001).

3 讨论

位于X染色体(Xq26)的GPC-3, 其核心蛋白由40 kDa的氨基末端亚基和30 kDa的羧基末端亚基组成, 通过糖基磷脂酰肌醇锚定于细胞膜表面[15,16]. 羧基末端接近细胞膜的区域含有两条硫酸类肝素聚糖链. 葡糖氨基聚糖参与调节多条信号通路, 与多种生长因子如Wnts、Hh、胰岛素样生长因子Ⅱ(insulin-like growth factor Ⅱ, IGF-Ⅱ)、转化生长因子-β、成纤维生长因子及骨形态生成蛋白等结合并介导HCC发生发展[17,18]; 通过调节基质金属蛋白酶和尿激酶型纤溶酶原激活物水解细胞外基质、促进肿瘤侵袭与转移[19,20]. 本文构建高效特异的GPC-3-shRNA干扰质粒, 转染具有高转移潜能肝癌MHCC-97H细胞观察下调*GPC-3*基因转录对肝癌细胞增殖和血管形成的影响、分析对肝癌相关Wnt/β-catenin通路中关键信号分子的表达与改变特征.

GPC-3以调节自分泌/旁分泌的经典Wnt信号通路刺激HCC细胞生长, 其过表达可使细胞结合Wnt能力增强. Wnts与HS链结合形成磷脂酰蛋白聚糖-Wnt/生长因子复合物, 在硫酸酯酶-2(sulfatase 2, SULF-2)作用下Wnts从HS链上释放, 与Frizzled受体结合进而激活Wnt/Frizzled下游区域的信号转导, 促进HCC细胞增殖[21,22]. shRNA有效干预*GPC-3*基因转录, 显示shRNA1可显著抑制细胞增殖、迁移和侵袭, 可影响肝癌相关Wnt/β-catenin和Hh通路. β-catenin是Wnt/β-catenin信号通路的关键分子, Wnt信号激活将致β-catenin在胞内大量积聚, 进入胞核触发肝癌发生等. shRNA1转染MHCC-97H细胞后, 在mRNA水平上β-catenin下调67.7%; 但Gli1分

■应用要点
在体外以高效、特异的shRNA干扰肝癌GPC-3转录, 明显抑制肝癌细胞增殖, 显示在肝癌过表达的GPC-3为新发现治疗靶点, 需更多的肝癌发生或动态体内模型深入研究, 论证干预*GPC-3*基因转录有助于肝癌的靶向治疗.

■同行评价
作者构建与筛选出对肝癌GPC-3干预具有的特异性shRNA, 转染肝癌MHCC-97H细胞, 显著抑制肝癌细胞迁移和侵袭作用.

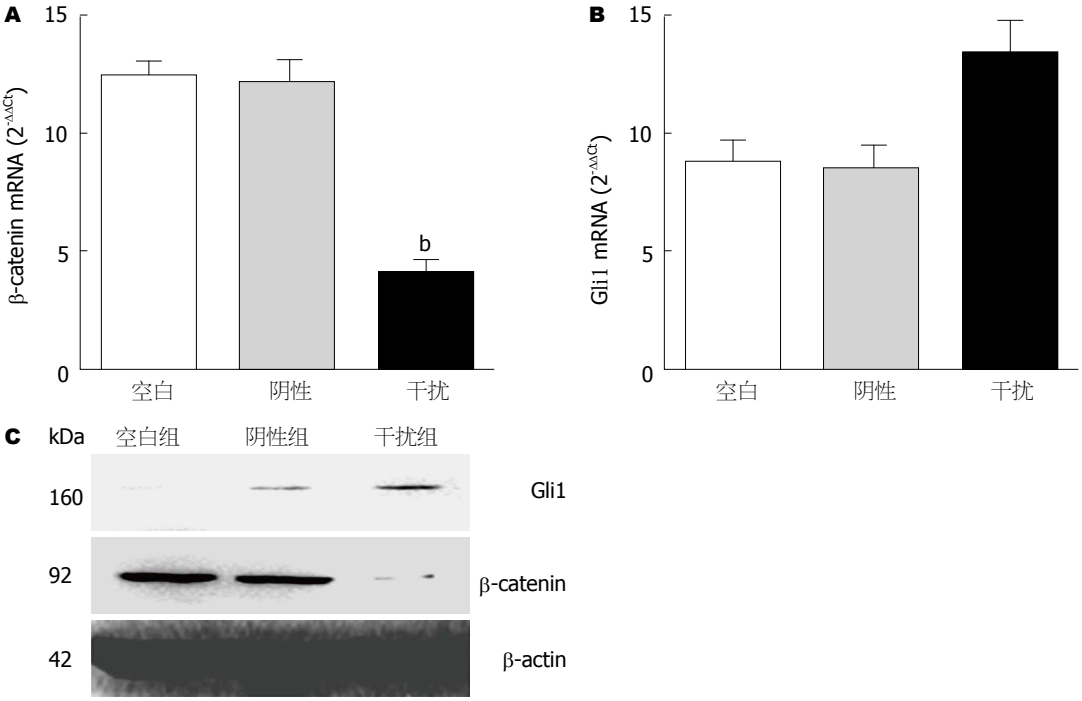


图 3 沉默GPC-3后MHCC-97H细胞β-catenin下调和Gli1上调. A: β-catenin mRNA相对表达; B: Gli1 mRNA; C: β-catenin及Gli1蛋白表达. GPC-3: 磷脂酰肌醇蛋白多糖-3; Gli1: 脑胶质瘤相关癌基因1. [b]P<0.001.

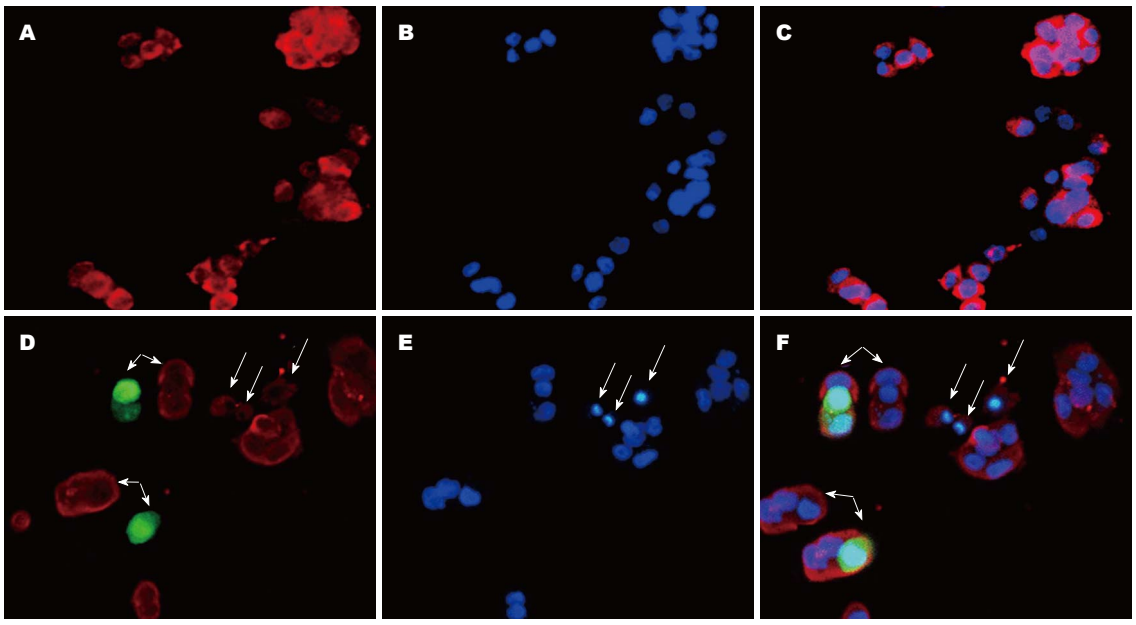


图 4 沉默GPC-3下调MHCC-97H细胞IGF-Ⅱ表达并诱导凋亡(×200). A: 对照组IGF-Ⅱ图; B: 对照组DAPI图; C: 对照组Merge图; D: GPC-3 shRNA1干扰组IGF-Ⅱ图; E: GPC-3 shRNA1 DAPI图; F: GPC-3 shRNA1 Merge图. 白色箭头为β-catenin下调最显著, 单个箭头所示为细胞凋亡. GPC-3: 磷脂酰肌醇蛋白多糖-3.

别上调53.3%. 沉默GPC-3可下调β-catenin并上调Gli1表达; 推测GPC-3可经上调β-catenin激活Wnt/β-catenin通路[23,24], 与Hh竞争结合Ptch受体下调Gli1表达而抑制Hh通路[9,25], 促进肝癌发展.

下调*GPC-3*基因转录影响肝癌相关信号通路, 是否影响新血管生成, 本文观察了对IGF-Ⅱ和VEGF的表达. 肝脏是合成和分泌IGF-Ⅱ主要器官, 癌变过程中激活启动子P3产生胚胎表型逆转, 使IGF-Ⅱ过表达. IGF-Ⅱ调节胚胎生长发育、刺激DNA合成、促进细胞有丝分裂, 在肝癌转移中起重要作用[26,27]. 下调MHCC-97H细胞GPC-3表达, IGF-Ⅱ表达显著下调, 并诱导细胞

凋亡; VEGF为多功能细胞因子, 具有促内皮细胞分裂、增殖和血管构建, 细胞迁移, 诱导蛋白水解酶、间质胶原酶和组织因子表达. 癌组织VEGF过表达, 启动新生血管形成是肝癌生长、侵袭和转移基础, 为癌细胞播散途径[28,29]. 下调GPC-3明显抑制VEGF表达, 且呈时间依赖性, 显示靶向GPC-3可潜在抑制肝癌细胞转移发生.

肝癌是我国常见的恶性肿瘤, 为典型多血管肿瘤, 肝细胞癌变机制复杂, 多种信号通路参与. 新生血管形成同样是肝癌细胞增殖和转移的重要条件, 血管生长因子经与特异性受体结合, 直接刺激内皮细胞增殖, 并增加血管通透性, 不仅促进新生血管形成, 且有利于脱落的肝癌细胞进入血管或向肝外转移. 肝癌GPC-3高表达, 为有助于早期诊断特异标志[30]; 癌胚型GPC-3激活促进肝细胞恶性转化与肝癌的转移发生[31], 新近证实*GPC-3*基因有可能成为HCC靶向治疗的潜在分子靶目标, Wnt/β-catenin信号通路与HCC发展密切相关, 调控肝细胞生长、分化、增殖和凋亡, 也为癌症的诊断和治疗带来契机.

4 参考文献

1 Qiao SS, Cui ZQ, Gong L, Han H, Chen PC, Guo LM, Yu X, Wei YH, Ha SA, Kim JW, Jin ZT, Li S, Peng JR, Leng XS. Simultaneous measurements of serum AFP, GPC-3 and HCCR for diagnosing hepatocellular carcinoma. *Hepatogastroenterology* 2011; 58: 1718-1724 [PMID: 21940340]

2 Yao M, Yao DF, Bian YZ, Zhang CG, Qiu LW, Wu W, Sai WL, Yang JL, Zhang HJ. Oncofetal antigen glypican-3 as a promising early diagnostic marker for hepatocellular carcinoma. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2011; 10: 289-294 [PMID: 21669573 DOI: 10.1016/S1499-3872(11)60048-9]

3 Liu XF, Hu ZD, Liu XC, Cao Y, Ding CM, Hu CJ. Diagnostic accuracy of serum glypican-3 for hepatocellular carcinoma: a systematic review and meta-analysis. *Clin Biochem* 2014; 47: 196-200 [PMID: 24362268 DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2013.12.007]

4 Zaakook M, Ayoub M, Sinna EA, El-Sheikh S. Role of glypican-3 immunocytochemistry in differentiating hepatocellular carcinoma from metastatic carcinoma of the liver utilizing fine needle aspiration cytology. *J Egypt Natl Canc Inst* 2013; 25: 173-180 [PMID: 24207089 DOI: 10.1016/j.jnci.2013.07.004]

5 Cheng J, Wang W, Zhang Y, Liu X, Li M, Wu Z, Liu Z, Lv Y, Wang B. Prognostic role of pre-treatment serum AFP-L3% in hepatocellular carcinoma: systematic review and meta-analysis. *PLoS One* 2014; 9: e87011 [PMID: 24498011 DOI: 10.1371/journal.pone.0087011]

6 Kennedy AS, Sangro B. Nonsurgical treatment for localized hepatocellular carcinoma. *Curr Oncol Rep* 2014; 16: 373 [PMID: 24488546]

7 Gao W, Ho M. The role of glypican-3 in regulating Wnt in hepatocellular carcinomas. *Cancer Rep* 2011; 1: 14-19 [PMID: 22563565]

8 Zheng X, Zeng W, Gai X, Xu Q, Li C, Liang Z, Tuo H, Liu Q. Role of the Hedgehog pathway in hepatocellular carcinoma (review). *Oncol Rep* 2013; 30: 2020-2026 [PMID: 23970376]

9 Lu JT, Zhao WD, He W, Wei W. Hedgehog signaling pathway mediates invasion and metastasis of hepatocellular carcinoma via ERK pathway. *Acta Pharmacol Sin* 2012; 33: 691-700 [PMID: 22543708 DOI: 10.1038/aps.2012.24]

10 Philips GM, Chan IS, Swiderska M, Schroder VT, Guy C, Karaca GF, Moylan C, Venkatraman T, Feuerlein S, Syn WK, Jung Y, Witek RP, Choi S, Michelotti GA, Rangwala F, Merkle E, Lascola C, Diehl AM. Hedgehog signaling antagonist promotes regression of both liver fibrosis and hepatocellular carcinoma in a murine model of primary liver cancer. *PLoS One* 2011; 6: e23943 [PMID: 21912653 DOI: 10.1371/journal.pone.0023943]

11 Allan BJ, Wang B, Davis JS, Parikh PP, Perez EA, Neville HL, Sola JE. A review of 218 pediatric cases of hepatocellular carcinoma. *J Pediatr Surg* 2014; 49: 166-171; discussion 171 [PMID: 24439603 DOI: 10.1016/j.jpedsurg.2013.09.050]

12 Huang X, Hollinger FB. Occult hepatitis B virus infection and hepatocellular carcinoma: a systematic review. *J Viral Hepat* 2014; 21: 153-162 [PMID: 24438677]

13 Higgins MC, Soulen MC. Combining locoregional therapies in the treatment of hepatocellular carcinoma. *Semin Intervent Radiol* 2013; 30: 74-81 [PMID: 24436520]

14 Yu D, Dong Z, Yao M, Wu W, Yan M, Yan X, Qiu L, Chen J, Sai W, Yao D. Targeted glypican-3 gene transcription inhibited the proliferation of human hepatoma cells by specific short hairpin RNA. *Tumour Biol* 2013; 34: 661-668 [PMID: 23192642 DOI: 10.1007/s13277-012-0593-y]

15 Enan ET, El-Hawary AK, El-Tantawy DA, Abu-Hashim MM, Helal NM. Diagnostic role of glypican 3 and CD34 for differentiating hepatocellular carcinoma from nonmalignant hepatocellular lesions. *Ann Diagn Pathol* 2013; 17: 490-493 [PMID: 24012547 DOI: 10.1016/j.anndiagpath.2013.08.001]

16 Witjes CD, ten Kate FJ, Verhoef C, de Man RA, IJzermans JN. Immunohistochemical characteristics of hepatocellular carcinoma in non-cirrhotic livers. *J Clin Pathol* 2013; 66: 687-691 [PMID: 23585667 DOI: 10.1136/jclinpath-2012-201156]

17 Yao M, Yao DF, Bian YZ, Wu W, Yan XD, Yu DD, Qiu LW, Yang JL, Zhang HJ, Sai WL, Chen J. Values of circulating GPC-3 mRNA and alpha-fetoprotein in detecting patients with hepatocellular carcinoma. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2013; 12: 171-179 [PMID: 23558072 DOI: 10.1016/S1499-3872(13)60028-4]

18 Lagana SM, Salomao M, Bao F, Moreira RK, Lefkowitch JH, Remotti HE. Utility of an immunohistochemical panel consisting of glypican-3, heat-shock protein-70, and glutamine synthetase in the distinction of low-grade hepatocellular carcinoma from hepatocellular adenoma. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2013; 21: 170-176 [PMID: 22914605]

19 Shirakawa H, Suzuki H, Shimomura M, Kojima M, Gotohda N, Takahashi S, Nakagohri T, Konishi M, Kobayashi N, Kinoshita T, Nakatsura T. Glypican-3 expression is correlated with poor progno-

sis in hepatocellular carcinoma. *Cancer Sci* 2009; 100: 1403-1407 [PMID: 19496787 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2009.01206.x]

20 Daniele A, Divella R, Quaranta M, Mattioli V, Casamassima P, Paradiso A, Garrisi VM, Gadaleta CD, Gadaleta-Caldarola G, Savino E, Maci R, Bellizzi A, Fazio V. Clinical and prognostic role of circulating MMP-2 and its inhibitor TIMP-2 in HCC patients prior to and after trans-hepatic arterial chemoembolization. *Clin Biochem* 2014; 47: 184-190 [PMID: 24355694 DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2013.11.022]

21 Marquardt JU, Quasdorff M, Varnholt H, Curth HM, Mesghenna S, Protzer U, Goeser T, Nierhoff D. Neighbor of Punc E11, a novel oncofetal marker for hepatocellular carcinoma. *Int J Cancer* 2011; 128: 2353-2363 [PMID: 20658536 DOI: 10.1002/ijc.25567]

22 O'Beirne J, Farzaneh F, Harrison PM. Generation of functional CD8+ T cells by human dendritic cells expressing glypican-3 epitopes. *J Exp Clin Cancer Res* 2010; 29: 48 [PMID: 20465843 DOI: 10.1186/1756-9966-29-48]

23 Gu DL, Chen YH, Shih JH, Lin CH, Jou YS, Chen CF. Target genes discovery through copy number alteration analysis in human hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 8873-8879 [PMID: 24379610 DOI: 10.3748/wjg.v19.i47.8873]

24 Liu J, Ruan B, You N, Huang Q, Liu W, Dang Z, Xu W, Zhou T, Ji R, Cao Y, Li X, Wang D, Tao K, Dou K. Downregulation of miR-200a induces EMT phenotypes and CSC-like signatures through targeting the β-catenin pathway in hepatic oval cells. *PLoS One* 2013; 8: e79409 [PMID: 24260215 DOI: 10.1371/journal.pone.0079409]

25 Arzumanyan A, Sambandam V, Clayton MM, Choi SS, Xie G, Diehl AM, Yu DY, Feitelson MA. Hedgehog signaling blockade delays hepatocarcinogenesis induced by hepatitis B virus X protein. *Cancer Res* 2012; 72: 5912-5920 [PMID: 22986746 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-12-2329]

26 Pan Z, Chen C, Long H, Lei C, Tang G, Li L, Feng J, Chen F. Overexpression of GPC3 inhibits hepatocellular carcinoma cell proliferation and invasion through induction of apoptosis. *Mol Med Rep* 2013; 7: 969-974 [PMID: 23338845]

27 Kessler SM, Pokorny J, Zimmer V, Laggai S, Lammert F, Bohle RM, Kiemer AK. IGF2 mRNA binding protein p62/IMP2-2 in hepatocellular carcinoma: antiapoptotic action is independent of IGF2/PI3K signaling. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2013; 304: G328-G336 [PMID: 23257922 DOI: 10.1152/ajpgi.00005.2012]

28 Wang D, Luo L, Chen W, Chen LZ, Zeng WT, Li W, Huang XH. Significance of the vascular endothelial growth factor and the macrophage migration inhibitory factor in the progression of hepatocellular carcinoma. *Oncol Rep* 2014; 31: 1199-1204 [PMID: 24366206]

29 Moeini A, Cornellà H, Villanueva A. Emerging signaling pathways in hepatocellular carcinoma. *Liver Cancer* 2012; 1: 83-93 [PMID: 24159576]

30 Bertino G, Ardiri A, Malaguarnera M, Malaguarnera G, Bertino N, Calvagno GS. Hepatocellualar carcinoma serum markers. *Semin Oncol* 2012; 39: 410-433 [PMID: 22846859 DOI: 10.1053/j.seminoncol.2012.05.001]

31 Nassar A, Cohen C, Siddiqui MT. Utility of glypican-3 and survivin in differentiating hepatocellular carcinoma from benign and preneoplastic hepatic lesions and metastatic carcinomas in liver fine-needle aspiration biopsies. *Diagn Cytopathol* 2009; 37: 629-635 [PMID: 19405109 DOI: 10.1002/dc.21075]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com
世界华人消化杂志 2014年6月8日; 22(16): 2229-2236
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

基础研究 BASIC RESEARCH

CXCR4转染的骨髓间充质干细胞靶向治疗急性肝衰竭

马虎成, 施晓雷, 任昊桢, 袁献温, 丁义涛

马虎成, 施晓雷, 任昊桢, 袁献温, 丁义涛, 南京大学医学院附属鼓楼医院肝胆外科 江苏省南京市 210008
马虎成, 主要从事终末期肝病的治疗.
国家自然科学基金资助项目, No. 81170418
江苏省自然科学基金资助项目, No. BK20131084
作者贡献分布: 课题由施晓雷与马虎成设计; 研究过程由马虎成与任昊桢完成; 研究所用试剂与分析工具由袁献温与丁义涛提供; 数据分析由施晓雷与任昊桢完成; 本论文写作由马虎成、施晓雷及丁义涛完成.
通讯作者: 丁义涛, 教授, 博士生导师, 210008, 江苏省南京市鼓楼区中山路321号, 南京大学医学院附属鼓楼医院肝胆外科. yitaoding@hotmail.com
收稿日期: 2014-02-13 修回日期: 2014-04-03
接受日期: 2014-04-09 在线出版日期: 2014-06-08

Genetically modified mesenchymal stem cells overexpressing CXCR4 show increased colonization ability and confer better liver regeneration in mice

Hu-Cheng Ma, Xiao-Lei Shi, Hao-Zhen Ren, Xian-Wen Yuan, Yi-Tao Ding

Hu-Cheng Ma, Xiao-Lei Shi, Hao-Zhen Ren, Xian-Wen Yuan, Yi-Tao Ding, Department of Hepatobiliary Surgery, Affiliated DrumTower Hospital of Nanjing University Medical School, Nanjing 210008, Jiangsu Province, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81170418; Natural Science Foundation of Jiangsu Province, No. BK20131084
Correspondence to: Yi-Tao Ding, Professor, Department of Hepatobiliary Surgery, Affiliated Drum Tower Hospital of Nanjing University Medical School, 321 Zhongshan Road, Nanjing 210008, Jiangsu Province, China
Received: 2014-02-13 **Revised:** 2014-04-03
Accepted: 2014-04-09 **Published online:** 2014-06-08

Abstract

AIM: To explore whether mesenchymal stem cells (MSCs) overexpressing CXCR4 show increased colonization ability and confer better liver regeneration in mice.

METHODS: MSCs were modified with CXCR4 gene (CXCR4-MSCs) or not (Null-MSCs) through lentiviral transduction. The characteristics of CXCR4-MSCs and Null-MSCs were determined by RT-PCR and flow cytometry. CXCR4-MSCs and Null-MSCs were infused intravenously 24 h after administration of CCl_4 in nude mice. The concentration of SDF-1α in the damaged liver was detected by ELISA. Transwell migration assays were carried out to evaluate the migration ability of MSCs toward SDF-1α. The distribution of the stem cells, their survival rates, liver function, histopathology and hepatocyte regeneration were analyzed.

RESULTS: Transfected MSCs overexpressed CXCR4 at both gene and protein levels. *In vitro*, CXCR4-MSCs showed better migration capability toward SDF-1α. *In vivo* imaging showed that CXCR4-MSCs migrated to the liver in greater numbers than Null-MSCs 5 d after intravenous infusion in mice with acute liver failure (ALF). Higher colonization led to a longer lifetime and better liver function. Immunohistochemistry analysis of Ki-67 showed increased cell proliferation in the damaged liver of CXCR4-MSC-treated animals.

CONCLUSION: Genetically modified MSCs expressing CXCR4 show greater colonization ability and confer better functional recovery of the damaged liver.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Acute liver failure; Cell transplantation; CXC receptor 4; Mesenchymal stem cells; Genetic modification

Ma HC, Shi XL, Ren HZ, Yuan XW, Ding YT. Genetically modified mesenchymal stem cells overexpressing CXCR4 show increased colonization ability and confer better liver regeneration in mice. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(16): 2229-2236 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2229.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i16.2229

摘要

目的: 提高骨髓间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSC)移植治疗急性肝衰竭时在肝脏的定植率及疗效.

方法: 采用慢病毒转染使MSC过表达*CXCR4*

■背景资料
近些年来基于干细胞移植治疗肝脏疾病的研究取得了令人瞩目的成就. 但是干细胞在肝脏较低的定植率制约了其疗效. 为解决这一问题, 本研究通过基因修饰的方法使骨髓间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSCs)高表达CXCR4, 并期望利用SDF-1α/CXCR4之间的趋化作用提高移植MSCs在衰竭肝脏的定植率.

■同行评议者
潘兴华, 副主任医师, 中国人民解放军成都军区昆明总医院干细胞与组织器官工程研究中心; 庄林, 主任医师, 昆明市第三人民医院肝病科

■研发前沿
MSCs具有自我更新、免疫调节和旁分泌的作用, 被认为是干细胞移植研究领域的最佳细胞来源. 本研究聚焦于如何提高移植MSCs在靶器官的定植率. 诸多研究证实SDF-1α/CXCR4轴在干细胞向损伤组织的归巢过程中发挥了重要作用.

基因, RT-PCR和细胞流式检测CXCR4表达. ELISA实验检测肝衰竭裸鼠肝脏MSC向基质衍生因子-1α(stromal cell-derived factor-1α, SDF-1α)水平. 迁移实验检测转染的SDF-1α趋化能力. 20%(V/V)四氯化碳(CCl_4)橄榄油溶液8 μL/g腹腔注射诱导裸鼠急性肝衰竭模型, 24 h后尾静脉注射CXCR4转染的间充质干细胞(CXCR4-MSC)和未转染的间充质干细胞(Null-MSC). 于注射后各时间点活体示踪MSC分布情况、裸鼠肝功能、生存率、组织病理学改变和肝细胞增殖情况.

结果: CXCR4-MSC高表达*CXCR4*基因和CXCR4蛋白, 肝衰竭裸鼠肝脏SDF-1α水平升高, 与正常裸鼠相比有统计学差异. 体外迁移实验证实CXCR4-MSC比Null-MSC具有向SDF-1α更好的迁移能力. 体内活体成像显示移植后5 d CXCR4-MSC主要定植在肝脏, 而Null-MSC在肝脏和脾脏都有定植. 高定植率使得转染组裸鼠比未转染组裸鼠肝细胞受损更轻且具有更长的生存期, 同时转染组裸鼠肝细胞增殖明显多于未转染组, 两者有统计学差异. 我们的实验证实转染*CXCR4*基因的骨髓间充质干细胞能够更好地促进肝再生.

结论: 基因修饰使骨髓间充质干细胞过表达*CXCR4*基因能够促进干细胞在肝脏的定植, 改善肝功能, 提高肝细胞的再生和裸鼠的生存率, 为干细胞移植治疗肝功能衰竭提供了更广阔的应用途径.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 急性肝衰竭; 细胞移植; 间充质干细胞; 趋化因子受体4; 基因修饰

核心提示: 骨髓间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSC)移植有望替代肝移植, 成为急性肝衰竭的新手段. 但干细胞在肝脏较低的定植率制约了其疗效. 骨髓间充质干细胞向基质衍生因子-1α(stromal cell-derived factor-1α, SDF-1α)/CXCR4轴在干细胞向损伤组织的归巢过程中发挥了重要作用. 我们通过基因修饰的方法使MSCs高表达CXCR4, 体外活体示踪证实了CXCR4修饰的MSCs在衰竭肝脏中的定植率要明显高于未修饰者. 而更高的定植率也导致了更长的生存期和更好的肝功能恢复.

马虎成, 施晓雷, 任昊桢, 袁献温, 丁义涛. CXCR4转染的骨髓间充质干细胞靶向治疗急性肝衰竭. 世界华人消化杂志 2014; 22(16): 2229-2236 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2229.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i16.2229

0 引言

近些年来, 骨髓间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSC)已被证实具有免疫抑制和修复损伤组织的能力[1,2]. 并且大量基于干细胞移植治疗的研究已在医学领域取得了令人瞩目的成果, 为多种疾病的治疗提供了新的思路. MSC移植也已被用于治疗包括急性肝衰竭在内的各种终末期肝病的实验及临床研究[3-6]. 但同时国内外的许多研究也发现了细胞移植疗效不佳的现象, 对这一系列文献的回顾性研究发现制约MSC移植疗效的主要原因是由于移植的MSC在肝脏的定植率较低, 不能完全发挥MSC损伤修复的作用[7].

目前一系列关于促干细胞归巢的研究已经证实了基质细胞衍生因子1α(stromal cell-derived factor-1α, SDF-1α)在促进移植干细胞向损伤组织迁移过程中的作用[8-11]. SDF-1α是骨髓基质细胞产生的CXC类趋化蛋白, 为已知的唯一能与其受体CXCR4结合并能激活它的天然趋化因子. SDF-1α和CXCR4广泛地、组成性地表达于多种细胞和组织中, 包括免疫细胞、脑、心脏、肝脏、肾、肺和脾. 大量的研究已经表明SDF-1α/CXCR4轴在机体的损伤修复过程中担任了非常重要的角色[12]. SDF-1α能够动员骨髓内的干细胞, 并且通过与分布在干细胞表面的CXCR4结合促进骨髓干细胞向损伤组织的迁移与归巢. Zhang等[13]发现SDF-1α/CXCR4轴能够显著提高移植的干细胞在梗死心肌中的数量, 并且明显改善心肌功能. Liu等[14]也发现给予低氧刺激能够加强MSC表达CXCR4, 进而促进了肾脏损伤部位MSC的募集, 提高了功能恢复, 并且减少了细胞凋亡.

虽然损伤组织遭受低氧、内毒素、肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)等炎症因子的刺激后, 可以提高骨髓内MSC表面的CXCR4的表达, 但是经过多次传代培养后的MSC表面低表达CXCR4[15]. 于是, 我们期望通过慢病毒将CXCR4整合到移植的*MSC*基因组内, 使得MSC稳定表达CXCR4, 来提高其向肝脏迁移的效率和治疗急性肝衰竭的疗效.

1 材料和方法

1.1 材料 转染和未转染*CXCR4*基因的人骨髓间充质干细胞系(CXCR4-MSC和Null-MSC)购自上海Invitrogen公司; ♂ 裸鼠(nu/nu)30只, 体

质量18-22 g, 由南京大学医学院附属鼓楼医院实验动物中心提供. L-DMEM培养液、特级胎牛血清、胰蛋白酶购自Gibco公司; RT-PCR试剂盒(南京Biouniquer公司); APC标记的鼠抗人CD184(美国BD Pharmingen公司); 四氯化碳, SDF-1α(美国Sigma公司); ELISA试剂盒(美国R&D公司); Ki-67抗体(Abcam公司); Transwell小室(德国Millipore公司); DiR荧光染料(北京Fanbo Biochemicals公司).

1.2 方法

1.2.1 裸鼠急性肝衰竭模型建立: 将CCl_4按照体积比1∶4溶于橄榄油配成体积分数为20%CCl_4橄榄油溶液; CCl_4橄榄油溶液以8 μL/g的量腹腔注射诱导裸鼠急性肝衰竭(acute liver failure, ALF)模型.

1.2.2 RT-PCR检测CXCR4表达: 提取CXCR-MSC和Null-MSC总RNA, 立即用于逆转录. 使用BU-SuperScript RT kit试剂盒进行逆转录, 具体如下: 在EP管中加入10 μL DEPC水, 1 μL引物, 1 μL模板RNA, 1 μL dNTP, 短暂离心后65 ℃水浴5 min, 立刻0 ℃冰水浴至少1 min. 短暂离心后冰上操作: 加入4 μL 5×First-Strand Buffer, 1 μL 0.1 MDTT, 1 μL RNase Inhibitor, 1 μL SSⅢ逆转录酶, 短暂离心后50 ℃水浴60 min进行逆转录, 70 ℃水浴15 min灭火逆转录酶, 立即进行PCR. PCR反应条件为94 ℃ 1 min, 58 ℃ 50 s, 72 ℃ 90 s, 进行40个循环, 然后72 ℃ 10 min完成. 引物序列为: CXCR4上游引物: 5'-ggtggtctatgttggcgtct-3', 下游引物: 5'-tcgatgctgatcccaatgta-3'; β-actin上游引物: 5'-ggcatggggtcagaaggatt-3', 下游引物: 5'-gaggcgta-cagggatagcac-3'. PCR产物进行琼脂糖凝胶电泳.

1.2.3 流式细胞术检测CXCR4表达: 大约1×10^6个细胞装入流式管中1500 r/min离心5 min, 加入1 mL PBS重悬后加入20 μL APC标记的抗人CD184抗体, 室温避光孵育20 min, 1500 r/min离心5 min, 1 mL PBS洗3遍. 500 μL PBS重悬, 上流式细胞仪检测.

1.2.4 ELISA检测肝衰竭肝脏SDF-1α水平: 取100 mg冰冻肝衰竭肝脏组织, 加入1 mL PBS, 用玻璃研磨器制成肝组织匀浆, 匀浆用离心机12000 r/min离心5 min, 取上清按照说明书用ELISA试剂盒进行检测, 获得肝衰竭肝组织匀浆SDF-1α浓度.

1.2.5 迁移实验: 采用孔径为8 μm的聚碳酸酯膜(Millipore)进行迁移实验, 将CXCR-MSC和Null-MSC以2×10^5个细胞/mL的密度培养在上层小室, 下层小室为600 μL浓度为30 ng/mL的SDF-1α溶液. 37 ℃培养10 h, 轻轻挂掉膜上表面的细胞, 然后将膜用4%的多聚甲醛固定15 min, 再用0.5%的结晶紫染色10 min, 在显微镜下观察迁移细胞的数量.

1.2.6 活体成像示踪移植细胞在体内分布情况: 细胞移植前将DiR染料(2 mL, 50 μmol/L)加入到培养瓶里, 与细胞37 ℃孵育20 min, PBS洗两遍, 加入胰酶消化细胞, 1500 r/min离心5 min, PBS重悬, 制备成细胞悬液尾静脉注射. 移植后5 d, 用小动物活体成像系统观察移植细胞在体内的分布.

1.2.7 肝功能检测和生存期比较: 所有动物建模后随机分3组, PBS对照组(n = 25), CXCR4-MSC组(n = 25)和Null-MSC组(n = 25). 各组诱导24 h后, PBS对照组尾静脉注射PBS 100 μL, CXCR4-MSC组尾静脉注射CXCR4-MSC悬液100 μL(约1×10^6), Null-MSC组尾静脉注射Null-MSC悬液100 μL(约1×10^6). 每组随机抽取10只裸鼠进行生存期的比较. 余下的每组15只移植后1-5 d和1-3 wk定期抽血检测肝功能、组织病理学改变并统计3组裸鼠的生存期.

1.2.8 肝细胞增殖情况检测: 在移植后第2周取肝组织做石蜡切片并行Ki67免疫组织化学染色, 随机选择6个高倍视野, 计算肝脏细胞增殖数目, 计算各组平均值, 观察各组肝脏细胞的增殖情况.

统计学处理 实验结果用mean±SD表示. 采用SPSS19.0统计学软件进行数据处理, 组间比较应用独立样本t检验, 生存期分析采用Kaplan-Meier曲线, P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 CXCR4-MSC的鉴定 RT-PCR显示CXCR4-MSC高表达*CXCR4*基因, 而Null-MSC检测不到CXCR4条带, 表明构建的CXCR4-MSC成功, 而经过多代培养后的MSC不表达或者低表达*CXCR4*基因(图1A). 流式细胞术显示有83.9%的CXCR4-MSC表达CXCR4蛋白, 表明CXCR4分布于细胞表面, 是SDF-1α有效结合位置(图1B).

2.2 CXCR4强化了MSC向SDF-1α的迁移 CCl_4以8 μL/g的量腹腔注射, 并在注射后的第3、5、7天和第2、3周检测肝脏组织匀浆中的SDF-1α水平. 结果显示相比较正常肝脏, 给予8 μL/g的CCl_4后, SDF-1α水平明显升高, 并且在3 wk内保持一个较稳定的水平(图2A). 随后的迁移实验显示CXCR4修饰过的MSC向SDF-1α的迁移数量明显多于修饰的MSC(图2B), 分别为CXCR4-

■相关报道

大量的研究表明, SDF-1α/CXCR4轴在干细胞归巢、趋化、表达粘附分子、增殖和存活中起重要作用. 本研究中我们通过慢病毒构建CXCR4修饰的MSCs以提高MSCs的迁移和归巢能力. 该方法在治疗急性肝衰竭的研究中尚属首次. 为了追踪干细胞在体内的分布, 本研究利用DIR荧光染料(波长为700-800纳米)标记MSCs, 体内活体成像显示, 相比Null-MSCs, CXCR4-MSCs具有更强的向受损肝脏迁移能力.

■应用要点
本研究证实了修饰*CXCR4*基因可以提高MSCs向损伤肝脏的迁移与定植能力. 因此静脉移植CXCR4-MSCs或许是一种有效和无创的治疗急性肝衰竭的新手段.

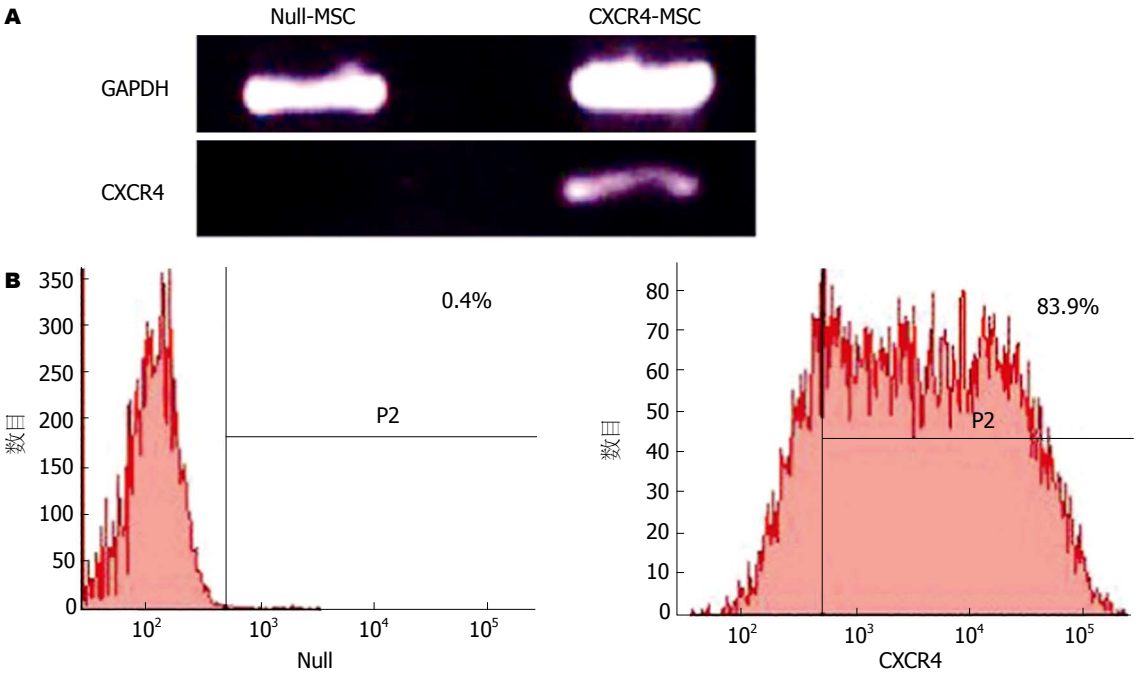


图 1 CXCR4-MSC的鉴定. A: RT-PCR检测*CXCR4*基因表达情况. B: 流式细胞术检测MSC细胞膜表达CXCR4蛋白情况.

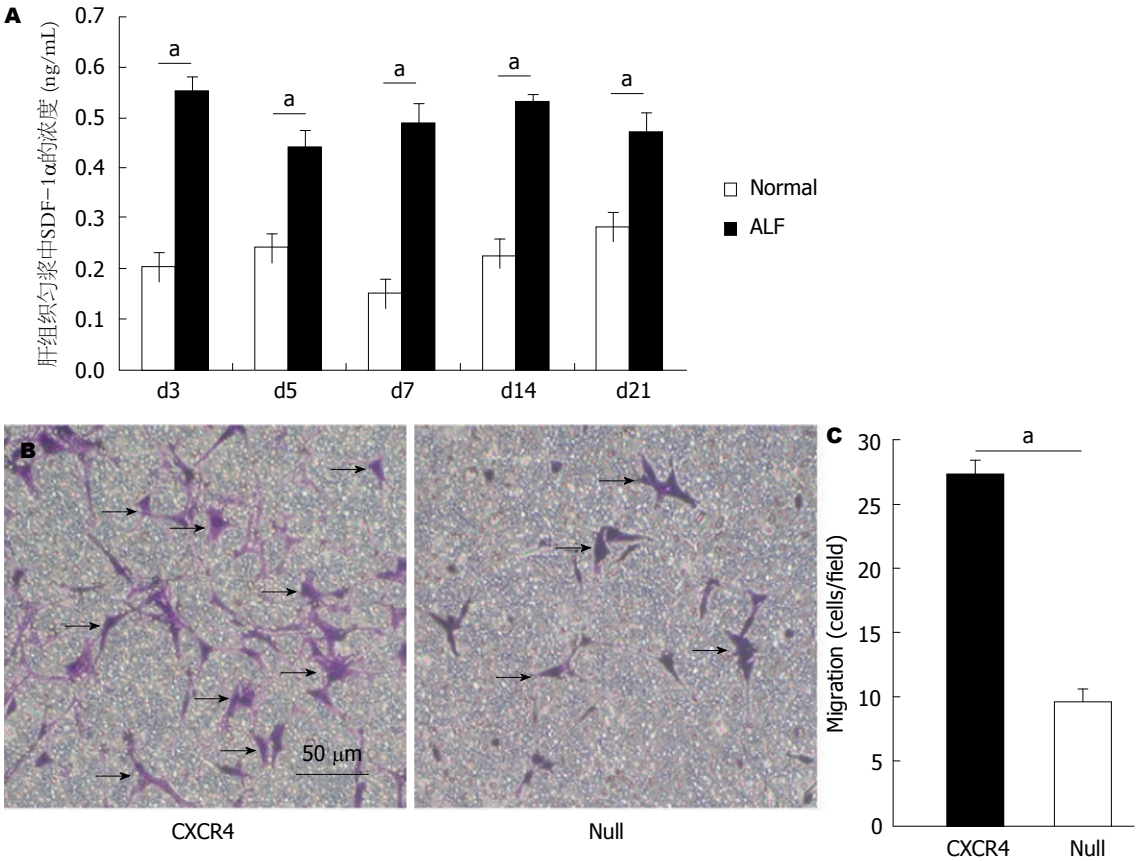


图 2 体外迁移实验. A: 不同剂量CCl_4肝组织匀浆中SDF-1α浓度; B: CXCR4-MSC和Null-MSC向50 ng/mL SDF-1α迁移图片; C: 每个高倍镜视野迁移细胞数. 结果为5个视野平均细胞数, $^aP<0.05$. SDF-1α: 基质衍生因子-1α; ALF: 急性肝衰竭.

MSC: 27.4/高倍镜视野, Null-MSC: 9.6/高倍镜视野, 两者有统计学差异($P<0.01$)(图2C).

2.3 MSC在体内的分布情况 我们采用IVIS系统示踪移植细胞在体内的分布. 细胞移植后5 d发现CXCR4组只有在肝脏处检测到一个强烈的近红外信号, 其余部位均检测不出近红外信号, 表示移植后5 d CXCR4-MSC全部分布于肝脏; 而在Null组, 肝脏和脾脏均检测到近红外信号, 且

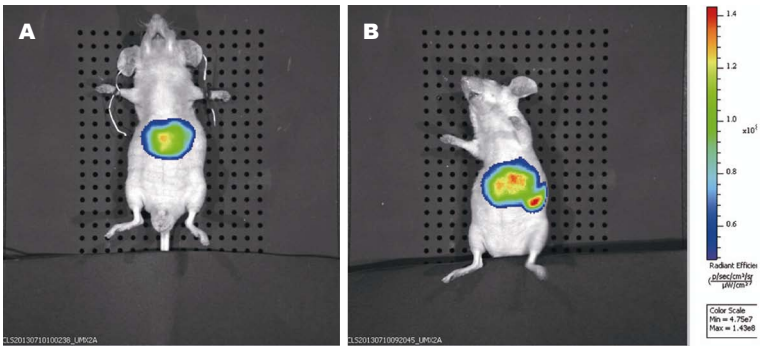
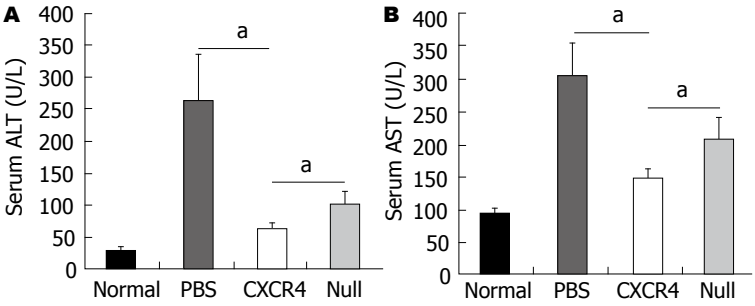
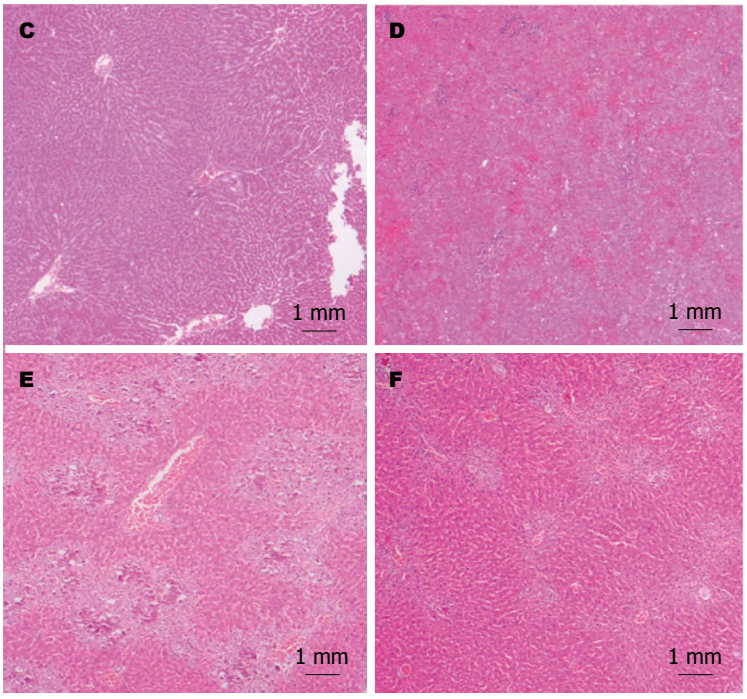


图 3 移植细胞活体成像示踪. A: CXCR4-MSC在裸鼠体内的分布. 几乎所有信号均集中于肝脏, 脾脏位置无信号, 说明CXCR4-MSC主要分布于肝脏, 其他脏器无定植; B: Null-MSC在裸鼠体内的分布. 肝脏和脾脏均有信号, 且强度几乎相等, 说明Null-MSC主要分布在肝脏和脾脏.





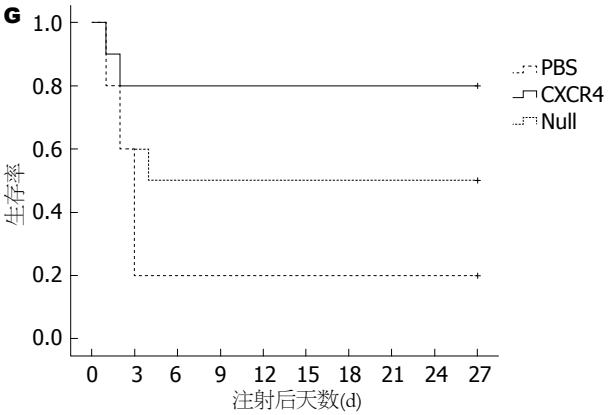


图 4 转氨酶、病理学和生存曲线. A, B: ALT和AST水平. 细胞移植组(CXCR4-MSC、Null-MSC)与PBS组相比转氨酶水平均显著降低($^aP<0.05$). 而CXCR4组相比Null组转氨酶水平降低更多, 两者有统计学差异($^aP<0.05$); C-F: 肝脏HE染色; C: 正常肝脏; D: 急性肝衰竭肝脏; E: 肝衰竭后移植Null-MSC; F: 肝衰竭后移植CXCR4-MSC; G: 各组裸鼠生存曲线.

■同行评价

该文探讨CXCR4转染后的骨髓间充质干细胞向急性肝衰竭动物肝脏靶向迁移及疗效, 获得了有一定创新性和科学意义的结果.

■同行评价
该方法可有望获得高质量的肝细胞并建立冷冻肝细胞库, 为药理毒理学研究、生物人工肝及细胞治疗提供理想细胞材料.

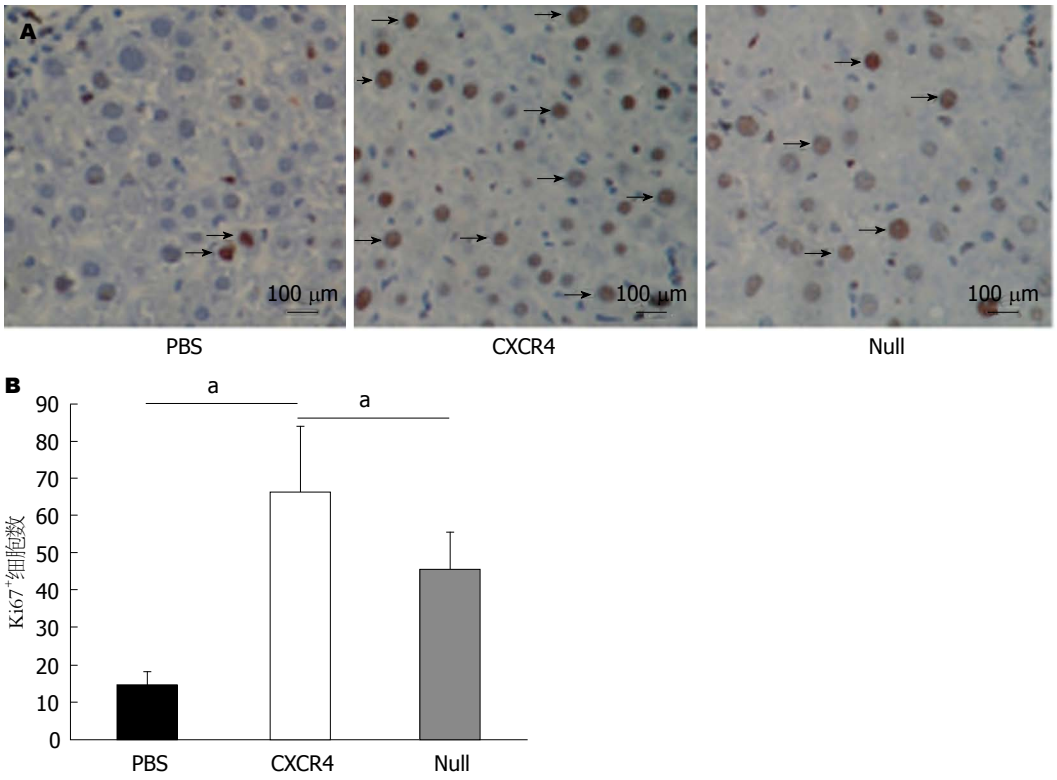


图 5 肝细胞增殖实验. A: Ki67免疫组织化学实验; B: 各组Ki67阳性细胞数. 数据为组织染色后随机5个视野的阳性细胞数的平均值(mean ± SD), $^aP<0.05$.

强度几乎相等, 表明移植的Null-MSC在肝脏和脾脏均有定植, 对肝脏无靶向性(图3).

2.4 肝功能、组织病理学和生存曲线 组织病理学HE染色分析显示正常肝脏颜色均匀, 具有完整的肝小叶结构(图4A), 而急性肝衰竭肝脏呈现出大片坏死, 肝细胞肿胀、充血, 肝小叶结构遭到破坏(图4B). CXCR4-MSC和Null-MSC移植均减少了肝细胞坏死区域, 而CXCR4-MSC组坏死区域面积要比Null-MSC组少(图4A-C、图4A-D). 与对照组相比, CXCR4-MSC组和Null-MSC组转氨酶水平均有所降低, ALT分别降低了76.09%和60.88%, AST分别降低了52.00%和31.11%, CXCR4-MSC组明显降低更多, 两者有统计学差异($P<0.05$)(图4C-F). 而生存率方面, CXCR4-MSC组和Null-MSC组4 wk时生存率分别为80%和50%, 两者有显著差异(图4G). 由以上数据可以看出CXCR4-MSC相比较Null-MSC更具有肝保护作用.

2.5 CXCR4-MSC促进了肝细胞增殖 为了评估干细胞移植对肝细胞增殖情况的影响, 本研究采用Ki67免疫组织化学实验. Ki67阳性表达细胞核着棕黄色, 细小颗粒状, 疏密不等. 细胞移植后2 wk, 取各组小鼠肝脏制成石蜡切片, 结果显示PBS组、CXCR4-MSC组和Null-MSC组肝脏组织阳性细胞数分别为14.6±3.5、66.2±14.5和41±4.2, 后两组有统计学差异($P<0.05$)(图5).

3 讨论

肝衰竭导致的肝细胞损伤会刺激一系列的细胞因子和趋化因子的分泌, 而这些因子参与了随后的损伤修复. SDF-1α是其中非常重要的一种细胞因子, 在干细胞的募集和归巢方面起了核心作用. 本实验检测到肝衰竭肝脏组织匀浆中SDF-1α的浓度明显升高. CXCR4作为SDF-1α的受体, 与SDF-1α共同了参与了MSC募集的过程. 但是MSC在体外培养和增殖过程中会逐渐丢失CXCR4的表达, 导致细胞表面CXCR4数量减少, 从而对SDF-1α的迁移能力减弱[15]. 因此, 我们采用慢病毒转染的方法使MSC过表达CXCR4, 之后我们采用细胞流式术检测了细胞膜上的CXCR4的表达情况, 结果显示转染组有83.9%的MSC表达CXCR4, 过表达的CXCR4强化了MSC对SDF-1α的迁移能力, 同时体内活体示踪实验也证实: 修饰*CXCR4*基因后, 除了肝脏之外MSC在其他器官几乎无定植. 因此, 正如我们所预想, 修饰*CXCR4*基因后促进了MSC在受损肝脏的定植.

目前干细胞移植实验已在世界范围内广泛

开展, 但是疗效并不能令人十分满意. 一项正在进行的干细胞治疗临床实验显示通过门静脉注射的干细胞只有不超过5%能够在肝脏检测到[16]. 而另一项研究显示采用肝动脉途径注射干细胞, 能将这一比例提高到20%-30%[17]. 但即便如此, 大部分的细胞仍然分布在其他脏器, 而目前能够提高移植干细胞在靶器官定植的方法主要包括采用支架材料作为载体, 如PCL支架[18]、水凝胶支架[19]和PLGA支架[20]等. 支架材料具有生物可降解性、无免疫源性、无毒、易于成型加工等优点, 但其表面的生物惰性不利于细胞在其上的黏附, 因此, 这类材料在用作支架材料时必须进行一定的表面改性, 即表面生物功能化. 这一点限制了支架材料的应用. 另一种有效的方式是基因修饰[21,22]. 我们选择慢病毒作为载体, 慢病毒能够将目的基因整合到宿主细胞染色体内, 使得宿主细胞在增殖后仍然能够稳定表达目的基因编码的蛋白. 同时慢病毒具有低免疫原性和高丰度表达的优点, 特别适合作为基因修饰的载体[23]. 实验证实我们采用慢病毒构建的MSC稳定表达CXCR4, 并且CXCR4-MSC具有肝脏的归巢能力.

到目前为止, 干细胞修复器官衰竭的具体机制仍有争议[24,25]. 在MSC移植治疗肝衰竭方面最早认为干细胞通过转分化作用来替代损伤坏死肝细胞[26,27], 但是这种说法最近受到了质疑, 有研究者报道在受体体内只能检测到有限的存活的供体干细胞[28]. 最新的研究更加支持MSC主要通过旁分泌/自分泌作用的观点[29,30]. MSC在体外能分泌可溶性物质、 细胞表面分子以及细胞外基质, 包括血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor)、肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor)、胰岛素样生长因子(insulin-like growth factor-1)、内皮生长因子(epidermal growth factor)、NO、角质细胞生长因子、SDF-1α、巨噬细胞炎症蛋白1a和促红细胞生成素(erythropoietin)[31]. 这些释放的因子对细胞的生存和生存至关重要. 本实验中我们在CXCR4-MSC组和Null-MSC组观察到了更多的肝细胞增殖. 因此, MSC移植改善肝功能的其中一个机制就是增加了肝细胞增殖.

总之, 我们证实了采用慢病毒转染CXCR4基因能够显著促进MSC在衰竭肝脏的定植率, 并且通过增加肝细胞增殖改善了肝功能, 降低了死亡率. 因此, 我们认为外周静脉输注CXCR4基因修饰过的MSC是一种有效和无创的治疗急性肝衰竭的新型方式.

4 参考文献

1 Uccelli A, Moretta L, Pistoia V. Mesenchymal stem cells in health and disease. *Nat Rev Immunol* 2008; 8: 726-736 [PMID: 19172693 DOI: 10.1038/nri2395]

2 Phinney DG, Prockop DJ. Concise review: mesenchymal stem/multipotent stromal cells: the state of transdifferentiation and modes of tissue repair--current views. *Stem Cells* 2007; 25: 2896-2902 [PMID: 17901396 DOI: 10.1634/stemcells.2007-0637]

3 Petersen BE, Bowen WC, Patrene KD, Mars WM, Sullivan AK, Murase N, Boggs SS, Greenberger JS, Goff JP. Bone marrow as a potential source of hepatic oval cells. *Science* 1999; 284: 1168-1170 [PMID: 10325227 DOI: 10.1126/science.284.5417.1168]

4 Moore JK, Stutchfield BM, Forbes SJ. Systematic review: the effects of autologous stem cell therapy for patients with liver disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2014; 39: 673-685 [PMID: 24528093 DOI: 10.1111/apt.12645]

5 Levine P, McDaniel K, Francis H, Kennedy L, Alpini G, Meng F. Molecular mechanisms of stem cell therapy in alcoholic liver disease. *Dig Liver Dis* 2014; 46: 391-397[PMID: 24440312 DOI: 10.1016/j.dld.2013.11.015]

6 Salomone F, Barbagallo I, Puzzo L, Piazza C, Li Volti G. Efficacy of adipose tissue-mesenchymal stem cell transplantation in rats with acetaminophen liver injury. *Stem Cell Res* 2013; 11: 1037-1044 [PMID: 23954692 DOI: 10.1016/j.scr.2013.07.003]

7 Gao J, Dennis JE, Muzic RF, Lundberg M, Caplan AI. The dynamic in vivo distribution of bone marrow-derived mesenchymal stem cells after infusion. *Cells Tissues Organs* 2001; 169: 12-20 [PMID: 11340257 DOI: 10.1159/000047856]

8 Jin DK, Shido K, Kopp HG, Petit I, Shmelkov SV, Young LM, Hooper AT, Amano H, Avecilla ST, Heissig B, Hattori K, Zhang F, Hicklin DJ, Wu Y, Zhu Z, Dunn A, Salari H, Werb Z, Hackett NR, Crystal RG, Lyden D, Rafii S. Cytokine-mediated deployment of SDF-1 induces revascularization through recruitment of CXCR4+ hemangiocytes. *Nat Med* 2006; 12: 557-567 [PMID: 16648859 DOI: 10.1038/nm1400]

9 Tang YL, Zhu W, Cheng M, Chen L, Zhang J, Sun T, Kishore R, Phillips MI, Losordo DW, Qin G. Hypoxic preconditioning enhances the benefit of cardiac progenitor cell therapy for treatment of myocardial infarction by inducing CXCR4 expression. *Circ Res* 2009; 104: 1209-1216 [PMID: 19407239 DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.109.197723]

10 Song M, Jang H, Lee J, Kim JH, Kim SH, Sun K, Park Y. Regeneration of chronic myocardial infarction by injectable hydrogels containing stem cell homing factor SDF-1 and angiogenic peptide Ac-SDKP. *Biomaterials* 2014; 35: 2436-2445 [PMID: 24378015 DOI: 10.1016/j.biomaterials.2013.12.011]

11 Yuan L, Sakamoto N, Song G, Sato M. Low-level shear stress induces human mesenchymal stem cell migration through the SDF-1/CXCR4 axis via MAPK signaling pathways. *Stem Cells Dev* 2013; 22: 2384-2393 [PMID: 23544621 DOI: 10.1089/scd.2012.0717]

12 Bowie MB, McKnight KD, Kent DG, McCaffrey L,

Hoodless PA, Eaves CJ. Hematopoietic stem cells proliferate until after birth and show a reversible phase-specific engraftment defect. *J Clin Invest* 2006; 116: 2808-2816 [PMID: 17016561 DOI: 10.1172/JCI28310]

13 Zhang D, Fan GC, Zhou X, Zhao T, Pasha Z, Xu M, Zhu Y, Ashraf M, Wang Y. Over-expression of CXCR4 on mesenchymal stem cells augments myoangiogenesis in the infarcted myocardium. *J Mol Cell Cardiol* 2008; 44: 281-292 [PMID: 18201717 DOI: 10.1016/j.yjmcc.2007.11.010]

14 Liu H, Liu S, Li Y, Wang X, Xue W, Ge G, Luo X. The role of SDF-1-CXCR4/CXCR7 axis in the therapeutic effects of hypoxia-preconditioned mesenchymal stem cells for renal ischemia/reperfusion injury. *PLoS One* 2012; 7: e34608 [PMID: 22511954 DOI: 10.1371/journal.pone.0034608]

15 Wynn RF, Hart CA, Corradi-Perini C, O'Neill L, Evans CA, Wraith JE, Fairbairn LJ, Bellantuono I. A small proportion of mesenchymal stem cells strongly expresses functionally active CXCR4 receptor capable of promoting migration to bone marrow. *Blood* 2004; 104: 2643-2645 [PMID: 15251986 DOI: 10.1182/blood-2004-02-0526]

16 Puppi J, Strom SC, Hughes RD, Bansal S, Castell JV, Dagher I, Ellis EC, Nowak G, Ericzon BG, Fox IJ, Gómez-Lechón MJ, Guha C, Gupta S, Mitry RR, Ohashi K, Ott M, Reid LM, Roy-Chowdhury J, Sokal E, Weber A, Dhawan A. Improving the techniques for human hepatocyte transplantation: report from a consensus meeting in London. *Cell Transplant* 2012; 21: 1-10 [PMID: 21457616 DOI: 10.3727/096368911X566208]

17 Khan AA, Shaik MV, Parveen N, Rajendraprasad A, Aleem MA, Habeeb MA, Srinivas G, Raj TA, Tiwari SK, Kumaresan K, Venkateswarlu J, Pande G, Habibullah CM. Human fetal liver-derived stem cell transplantation as supportive modality in the management of end-stage decompensated liver cirrhosis. *Cell Transplant* 2010; 19: 409-418 [PMID: 20447340]

18 Schantz JT, Chim H, Whiteman M. Cell guidance in tissue engineering: SDF-1 mediates site-directed homing of mesenchymal stem cells within three-dimensional polycaprolactone scaffolds. *Tissue Eng* 2007; 13: 2615-2624 [PMID: 17961003]

19 Kimura Y, Tabata Y. Controlled release of stromal-cell-derived factor-1 from gelatin hydrogels enhances angiogenesis. *J Biomater Sci Polym Ed* 2010; 21: 37-51 [PMID: 20040152 DOI: 10.1163/156856209X410193]

20 Thevenot PT, Nair AM, Shen J, Lotfi P, Ko CY, Tang L. The effect of incorporation of SDF-1alpha into PLGA scaffolds on stem cell recruitment and the inflammatory response. *Biomaterials* 2010; 31: 3997-4008 [PMID: 20185171 DOI: 10.1016/j.biomaterials.2010.01.144]

21 Cheng Z, Ou L, Zhou X, Li F, Jia X, Zhang Y, Liu X, Li Y, Ward CA, Melo LG, Kong D. Targeted migration of mesenchymal stem cells modified with CXCR4 gene to infarcted myocardium improves cardiac performance. *Mol Ther* 2008; 16: 571-579 [PMID: 18253156 DOI: 10.1038/sj.mt.6300374]

22 Thieme S, Ryser M, Gentsch M, Navratiel K, Brenner S, Stiehler M, Rölfing J, Gelinsky M, Rösen-Wolff A. Stromal cell-derived factor-1alpha-directed chemoattraction of transiently CXCR4-overexpressing bone marrow stromal cells into functionalized three-dimensional biomimetic scaffolds. *Tissue Eng Part C Methods* 2009; 15: 687-696 [PMID: 19260802 DOI: 10.1089/ten.TEC.2008.0556]

23 Badillo AT, Chung S, Zhang L, Zoltick P, Liechty KW. Lentiviral gene transfer of SDF-1alpha to wounds improves diabetic wound healing. *J Surg Res* 2007; 143: 35-42 [PMID: 17950070]

24 Al Battah F, De Kock J, Vanhaecke T, Rogiers V. Current status of human adipose-derived stem cells: differentiation into hepatocyte-like cells. *Scientific World Journal* 2011; 11: 1568-1581 [PMID: 22224071 DOI: 10.1100/tsw.2011.146]

25 Wang J, Liao L, Tan J. Mesenchymal-stem-cell-based experimental and clinical trials: current status and open questions. *Expert Opin Biol Ther* 2011; 11: 893-909 [PMID: 21449634 DOI: 10.1517/14712598.2011.574119]

26 Thorgeirsson SS, Grisham JW. Hematopoietic cells as hepatocyte stem cells: a critical review of the evidence. *Hepatology* 2006; 43: 2-8 [PMID: 16374844 DOI: 10.1002/hep.21015]

27 Almeida-Porada G, Porada CD, Chamberlain J, Torabi A, Zanjani ED. Formation of human hepatocytes by human hematopoietic stem cells in sheep. *Blood* 2004; 104: 2582-2590 [PMID: 15231580 DOI: 10.1182/blood-2004-01-0259]

28 Lange C, Tögel F, Ittrich H, Clayton F, Nolte-Ernsting C, Zander AR, Westenfelder C. Administered mesenchymal stem cells enhance recovery from ischemia/reperfusion-induced acute renal failure in rats. *Kidney Int* 2005; 68: 1613-1617 [PMID: 16164638 DOI: 10.1111/j.1523-1755.2005.00573.x]

29 Zagoura DS, Roubelakis MG, Bitsika V, Trohatou O, Pappa KI, Kapelouzou A, Antsaklis A, Anagnou NP. Therapeutic potential of a distinct population of human amniotic fluid mesenchymal stem cells and their secreted molecules in mice with acute hepatic failure. *Gut* 2012; 61: 894-906 [PMID: 21997562 DOI: 10.1136/gutjnl-2011-300908]

30 Mintz PJ, Huang KW, Reebye V, Nteliopoulos G, Lai HS, Sætrom P, Kasahara N, Jensen S, Pai M, Gordon MY, Marley SB, Behan R, Spalding DR, Haoudi A, Emara MM, Nicholls J, Rossi JJ, Habib NA. Exploiting human CD34+ stem cell-conditioned medium for tissue repair. *Mol Ther* 2014; 22: 149-159 [PMID: 23985698 DOI: 10.1038/mt.2013.194]

31 Chen L, Tredget EE, Wu PY, Wu Y. Paracrine factors of mesenchymal stem cells recruit macrophages and endothelial lineage cells and enhance wound healing. *PLoS One* 2008; 3: e1886 [PMID: 18382669]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年6月8日; 22(16): 2237-2242
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

DC–CIK细胞治疗联合TACE及RFA治疗小肝癌的疗效

张泉成, 潘国政, 李国强, 袁庆忠, 徐教邦, 孔 阳, 王立明

张泉成, 胜利石油管理局卫生管理中心 山东省东营市 257034
潘国政, 李国强, 袁庆忠, 徐教邦, 胜利油田中心医院肝胆外科 山东省东营市 257034
孔阳, 王立明, 大连医科大学附属二院肝胆胰外科 辽宁省大连市 116023
张泉城, 主要从事肝肿瘤的研究.
国家自然科学基金资助项目, No. 81272368
作者贡献分布: 此课题由张泉城、袁庆忠、孔阳及王立明设计; 病历统计及数据分析由张泉城、潘国政及李国强完成; 本论文写作由张泉城与徐教邦完成.
通讯作者: 袁庆忠, 教授, 257034, 山东省东营市济南路31号, 胜利油田中心医院肝胆外科. dyyqz@126.com
电话: 0546-8770388 传真: 0546-8770388
收稿日期: 2014-03-25 修回日期: 2014-04-18
接受日期: 2014-04-24 在线出版日期: 2014-06-08

DC-CIK cell therapy combined with transcatheter arterial chemoembolization and radiofrequency ablation for treatment of small hepatocellular carcinoma

Quan-Cheng Zhang, Guo-Zheng Pan, Guo-Qiang Li, Qing-Zhong Yuan, Jiao-Bang Xu, Yang Kong, Li-Ming Wang

Quan-Cheng Zhang, Health Management Center of Shengli Petroleum Administration Bureau, Dongying 257034, Shandong Province, China
Guo-Zheng Pan, Guo-Qiang Li, Qing-Zhong Yuan, Jiao-Bang Xu, Hepatobiliary Surgery Department, Shengli Petroleum Central Hospital, Dongying 257034, Shandong Province, China
Yang Kong, Li-Ming Wang, Hepatobiliary Surgery Department of the Second Affiliated Hospital of Dalian Medical University, Dalian 116023, Liaoning Province, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81272368
Correspondence to: Qing-Zhong Yuan, Chief Physician, Hepatobiliary Surgery Department, Shengli Petroleum Central Hospital, 31 Ji'nan Road, Dongying 257034, Shandong Province, China. dyyqz@126.com
Received: 2014-03-25 Revised: 2014-04-18
Accepted: 2014-04-24 Published online: 2014-06-08

Abstract

AIM: To evaluate the efficacy of dendritic and cytokine-induced killer cell therapy (DC-CIK) after transcatheter arterial chemoembolization combined with radiofrequency ablation in patients with small hepatocellular carcinoma (SHCC) and to investigate the changes in immunologic indexes in patients with SHCC.

METHODS: Eighty-five patients with SHCC treated at our hospital from April 2008 to April 2012 were recruited and divided into two groups after transcatheter arterial chemoembolization (TACE) and radiofrequency ablation (RFA): a study group and a control group. The study group (n = 41) received DC-CIK therapy 6 times 7 days after TACE and RFA, and the number of DC-CIK cells was above 1.0×1010. The control group (n = 44) only received TACE and RFA.

RESULTS: AFP differed significantly between before and after treatment in both the control group (494.5 mg/L ± 51.3 mg/L *vs* 226.5 mg/L ± 39.4 mg/L, $P < 0.05$) and the study group (486.4 mg/L ± 54.8 mg/L *vs* 168.7 mg/L ± 49.5 mg/L, $P < 0.01$). ALT and AST differed significantly between before and after treatment in the study group (66 U/L ± 6.3 U/L *vs* 31 U/L ± 5.9 U/L, 68 U/L ± 7.7 U/L *vs* 45 U/L ± 3.7 U/L, $P < 0.05$ for both), but showed no significant differences in the control group (67 U/L ± 7.4 U/L *vs* 65 U/L ± 6.2 U/L, 63 U/L ± 4.5 U/L *vs* 61 U/L ± 5.2 U/L, $P > 0.05$ for both). The efficacy evaluated by imaging examination in the study group was better than that in the control group (87.80% *vs* 79.54%, $P < 0.05$). The 1-, 2- and 3-year survival rates were significantly better in the study group than in the control group (95.1% *vs* 90.9%, 71.6% *vs* 65.9%, 68.3% *vs* 59.1%, $P < 0.05$ for all). The percentages of $CD3^+$ and $CD16^+CD56^+$ cells and the ratio of $CD4^+/CD8^+$ cells were significantly increased after DC-CIK therapy ($P < 0.05$ for all), while the percentage of $CD8^+$ cells was decreased in the study group ($P < 0.05$).

CONCLUSION: Sequential DC-CIK therapy after TACE and RFA can improve hepatic function and immune function of patients with SHCC, and may play an important role in reducing recurrence of SHCC and prolonging the survival time.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

■背景资料
因小肝癌(small hepatic carcinoma, SHCC)患者多合并肝硬化, 肝功能差, 手术切除SHCC率较低, 且复发率高. 肝动脉化疗栓塞(transcatheter arterial chemoembolization, TACE)、射频消融(radiofrequency ablation, RFA)、微波固化消融及生物治疗等综合治疗成为首选. 目前对DC-CIK细胞治疗、TACE、RFA三种方式联合治疗SHCC的临床疗效研究较少, 其实用性及安全性尚待验证.

■同行评议者
孙星, 副教授, 副主任医师, 上海交通大学附属第一人民医院普外科

■研发前沿
DC-CIK细胞治疗联合TACE及RFA治疗SHCC的实用性及安全性尚待验证，目前对其联合治疗研究较少，对联合治疗是否可提高患者生存率及改善生活质量尚不确定，对其具体机制研究尚不清楚.

Key Words: Small hepatic carcinoma; Transcatheter arterial chemoembolization; Radiofrequency ablation; DC-CIK therapy

Zhang QC, Pan GZ, Li GQ, Yuan QZ, Xu JB, Kong Y, Wang LM. DC-CIK cell therapy combined with transcatheter arterial chemoembolization and radiofrequency ablation for treatment of small hepatocellular carcinoma. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(16): 2237-2242 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2237.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i16.2237

摘要

目的: 探讨DC-CIK细胞治疗联合肝动脉化疗栓塞(transcatheter arterial chemoembolization, TACE)及射频消融(radiofrequency ablation, RFA)治疗小肝癌(small hepatic carcinoma, SHCC)的临床效果及免疫状态变化.

方法: 2008-03/2012-03本院收治SHCC患者85例, 纳入对象分为2组, 所有患者均先行TACE联合RFA治疗. 其中研究组41例, 术后7 d均完成6次DC-CIK细胞治疗, 每次回输细胞>1×10^{10}, 检测患者在DC-CIK治疗前后外周血甲胎蛋白(alpha fetoprotein, AFP)、谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)、T细胞及NK细胞水平变化; 对照组44例, 未行DC-CIK过继性免疫治疗.

结果: 对照组A组治疗前 *vs* 治疗后AFP均值为494.5 mg/L±51.3 mg/L *vs* 226.5 mg/L±39.4 mg/L, $P<0.05$; 研究组B组治疗前 *vs* 治疗后AFP均值为486.4 mg/L±54.8 mg/L *vs* 168.7 mg/L±49.5 mg/L, $P<0.01$. B组ALT、AST治疗前 *vs* 治疗后为66 U/L±6.3 U/L、68 U/L±7.7 U/L *vs* 31 U/L±5.9 U/L、45 U/L±3.7 U/L, $P<0.05$; 对照组为67 U/L±7.4 U/L、63 U/L±4.5 U/L *vs* 65 U/L±6.2 U/L、61 U/L±5.2 U/L, $P>0.05$. 治疗后6 mo影像学检查B组 *vs* A组有效率分别为87.80% *vs* 79.54%, $P<0.05$. B组 *vs* A组1、2、3年生存率分别为95.1%, 71.6%, 68.3% *vs* 90.9%, 65.9%, 59.1%, $P<0.05$. B组治疗后外周血$CD3^+$、$CD16^+CD56^+$和$CD4^+/CD8^+$细胞比值均上升($P<0.05$), $CD8^+$效应细胞比例下降($P<0.05$).

结论: DC-CIK细胞治疗序贯TACE联合RFA治疗可改善SHCC患者术后肝功能, 提高患者免疫水平, 降低肿瘤复发, 延长SHCC患者生存期.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 小肝癌; 肝动脉化疗栓塞; 射频消融; DC-CIK细胞治疗

核心提示: 综合治疗已经成为小肝癌(small hepatic carcinoma, SHCC)治疗的首选, DC-CIK细胞治疗序贯动脉化疗栓塞(transcatheter arterial chemoembolization)联合射频消融(radiofrequency ablation)治疗明显不仅直接作用于肿瘤, 且直接清除体内残存的HCC细胞, 同时改善肝功能, 提高患者术后机体免疫功能, 较单一治疗延长患者生存期, 改善生活质量, 减缓复发, 显示出综合治疗在SHCC治疗中的良好前景.

张泉成, 潘国政, 李国强, 袁庆忠, 徐教邦, 孔阳, 王立明. DC-CIK细胞治疗联合TACE及RFA治疗小肝癌的疗效. 世界华人消化杂志 2014; 22(16): 2237-2242 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2237.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i16.2237

0 引言

原发性肝癌(hepatic carcinoma, HCC)因其病情发展快、预后差、术后存活率低, 已成为消化道疾病中致死率最高的原因之一. 外科手术一直是小肝癌(small hepatic carcinoma, SHCC)首选治疗手段, 但HCC患者多合并肝炎、肝硬化, 患者肝功能分级较差, 免疫力低, 手术创伤大, 适应症严格, 所以手术切除的SHCC患者不足30%, 并且术后复发率高[1]. 目前肝动脉化疗栓塞(transcatheter arterial chemoembolization, TACE)、射频消融(radiofrequency ablation, RFA)、微波固化消融及生物治疗是SHCC最常用的非手术疗法, 但任何一种单一治疗方法对SHCC的远期治疗效果都不理想, 综合治疗成为SHCC的首选[2,3]. TACE联合RFA治疗能较有效的使肿瘤坏死, 同时控制肿瘤的局部进展及复发[4]. DC-CIK过继性免疫治疗能较有效地改善患者术后免疫功能, 预防肿瘤复发及转移, 延长患者生存期、改善患者生存质量[5]. 目前对DC-CIK细胞治疗、TACE、RFA三种方式联合治疗SHCC的临床疗效研究较少, 其实用性及安全性尚待验证. 本研究是对DC-CIK、TACE、RFA三种治疗方式联合治疗SHCC安全性及疗效的初步分析, 为今后多中心大规模临床试验提供依据.

1 材料和方法

1.1 材料 2008-03/2012-03胜利油田中心医院肝胆外与肿瘤科收治HCC癌患者85例, 将纳入对象分为2组, 其中对照组A组(TACE+RAF)44例, 研究组B组(DC-CIK+TACE+RAF)41例, 两组患

表 1 两组治疗前后疗效比较

分组	*n*	CR	PR	SD	PD
A组	44	22	13	6	3
B组	41	30	6	3	1

A、B两组有效率[(CR+PR)/*n*]比较, B组有效率(87.80%)高于A组(79.54%), $P<0.05$, 有统计学意义. CR: 完全缓解; PR: 部分缓解; SD: 稳定; PD: 进展.

表 2 治疗前后肝功能变化(U/L)

分组	ALT		AST	
	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
A组	67.0±7.4	65.0±6.2	63.0±4.5	61.0±5.2
B组	66.0±6.3	31.0±5.9[ac]	68.0±7.7	45.0±3.7[ac]

[a]$P<0.05$ *vs* B组治疗前; [c]$P<0.01$ *vs* A组治疗后. ALT: 谷丙转氨酶; AST: 谷草转氨酶.

者一般资料比较无统计学意义($P>0.05$), 具有可比性. 纳入标准: (1)既往乙型肝炎病史; (2)增强CT符合SHCC诊断且为富血供肿瘤, 即: 肿瘤数目≤3个, 单一瘤体≤5 cm或多个肿瘤体积之和≤5 cm^3; (3)无门静脉、腔静脉或胆管癌栓; (4)肿瘤临床分期Ⅰ-Ⅱ期; (5)肝功能Child-Pugh分级A级或B级; (6)年龄在36-75岁, Karnofsky评分≥70分; (7)治疗前血常规、肾功能及心电图均正常; (8)无DC-CIK生物治疗、行TACE及RFA治疗的禁忌; (9)预期生存期>3 mo. 排除标准: (1)不可控制的系统性疾病如: 高血压、心脏病史; (2)此前或现在有其他部位的恶性肿瘤; (3)2 mo内接受过放化疗或影响免疫功能药物; (4)不稳定的免疫系统或感染性疾病. 本研究经过胜利油田中心医院伦理委员会的审核与批准. 所有患者在入组前均在治疗同意协议书上亲笔签字. 主要试剂包括: 抗CD3-PE、抗CD4-PE、抗CD16-PE、抗CD56-PE、抗CD8-PE(均为美国BD公司产品).

1.2 方法

1.2.1 治疗方案: 85例患者均行TACE联合RFA治疗, TACE注射化疗药物方案为: 顺铂(dichlorodiamineplatinum, DDP)40-80 mg、氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-FU)750-1000 mg、丝裂霉素(mitomycin, MMC)20 mg或表阿霉素(epirubicin, EADM)40-60 mg、超液化碘油5-20 mL. RFA每个病灶消融12 min, 消融至肿瘤边缘1 cm. B组采集自身外周血, 分离培养DC与CIK细胞, 检测细胞表型, 分别于RFA术后1 wk回输, 连用6次, 每次分别输入DC及CIK细胞各1×10^{10}.

1.2.2 疗效评价标准: (1)临床疗效: 随访两组患者, 治疗后1 mo复查血浆甲胎蛋白(alpha fetoprotein, AFP)及肝功能指标, 如谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)变化, 治疗后6 mo复查腹部CT、MRI或 PET/CT, 评价肿瘤标志物、肝功能及肿瘤大小变化. 按RECIST对实体瘤疗效判定标准: 完全缓解(complete remission, CR); 部分缓解(partial remission, PR); 稳定(steady disease, SD); 进展(progressive disease, PD), 有效为CR+PR; (2)生活质量: 用Karnofsky计分法统计, 治疗后较治疗前提高>10分为改善, 下降>10分为恶化, 提高或下降10分以内为稳定, 总提高率 = 改善+稳定; (3)外周血淋巴细胞亚群分析: 患者治疗前1 wk及治疗后1 mo后外周血淋巴细胞表型分析用流失细胞仪检测.

统计学处理 用SPSS13.0软件包进行数据的统计处理. 计量资料用mean±SD表示, 组间比较采用*t*检验, 组内比较采用配对*t*检验; 率和构成比的比较采用χ^2检验, 生存率分析用Kaplan-Meier法, 生存时间比较采用Log-rank检验. 检验水准$\alpha=0.05$. $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 血清AFP下降情况 A组AFP异常者41例, 治疗后41例患者中AFP经治疗下降者39例, 2例降至正常; B组41例中AFP异常者40例, 40例经治疗后均下降, 其中降至正常4例.

A组治疗前AFP均值为494.5 mg/L±51.3 mg/L, 治疗后为226.5 mg/L±39.4 mg/L, $P<0.05$; B组治疗前AFP均值为486.4 mg/L±54.8 mg/L, 治疗后为168.7 mg/L±49.5 mg/L, $P<0.01$.

2.2 两组疗效比较 治疗结束后6 mo, 两组均行CT或/和MRI或/和PET-CT检查, 根据治疗前后影像学的变化判断肿瘤的坏死程度, 经统计学分析, A组完全缓解率、稳定率及有效率分别为: 50.0%、29.5%、79.5%, B组分别为: 73.1%、14.6%、87.8%, A组完全缓解率、稳定率及有效率均高于B组, 其差异有统计学意义($P<0.05$)(表1).

2.3 肝功能变化 A组术后ALT、AST无明显下降, 肝功能无明显变化, B组治疗后ALT、AST下降明显, 肝功明显好转(表2).

2.4 治疗前后的Karnofsky评分变化 B组Karnofsky评分提高率68.3%, 高于A组50.0%, 两组比较,

■相关报道

此前, TACE联合RFA治疗肝癌证实其联合治疗方案既可协助发现影像学检查难以发现的肝内微小病灶, 同时通过阻断肿瘤动脉血供, 化疗药物杀伤及对肿瘤的直接加热等途径杀伤肿瘤细胞. 而DC-CIK细胞被证实可明显改善患者免疫功能, 激活肿瘤坏死因子. 本文联合DC-CIK细胞治疗, TACE及RFA治疗, 证实联合方案通过直接及间接手段杀伤肿瘤细胞, 改善患者长期预后.

■创新盘点

本文验证了肝癌综合治疗的可靠性及实用性, 证实综合治疗较单一治疗手段明显改善患者生活质量, 提高远期SHCC患者生存率. 同时, 通过探讨术后患者甲胎蛋白(alpha fetoprotein, AFP)、谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)及免疫细胞水平变化, 对综合治疗机制进行了探讨.

表 3 生活质量前后比较

分组	*n*	上升	稳定	下降	提高率(%)
A组	44	22	11	11	75.0
B组	41	28	10	3	92.7[a]

[a]*P*<0.05 *vs* A组.

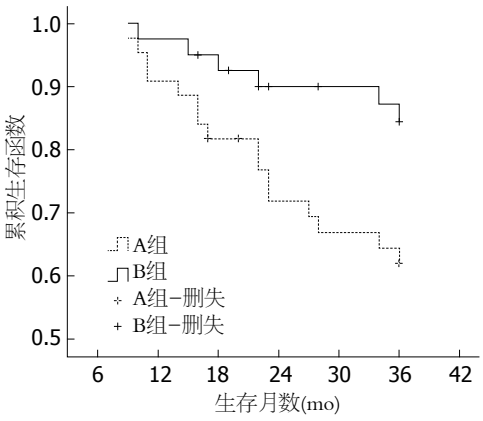


图 1 A、B两组生存函数.

B组生活质量改善明显(*P*<0.05)(表3).

2.5 患者外周血淋巴细胞亚群百分比的变化 B组治疗T细胞亚群$CD3^+$、$CD4^+$、$CD4^+/CD8^+$比值及NK($CD3^+CD56^+$)显著上升, $CD8^+$下降, 治疗前后差异有统计学意义(*P*<0.05); 与A组治疗后比较, 差异也有统计学意义(*P*<0.05)(表4).

2.6 A、B两组生存时间比较 A、B两组生存时间相比, 研究组B组生存时间明显高于对照组A组, 研究组B组1、2、3年生存率分别为95.1%、71.6%、68.3%, 对照组1、2、3年生存率分别为90.9%、65.9%、59.1%, 研究组生存率高于对照组, 差异有统计学意义(*P*<0.05)(图1).

3 讨论

TACE联合RFA治疗已成为SHCC主要治疗模式之一. 肝TACE的理论基础是栓塞HCC中心部分是肝动脉供血(占HCC供血95%-99%), 而未栓塞由门静脉供血的肝实质交界的部分[6]. 这些特点导致TACE后侧支循环开放及新生血管形成, 造成癌灶的残存、继续发展和肝内转移, 因此单纯TACE治疗不能使肿瘤细胞完全坏死(完全坏死率只有20%左右)[7]. 患者多伴发肝炎、肝硬化背景, TACE可加重肝硬化, 导致部分患者最后死于严重肝硬化及免疫功能下降等并发症[8,9]. RFA利用恶性肿瘤细胞不耐热特点, 局部加温至肿瘤细胞变性, 细胞崩解, 有效杀灭直径<3 cm的HCC[10,11]. 但对于部位不易消融的病灶, 如邻近膈肌、肝门部大血管或胆管及肝被膜的病灶, 联合TACE可明显增加局部控制率, 减少肿瘤原位复发, 延长患者生存期[12-14]. 肝TACE术后联合RFA治疗SHCC将有利于发挥各自的优点, 提高疗效: (1)RFA在对肿瘤加热时, 瘤内及瘤周的血液循环可起到冷却作用, TACE可减少HCC组织的血供, 减少血流的冷却作用[15]; (2)TACE阻断肝血供, 化疗药物杀伤肿瘤, 缩小肿瘤体积, 同时使SHCC局部坏死, 形成一个乏氧环境, 增加其余肿瘤细胞对热的敏感性, 提高RFA的治疗效果. 同时RFA的热效应增加肿瘤组织对化疗药物的摄取及其敏感性[16,17]; (3)RFA后细胞坏死刺激炎症因子形成, 可暂时增强机体局部和全身的细胞免疫功能, 帮助消灭残存癌细胞[18]; (4)TACE可发现术前影像学检查难以发现的肝内微小病灶, 特别是小的病变由于碘油沉积, 对肝内潜在的病灶也可起到治疗作用, 并且有利于方便定位和实施消融治疗[19]. 本研究85例患者术前影像学检查, 常规行肝TACE术明确肝内病灶103个, TACE术中新发现较小病灶11个, 与前期报道相符. 行TACE术2-8 wk后再行RFA治疗, 可明显缓解HCC患者TACE造成的肝功能一过性损伤. 虽然RFA证实可部分改善HCC患者免疫功能, 但Mizukoshi等[20]报道RFA术后24 wk, 大多数患者肿瘤相关抗原特性性T淋巴细胞比例下降, 表明RFA并不能诱导T细胞长期存活. 本研究证明TACE联合RFA并不能完全改善TACE术后及肝硬化引起的肝功能及免疫功能损害, 患者治疗前1 wk及治疗后1 mo患者肝功能指标(ALT、AST)无明显降低, 外周血T淋巴细胞亚群及NK细胞无明显升高. 而DC-CIK序贯治疗, 可明显改善患者肝功能, 其原因部分可能与HCC患者免疫功能改善相关.

我国HCC的主要病因多是乙型肝炎病毒感染合并不同程度肝硬化, 患者自身免疫机制紊乱, 存在细胞免疫抑制, $CD3^+$、$CD4^+$ T效应细胞较正常低, $CD8^+$效应细胞水平增加明显, 且与HCC临床分期相关, 行TACE后又进一步加重患者原有免疫抑制[21]. DC和CIK细胞是患者外周血单个核细胞体外经过多重细胞因子共同诱导获得的一群以$CD3^+$、$CD8^+$和$CD3^+CD56^+$ T细胞为主的异质细胞群, 前者识别抗原、激活获得性免疫系统, 后者通过发挥自身细胞毒性和分

表 4 两组治疗前后淋巴细胞亚群比较 (mean ± SD)

分组	CD3$^+$ T	CD4$^+$ T	CD8$^+$ T	CD4$^+$/CD8$^+$ T	CD3$^+$/CD56$^+$ T
A组					
治疗前	35.53 ± 3.56	16.32 ± 2.98	35.70 ± 8.71	4.43 ± 1.21	16.33 ± 3.58
治疗后	41.43 ± 5.43^a	17.54 ± 3.87	31.04 ± 10.50^a	6.20 ± 2.32	18.13 ± 1.42
B组					
治疗前	40.25 ± 2.35	22.97 ± 5.34	35.61 ± 12.90	3.54 ± 0.25	17.27 ± 1.92
治疗后	73.61 ± 5.13^{ce}	26.45 ± 4.20^c	32.68 ± 10.56^{ce}	8.76 ± 1.42^{ce}	21.23 ± 3.37^{ce}

^aP<0.05 *vs* A组治疗前; ^cP<0.05 *vs* B组治疗前; ^eP<0.05 *vs* A组治疗后.

■应用要点

本文证实DC-CIK序贯TACE联合RFA治疗既能直接作用于瘤体, 又能直接清除体内残存HCC细胞, 还能提高患者术后机体整体免疫功能, 提高患者肝功能, 改善HCC患者生活质量, 延长生存期, 减缓复发, 显示联合治疗SHCC良好前景.

泌细胞因子杀伤肿瘤细胞, 是肿瘤免疫治疗的两个重要部分[22]. 其兼具有T淋巴细胞强大的抗肿瘤活性和NK非MHC限制性杀瘤作用, 且体内外增殖能力强, 是一类杀瘤活性高和杀瘤谱广的一类新型抗肿瘤效应细胞, 两者联合确保了一个高效和谐的免疫体系[23]. 本研究41例患者在TACE联合RFA术后7 d时输入DC-CIK细胞, 可明显改善患者因术后及肝硬化造成的免疫功能缺陷, 同时在清除微小残留病灶, 预防肿瘤复发方面及提高肿瘤患者的生存率方面也发挥着重要作用. 研究组CD3$^+$、CD4$^+$、CD16$^+$CD56$^+$ T效应细胞升高, CD8$^+$ T效应细胞下降, CD4$^+$/CD8$^+$ T细胞升高, 患者免疫功能改善明显. 两组患者治疗后6 mo评估临床疗效, 研究组缓解率87.8%, 高于对照组79.5%, 说明DC-CIK细胞治疗在清除小病灶及预防肿瘤复发方面发挥作用显著. 本研究表明, 联合治疗可明显改善患者远期生存率, 研究组1、2、3年生存率分别为95.1%、71.6%、68.3%, 均高于对照组. DC-CIK明显改善SHCC患者行TACE联合RFA后预后, 其机制可能有与以下几个方面有关: (1)通过淋巴细胞功能相关抗原-1/细胞间黏附分子-1(intercellular adhesion molecule-1/lymphocyte function association antigen-1, LFA-1/ICAM-1)途径与肿瘤细胞表面受体结合后, 分泌BIL酯酶颗粒, 直接杀伤肿瘤细胞[24,25]; (2)分泌大量的白介素-2、干扰素-γ炎性因子, 其为CD4$^+$或CD8$^+$细胞产生的同源二聚体糖蛋白, 可通过多种途径直接或间接发挥抗肿瘤作用[26,27]; (3)DC-CIK细胞活化肿瘤细胞凋亡基因, 使得*FLIP*、*Bcl-2*、*Bcl-Xl*、*DAD1*和*survivin*基因表达上调, 诱导肿瘤细胞凋亡, 同时CIK细胞表达FasL, 可诱导肿瘤细胞凋亡[28,29]; (4)CD3$^+$CD56$^+$ T细胞在输注DC-CIK细胞后在宿主体内转变成具有杀伤肿瘤活性的细胞毒性T细胞[30].

DC-CIK序贯TACE联合RFA治疗既能直接作用于瘤体, 又能直接清除体内残存HCC细胞, 还能提高患者术后机体整体免疫功能, 提高患者肝功能, 改善HCC患者生活质量, 延长生存期, 减缓复发, 显示了联合治疗SHCC的良好前景. 但DC-CIK细胞过继免疫疗法作为一种新免疫治疗方法, 尚缺乏大规模的前瞻性随机试验数据及长期的疗效观察, 没有统一的治疗标准和方案, 其作用机制及不良反应都有待进一步研究.

4 参考文献

1 Wu FS, Zhao WH, Liang TB, Ma ZM, Teng LS, Wang M, Zheng SS. Survival factors after resection of small hepatocellular carcinoma. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2005; 4: 379-384 [PMID: 16109520]

2 Shen A, Zhang H, Tang C, Chen Y, Wang Y, Zhang C, Wu Z. Systematic review of radiofrequency ablation versus percutaneous ethanol injection for small hepatocellular carcinoma up to 3 cm. *J Gastroenterol Hepatol* 2013; 28: 793-800 [PMID: 23432154 DOI: 10.1111/jgh.12162]

3 卢琳琳, 曹茜, 潘洋. 微波消融联合自体CIK细胞治疗中晚期肝癌的临床疗效分析. 中国慢性病预防与控制 2013; 3: 353-355

4 Min JH, Lee MW, Cha DI, Jeon YH, Shin SW, Cho SK, Rhim H, Lim HK. Radiofrequency ablation combined with chemoembolization for intermediate-sized (3-5 cm) hepatocellular carcinomas under dual guidance of biplane fluoroscopy and ultrasonography. *Korean J Radiol* 2013; 14: 248-258 [PMID: 23483753 DOI: 10.3348/kjr.2013.14.2.248]

5 Li H, Wang C, Yu J, Cao S, Wei F, Zhang W, Han Y, Ren XB. Dendritic cell-activated cytokine-induced killer cells enhance the anti-tumor effect of chemotherapy on non-small cell lung cancer in patients after surgery. *Cytotherapy* 2009; 11: 1076-1083 [PMID: 19929470 DOI: 10.3109/14653240903121252]

6 Marelli L, Stigliano R, Triantos C, Senzolo M, Cholongitas E, Davies N, Tibballs J, Meyer T, Patch DW, Burroughs AK. Transarterial therapy for hepatocellular carcinoma: which technique is more effective? A systematic review of cohort and randomized studies. *Cardiovasc Intervent Radiol* 2007; 30: 6-25 [PMID: 17103105 DOI: 10.1007/s00270-006-0062-3]

7 许飞, 王永涛, 史仲华. 多次肝动脉化疗栓塞术对原发性肝癌的疗效及对肝功能的影响. 肿瘤学杂志 2011; 17: 850-853

■同行评价
文章有一定的临床指导意义与实用价值.

8 Miyayama S, Yamashiro M, Okuda M, Yoshie Y, Nakashima Y, Ikeno H, Orito N, Matsui O. The march of extrahepatic collaterals: analysis of blood supply to hepatocellular carcinoma located in the bare area of the liver after chemoembolization. *Cardiovasc Intervent Radiol* 2010; 33: 513-522 [PMID: 19756862 DOI: 10.1007/s00270-009-9697-1]

9 Xiao EH, Guo D, Bian DJ. Effect of preoperative transcatheter arterial chemoembolization on angiogenesis of hepatocellular carcinoma cells. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 4582-4586 [PMID: 19777619 DOI: 10.3748/wjg.15.4582]

10 Abitabile P, Maurer CA. Radiofrequency ablation of liver tumors: a novel needle perfusion technique enhances efficiency. *J Surg Res* 2010; 159: 532-537 [PMID: 19394647 DOI: 10.1016/j.jss.2008.08.037]

11 阚雪锋, 郑传胜. 射频消融治疗肝癌的进展. 临床放射病学杂志 2011; 8: 1227-1228

12 Lin SM. Local ablation for hepatocellular carcinoma in Taiwan: different points between Japan, Asia and West. *Oncology* 2010; 78 Suppl 1: 102-106 [PMID: 20616591 DOI: 10.1159/000315237]

13 Kim JW, Kim JH, Won HJ, Shin YM, Yoon HK, Sung KB, Kim PN. Hepatocellular carcinomas 2-3 cm in diameter: transarterial chemoembolization plus radiofrequency ablation vs. radiofrequency ablation alone. *Eur J Radiol* 2012; 81: e189-e193 [PMID: 21353417 DOI: 10.1016/j.ejrad.2011.01.122]

14 赵希学, 由法平, 袁庆忠, 潘国政, 卜庆敖, 郝龙, 张建. 胆囊区肝癌射频治疗联合LC手术安全性评估. 世界华人消化杂志 2013; 21: 2212-2216

15 董永生, 张震翼, 杨小岗. 肝动脉化疗栓塞联合射频消融治疗小肝癌的临床疗效. 中国现代普通外科进展 2013; 6: 486-488

16 郑琳, 郭晨阳, 黎海亮, 肖金晨, 程海涛. 肝动脉热灌注化疗栓塞联合射频消融治疗原发性肝癌的对照研究. 临床放射学杂志 2013; 7: 1032-1034

17 Chan WS, Poon WL, Cho DH, Chiu SS, Luk SH. Transcatheter embolisation of intrahepatic arteriovenous shunts in patients with hepatocellular carcinoma. *Hong Kong Med J* 2010; 16: 48-55 [PMID: 20124574]

18 Peng ZW, Zhang YJ, Chen MS, Xu L, Liang HH, Lin XJ, Guo RP, Zhang YQ, Lau WY. Radiofrequency ablation with or without transcatheter arterial chemoembolization in the treatment of hepatocellular carcinoma: a prospective randomized trial. *J Clin Oncol* 2013; 31: 426-432 [PMID: 23269991 DOI: 10.1200/JCO.2012.42.9936]

19 Hou YB, Chen MH, Yan K, Wu JY, Yang W. Adjuvant percutaneous radiofrequency ablation of feeding artery of hepatocellular carcinoma before treatment. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 2638-2643 [PMID: 19496195 DOI: 10.3748/wjg.15.2638]

20 Mizukoshi E, Yamashita T, Arai K, Sunagozaka H, Ueda T, Arihara F, Kagaya T, Yamashita T, Fushimi K, Kaneko S. Enhancement of tumor-associated antigen-specific T cell responses by radiofrequency ablation of hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2013; 57: 1448-1457 [PMID: 23174905 DOI: 10.1002/hep.26153]

21 Hui D, Qiang L, Jian W, Ti Z, Da-Lu K. A randomized, controlled trial of postoperative adjuvant cytokine-induced killer cells immunotherapy after radical resection of hepatocellular carcinoma. *Dig Liver Dis* 2009; 41: 36-41 [PMID: 18818130 DOI: 10.1016/j.dld.2008.04.007]

22 Chen J, Huang X, Huang G, Chen Y, Chen L, Song H. Preconditioning chemotherapy with cisplatin enhances the antitumor activity of cytokine-induced killer cells in a murine melanoma model. *Cancer Biother Radiopharm* 2012; 27: 210-220 [PMID: 22440093 DOI: 10.1089/cbr.2011.1116]

23 Sangiolo D, Mesiano G, Carnevale-Schianca F, Piacibello W, Aglietta M, Cignetti A. Cytokine induced killer cells as adoptive immunotherapy strategy to augment graft versus tumor after hematopoietic cell transplantation. *Expert Opin Biol Ther* 2009; 9: 831-840 [PMID: 19463075 DOI: 10.1517/14712590903005552]

24 Huang B, Sikorski R, Sampath P, Thorne SH. Modulation of NKG2D-ligand cell surface expression enhances immune cell therapy of cancer. *J Immunother* 2011; 34: 289-296 [PMID: 21389869 DOI: 10.1097/CJI.0b013e31820e1b0d]

25 王惠成, 冯毅, 戴国华. CIK细胞免疫治疗原发性肝癌的研究进展. 国际消化病杂志 2011; 4: 223-225

26 Su X, Zhang L, Jin L, Ye J, Guan Z, Chen R, Guo T. Immunotherapy with cytokine-induced killer cells in metastatic renal cell carcinoma. *Cancer Biother Radiopharm* 2010; 25: 465-470 [PMID: 20701541 DOI: 10.1089/cbr.2010.0762]

27 Lin G, Wang J, Lao X, Wang J, Li L, Li S, Zhang J, Dong Y, Chang AE, Li Q, Li S. Interleukin-6 inhibits regulatory T cells and improves the proliferation and cytotoxic activity of cytokine-induced killer cells. *J Immunother* 2012; 35: 337-343 [PMID: 22495391]

28 孟娟, 彭大为, 王美清, 周宇. 自体DC-CIK联合肝动脉栓塞治疗中晚期原发性肝癌的疗效观察. 浙江临床医学 2013; 15: 1146-1149

29 马学斌, 马骢. 肝癌的CIK细胞免疫治疗的研究进展. 临床肝胆病杂志 2010; 6: 658-661

30 Shi SB, Ma TH, Li CH, Tang XY. Effect of maintenance therapy with dendritic cells: cytokine-induced killer cells in patients with advanced non-small cell lung cancer. *Tumori* 2012; 98: 314-319 [PMID: 22825506]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年6月8日; 22(16): 2243-2251
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

文献综述 REVIEW

原发性胆汁性肝硬化诊断和治疗的进展

黄颖秋

黄颖秋, 中国医科大学第五临床学院 本溪钢铁(集团)总医院消化内科 辽宁省本溪市 117000
黄颖秋, 教授, 主任医师, 主要从事胃肠动力疾病、消化系肿瘤及肝硬化的基础与临床研究.
作者贡献分布: 本文由黄颖秋独立完成.
通讯作者: 黄颖秋, 教授, 主任医师, 117000, 辽宁省本溪市平山区人民路29号, 中国医科大学第五临床学院, 本溪钢铁(集团)总医院消化内科. huangyingqiu_bx@126.com
电话: 0414-2215137
收稿日期: 2014-03-16 修回日期: 2014-04-04
接受日期: 2014-04-09 在线出版日期: 2014-06-08

Recent advances in diagnosis and treatment of primary biliary cirrhosis

Ying-Qiu Huang

Ying-Qiu Huang, Department of Gastroenterology, General Hospital of Benxi Steel & Iron (Group); the Fifth Clinical College of China Medical University, Benxi 117000, Liaoning Province, China
Correspondence to: Ying-Qiu Huang, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, General Hospital of Benxi Steel & Iron (Group); the Fifth Clinical College of China Medical University, 29 Renmin Road, Pingshan District, Benxi 117000, Liaoning Province, China. huangyingqiu_bx@126.com
Received: 2014-03-16 Revised: 2014-04-04
Accepted: 2014-04-09 Published online: 2014-06-08

Abstract
Primary biliary cirrhosis (PBC) is a chronic progressive cholestatic autoimmune liver disease characterized by the destruction of small intrahepatic bile ducts and the presence of highly specific serum antimitochondrial antibodies (AMAs). In this article, we will review the clinical, serological and histopathological features of PBC as well as the advances in the diagnosis and differential diagnosis of PBC. In addition, this article systematically describes the advances in the treatment of PBC, and the treatments include ursodeoxycholic acid (UDCA), budesonide, methotrexate (MTX), farnesoid X receptor (FXR) agonists, cyclosporine A, bezafibrate, rituximab, bone marrow-derived mesenchymal stem cell (BM-MSC) transplantation, and liver transplantation. At present, liver transplantation is the only option with known therapeutic benefit for end-stage PBC patients.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Autoimmune liver diseases; Primary biliary cirrhosis; Diagnosis; Therapy

Huang YQ. Recent advances in diagnosis and treatment of primary biliary cirrhosis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(16): 2243-2251 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2243.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i16.2243

摘要
原发性胆汁性肝硬化(primary biliary cirrhosis, PBC)是一种慢性进行性胆汁淤积性自身免疫性肝病, 以肝内小胆管破坏及血清高特异性抗线粒体抗体(antimitochondrial antibodies)升高为特征. 本文详尽阐述了PBC的临床特征、血清学特征、组织病理学特征以及诊断和鉴别诊断的进展. 此外, 本文还系统地阐述了PBC的治疗进展, 包括熊去氧胆酸(ursodeoxycholic acid)、布地奈德(budesonide)、甲氨蝶呤(methotrexate)、法尼酯X受体(farnesoid X receptor)激动剂、环孢素A(cyclosporine A)、苯扎贝特(bezafibrate)、利妥昔单抗(rituximab)、骨髓间充质干细胞(bone marrow-derived mesenchymal stem cells)移植以及肝移植. 目前, 肝移植仍是治疗终末期PBC患者的唯一有效方法.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 自身免疫性肝病; 原发性胆汁性肝硬化; 诊断; 治疗

核心提示: 原发性胆汁性肝硬化(primary biliary cirrhosis, PBC)是免疫介导的慢性胆汁淤积性肝病, 血清抗线粒体抗体(antimitochondrial antibodies)升高为其特异性诊断指标, 慢性非化脓性破坏性胆管炎为其组织病理学特征, 熊去氧胆酸(ursodeoxycholic acid)的早期治疗明显改善了PBC的预后, 肝移植仍是治疗终末期PBC的唯一有效方法.

黄颖秋. 原发性胆汁性肝硬化诊断和治疗的进展. 世界华人消化杂志 2014; 22(16): 2243-2251 URL: http://www.wjgnet.

■背景资料
原发性胆汁性肝硬化(primary biliary cirrhosis, PBC)是一种慢性胆汁淤积性肝病, 多见于中年女性, 为自身免疫性肝病的一种类型, 血清抗线粒体抗体(antimitochondrial antibodies, AMAs), 尤其是AMA-M2亚型滴度升高对PBC具有特异性诊断价值. 随着对PBC的认识加深以及对AMAs/AMA-M2检查的普遍推广, PBC的发病率呈逐年增加趋势. 目前, PBC的基础与临床研究已引起国内外学者关注.

■同行评议者
高英堂, 研究员, 天津市第三中心医院

com/1009-3079/22/2243.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i16.2243

■研发前沿
骨髓间充质干细胞(bone marrow-derived mesenchymal stem cells, BM-MSCs)是一类具有多向分化潜能的多能干细胞. 多项动物实验表明, BM-MSC不仅能缓解各种损伤导致的肝纤维化和肝硬化, 而且能明显提高急性肝损伤动物模型的生存率、降低肝损伤程度以及抑制肝细胞凋亡. 因此, BM-MSC移植有望成为治疗终末期PBC的治疗方案.

0 引言

原发性胆汁性肝硬化(primary biliary cirrhosis, PBC)是一种免疫介导的慢性胆汁淤积性肝病, 为自身免疫性肝病(autoimmune liver diseases, AILDs)的一种类型, 以慢性阻塞性黄疸、血清特异性抗线粒体抗体(antimitochondrial antibodies, AMAs)升高、组织病理学示慢性非化脓性破坏性胆管炎为主要特征[1]. PBC的发病机制可能涉及遗传易感性、自身免疫、胆管上皮细胞的衰老、自噬、凋亡以及环境因素等[1]. 此外, microRNAs[2]、外周血单个核细胞的基因表达谱异常[3,4]、转化生长因子-β1信号通路[5]、白介素-12/白介素-23信号通路[6]、核因子-κB信号通路[6]、肿瘤坏死因子信号通路[6]、磷脂酰肌醇信号通路[6]以及hedgehog信号通路[6]等可能也参与其发病机制. PBC患者多数为女性, 主要表现为乏力和皮肤瘙痒, 血清AMAs阳性为PBC的特异性诊断指标[1]. 熊去氧胆酸(ursodeoxycholic acid, UDCA)的治疗明显改善了PBC患者的预后, 但仍有1/3的PBC应用UDCA治疗无效, 肝移植是治疗终末期PBC患者的唯一有效方法[1]. 本文就PBC的诊断和治疗进展概述如下.

1 流行病学

PBC的患病率可能因种族和地域差别而有所不同[7]. 流行病学调查资料显示, 荷兰的PBC时点患病率为13.2/100000[7], 意大利为1.91/100000-40.2/100000[8], 爱尔兰为38.3/100000[9], 而我国则为49.2/100000[10]. 82%的PBC患者为女性, 中位年龄62岁,平均生存期15年[9]. 46.6%的PBC合并至少一种结缔组织疾病(connective tissue diseases, CTDs)[11]. 其中, 36.2%的PBC合并干燥综合征(sjogren's syndrome, SS), 2.8%合并系统性硬化症(systemic sclerosis, SSc), 3.7%合并系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE), 2.8%合并类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA), 3.1%合并多发性肌炎(polymyositis, PM)[11]. 晚近研究显示, PBC的发病率和患病率呈逐年增加趋势, 但与吸烟、初潮年龄、初孕年龄以及妊娠次数等因素无关[7].

2 临床特征

尽管1/3的PBC可能多年无症状, 但多数无症状者于5年内出现瘙痒和疲倦[12]. 瘙痒是PBC最典型的早期症状, 大约见于20%-70%的患者, 通常先于黄疸数月至数年[12]. 疲倦亦为PBC的早期症状, 发生于约78%的患者[12]. 门静脉高压甚至于肝硬化前即可出现, 但腹水、食管静脉曲张(esophageal varices, EV)及肝性脑病通常为晚期PBC并发症[12]. 同样, 肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)的发生率在晚期PBC亦逐年增加[12,13]. Azemoto等[14]发现, 大约10%的PBC患者以门静脉高压为首发症状. Ikeda等[15]对256例早期PBC研究显示, 22例于诊断时即有EV, 且血清碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)升高及血小板降低与早期PBC的EV显著相关, 提示这2项指标有助于预测早期PBC的EV. Ali等[16]证实, 6%的早期PBC存在EV. Tomiyama等[17]对210例PBC随访发现, 11例(5.2%)并发HCC, 且与PBC的肝纤维化程度显著相关. PBC常并发间质性肺病(interstitial lung disease, ILD)[18]. Shen等[19,20]对178例PBC研究发现, 28例(15.7%)并发ILD[19], 21例(11.8%)并发肺动脉高压(pulmonary hypertension, PH)[20], 前者多合并雷偌现象和其他CTDs[19], 后者则与门静脉高压和免疫失调密切相关[20]. Bektas等[21]对37例PBC研究显示, 17例(45.9%)存在食管运动功能障碍, 其中非特异性食管运动障碍10例, 食管运动减弱5例, 胡桃夹食管1例, 食管下括约肌高压1例. Wang等[11]发现, PBC合并SS、SSc、SLE、RA及PM者, 因同时具有相应疾病特征, 使临床表现更为复杂. 此外, PBC合并乙型肝炎[22]、丙型肝炎[22,23]、自身免疫性胰腺炎[24]、肝脏假性淋巴瘤[25]、原发性肝黏膜相关淋巴组织(mucosa-associated lymphoid tissue, MALT)淋巴瘤[26]以及代谢综合征[27]的诊断仍面临挑战.

3 血清学特征

绝大多数PBC患者很容易检测到AMAs, 而极少数PBC(<5%)即使应用重组诊断技术, AMAs仍为阴性[1]. AMAs有9个亚型, 其中AMA-M2、-M4、-M8、-M9与PBC有关, 这4个亚型对PBC的诊断具有相对特异性[1]. Hu等[28]研究显示, AMAs对PBC的敏感性和特异性分别为84.5%和97.8%, AMAs是较AMA-M2更好、更全面的PBC诊断标志物[28], 这似乎颠覆了传统的AMA-M2较AMAs对PBC更为特异的观点. 除AMAs外, 应用间接免疫荧光法(indirect immunofluorescence, IIF)可在50%的PBC患者检

测到特异性的抗核抗体(antinuclear antibodies, ANAs), 尤其在AMAs阴性的PBC患者更为常见, 提示ANAs可作为PBC的辅助血清学标志物[29]. PBC特异的ANAs包括抗多核点抗体(SP100、PML、NDP52、SP140)、抗核孔抗体(gp210、p62)、抗核膜抗体(核板层蛋白、核板层蛋白B受体)以及抗着丝粒抗体(anti-centromere antibody, ACA)[1]. Gatselis等[30]研究发现, 4.5%的PBC抗gp210阳性, 12.7%的PBC抗 SP100阳性, 这2种特异性ANAs与PBC的严重程度有关. Valour等[31]报道1例AMAs阴性者抗gp210阳性对PBC诊断的高度特异性. Mytilinaiou等[32]证实了SP100、PML阳性对PBC的特异性诊断价值. Liberal等[33]认为, 30%的PBC患者ACA阳性, 且与胆管损伤和门静脉高压程度显著相关. Mandai等[34]对37例PBC研究发现, 12例(32%)ACA阳性, 且与慢性肾脏疾病(chronic kidney disease, CKD)及估计肾小球滤过率(estimated glomerular filtration rate, eGFR)下降密切相关, 提示评估ACA和eGFR对于预防PBC患者的CKD进展十分必要. Shi等[35]证实, ACA阳性可作为失代偿期PBC的预测因素之一. 此外, 血清ALP、γ-谷氨酰转肽酶(gamma glutamyl transpeptidase, γ-GT)、胆红素以及IgM升高在PBC十分常见[15]. 但Kawaguchi等[36]报道1例血清IgA、IgM、IgG均显著降低的PBC病例似乎提示Ig介导机制对PBC的进展并非必要.

4 组织病理学特征

PBC的组织病理学特征为慢性非化脓性破坏性胆管炎[1], 经典的组织病理学分期包括Ⅰ期(胆管炎期)、Ⅱ期(胆管增生期)、Ⅲ期(纤维化期)和Ⅳ期(肝硬化期)[37]. Drebber等[37]对252例PBC肝活检组织观察发现, >80%的PBC具有典型的组织病理学特征, 主要表现为破坏性肉芽肿性小胆管炎及淋巴细胞浸润. Turhan等[38]研究显示, 肉芽肿不仅见于PBC初期, 也见于PBC其他3期, 55.6%的PBC肉芽肿有3期疾病, 除管周肉芽肿外, 腺泡内肉芽肿也可见到. You等[39]发现, 经典树突状细胞(dendritic cell, DC)CD11c标志物在PBC肉芽肿呈高度表达, CD11c阳性PBC肉芽肿患者的血清IgM水平显著升高, CD11b(DC的未成熟标志物)使MHC Ⅱ、IL-23、CCR7和CD83表达下调, 使C1q表达上调, PBC肉芽肿周围可见大量B细胞、IgM阳性浆细胞及巨噬细胞浸润, 提示DC对肉芽肿的发病机制至关重要, PBC肉芽肿可能由未成熟DC与IgM相互作用所致. 最近, 日本学者Bioulac-Sage[40]结合慢性胆管炎(纤维化、胆汁淤积、胆管缺失)、胆管炎活性(cholangitis activity, CA)、肝炎活性(hepatitis activity, HA)等3种因素, 对肝穿刺活检组织采用新的PBC组织学分级系统, 分别将PBC分为CA 0-3级和HA 0-3级. Harada等[41]采用这一新的系统评估发现, CA和HA间互无关联, 新系统能正确评估PBC. Kakuda等[42]和Chan等[43]研究证实, 新系统较经典的PBC分期标准更为有效. Daniels等[44]研究显示, PBC门管区主要以IgM染色为主, 而自身免疫性肝炎则以IgG染色为主. Kikuchi等[45]发现, PBC过多的IgM来源于其脾脏的淋巴滤泡. 此外, 非酒精性脂肪性肝炎(nonalcoholic steatohepatitis, NASH)是以肝细胞丧失、脂肪变性、气球样变、炎性坏死及纤维化形成为特征的病理状态, 常见于肥胖患者[46]. Híndi等[47]发现, NASH和体质量指数(body mass index, BMI)≥25 kg/m^{2}与PBC的胆管损伤和纤维化程度密切相关, BMI有望成为PBC纤维化进展的有效无创性预测工具.

5 诊断

根据美国肝脏病研究学会(American Association for Study of Liver Diseases, AASLD)PBC诊疗指南[48]和欧洲肝脏研究学会(European Association for the Study of the Liver, EASL)胆汁淤积性肝病临床实践指南[49], 如果患者血清ALP升高, 影像学检查除外胆道梗阻, AMAs高滴度阳性(≥1∶40), 即可诊断PBC, 肝活检主要用于AMAs阴性患者或对PBC的组织病理学分期. Bowlus等[50]认为, PBC的诊断至少符合3条关键指标中的2条, 即持续的血清ALP升高、血清AMAs阳性以及肝组织学示PBC. 此外, 特异性ANAs对AMAs阴性的PBC具有诊断价值,且与PBC的进展相关[50].

6 鉴别诊断

6.1 原发性硬化性胆管炎(primary sclerosing cholangitis, PSC) PSC是一种慢性胆汁淤积性自身免疫性肝病, 以肝内胆管和/或肝外胆管的弥漫性炎症、同心性纤维化、局灶性或节段性狭窄为主要特征, 最终发展至肝硬化或肝衰竭[51]. PSC的典型临床表现为慢性胆汁淤积和皮肤瘙痒, 常并发炎症性肠病, 血清ANAs、SMA、AMAs及p-ANCA等多种自身抗体可以阳性, 但以p-ANCA特异性明显[51].

■相关报道

6-乙基鹅去氧胆酸(obeticholic acid, OCA)是鹅去氧胆酸(cbeno-deoxycholic acid, CDCA)的一种衍生物, 是治疗胆汁淤积性肝病的新药. 初步研究显示, OCA对其受体的兴奋作用是CDCA的100倍. OCA的问世, 有望为PBC的治疗开辟新的途径.

■创新盘点
本文详尽阐述了PBC的临床特征、血清学特征及组织病理学特征, 重点阐述PBC在诊断和治疗领域的最新进展.

6.2 IgG4相关硬化性胆管炎(immunoglobulin G4-related sclerosing cholangitis, IgG4-SC) IgG4-SC是一种新近认识的以血清IgG4升高、慢性进行性阻塞性黄疸、弥漫性或局限性IgG4阳性浆细胞和淋巴细胞组织浸润、纤维化以及闭塞性静脉炎为特征的慢性炎症性疾病, 常并发自身免疫性胰腺炎,其临床、生化及影像学特征与PSC相似, 血清γ-GT、ANAs、AMAs及p-ANCA可升高[52].

6.3 自身免疫性肝炎(autoimmune hepatitis, AIH) AIH是一种免疫介导的肝实质损害, 多发于女性, 以血清转氨酶和IgG升高、自身抗体阳性、组织学示界面性肝炎以及对免疫抑制剂应答为特征[53]. AIH主要表现为疲劳、食欲不振、黄疸、肝脾肿大及皮肤瘙痒等症状, 部分患者可进展至肝硬化或肝衰竭, 血清ANAs、SMA、抗LKM-1、抗SLA以及抗LP等自身抗体可阳性[53].

6.4 AIH-PBC重叠综合征 AIH-PBC重叠综合征是指患者在同一时间段或病程中同时具备AIH和PBC两种疾病的临床、血清学、生物化学以及组织学特征的一种疾病状态, 常表现为厌食、黄疸、乏力等症状, 血清ANAs、AMAs阳性, ALP、γ-GT及IgG显著升高[54].

6.5 AIH-PSC重叠综合征 AIH-PSC重叠综合征是指患者在同一时间段或病程中同时具备AIH和PSC两种疾病的临床、血清学、组织学或影像学特征的一种疾病状态, 主要表现为疲劳、厌食、皮肤瘙痒等症状, 血清ALP、γ-GT升高, 血清ANAs、SMAs、LKM-1及p-ANCA可阳性[54].

6.6 PBC-PSC重叠综合征 PBC-PSC重叠综合征是指患者同时具备PBC和PSC两种疾病的临床、组织学及影像学特征的一种疾病状态, 目前仅有个别病例报告[54].

6.7 PBC-IgG4-SC重叠综合征 PBC-IgG4-SC重叠综合征是指患者同时具备PBC和IgG4-SC两种疾病的临床、血清学、组织学及影像学特征的一种疾病状态,目前仅见1例病例报告[54].

7 自然史和预后

PBC的自然史模式在过去20年发生了巨大变化[55]. 目前, 越来越多的组织学早期PBC在无症状时即被诊断并接受治疗, 预后远好于从前, 但这些数据主要来源于发达国家, 发展中国家的结果却大相径庭, 多数患者是在有症状和肝硬化时被诊断为PBC[55]. PBC的自然史包括临床前期、无症状期、症状期及肝功能不全期4个阶段[55]. 有症状PBC的平均生存期为5-8年, 约25%于10年内并发肝衰竭, 一旦黄疸进行性加重, 即进入终末期, 血清胆红素达100 μmol/L, 伴有或不伴有消化系出血、腹水或肝性脑病, 终末期可持续2年[55]. Baldursdottir等[9]对168例PBC研究发现, 82%为女性, Ⅰ期、Ⅱ期PBC的总发病率分别为2.0/100000和2.5/100000, 28%PBC的Ⅲ期、Ⅳ期肝纤维化在20年内并无显著变化, PBC的平均生存期为15年, 5例接受了肝移植治疗.

8 治疗

8.1 熊去氧胆酸(ursodeoxycholic acid, UDCA) UDCA是目前唯一被美国肝脏病研究学会(AASLD)推荐并被美国食品和药品管理局(Food and Drug Administration, FDA)批准用于治疗PBC的药物[48]. UDCA是一种亲水性天然胆汁酸, 具有扩张亲水性胆汁酸池、直接促进胆汁酸分泌、抗炎以及抑制肝细胞凋亡等功能[55], 其机制还可能涉及趋化因子CXCR3轴对PBC的介导作用[56]. UDCA的最佳使用剂量为13-15 mg/(kg•d), 分次或一次顿服[55]. UDCA不仅可显著改善PBC的肝功能指标, 同时也可以改善肝脏的组织学特征, 从而阻止肝纤维化及肝硬化的进展, 提高生存质量, 延长生存期[57]. Zhang等[57]的一项Meta分析显示, UDCA可部分缓解PBC的皮肤瘙痒和黄疸, 有效降低血清ALT、ALP、IgG及IgM水平, 延缓组织学进展, 减少死亡率和肝移植手术. Boberg等[58]证实, UDCA不仅降低PBC死亡率, 还可节省治疗费用. UDCA对PBC的生化反应可强力预测其远期疗效, 以便及时确认是否应采取其他治疗方法, 多数以UDCA治疗1年的生化反应为预测标准[59]. Zhang等[59]发现, 对UDCA有生化反应者于治疗头3 mo最为显著, 而后则维持相对稳定数月之久. 因此, UDCA治疗第6个月的生化反应可替代治疗1年的生化反应, 这有助于尽快确认是否应采取新的治疗措施[59]. Lammert等[60]研究显示, 76%的PBC对UDCA治疗有生化反应, 24%则无反应, 前者不良事件的发生率显著低于后者. Carbone等[61]发现, UDCA对PBC的治疗反应与性别和年龄密切相关, 男性PBC对UDCA的反应率显著低于女性(72% *vs* 80%, $P<0.05$), 70岁以上PBC对UDCA的反应率显著高于30岁以下者(90% *vs* 50%, $P<0.0001$).

8.2 布地奈德(budesonide) 布地奈德是一种糖皮质激素受体/孕烷X受体(pregnane X receptor, PXR)激动剂, 涉及胆汁酸(bile acids, BAs)的合

成、代谢及转运, 对于早期PBC患者, 布地奈德与UDCA短期联合治疗效果显著[62]. 2009年欧洲肝脏研究学会胆汁淤积性肝病临床实践指南[49]建议, 对于无肝硬化(组织学分期Ⅰ-Ⅲ期)的PBC患者给予UDCA联合布地奈德6-9 mg/d治疗. Rabahi等[63]对UDCA单独治疗无反应的PBC采用UDCA(13-15 mg/d)、布地奈德(6 mg/d)及霉酚酸酯(1.5 g/d)联合治疗发现, 三联疗法对于无肝硬化的重症PBC患者疗效显著.

8.3 甲氨蝶呤(methotrexate, MTX) MTX作为免疫抑制剂, 具有抑制淋巴细胞增生、抑制中性粒细胞产生粒细胞和单核细胞趋化因子以及抑制白介素6活性等作用, 对于UDCA治疗无反应者, 联合MTX治疗不仅能改善PBC症状, 也显著改善其肝功能指标[64]. Leung等[65]对PBC采用UDCA联合MTX治疗10年后发现, 二联疗法可持续缓解PBC的临床症状. 此外, Kaplan等[66]研究显示, 对UDCA反应不佳者, 应用秋水仙碱和MTX联合治疗可显著改善PBC的肝脏酶学指标及组织学特征.

8.4 法尼酯X受体(farnesoid X receptor, FXR)激动剂 6-α乙基鹅去氧胆酸(obeticholic acid, OCA)是一种FXR激动剂, 在BAs的肝肠循环中起重要作用[62]. OCA是半合成的鹅去氧胆酸(chenodeoxycholic acid, CDCA)的衍生物, 可激活FXR, 具有抗淤胆、抗纤维化作用[62]. Le Blanc等[67]研究发现, FXR激活可改善胆汁淤积动物模型的肝损伤, 减少胆汁BAs的输出, 促进富含HCO_3^-的胆汁分泌. 初步研究证实, OCA单独或联合UDCA治疗可显著改善PBC的生化指标[62,64].

8.5 环孢素A(cyclosporine A) 环孢素A可抑制机体的某些免疫反应而被用于PBC的辅助治疗, 环孢素A不仅可改善瘙痒症状,还可以降低肝功酶学指标[68]. Shiba等[68]发现, 环孢素A可有效预防PBC的肝移植术后复发. 此外, 有研究显示, 亲环素(cyclophilin)是环孢素A的细胞内受体, 介导环孢素A的免疫抑制作用, 同时参与信号传导和免疫调节, 亲环素抑制剂在PBC的治疗中也发挥作用[69].

8.6 苯扎贝特(bezafibrate) 苯扎贝特为常用的降血脂药物, 是一类人工合成的过氧化物增殖体激活受体α(peroxisome proliferator-activated receptor α, PPARα)的配体. Lens等[70]研究显示, 苯扎贝特联合UDCA治疗不仅明显缓解PBC的瘙痒症状, 而且也显著降低其血清ALP、γ-GT及ALT水平. Honda等[71]认为, 对UDCA应答不佳的早期PBC而言, 苯扎贝特是抑制胆汁淤积的强力PPARα/PXR双重激动剂.

8.7 利妥昔单抗(rituximab) 利妥昔单抗是一种选择性消耗B细胞的抗CD20单克隆抗体, 其与B淋巴细胞上的CD20结合, 进而引发B细胞溶解的自身免疫反应[72]. B细胞参与PBC发病机制中免疫机制的非化脓性胆管炎和胆管破坏的炎性改变[72]. Myers等[72]研究显示, 利妥昔单抗选择性地消耗B细胞安全可行, 并与PBC的自身抗体生成下降显著相关, 但对UDCA反应不佳者的血生化指标却作用有限. Lazrak等[73]研究证实, 尽管B细胞在PBC的发病机制中至关重要, 但利妥昔单抗不能有效改善PBC的肝功能指标.

8.8 骨髓间充质干细胞(bone marrow-derived mesenchymal stem cells, BM-MSC)移植 BM-MSC是有多向分化潜能的多能干细胞, 具有调节免疫、阻止炎性介质释放以及修复病损组织的功能, 为治疗PBC提供了新的途径[64]. 动物实验表明, BM-MSC对各种损伤引起的肝纤维化和肝硬化均有明显的改善作用[64]. Wang等[74]发现, BM-MSC移植可调节全身免疫反应, 促进PBC小鼠模型的肝脏炎症恢复, 提示同种异体BM-MSC的临床应用有望用于治疗早期PBC患者. 此外, Roderfeld等[75]研究证实, BM-MSC移植可明显缓解PBC小鼠模型的肝纤维化.

8.9 肝移植 PBC的早期诊断及UDCA的临床应用明显改善了PBC的预后, 但仍有1/3的PBC应用UDCA治疗无效, 肝移植仍是终末期PBC患者的唯一有效治疗方法[1]. 肝移植术后的5年生存率接近80%, 但术后复发问题仍十分普遍, 少数肝移植术后患者的供肝失活以及排斥反应问题也较严重[76].

9 结论

PBC是一种慢性胆汁淤积性肝病, 对于早期PBC及时采用UDCA治疗不仅能缓解症状、降低肝脏酶学指标, 也能有效延缓PBC的进展, 对于UDCA反应不佳者, 应及时联合其他免疫抑制剂治疗. BM-MSC为治疗PBC提供了新的思路和途径, 但仍有待于更广泛的临床验证. 肝移植仍是终末期PBC患者的唯一有效治疗措施, 但术后复发问题仍有待解决.

■应用要点
本文结合大量国内外文献, 详尽阐述PBC在诊断和治疗领域的最新进展, 对临床工作有重要指导意义.

10 参考文献

1 黄颖秋. 原发性胆汁性肝硬化发病机制的研究进展.

■同行评价
本文结合大量国内外文献，详尽阐述了PBC在流行病学、临床特征、血清学特征、组织病理学特征和治疗领域的最新进展，对临床诊治工作具有重要的指导意义.

世界华人消化杂 2012; 20: 2761-2770
2 Marin JJ, Bujanda L, Banales JM. MicroRNAs and cholestatic liver diseases. *Curr Opin Gastroenterol* 2014; 30: 303-309 [PMID: 24553410 DOI: 10.1097/MOG.0000000000000051]
3 Zhang L, Ma D, Li X, Deng C, Shi Q, You X, Leng X, Li M, Tang F, Zhang F, Li Y. Gene expression profiles of peripheral blood mononuclear cells in primary biliary cirrhosis. *Clin Exp Med* 2013 Aug 20. *[Epub ahead of print]* [PMID: 23958878 DOI: 10.1007/s10238-013-0253-6]
4 Li S, Ma D, Zhang L, Li X, Deng C, Qin X, Zhang T, Wang L, Shi Q, Wang Q, Wu Q, Zhang X, Zhang F, Li Y. High levels of FCγR3A and PRF1 expression in peripheral blood mononuclear cells from patients with primary biliary cirrhosis. *Dig Dis Sci* 2013; 58: 458-464 [PMID: 23179144 DOI: 10.1007/s10620-012-2456-1]
5 Liu B, Zhang X, Zhang FC, Zong JB, Zhang W, Zhao Y. Aberrant TGF-β1 signaling contributes to the development of primary biliary cirrhosis in murine model. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 5828-5836 [PMID: 24124327 DOI: 10.3748/wjg.v19.i35.5828]
6 Carbone M, Lleo A, Sandford RN, Invernizzi P. Implications of genome-wide association studies in novel therapeutics in primary biliary cirrhosis. *Eur J Immunol* 2014; 44: 945-954 [PMID: 24481870 DOI: 10.1002/eji.201344270]
7 Boonstra K, Kunst AE, Stadhouders PH, Tuynman HA, Poen AC, van Nieuwkerk KM, Witteman EM, Hamann D, Witteman BJ, Beuers U, Ponsioen CY; the Epi PSC PBC study group. Rising incidence and prevalence of primary biliary cirrhosis: a large population-based study. *Liver Int* 2014 Jan 6. *[Epub ahead of print]* [PMID: 24387641 DOI: 10.1111/liv.12434]
8 Podda M, Selmi C, Lleo A, Moroni L, Invernizzi P. The limitations and hidden gems of the epidemiology of primary biliary cirrhosis. *J Autoimmun* 2013; 46: 81-87 [PMID: 23871640 DOI: 10.1016/j.jaut.2013.06.015]
9 Baldursdottir TR, Bergmann OM, Jonasson JG, Ludviksson BR, Axelsson TA, Björnsson ES. The epidemiology and natural history of primary biliary cirrhosis: a nationwide population-based study. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2012; 24: 824-830 [PMID: 22562114 DOI: 10.1097/MEG.0b013e328353753d]
10 Liu H, Liu Y, Wang L, Xu D, Lin B, Zhong R, Gong S, Podda M, Invernizzi P. Prevalence of primary biliary cirrhosis in adults referring hospital for annual health check-up in Southern China. *BMC Gastroenterol* 2010; 10: 100 [PMID: 20815889 DOI: 10.1186/1471-230X-10-100]
11 Wang L, Zhang FC, Chen H, Zhang X, Xu D, Li YZ, Wang Q, Gao LX, Yang YJ, Kong F, Wang K. Connective tissue diseases in primary biliary cirrhosis: a population-based cohort study. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 5131-5137 [PMID: 23964148 DOI: 10.3748/wjg.v19.i31.5131]
12 Crosignani A, Battezzati PM, Invernizzi P, Selmi C, Prina E, Podda M. Clinical features and management of primary biliary cirrhosis. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 3313-3327 [PMID: 18528929 DOI: 10.3748/wjg.14.3313]
13 Harada K, Nakanuma Y. Prevalence and risk factors of hepatocellular carcinoma in Japanese patients with primary biliary cirrhosis. *Hepatol Res* 2014; 44: 133-140 [PMID: 24102868 DOI: 10.1111/hepr.12242]
14 Azemoto N, Abe M, Murata Y, Murakami H, Matsuura B, Hiasa Y, Onji M. Clinical profile of primary biliary cirrhosis that was diagnosed as symptomatic primary biliary cirrhosis according to the revised diagnostic criteria in Japan. *Intern Med* 2010; 49: 1073-1078 [PMID: 20558920]
15 Ikeda F, Okamoto R, Baba N, Fujioka S, Shoji B, Yabushita K, Ando M, Matsumura S, Kubota J, Yasunaka T, Miyake Y, Iwasaki Y, Kobashi H, Okada H, Yamamoto K. Prevalence and associated factors with esophageal varices in early primary biliary cirrhosis. *J Gastroenterol Hepatol* 2012; 27: 1320-1328 [PMID: 22414162 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2012.07114.x]
16 Ali AH, Sinakos E, Silveira MG, Jorgensen RA, Angulo P, Lindor KD. Varices in early histological stage primary biliary cirrhosis. *J Clin Gastroenterol* 2011; 45: e66-e71 [PMID: 20856137 DOI: 10.1097/MCG.0b013e3181f18c4e]
17 Tomiyama Y, Takenaka K, Kodama T, Kawanaka M, Sasaki K, Nishina S, Yoshioka N, Hara Y, Hino K. Risk factors for survival and the development of hepatocellular carcinoma in patients with primary biliary cirrhosis. *Intern Med* 2013; 52: 1553-1559 [PMID: 23857086]
18 Cavazza A, Rossi G, Corradi D, Luppi F, Cervi G, Spaggiari L, Falco F, Roggeri A. Cellular non-specific interstitial pneumonia as a pulmonary manifestation of primary biliary cirrhosis. *Pathology* 2010; 42: 596-598 [PMID: 20854086 DOI: 10.3109/00313025.2010.508779]
19 Shen M, Zhang F, Zhang X. Primary biliary cirrhosis complicated with interstitial lung disease: a prospective study in 178 patients. *J Clin Gastroenterol* 2009; 43: 676-679 [PMID: 19247207 DOI: 10.1097/MCG.0b013e31818aa11e]
20 Shen M, Zhang F, Zhang X. Pulmonary hypertension in primary biliary cirrhosis: a prospective study in 178 patients. *Scand J Gastroenterol* 2009; 44: 219-223 [PMID: 18821172 DOI: 10.1080/00365520802400883]
21 Bektas M, Seven G, Idilman R, Yakut M, Doğanay B, Kabacam G, Ustun Y, Korkut E, Kalkan Ç, Sahin G, Cetinkaya H, Bozkaya H, Yurdaydin C, Bahar K, Cinar K, Soykan I. Manometric assessment of esophageal motor function in patients with primary biliary cirrhosis. *Eur J Intern Med* 2014; 25: 230-234 [PMID: 24534163 DOI: 10.1016/j.ejim.2014.01.008]
22 Rigopoulou EI, Zachou K, Gatselis NK, Papadamou G, Koukoulis GK, Dalekos GN. Primary biliary cirrhosis in HBV and HCV patients: Clinical characteristics and outcome. *World J Hepatol* 2013; 5: 577-583 [PMID: 24179617 DOI: 10.4254/wjh.v5.i10.577]
23 Chen HW, Huang HH, Lai CH, Chang WE, Shih YL, Chang WK, Hsieh TY, Chu HC. Hepatitis C virus infection in patients with primary biliary cirrhosis. *Ann Hepatol* 2013; 12: 78-84 [PMID: 23293197]
24 Li A, Wang Y, Deng Z. Concurrent autoimmune pancreatitis and primary biliary cirrhosis: a rare case report and literature review. *BMC Gastroenterol* 2014; 14: 10 [PMID: 24410827 DOI: 10.1186/1471-230X-14-10]
25 Okada T, Mibayashi H, Hasatani K, Hayashi Y, Tsuji S, Kaneko Y, Yoshimitsu M, Tani T, Zen Y, Yamagishi M. Pseudolymphoma of the liver associated with primary biliary cirrhosis: a case report and review of literature. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 4587-4592 [PMID: 19777620 DOI: 10.3748/

wjg.15.4587]
26 Nakayama S, Yokote T, Kobayashi K, Hirata Y, Akioka T, Miyoshi T, Oka S, Hiraoka N, Iwaki K, Takayama A, Fukui H, Tsuda Y, Takubo T, Tsuji M, Higuchi K, Hanafusa T. Primary hepatic MALT lymphoma associated with primary biliary cirrhosis. *Leuk Res* 2010; 34: e17-e20 [PMID: 19679352 DOI: 10.1016/j.leukres.2009.07.031]
27 Floreani A, Cazzagon N, Franceschet I, Canesso F, Salmaso L, Baldo V. Metabolic Syndrome Associated With Primary Biliary Cirrhosis. *J Clin Gastroenterol* 2013 Nov 13. *[Epub ahead of print]* [PMID: 24231935 DOI: 10.1097/MCG.0000000000000029]
28 Hu S, Zhao F, Wang Q, Chen WX. The accuracy of the anti-mitochondrial antibody and the M2 subtype test for diagnosis of primary biliary cirrhosis: a meta-analysis. *Clin Chem Lab Med* 2014 Feb 6. *[Epub ahead of print]* [PMID: 24501161 DOI: 10.1515/cclm-2013-0926]
29 Granito A, Muratori P, Quarneti C, Pappas G, Cicola R, Muratori L. Antinuclear antibodies as ancillary markers in primary biliary cirrhosis. *Expert Rev Mol Diagn* 2012; 12: 65-74 [PMID: 22133120 DOI: 10.1586/ERM.11.82]
30 Gatselis NK, Zachou K, Norman GL, Gabeta S, Papamichalis P, Koukoulis GK, Dalekos GN. Clinical significance of the fluctuation of primary biliary cirrhosis-related autoantibodies during the course of the disease. *Autoimmunity* 2013; 46: 471-479 [PMID: 23777462 DOI: 10.3109/08916934.2013.801461]
31 Valour F, Durupt S, Khenifer S, Durieu I. Diagnostic value of anti-gp210 antibodies in primary biliary cirrhosis: a case-based review. *BMJ Case Rep* 2013; 2013 [PMID: 23814122 DOI: 10.1136/bcr-2013-009803]
32 Mytilinaiou MG, Meyer W, Scheper T, Rigopoulou EI, Probst C, Koutsoumpas AL, Abeles D, Burroughs AK, Komorowski L, Vergani D, Bogdanos DP. Diagnostic and clinical utility of antibodies against the nuclear body promyelocytic leukaemia and Sp100 antigens in patients with primary biliary cirrhosis. *Clin Chim Acta* 2012; 413: 1211-1216 [PMID: 22503841 DOI: 10.1016/j.cca.2012.03.020]
33 Liberal R, Grant CR, Sakkas L, Bizzaro N, Bogdanos DP. Diagnostic and clinical significance of anti-centromere antibodies in primary biliary cirrhosis. *Clin Res Hepatol Gastroenterol* 2013; 37: 572-585 [PMID: 23876351 DOI: 10.1016/j.clinre.2013.04.005]
34 Mandai S, Kanda E, Arai Y, Hirasawa S, Hirai T, Aki S, Inaba N, Aoyagi M, Tanaka H, Ikeda T, Tamura T, Sasaki S. Anti-centromere antibody is an independent risk factor for chronic kidney disease in patients with primary biliary cirrhosis. *Clin Exp Nephrol* 2013; 17: 405-410 [PMID: 23268283 DOI: 10.1007/s10157-012-0724-1]
35 Shi TY, Zhang LN, Chen H, Wang L, Shen M, Zhang X, Zhang FC. Risk factors for hepatic decompensation in patients with primary biliary cirrhosis. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 1111-1118 [PMID: 23467321 DOI: 10.3748/wjg.v19.i7.1111]
36 Kawaguchi T, Tanaka T, Hashiguchi M, Miyoshi H, Akiba J, Kage M, Yano H, Ohshima K, Okamura T, Sata M. Decreased serum levels of immunoglobulin A, immunoglobulin M and immunoglobulin G in a patient with primary biliary cirrhosis: A case report. *Hepatol Res* 2013 Jul 29. *[Epub ahead of print]* [PMID: 23890027 DOI: 10.1111/hepr.12211]
37 Drebber U, Mueller JJ, Klein E, Kasper HU, Schulze F, Schardt K, Quasdorff M, Schulte S, Odenthal M, Dienes HP. Liver biopsy in primary biliary cirrhosis: clinicopathological data and stage. *Pathol Int* 2009; 59: 546-554 [PMID: 19627538 DOI: 10.1111/j.1440-1827.2009.02405.x]
38 Turhan N, Kurt M, Ozderin YO, Kurt OK. Hepatic granulomas: a clinicopathologic analysis of 86 cases. *Pathol Res Pract* 2011; 207: 359-365 [PMID: 21531083 DOI: 10.1016/j.prp.2011.03.003]
39 You Z, Wang Q, Bian Z, Liu Y, Han X, Peng Y, Shen L, Chen X, Qiu D, Selmi C, Gershwin ME, Ma X. The immunopathology of liver granulomas in primary biliary cirrhosis. *J Autoimmun* 2012; 39: 216-221 [PMID: 22727562 DOI: 10.1016/j.jaut.2012.05.022]
40 Bioulac-Sage P. Primary biliary cirrhosis: a new histological staging and grading system proposed by Japanese authors. *Clin Res Hepatol Gastroenterol* 2011; 35: 333-335 [PMID: 21497151 DOI: 10.1016/j.clinre.2011.03.001]
41 Harada K, Hsu M, Ikeda H, Zeniya M, Nakanuma Y. Application and validation of a new histologic staging and grading system for primary biliary cirrhosis. *J Clin Gastroenterol* 2013; 47: 174-181 [PMID: 23269312]
42 Kakuda Y, Harada K, Sawada-Kitamura S, Ikeda H, Sato Y, Sasaki M, Okafuji H, Mizukoshi E, Terasaki S, Ohta H, Kasashima S, Kawashima A, Kaizaki Y, Kaneko S, Nakanuma Y. Evaluation of a new histologic staging and grading system for primary biliary cirrhosis in comparison with classical systems. *Hum Pathol* 2013; 44: 1107-1117 [PMID: 23313306 DOI: 10.1016/j.humpath.2012.09.017]
43 Chan AW, Chan RC, Wong GL, Wong VW, Choi PC, Chan HL, To KF. Evaluation of histological staging systems for primary biliary cirrhosis: correlation with clinical and biochemical factors and significance of pathological parameters in prognostication. *Histopathology* 2014 Jan 31. *[Epub ahead of print]* [PMID: 24479738 DOI: 10.1111/his.12384]
44 Daniels JA, Torbenson M, Anders RA, Boitnott JK. Immunostaining of plasma cells in primary biliary cirrhosis. *Am J Clin Pathol* 2009; 131: 243-249 [PMID: 19141384 DOI: 10.1309/AJCP8WHR0IEVUUOJ]
45 Kikuchi K, Tsuneyama K, Yamada H, Kajiyama Y, Matsumoto K, Tsunashima H, Yamashita R, Takai A, Negishi M, Hara M, Moritoki Y, Miyakawa H. Splenic lymph follicles generate immunoglobulin M-producing B cells in primary biliary cirrhosis. *Hepatol Res* 2013 Aug 29. *[Epub ahead of print]* [PMID: 24033874 DOI: 10.1111/hepr.12231]
46 黄颖秋. 非酒精性脂肪性肝炎发病机制的研究进展. 世界华人消化杂志 2009; 17: 3181-3188
47 Híndi M, Levy C, Couto CA, Bejarano P, Mendes F. Primary biliary cirrhosis is more severe in overweight patients. *J Clin Gastroenterol* 2013; 47: e28-e32 [PMID: 23059407 DOI: 10.1097/MCG.0b013e318261e659]
48 Lindor KD, Gershwin ME, Poupon R, Kaplan M, Bergasa NV, Heathcote EJ. Primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 2009; 50: 291-308 [PMID: 19554543 DOI: 10.1002/hep.22906]
49 European Association for the Study of the Liver. EASL Clinical Practice Guidelines: management of cholestatic liver diseases. *J Hepatol* 2009; 51: 237-267 [PMID: 19501929 DOI: 10.1016/j.jhep.2009.04.009]
50 Bowlus CL, Gershwin ME. The diagnosis of primary biliary cirrhosis. *Autoimmun Rev* 2014; 13: 441-444

[PMID: 24424173 DOI: 10.1016/j.autrev.2014.01.041]
51 黄颖秋. 原发性硬化性胆管炎的研究进展. 世界华人消化杂志 2012; 20: 2978-2985
52 黄颖秋. IgG4相关硬化性胆管炎的研究进展. 世界华人消化杂志 2012; 20: 2554-2561
53 黄颖秋. 自身免疫性肝炎的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21: 3670-3677
54 黄颖秋. 自身免疫性肝病重叠综合征的现状. 世界华人消化杂志 2014; 22: 301-309
55 Al-Harthy N, Kumagi T. Natural history and management of primary biliary cirrhosis. *Hepat Med* 2012; 4: 61-71 [PMID: 24367233 DOI: 10.2147/HMER.S25998]
56 Manousou P, Kolios G, Drygiannakis I, Koulentaki M, Pyrovolaki K, Voumvouraki A, Notas G, Bourikas L, Papadaki HA, Kouroumalis E. CXCR3 axis in patients with primary biliary cirrhosis: a possible novel mechanism of the effect of ursodeoxycholic acid. *Clin Exp Immunol* 2013; 172: 9-15 [PMID: 23480180 DOI: 10.1111/cei.12032]
57 Zhang Y, Lu J, Dai W, Wang F, Shen M, Yang J, Zhu R, Zhang H, Chen K, Cheng P, He L, Wang C, Xu L, Zhou Y, Guo C. Combination Therapy of Ursodeoxycholic Acid and Corticosteroids for Primary Biliary Cirrhosis with Features of Autoimmune Hepatitis: A Meta-Analysis. *Gastroenterol Res Pract* 2013; 2013: 490731 [PMID: 24369456 DOI: 10.1155/2013/490731]
58 Boberg KM, Wisløff T, Kjøllesdal KS, Støvring H, Kristiansen IS. Cost and health consequences of treatment of primary biliary cirrhosis with ursodeoxycholic acid. *Aliment Pharmacol Ther* 2013; 38: 794-803 [PMID: 23915021]
59 Zhang LN, Shi TY, Shi XH, Wang L, Yang YJ, Liu B, Gao LX, Shuai ZW, Kong F, Chen H, Han W, Han SM, Fei YY, Cui QC, Wang Q, Shen M, Xu D, Zheng WJ, Li YZ, Zhang W, Zhang X, Zhang FC. Early biochemical response to ursodeoxycholic acid and long-term prognosis of primary biliary cirrhosis: results of a 14-year cohort study. *Hepatology* 2013; 58: 264-272 [PMID: 23408380 DOI: 10.1002/hep.26322]
60 Lammert C, Juran BD, Schlicht E, Chan LL, Atkinson EJ, de Andrade M, Lazaridis KN. Biochemical response to ursodeoxycholic acid predicts survival in a North American cohort of primary biliary cirrhosis patients. *J Gastroenterol* 2013 Dec 8. *[Epub ahead of print]* [PMID: 24317935 DOI: 10.1007/s00535-013-0903-1]
61 Carbone M, Mells GF, Pells G, Dawwas MF, Newton JL, Heneghan MA, Neuberger JM, Day DB, Ducker SJ, Sandford RN, Alexander GJ, Jones DE. Sex and age are determinants of the clinical phenotype of primary biliary cirrhosis and response to ursodeoxycholic acid. *Gastroenterology* 2013; 144: 560-569.e7; quiz e13-e14 [PMID: 23246637 DOI: 10.1053/j.gastro.2012.12.005]
62 Silveira MG, Lindor KD. Obeticholic acid and budesonide for the treatment of primary biliary cirrhosis. *Expert Opin Pharmacother* 2014; 15: 365-372 [PMID: 24382005 DOI: 10.1517/14656566.2014.873404]
63 Rabahi N, Chrétien Y, Gaouar F, Wendum D, Serfaty L, Chazouillères O, Corpechot C, Poupon R. Triple therapy with ursodeoxycholic acid, budesonide and mycophenolate mofetil in patients with features of severe primary biliary cirrhosis not responding to ursodeoxycholic acid alone. *Gastroenterol Clin Biol* 2010; 34: 283-287 [PMID: 20417047 DOI: 10.1016/j.gcb.2010.02.004]
64 Czul F, Peyton A, Levy C. Primary biliary cirrhosis: therapeutic advances. *Clin Liver Dis* 2013; 17: 229-242 [PMID: 23540499 DOI: 10.1016/j.cld.2012.12.003]
65 Leung J, Bonis PA, Kaplan MM. Colchicine or methotrexate, with ursodiol, are effective after 20 years in a subset of patients with primary biliary cirrhosis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2011; 9: 776-780 [PMID: 21699802 DOI: 10.1016/j.cgh.2011.05.010]
66 Kaplan MM, Bonder A, Ruthazer R, Bonis PA. Methotrexate in patients with primary biliary cirrhosis who respond incompletely to treatment with ursodeoxycholic acid. *Dig Dis Sci* 2010; 55: 3207-3217 [PMID: 20559727 DOI: 10.1007/s10620-010-1291-5]
67 Le Blanc I, Scotte M, Michot F, Tenière P. [Gastric volvulus secondary to para-esophageal and sliding hiatal hernias]. *Ann Chir* 1991; 45: 42-45 [PMID: 2006858]
68 Shiba H, Wakiyama S, Futagawa Y, Gocho T, Ito R, Furukawa K, Ishida Y, Misawa T, Yanaga K. Switching from tacrolimus to cyclosporine A to prevent primary biliary cirrhosis recurrence after living-donor liver transplantation. *Int Surg* 2013; 98: 156-159 [PMID: 23701152 DOI: 10.9738/CC188]
69 Wasilenko ST, Montano-Loza AJ, Mason AL. Is there a role for cyclophilin inhibitors in the management of primary biliary cirrhosis? *Viruses* 2013; 5: 423-438 [PMID: 23348060 DOI: 10.3390/v5020423]
70 Lens S, Leoz M, Nazal L, Bruguera M, Parés A. Bezafibrate normalizes alkaline phosphatase in primary biliary cirrhosis patients with incomplete response to ursodeoxycholic acid. *Liver Int* 2014; 34: 197-203 [PMID: 23998489 DOI: 10.1111/liv.12290]
71 Honda A, Ikegami T, Nakamuta M, Miyazaki T, Iwamoto J, Hirayama T, Saito Y, Takikawa H, Imawari M, Matsuzaki Y. Anticholestatic effects of bezafibrate in patients with primary biliary cirrhosis treated with ursodeoxycholic acid. *Hepatology* 2013; 57: 1931-1941 [PMID: 22911624 DOI: 10.1002/hep.26018]
72 Myers RP, Swain MG, Lee SS, Shaheen AA, Burak KW. B-cell depletion with rituximab in patients with primary biliary cirrhosis refractory to ursodeoxycholic acid. *Am J Gastroenterol* 2013; 108: 933-941 [PMID: 23649186 DOI: 10.1038/ajg.2013.51]
73 Lazrak F, Abourazzak FE, Berrada K, Kadi N, Manssouri S, Harzy T. A rare association of rheumatoid arthritis and primary biliary cirrhosis treated with rituximab: a case report. *J Med Case Rep* 2013; 7: 99 [PMID: 23570499 DOI: 10.1186/1752-1947-7-99]
74 Wang D, Zhang H, Liang J, Gu Z, Ma X, Huang J, Lin J, Hou Y, Lu L, Sun L. Effect of allogeneic bone marrow-derived mesenchymal stem cells transplantation in a polyI: C-induced primary biliary cirrhosis mouse model. *Clin Exp Med* 2011; 11: 25-32 [PMID: 20661620 DOI: 10.1007/s10238-010-0105-6]
75 Roderfeld M, Rath T, Voswinckel R, Dierkes C, Dietrich H, Zahner D, Graf J, Roeb E. Bone marrow transplantation demonstrates medullar origin of CD34+ fibrocytes and ameliorates hepatic fibrosis in Abcb4-/- mice. *Hepatology* 2010; 51: 267-276 [PMID: 19827165 DOI: 10.1002/hep.23274]

76 Liberal R, Zen Y, Mieli-Vergani G, Vergani D. Liver transplantation and autoimmune liver diseases. *Liver Transpl* 2013; 19: 1065-1077 [PMID: 23873751 DOI: 10.1002/lt.23704]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版)

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

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

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

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2014年6月8日; 22(16): 2252-2257
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

文献综述 REVIEW

腺泡细胞自噬与急性胰腺炎

邓力珲, 夏 庆

■背景资料
急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)发病机制尚不清楚, 腺泡细胞异常自噬导致胰蛋白酶原激活可能是急性胰腺炎发病的关键环节. 损伤因素导致线粒体发生通透性转换(mitochondrial permeability transition, MPT)可能诱导腺泡细胞自噬. 明确线粒体通透性转换诱导腺泡细胞自噬的机制有助于加深对急性胰腺炎发病机制的认识.

邓力珲, 夏庆, 四川大学华西医院中西医结合科 四川省成都市 610041
邓力珲, 助理研究员, 从事重症急性胰腺炎的基础与临床研究.
国家自然科学基金资助项目, No. 81300358
高等学校博士学科点专项科研基金资助项目, No. 20130181120050
作者贡献分布: 本文综述由邓力珲完成; 夏庆审校.
通讯作者: 夏庆, 教授, 主任医师, 610041, 四川省成都市武侯区国学巷37号, 四川大学华西医院中西医结合科.
xiaqing@medmail.com.cn
电话: 028-85423373
收稿日期: 2014-02-20 修回日期: 2014-04-02
接受日期: 2014-04-09 在线出版日期: 2014-06-08

Autophagy in pancreatic acinar cells and pathogenesis of acute pancreatitis

Li-Hui Deng, Qing Xia

Li-Hui Deng, Qing Xia, Department of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan Province, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81300358; and Research Fund for the Doctoral Program of Higher Education of China, No. 20130181120050
Correspondence to: Qing Xia, Professor, Chief Physician, Department of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, West China Hospital, Sichuan University, 37 Guoxue Road, Chengdu 610041, Sichuan Province, China. xiaqing@medmail.com.cn
Received: 2014-02-20 **Revised:** 2014-04-02
Accepted: 2014-04-09 **Published online:** 2014-06-08

Abstract
Acute pancreatitis is an inflammatory disorder of the pancreas, and its pathogenesis remains poorly understood. Autodigestion of the pancreas by its own prematurely activated digestive proteases is a critical event in the onset of acute pancreatitis. Mitochondrial permeability transition results in mitochondrial depolarization and loss of ATP production, which has been found to induce autophagy in several cell types, *e.g.* cardiomyocytes and hepatocytes and is of vital importance for the fate of cells. Elucidating the relationship between mitochondrial permeability transition and autophagy within pancreatic acinar cells may enlighten the pathogenesis of acute pancreatitis and help provide potential therapeutic targets for this disease.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Acute pancreatitis; Autophagy; Mitochondrial permeability transition; Pancreatic acinar cells

Deng LH, Xia Q. Autophagy in pancreatic acinar cells and pathogenesis of acute pancreatitis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(16): 2252-2257 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2252.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i16.2252

摘要
急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)是胰腺外分泌急性炎症的疾病, 其发病机制至今尚未阐明. 胰腺腺泡细胞内酶原激活是公认的AP发病的始动环节, 越来越多的证据表明, 异常自噬酶原激活将导致腺泡细胞损伤和AP. 腺泡细胞在病理因素的刺激下发生线粒体通透性转换, 线粒体去极化和ATP下降, 可导致细胞内胰酶活性升高和细胞坏死. 我们认为, 阐明线粒体通透性转换与自噬二者之间的关系及腺泡细胞自噬在AP中的作用, 将有望推进对AP发病机制的认识, 为AP的有效防治提供新思路和药物作用新靶点.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 急性胰腺炎; 自噬; 线粒体通透性转换; 胰腺腺泡细胞

核心提示: 胰腺腺泡细胞异常自噬激活酶原是公认的急性胰腺炎发病的始动环节, 但诱导自噬的上游机制尚未阐明. 我们根据相关文献报道和前期研究结果, 提出“线粒体通透性转换诱导自噬是促进急性胰腺炎发生发展的重要环节”这一观点.

邓力珲, 夏庆. 腺泡细胞自噬与急性胰腺炎. 世界华人消化杂志 2014; 22(16): 2252-2257 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2252.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i16.2252

■同行评议者
毛恩强, 教授, 主任医师, 上海交通大学医学院附属瑞金医院EICU

0 引言

急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)是多种病因引起腺泡细胞内胰酶异常激活, 继以胰腺炎症反应为主要特征的疾病[1,2]. 其发病率逐年来呈上升趋势, 已成为最常见的急腹症之一, 造成巨大的社会和经济负担[3]. 其中重型AP一直是临床上治疗的难点和挑战, 死亡率高达30%-50%[4]. 迄今为止, AP确切的发病机制尚未阐明. 一百多年前提出的“胰酶消化学说”和腺泡细胞内胰蛋白酶原异常激活是国内外公认的AP发病的始动环节[2,5]. 追溯酶原激活的具体机制, 人们在30多年前发现了腺泡细胞内自噬空泡现象, 并提出自噬是酶原激活关键过程[6-8], 然而直到近十年来在酵母菌及哺乳动物细胞中发现了参与自噬的分子机制, 自噬才迅速成为一个全新的研究领域, 已经成为生物医学的热点.

1 腺泡细胞异常自噬与AP

自噬(autophagy)是细胞将胞质及细胞器运送至溶酶体进行自我降解的途径[9,10]. 根据细胞内底物运送到溶酶体腔的方式不同, 哺乳动物细胞自噬可分为大自噬(macroautophagy)、小自噬(microautophagy)和分子伴侣介导的自噬(chaperone-mediated autophagy), 通常所说的自噬是指大自噬[11,12]. 自噬对细胞的作用非常复杂, 一方面自噬通过降解自身的物质, 清除对细胞生长有害的物质, 促进细胞生存; 另一方面, 当细胞受到过多的损伤打击, 产生异常的自噬也会引起细胞死亡, 与许多疾病的发病机制密切相关[13,14].

自噬在AP中的作用尚未明确, 其争议在于激活自噬的意义是加速细胞能量营养补充从而有益于细胞存活或及时提供ATP使细胞应激时启动凋亡以减轻损伤, 还是使胰蛋白酶原激活而直接损伤腺泡[15]. 但是, 越来越多的证据表明, 异常自噬酶原激活将导致腺泡细胞损伤和AP[16-18]. 有研究发现胰腺腺泡在诱发实验性AP时腺泡细胞中出现的空泡是双层膜的, 且膜上有自噬标志物轻链蛋白3 Ⅱ(light chain 3 Ⅱ, LC3 Ⅱ)存在, 因此考虑这些空泡是自噬来源的, 并且在这些空泡中发现未完全消化的细胞内容物及胰蛋白酶更进一步证实胰蛋白酶原的激活可能与自噬有关[19]. 有研究认为自噬既可使胰蛋白酶原与组织蛋白水解酶“共位置”, 又可提供胰蛋白酶原“自我激活”所需要的适当pH值, 因此在胰蛋白酶原提前过度激活中起关键作用[16].

自噬被诱导后, 细胞内形成一种称为隔离膜(isolation membrane)或吞噬泡(phagopore)的小囊泡样结构, 并与需降解的胞浆成分、线粒体及酶原颗粒集结在一起, 吞噬泡膜延伸并包裹封闭胞浆成分形成一个双层膜的自噬(autophosome), 自噬体与溶酶体(lysosome)直接融合形成自噬溶酶体(autopholysome), 或先与内涵体(endosome)融合形成自噬内涵体(amphisome)后再与溶酶体融合, 包裹的胞浆成分最终在溶酶体酶[组织蛋白水解酶B(cathepsin B, CatB)和组织蛋白水解酶L(cathepsin L, CatL)]的作用下被降解, 此过程中酶原可被溶酶体酶(主要是Cat B)激活成为有活性的酶, 腺泡细胞自身消化, 触发AP[16,20].

自噬形成的过程有多种分子参与, 哺乳动物参与自噬形成过程的相关基因现统一命名为自噬相关基因Atg(autophagy-related gene)[21,22], 监测标志性自噬分子的荧光及蛋白能够反映自噬活性. (1)微管相关蛋白1轻链3(microtubule-associated protein 1 light chain 3, MAP1-LC3)是哺乳动物中自噬体形成及胞浆到空泡靶向囊泡必需的蛋白, 胞浆型LC3B-Ⅰ散在分布于细胞浆内, 当自噬体形成后, LC3B-Ⅰ形成LC3B-Ⅱ并始终稳定地保留在自噬体膜上直到与溶酶体融合, 因此LC3B -Ⅱ被用来作为自噬体的标记性蛋白, 其表达水平在某种程度上反映了自噬体的数量, Western blot和荧光显微镜检测胞浆型LC3B-Ⅰ转位为自噬体膜 LC3-Ⅱ已成为监测“自噬潮”(自噬体形成/降解)的推荐方法[23-25]; (2)Beclin1是酵母ATG6的同系物, 与III型磷脂酰肌醇三磷酸激酶(classIII PI3K)形成复合物参与到自噬形成, 在自噬体的形成及膜来源中发挥作用[26]; (3)空泡膜蛋白1(vacuole membrane protein 1, VMP1)的表达被认为是AP早期的分子事件, 雨蛙肽刺激大鼠6 h后, 可以在胰腺自噬空泡膜上检测到高表达, 因此VMP1被认为是AP早期的分子事件[27]; (4)p62蛋(SQSTM1/sequestome-1)对降解底物的识别和包裹起着关键作用, 其表达量的变化与自噬活性成负相关.

异常自噬造成酶原激活主要有3方面的原因[28]: (1)自噬体形成增多: 诱导AP小鼠腺泡细胞内自噬体形成增多, 过多自噬体堆积, 胰蛋白酶原大量激活导致胰腺细胞死亡, 阻断或抑制自噬体大量形成可减轻AP的程度[29-31]; (2)自噬体与溶酶体融合障碍: Fortunato等[32,33]发现在AP小

■研发前沿
自噬是目前生物医学的研究热点, 胰腺腺泡细胞内异常自噬酶原活化是急性胰腺炎发病的始动环节已得到公认, 但诱导自噬的上游机制仍是本学科领域待解决的关键问题.

■相关报道
自噬异常与许多疾病的发病机制密切相关. 越来越多的证据表明, 异常自噬酶原激活将导致腺泡细胞损伤和急性胰腺炎. 研究发现腺泡细胞自噬过程中伴有线粒体功能受损, 在急性胰腺炎发病机制中起了重要作用.

鼠胰腺腺泡细胞中出现大量自噬体, 但是自噬溶酶体并没有明显上升, 伴随溶酶体相关膜蛋白LAMP-2的缺失, 推测LAMP-2缺失导致自噬体和溶酶体融合障碍, 自噬途径被阻断, 使受损细胞器降解减少, 即细胞可循环利用的小分子物质减少, 从而使细胞向坏死方向发展; (3)自噬降解障碍: 溶酶体中成熟的CatB和CatL减少及分解功能下降, 大量的酶原堆积在自噬溶酶体内引起酶原激活和细胞损伤; CatB与CatL比例失衡, CatB激活胰蛋白酶, 从而引起AP[19].

自噬调节机制相当复杂, 目前比较明确的是Ⅲ型PI3K/Akt(PKB)途径、Bcl-2/Beclin-1途径、p53途径、雷帕霉素调控的雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)/MAPK途径[31]. 细胞能量下降诱导自噬与AMPK信号途径密切相关[34,35]. 腺苷酸活化蛋白激酶(adenosine 5-monophosphate-activated protein kinase, AMPK)被称为“细胞能量感受器”, 正常情况下AMPK抑制酶原活化对腺泡细胞起保护作用, CCK-8类似物雨蛙肽(caerulin)刺激腺泡细胞后, AMPK活性增加[36]. mTOR是AP中重要的信号传导激酶之一[37,38], 其与Raptor及LST8共同形成复合物mTORC1. 在能量充足的情况下, mTORC1抑制其下游效应因子ULK1-ATG13-FIP200自噬复合物从而抑制自噬的发生, 是自噬的负调控因子, 雷帕霉素(rapamycin)能够与Raptor亚基相互作用而增强自噬. 在能量不足的情况下, AMPK磷酸化使其成为有活性的AMPK-P, AMPK-P磷酸化激活mTORC1的Raptor亚基, 然后mTORC1整合上游信号解除对下游分子ULK1的抑制作用, ULK1磷酸化活化整个ULK1-ATG13-FIP200复合物, 从而开启自噬的“第一步”[39]. 最新的研究显示AMPK-P也能直接磷酸化激活ULK1诱导自噬[40,41].

2 腺泡细胞线粒体功能受损与AP

线粒体是细胞内氧化磷酸化和形成 ATP 的主要场所, 还参与细胞内信号传导和炎症反应, 决定着细胞存活和死亡[42-45]. 外界损伤因素使线粒体通透性转换孔(mitochondrial permeability transition pore, MPTP)放引起线粒体通透性转换(mitochondrial permeability transition, MPT), 导致了线粒体能量、代谢与功能下降. 定位于线粒体基质的亲环蛋白D(cyclophilin D, CypD)是调节MPTP开放与关闭从而调节MPT的关键蛋白[28], 环孢素A(cyclosporine A, CsA)与CypD结合特异性抑制MPT造成的线粒体损伤. 有证据显示, CypD主要调节了线粒体相关的细胞坏死, 对细胞凋亡过程没有调节作用[46-48]. (精氨酸诱导)ATP合成减少、(雨蛙肽和胆酸诱导)Ca^{2+}超载[49]、(酒精诱导)NAD减少[50]、精氨酸等损伤因素可导致MPTP开放[51], 线粒体膜电位下降, 在AP发病机制中起到重要作用[52,53]. Shalbueva等[54]报道结果显示: CCK-8刺激腺泡细胞内Ca^{2+}浓度上升, 线粒体膜电位降低, 线粒体能量产生链的控制标志物NAD(P)H减少反映细胞ATP生成下降, 同时细胞坏死释放乳酸脱氢酶(LDH)增多; 使用公认的MPT特异性抑制剂CsA能维持线粒体膜电位和NAD(P)H, 降低胰淀粉酶和胰蛋白酶活性, 减轻细胞坏死.

3 胰腺腺泡细胞MPT可能诱导自噬进而导致细胞内异常酶原活化和细胞坏死

MPT和自噬在AP损伤中均可能扮演了关键角色, 但是在AP中有关二者之间究竟是否存在一定联系以及存在何种联系尚未见报道. 不过有少量研究已证实MPT诱导自噬与心血管疾病、癌症、神经退行性疾病等疾病的发生有密切关系[55-57].

腺泡细胞自噬过程中伴有线粒体功能受损, 在AP发病机制中起了重要作用[28,32,53,58]. 细胞主要通过自噬机制清除受损伤或不需要的线粒体, 以往研究在电镜下观察到AP动物胰腺腺泡细胞自噬溶酶体中存在着异常的线粒体[32,51,59], 并且MPT诱导自噬已在多种细胞中得到证实[35,60]. 已有研究证实CCK-8能诱导腺泡细胞自噬和AP[32], 自噬是酶原激活的关键过程, 因此我们推测CCK-8刺激腺泡细胞引起MPT, 很可能通过诱导自噬和酶原激活而造成细胞损伤坏死, MPT可能是调节自噬和腺泡细胞坏死的关键靶点. 已有研究证实饥饿诱导的心肌细胞和肝细胞自噬是依赖CypD调节MPT的过程, CsA能够降低自噬程度[61,62], 因此我们推测CsA可能抑制胰腺腺泡细胞自噬.

4 结论

腺泡细胞自噬与在AP中发挥了重要作用. 我们进一步推测, 腺泡细胞在病理因素刺激下发生MPT诱导自噬现象, 进而AP, 抑制线粒体通透性转换诱导自噬也有可能为AP治疗的新靶点.

5 参考文献

1 Sah RP, Garg P, Saluja AK. Pathogenic mecha-

nisms of acute pancreatitis. *Curr Opin Gastroenterol* 2012; 28: 507-515 [PMID: 22885948 DOI: 10.1097/MOG.0b013e3283567f52]
2 Frossard JL, Steer ML, Pastor CM. Acute pancreatitis. *Lancet* 2008; 371: 143-152 [PMID: 18191686 DOI: 10.1016/S0140-6736(08)60107-5]
3 Peery AF, Dellon ES, Lund J, Crockett SD, McGowan CE, Bulsiewicz WJ, Gangarosa LM, Thiny MT, Stizenberg K, Morgan DR, Ringel Y, Kim HP, Dibonaventura MD, Carroll CF, Allen JK, Cook SF, Sandler RS, Kappelman MD, Shaheen NJ. Burden of gastrointestinal disease in the United States: 2012 update. *Gastroenterology* 2012; 143: 1179-1187.e1-e3 [PMID: 22885331 DOI: 10.1053/j.gastro.2012.08.002]
4 Banks PA, Bollen TL, Dervenis C, Gooszen HG, Johnson CD, Sarr MG, Tsiotos GG, Vege SS. Classification of acute pancreatitis--2012: revision of the Atlanta classification and definitions by international consensus. *Gut* 2013; 62: 102-111 [PMID: 23100216 DOI: 10.1136/gutjnl-2012-302779]
5 Chiari H. About the digestion of the human pancreas (in German). *ZeitschriftfurHeilkunde* 1896; 17: 69-96
6 Helin H, Mero M, Markkula H, Helin M. Pancreatic acinar ultrastructure in human acute pancreatitis. *Virchows Arch A Pathol Anat Histol* 1980; 387: 259-270 [PMID: 7456314]
7 Watanabe O, Baccino FM, Steer ML, Meldolesi J. Supramaximal caerulein stimulation and ultrastructure of rat pancreatic acinar cell: early morphological changes during development of experimental pancreatitis. *Am J Physiol* 1984; 246: G457-G467 [PMID: 6720895]
8 Adler G, Hahn C, Kern HF, Rao KN. Cerulein-induced pancreatitis in rats: increased lysosomal enzyme activity and autophagocytosis. *Digestion* 1985; 32: 10-18 [PMID: 2410315]
9 Levine B, Kroemer G. Autophagy in the pathogenesis of disease. *Cell* 2008; 132: 27-42 [PMID: 18191218 DOI: 10.1016/j.cell.2007.12.018]
10 Levine B, Klionsky DJ. Development by self-digestion: molecular mechanisms and biological functions of autophagy. *Dev Cell* 2004; 6: 463-477 [PMID: 15068787]
11 Mehrpour M, Esclatine A, Beau I, Codogno P. Autophagy in health and disease. 1. Regulation and significance of autophagy: an overview. *Am J Physiol Cell Physiol* 2010; 298: C776-C785 [PMID: 20089931 DOI: 10.1152/ajpcell.00507.2009]
12 Orenstein SJ, Cuervo AM. Chaperone-mediated autophagy: molecular mechanisms and physiological relevance. *Semin Cell Dev Biol* 2010; 21: 719-726 [PMID: 20176123 DOI: 10.1016/j.semcdb.2010.02.005]
13 Shintani T, Klionsky DJ. Autophagy in health and disease: a double-edged sword. *Science* 2004; 306: 990-995 [PMID: 15528435]
14 Mizushima N, Levine B, Cuervo AM, Klionsky DJ. Autophagy fights disease through cellular self-digestion. *Nature* 2008; 451: 1069-1075 [DOI: 10.1038/nature06639]
15 Vaccaro MI. Autophagy and pancreas disease. *Pancreatology* 2008; 8: 425-429 [PMID: 18714176 DOI: 10.1159/000151480]
16 Ohmuraya M, Yamamura K. Autophagy and acute pancreatitis: a novel autophagy theory for trypsinogen activation. *Autophagy* 2008; 4: 1060-1062 [PMID: 18776738]
17 Gukovskaya AS, Gukovsky I. Autophagy and pancreatitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2012; 303: G993-G1003 [PMID: 22961802 DOI: 10.1152/ajpgi.00122.2012]
18 Gukovsky I, Gukovskaya AS. Impaired autophagy underlies key pathological responses of acute pancreatitis. *Autophagy* 2010; 6: 428-429 [PMID: 20215882]
19 Mareninova OA, Hermann K, French SW, O'Konski MS, Pandol SJ, Webster P, Erickson AH, Katunuma N, Gorelick FS, Gukovsky I, Gukovskaya AS. Impaired autophagic flux mediates acinar cell vacuole formation and trypsinogen activation in rodent models of acute pancreatitis. *J Clin Invest* 2009; 119: 3340-3355 [PMID: 19805911 DOI: 10.1172/JCI38674]
20 Mizushima N. Autophagy: process and function. *Genes Dev* 2007; 21: 2861-2873 [PMID: 18006683]
21 Xiao G. Autophagy and NF-kappaB: fight for fate. *Cytokine Growth Factor Rev* 2007; 18: 233-243 [PMID: 17485237]
22 Tsukada M, Ohsumi Y. Isolation and characterization of autophagy-defective mutants of Saccharomyces cerevisiae. *FEBS Lett* 1993; 333: 169-174 [PMID: 8224160]
23 Tanida I, Ueno T, Kominami E. LC3 conjugation system in mammalian autophagy. *Int J Biochem Cell Biol* 2004; 36: 2503-2518 [PMID: 15325588]
24 Mizushima N. Methods for monitoring autophagy. *Int J Biochem Cell Biol* 2004; 36: 2491-2502 [PMID: 15325587]
25 Meijer AJ, Codogno P. Regulation and role of autophagy in mammalian cells. *Int J Biochem Cell Biol* 2004; 36: 2445-2462 [PMID: 15325584]
26 Sinha S, Levine B. The autophagy effector Beclin 1: a novel BH3-only protein. *Oncogene* 2008; 27 Suppl 1: S137-S148 [PMID: 19641499 DOI: 10.1038/onc.2009.51]
27 Ropolo A, Grasso D, Pardo R, Sacchetti ML, Archange C, Lo Re A, Seux M, Nowak J, Gonzalez CD, Iovanna JL, Vaccaro MI. The pancreatitis-induced vacuole membrane protein 1 triggers autophagy in mammalian cells. *J Biol Chem* 2007; 282: 37124-37133 [PMID: 17940279]
28 Gukovsky I, Pandol SJ, Mareninova OA, Shalbueva N, Jia W, Gukovskaya AS. Impaired autophagy and organellar dysfunction in pancreatitis. *J Gastroenterol Hepatol* 2012; 27 Suppl 2: 27-32 [PMID: 22320913 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2011.07004.x]
29 Hashimoto D, Ohmuraya M, Hirota M, Yamamoto A, Suyama K, Ida S, Okumura Y, Takahashi E, Kido H, Araki K, Baba H, Mizushima N, Yamamura K. Involvement of autophagy in trypsinogen activation within the pancreatic acinar cells. *J Cell Biol* 2008; 181: 1065-1072 [PMID: 18591426 DOI: 10.1083/jcb.200712156]
30 Feng D, Park O, Radaeva S, Wang H, Yin S, Kong X, Zheng M, Zakhari S, Kolls JK, Gao B. Interleukin-22 ameliorates cerulein-induced pancreatitis in mice by inhibiting the autophagic pathway. *Int J Biol Sci* 2012; 8: 249-257 [PMID: 22253568 DOI: 10.7150/ijbs.3967]
31 Yang S, Bing M, Chen F, Sun Y, Chen H, Chen W. Autophagy regulation by the nuclear factor κB signal axis in acute pancreatitis. *Pancreas* 2012; 41: 367-373 [PMID: 21926933 DOI: 10.1097/MPA.0b013e31822a9b05]
32 Fortunato F, Bürgers H, Bergmann F, Rieger P, Büchler MW, Kroemer G, Werner J. Impaired

■创新盘点

有文献报道心肌细胞、肝细胞等细胞发生MPT能够诱导自噬、决定细胞的存活与死亡, 但是胰腺腺泡细胞MPT能否诱导自噬尚缺少足够的证据. 我们首次提出MPT诱导自噬是酶原活化、促进AP发生发展的重要环节这一观点.

■应用要点
急性胰腺炎至今尚无特异性治疗. 阐明线粒体通透性转换与自噬二者之间的关系, 将揭示诱导腺泡细胞自噬的新机制, 从新的角度深入探讨急性胰腺炎的发生机制, 为其防治提供新思路和药物作用新靶点, 具有理论和实际意义.

autolysosome formation correlates with Lamp-2 depletion: role of apoptosis, autophagy, and necrosis in pancreatitis. *Gastroenterology* 2009; 137: 350-360, 360.e1-e5 [PMID: 19362087 DOI: 10.1053/j.gastro.2009.04.003]
33 Fortunato F, Kroemer G. Impaired autophagosome-lysosome fusion in the pathogenesis of pancreatitis. *Autophagy* 2009; 5: 850-853 [PMID: 19458481]
34 Sokollik C, Ang M, Jones N. Autophagy: a primer for the gastroenterologist/hepatologist. *Can J Gastroenterol* 2011; 25: 667-674 [PMID: 22175057]
35 Ding WX, Yin XM. Mitophagy: mechanisms, pathophysiological roles, and analysis. *Biol Chem* 2012; 393: 547-564 [PMID: 22944659 DOI: 10.1515/hsz-2012-0119.]
36 Shugrue CA, Alexandre M, de Villalvilla AD, Kolodecik TR, Young LH, Gorelick FS, Thrower EC. Cerulein hyperstimulation decreases AMP-activated protein kinase levels at the site of maximal zymogen activation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2012; 303: G723-G732 [PMID: 22821946 DOI: 10.1152/ajpgi.00082.2012]
37 Li Z, Ma B, Lu M, Qiao X, Sun B, Zhang W, Xue D. Construction of network for protein kinases that play a role in acute pancreatitis. *Pancreas* 2013; 42: 607-613 [PMID: 23211373 DOI: 10.1097/MPA.0b013e31826dc2b2]
38 Pattingre S, Espert L, Biard-Piechaczyk M, Codogno P. Regulation of macroautophagy by mTOR and Beclin 1 complexes. *Biochimie* 2008; 90: 313-323 [PMID: 17928127]
39 Lee JW, Park S, Takahashi Y, Wang HG. The association of AMPK with ULK1 regulates autophagy. *PLoS One* 2010; 5: e15394 [PMID: 21072212 DOI: 10.1371/journal.pone.0015394]
40 Kim J, Kundu M, Viollet B, Guan KL. AMPK and mTOR regulate autophagy through direct phosphorylation of Ulk1. *Nat Cell Biol* 2011; 13: 132-141 [PMID: 21258367 DOI: 10.1038/ncb2152]
41 Egan DF, Shackelford DB, Mihaylova MM, Gelino S, Kohnz RA, Mair W, Vasquez DS, Joshi A, Gwinn DM, Taylor R, Asara JM, Fitzpatrick J, Dillin A, Viollet B, Kundu M, Hansen M, Shaw RJ. Phosphorylation of ULK1 (hATG1) by AMP-activated protein kinase connects energy sensing to mitophagy. *Science* 2011; 331: 456-461 [PMID: 21205641 DOI: 10.1126/science.1196371]
42 Maléth J, Rakonczay Z, Venglovecz V, Dolman NJ, Hegyi P. Central role of mitochondrial injury in the pathogenesis of acute pancreatitis. *Acta Physiol* (Oxf) 2013; 207: 226-235 [PMID: 23167280 DOI: 10.1111/apha.12037]
43 Duchen MR. Mitochondria in health and disease: perspectives on a new mitochondrial biology. *Mol Aspects Med* 2004; 25: 365-451 [PMID: 15302203]
44 Kroemer G, Galluzzi L, Brenner C. Mitochondrial membrane permeabilization in cell death. *Physiol Rev* 2007; 87: 99-163 [PMID: 17237344]
45 Anne Stetler R, Leak RK, Gao Y, Chen J. The dynamics of the mitochondrial organelle as a potential therapeutic target. *J Cereb Blood Flow Metab* 2013; 33: 22-32 [PMID: 23093069 DOI: 10.1038/jcbfm.2012.158]
46 Baines CP, Kaiser RA, Purcell NH, Blair NS, Osinska H, Hambleton MA, Brunskill EW, Sayen MR, Gottlieb RA, Dorn GW, Robbins J, Molkentin JD. Loss of cyclophilin D reveals a critical role for mitochondrial permeability transition in cell death. *Nature* 2005; 434: 658-662 [PMID: 15800627]
47 Nakagawa T, Shimizu S, Watanabe T, Yamaguchi O, Otsu K, Yamagata H, Inohara H, Kubo T, Tsujimoto Y. Cyclophilin D-dependent mitochondrial permeability transition regulates some necrotic but not apoptotic cell death. *Nature* 2005; 434: 652-658 [PMID: 15800626]
48 Li Y, Johnson N, Capano M, Edwards M, Crompton M. Cyclophilin-D promotes the mitochondrial permeability transition but has opposite effects on apoptosis and necrosis. *Biochem J* 2004; 383: 101-109 [PMID: 15233627]
49 Gukovskaya AS, Gukovsky I. Which way to die: the regulation of acinar cell death in pancreatitis by mitochondria, calcium, and reactive oxygen species. *Gastroenterology* 2011; 140: 1876-1880 [PMID: 21524653 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.04.025]
50 Shalbueva N, Mareninova OA, Pandol SJ, Gukovskaya AS. Alcohol promotes pancreatic mitochondria depolarization by sensitizing the permeability transition pore to Ca2 (Abstract). *Pancreas* 2010; 39: 1347
51 Biczó G, Hegyi P, Dósa S, Shalbuyeva N, Berczi S, Sinervirta R, Hracskó Z, Siska A, Kukor Z, Jármay K, Venglovecz V, Varga IS, Iványi B, Alhonen L, Wittmann T, Gukovskaya A, Takács T, Rakonczay Z. The crucial role of early mitochondrial injury in L-lysine-induced acute pancreatitis. *Antioxid Redox Signal* 2011; 15: 2669-2681 [PMID: 21644850 DOI: 10.1089/ars.2011.4065]
52 Gerasimenko OV, Gerasimenko JV. Mitochondrial function and malfunction in the pathophysiology of pancreatitis. *Pflugers Arch* 2012; 464: 89-99 [PMID: 22653502]
53 Gukovsky I, Pandol SJ, Gukovskaya AS. Organellar dysfunction in the pathogenesis of pancreatitis. *Antioxid Redox Signal* 2011; 15: 2699-2710 [PMID: 21834686 DOI: 10.1089/ars.2011.4068]
54 Shalbueva N, Mareninova OA, Gerloff A, Yuan J, Waldron RT, Pandol SJ, Gukovskaya AS. Effects of oxidative alcohol metabolism on the mitochondrial permeability transition pore and necrosis in a mouse model of alcoholic pancreatitis. *Gastroenterology* 2013; 144: 437-446.e6 [PMID: 23103769 DOI: 10.1053/j.gastro.2012.10.037]
55 Pauly M, Daussin F, Burelle Y, Li T, Godin R, Fauconnier J, Koechlin-Ramonatxo C, Hugon G, Lacampagne A, Coisy-Quivy M, Liang F, Hussain S, Matecki S, Petrof BJ. AMPK activation stimulates autophagy and ameliorates muscular dystrophy in the mdx mouse diaphragm. *Am J Pathol* 2012; 181: 583-592 [PMID: 22683340 DOI: 10.1016/j.ajpath.2012.04.004.]
56 Soskić V, Klemm M, Proikas-Cezanne T, Schwall GP, Poznanović S, Stegmann W, Groebe K, Zengerling H, Schoepf R, Burnet M, Schrattenholz A. A connection between the mitochondrial permeability transition pore, autophagy, and cerebral amyloidogenesis. *J Proteome Res* 2008; 7: 2262-2269 [PMID: 18465891 DOI: 10.1021/pr700686x]
57 Kim JS, Nitta T, Mohuczy D, O'Malley KA, Moldawer LL, Dunn WA, Behrns KE. Impaired autophagy: A mechanism of mitochondrial dysfunction in anoxic rat hepatocytes. *Hepatology* 2008; 47: 1725-1736 [PMID: 18311843 DOI: 10.1002/hep.22187]
58 Gukovskaya AS, Gukovsky I, Jung Y, Mouria M,

Pandol SJ. Cholecystokinin induces caspase activation and mitochondrial dysfunction in pancreatic acinar cells. Roles in cell injury processes of pancreatitis. *J Biol Chem* 2002; 277: 22595-22604 [PMID: 11964411]
59 Andrzejewska A, Jurkowska G. Nitric oxide protects the ultrastructure of pancreatic acinar cells in the course of caerulein-induced acute pancreatitis. *Int J Exp Pathol* 1999; 80: 317-324 [PMID: 10632781]
60 Han B, Klonowski-Stumpe H, Lüthen R, Schreiber R, Häussinger D, Niederau C. Menadione-induced oxidative stress inhibits cholecystokinin-stimulated secretion of pancreatic acini by cell dehydration. *Pancreas* 2000; 21: 191-202 [PMID: 10975714]
61 Rodriguez-Enriquez S, Kim I, Currin RT, Lemasters JJ. Tracker dyes to probe mitochondrial autophagy (mitophagy) in rat hepatocytes. *Autophagy* 2006; 2: 39-46 [PMID: 16874071]
62 Carreira RS, Lee Y, Ghochani M, Gustafsson ÅB, Gottlieb RA. Cyclophilin D is required for mitochondrial removal by autophagy in cardiac cells. *Autophagy* 2010; 6: 462-472 [PMID: 20364102 DOI: 10.4161/auto.6.4.11553]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

■同行评价
本文科学性较好, 对深入研究急性胰腺炎的发病机制具有一定指导意义.

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com
世界华人消化杂志 2014年6月8日; 22(16): 2258-2264
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

文献综述 REVIEW

白介素-22在炎症性肠病中的作用

孟娅, 王烜

■背景资料
炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是一种慢性非特异性肠道炎性疾病, 包括溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)和克罗恩病(Crohn's disease, CD), 其病因和病理机制尚不清楚. IBD是北美和欧洲的常见病, 我国虽尚无普通人群的流行病学资料, 但近10多年来患患者数呈现逐步增加的趋势, IBD在我国已成为消化系统的常见病. 随着对本病认识的逐步深入, 肠道免疫功能异常、菌群失调以及肠道黏膜屏障受损是其主要病理变化. 大多数学者认为免疫失调是造成本病发生发展的重要因素之一. 白介素-22(interleukin-22, IL-22)靶向于皮肤、消化系及呼吸道器官的非造血细胞, 在黏膜免疫中有重要作用. 本文简要总结了IL-22与炎症性肠病的关系相关研究进展.

■同行评议者
陈其奎, 教授, 中山大学附属第二医院消化内科; 刘杰民, 副主任医师, 贵州省人民医院消化内镜科

孟娅, 王烜, 泸州医学院附属医院消化内科 四川省泸州市 646000
孟娅, 主要从事胰腺炎及炎症性肠病的研究.
作者贡献分布: 本文综述由孟娅完成; 王烜审校.
通讯作者: 王烜, 教授, 主任医师, 646000, 四川省泸州市江阳区太平街25号, 泸州医学院附属医院消化内科.
1018562993@qq.com
电话: 0830-3165331
收稿日期: 2014-03-02 修回日期: 2014-04-03
接受日期: 2014-04-14 在线出版日期: 2014-06-08

Role of IL-22 in inflammatory bowel disease

Ya Meng, Xuan Wang

Ya Meng, Xuan Wang, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, Luzhou 646000, Sichuan Province, China
Correspondence to: Xuan Wang, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, 25 Taiping Road, Luzhou 646000, Sichuan Province, China. 1018562993@qq.com
Received: 2014-03-02 Revised: 2014-04-03
Accepted: 2014-04-14 Published online: 2014-06-08

Abstract:
Interleukin-22 (IL-22), a novel IL-10 associated factor, was originally discovered in 2000. It has been found that IL-22 is involved in the pathogenesis of a variety of inflammatory and autoimmune diseases. Although IL-22 and its receptor have not been linked with inflammatory bowel disease (IBD) genetically, expression of IL-22 is augmented in patients with IBD. Despite the fact that IL-22 is correlated with disease activities in IBD patients, data from several preclinical models suggest that IL-22 exerts protective functions. IBD susceptibility genes such as IL-23R, IL-17 and signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) are functionally associated with IL-22 directly or indirectly. These findings suggest that further studies on IL-22 would have the potential not only to analyze the fundamental mechanism of IBD but also to provide important rationale to develop novel therapeutic measures for this disorder.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Interleukin-22; Crohn's disease; Ulcerative colitis

Meng Y, Wang X. Role of IL-22 in inflammatory bowel disease. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(16): 2258-2264
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2258.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i16.2258

摘要
白介素-22(interleukin-22, IL-22), 是一个新型的IL-10相关因子, 最初发现于2000年, 以后人们不断探索发现IL-22参与多种炎症性疾病以及自身免疫性疾病的发病过程. 尽管IL-22及其受体在基因水平与炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)无明确关联, 仍有很多研究表明IL-22在IBD患者肠黏膜表达增强. 从几个IBD临床前模型的数据表明, IL-22通过加强肠道上皮屏障的完整性和先天免疫而发挥一定的保护作用. IBD易感基因如*IL-23R*、*IL-17*和信号传导与转录激活因子3(signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)的功能, 直接或间接地与IL-22相关, 因此, 对IL-22的进一步研究不仅能进一步了解IBD的基本机制, 还能为把IL-22作为该病一个新的治疗措施提供理论依据.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 白介素-22; 克罗恩病; 溃疡性结肠炎

核心提示: 白介素-22(interleukin-22, IL-22)是IL-10家族成员之一, 参与多种炎症性及自身免疫性疾病的发病过程, 近年来研究表明IL-22在炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)肠道炎症组织中大量表达, 隔离免疫系统和微生物之间相互作用而参与上皮防御机制和黏膜屏障完整性, IL-22与IBD的肠道炎症反应有一定的联系, 本文就IL-22在炎症性肠病中的调节作用做一综述, 而更好的理解IL-22的来源、调节以及信号通路, 是使IL-22能在IBD这个疾病中发挥保护作用重要依据.

孟娅, 王烜. 白介素-22在炎症性肠病中的作用. 世界华人消化杂志 2014; 22(16): 2258-2264 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2258.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i16.2258

0 引言

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD), 包括克罗恩病(Crohn's disease, CD)和溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC), 是慢性复发性肠道炎症. 其病因不清, 个体基因易感性和环境因素相互作用导致黏膜免疫反应异常是IBD发病的关键机理. 白介素-22(interleukin-22, IL-22)是IL-10家族成员之一, 参与多种自身免疫性疾病, 在IBD炎症肠道组织中大量表达, IL-22与促炎因子的表达相关而具有致病作用, 近期研究逐渐表明其对肠黏膜损害具有保护作用. IL-23作为IBD的重要介质, 与IL-22相关, 深入研究IL-22与IL-17、IL-23等及相关信号通路和IBD的关系, 为更好地认识IL-22在IBD中的作用及可能为其治疗提供新的思路

1 IL-22

IL-22是在以IL-9刺激T细胞小鼠瘤细胞BW5147中发现的一种新型细胞因子, 是IL-10家族中的一名成员[1]. 由于其结构与抗炎和免疫抑制细胞因子IL-10类似, 因此将其命名为IL-10相关T细胞衍生的可诱导因子. 人*IL-22*基因定位于染色体12q15, 包含了由5个内含子和6个外显子构成的蛋白编码结构. 其基因序列编码179个氨基酸, 与IL-10有22%的同源性, 除去一段信号肽, 人IL-22编码146个氨基酸, 与小鼠IL-22有80.8%同源性. 尽管IL-22与IL-10序列的同一性相对较低, 但IL-22与IL-10家族成员都具有一个共同的干扰素-γ(interferon-γ, IFN-γ)空间结构, 故又称为IFN-IL-10细胞因子家族[2].

2 IL-22的来源及功能

IL-22最初被认为是T辅助性细胞1(T helper type 1, Th1)相关细胞因子. 随着新辅助性T细胞的发现, 一些T细胞群如Th17和Th22细胞具有表达IL-22的能力. 在Th17细胞, IL-22的表达不同于IL-17和其他Th17相关细胞因子. IL-17A需要在转化生长因子-β(transforming growth factor-β, TGF-β)和相关炎性因子(如IL-6、IL-23等)的刺激下表达, 而在只有IL-6的情况下就可以产生IL-22, 同时, TGF-β对IL-22具有抑制作用[3]. 已报道, 在人皮肤的$CD4^+$ T细胞群, 主要表达IL-22, 被称为Th22细胞[4].

除了$CD4^+$ T细胞, $CD8^+$ T细胞分化为Tc17细胞也表达IL-22. 越来越多的$CD8^+$ T细胞群在特应性皮炎患者的皮肤表达IL-22, 且与疾病的严重程度相关[5]. 此外, 与Th17细胞类似的γδ-T细胞能表达IL-22和IL-17A, 与肺的免疫反应相关[6].

除了T细胞, 先天免疫细胞也可以表达IL-22. IL-22报道在自然杀伤(natural killer, NK)细胞中表达[7]. 人黏膜相关淋巴组织淋巴瘤NK细胞群, 在IL-23刺激下诱导IL-22的表达, 这些细胞不具有经典的NK细胞生物学功能, 而是提供保护和调节黏膜免疫平衡, 他们表达NKp44, 趋化因子受体6, 与转录因子如维甲酸相关孤儿受体γt(retinoid related orphan nuclear receptor γt, RORγt)、RORα、芳香烃受体(aryl hydrocarbon receptor, AHR)和干扰素调节因子4(interferon regulatory factor 4, IRF4), 并产生IL-22、IL-26[8].

此外, 几个先天淋巴样细胞群(innate lymphoid cells, ILCs)也能产生IL-22, 而且具有表达NK细胞和髓系细胞标志物的能力[9]. 这些ILCs细胞存在于屏障表面, 拥有一些相似的表型和转录谱, 并能在IL-23刺激后表达IL-22. 最近的研究表明, 这些细胞群参与促进先天免疫和肠道炎症[10].

IL-22在组织再生, 皮肤和黏膜屏障保护有重要作用[11]. 在黏膜中, IL-22的表达主要由微生物与抗原呈递细胞(antigen-presenting cells, APC)的相互作用触发, APCs反过来释放多种细胞因子包括IL-23, 使上皮内和固有层淋巴细胞产生IL-17和IL-22[12]. IL-17的主要功能是通过诱导趋化因子调节中性粒细胞聚集到感染部位, 并且通过增强粒细胞生成, 使他在多种病原体感染时具有保护作用[13]. IL-22往往与IL-17相似, 且相互作用, 已被证明在一些病原体感染过程中起到保护作用, 包括肺炎克雷伯、耐万古霉素肠球菌. 此外, IL-22在肠道内具有抗寄生虫感染的作用以及通过激活信号转导和转录激活因子3(signal transducers and activators of transcription 3, STAT3)通路调节肠道免疫稳态和炎症黏膜创伤愈合[14]. IL-22是移植物抗宿主病(graft versus host disease, GVHD)中组织敏感性的重要调节因子, 并且在肠道干细胞炎症性损伤中具有保护作用, Hanash等[15]研究发现IL-22缺陷导致肠隐窝细胞凋亡增加、肠干细胞耗竭和上皮完整性的缺失, IL-22抗体中和IL-22导致GVHD的高死亡率. 而Couturier等[16]在异基因造血干细胞移植用*IL-22*基因敲除的小鼠模型发现, IL-22在加剧胃肠道炎症起关键的作用, 进而加重急性GVHD的严重程度. IL-22的缺乏使趋化因子、反映角质细胞增殖和抗菌的S100A8、S100A7以及角蛋白14的表达明显减少, 表明IL-22在银屑病样

■研发前沿
IL-22参与多种炎症性和自身免疫性疾病, 而进一步了解IL-22与IBD的关系, 能更深入的探索IBD的发病机制以及IL-22在IBD中的免疫调节机制, 进而提高IBD的诊疗效果.

■相关报道
近年来研究发现IL-22在组织再生、皮肤和黏膜屏障保护有重要作用. IL-22在IBD相关动物结肠炎模型中具有保护作用, 研究数据表明来源于$CD4^+$T细胞和自然杀伤细胞的IL-22均可介导这种保护作用.

皮损改变具有重要作用[17]. IL-22已被证明在酒精性脂肪肝及相关肝损害中具有保护作用[18]. 研究[19]表明, 在肠上皮细胞缺氧模型中, IL-22对维持屏障功能、降低肠黏膜上皮通透性、上调紧密连接蛋白都发挥了很大的作用, 该作用也与在慢性炎症下IL-22可以恢复肠上皮的完整性及降低通透性一致, 证实了IL-22对肠上皮屏障的保护作用. 总之, IL-22的生物学效应非常复杂, 在某些环境下表现出抗炎活性, 而在另一些环境中可表现为放大炎症反应, 被认为是一个双向细胞因子.

3 IL-22生成的调节

IL-22的转录调控与很多因素相关. 首先, STAT3缺陷的T细胞IL-22的生成明显减少, 细胞因子如IL-6、IL-23、IL-21在T细胞以及ILCs中通过STAT3信号诱导IL-22的产生[20]. 进一步的研究发现在*IL-22*基因上有多个位点可以与STAT3直接结合, 表明STAT3可以直接调控其生成[21]. 相关数据表明, STAT3信号是ILCs和T细胞表达IL-22和IL-17必不可少的[22]. B细胞活化转录因子(B-cell-activating transcription factor, Batf)是细胞分化和细胞因子产生所必需的. Batf缺陷的T细胞不能表达RORγt、RORα、IL-17A、AHR以及IL-22, Batf与JunB形成了一个异源二聚体, 结合相关启动子促进其表达[23], 同样, Batf促进IL-23R的表达从而进一步增强IL-22的产生[24]. IL23可以诱导IL-22的生成, IL-23与其受体结合激活STAT3下游靶基因如*Il23R*、*Rorc*、*Ahr*表达. AHR是Th17细胞、Th22细胞表达IL-22必不可少的[11], 而RORγt与之相似, 可以结合启动子直接促进IL-22的产生[25]. 其次, 最近研究[26]表明, Notch信号通路是Th17细胞分化中诱导IL-22产生的一个重要信号, 其机制可能是Notch增强了IL-22促发因素的激活, 特别是产生AHR的内源性配体和通过下游因子发状分裂相关增强子(hairy and enhancer of split, Hes1)直接与STAT3相互作用稳定磷酸化的STAT3, 另一方面最近有研究[27]也表明, 肠上皮细胞沉默的Notch信号引起自发性结肠炎. 因此Notch主要功能是增强相关因子的激活, 反过来促进IL-22的表达. 最后, 转录因子c-Maf, 一个与病毒癌基因同源的细胞因子, 诱导下游TGF-β和IL-6的表达. 研究发现, 他与*IL-22*启动子结合, 作为专门的IL-22转录抑制因子[28]. 同样, IRF4也抑制IL-22的表达, 其具体机制不是很清楚[29]. 因此, *IL-22*基因的转录调控是一个复杂的系统, 对更好地理解这个复杂的生物学功能是很关键的.

4 IL-22R和IL-22BP

IL-22主要通过与IL-22受体蛋白的结合来发挥其生物学功能, 该受体复合物由两个亚基组成, IL-22R1和IL-10R2, 他们均属于Ⅱ类细胞因子受体家族. IL-22R1的表达仅限于非造血细胞: 主要在肺上皮细胞、皮肤、 胰腺、肝, 而IL-10R2广泛表达于免疫细胞(T、B和NK细胞). 除了细胞表面的IL-22受体复合物, 有一种天然的可溶性单链IL-22结合受体, 称为IL-22结合蛋白(IL-22 binding protein, IL-22BP), 与IL-22R1有34%的同源性, IL-22BP可以与IL-22R1竞争, 直接结合IL-22, 阻断IL-22与功能性细胞表面IL-22受体复合物结合. 因此, IL-22BP被认为是IL-22的拮抗剂, 可能会是IL-22的靶向治疗的重要途径[30].

5 IL-22的信号通路

IL-22与其受体复合物结合介导信号转导通路, STAT通路是其主要转导通路. 此外, 研究表明IL-22通过激活JAK1和TYK2, 进一步使丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)信号磷酸化, 包括 MEK1/2、ERK1/2、JNK和p38激酶途径[31].

5.1 IL-22/Jak-STAT通路 STAT3的磷酸化是IL-22在上皮细胞屏障表面介导效应的基本途径; 而且, 已经证实了在口服葡聚糖硫酸钠(dextran sulfate sodium, DSS)诱导结肠炎肠上皮细胞, STAT3活化更依赖IL-22[32]. IL-22R1通过与STAT3的卷曲螺旋结构域C-末端尾部相互作用激活STAT3[33]. 激活后的STAT3能诱导多种基因表达, 这些基因涉及多条信号通路, 介导细胞凋亡和细胞周期循环等. 近期研究表明IL-22/STAT3信号通路与UC及其致癌作用相关, 该研究表明IL-22及受体在UC结肠黏膜及不典型增生患者结肠黏膜中表达升高, 并且使STAT3磷酸化, 同时, 磷酸化的STAT3使下游因子如Bcl-2, cyclin D1和survivin表达亦升高[34]. 另一方面当STAT3被IL-22激活时, 通过促炎症因子如IL-8、IFN-γ、基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)的表达可加重结肠炎[35]. IL-22介导磷酸化的STAT3也被认为是防御机制, 因为该通路在急性结肠炎小鼠动物模型中增强了黏蛋白和杯状细胞修复[36]. 因而该通路的具体作用还需要更深入的探讨.

5.2 IL-22/MAPK通路 在结肠表皮下成纤维细胞, Erkl/2、p38的激活参与IL-22诱导细胞因子如IL-6、IL-8、IL-11的产生, 而这些因子有助于促进炎症反应[35]. 在类风湿关节炎患者的滑液成纤维细胞, IL-22通过ERK和p38 MAPK的活化诱导滑液成纤维细胞的增殖和单核细胞趋化蛋白1的产生[37]. 在IBD发病机制中, IL-22是否激活该通路以及哪些细胞及细胞因子参与, 目前尚不清楚.

6 IL-22与IBD

近期研究表明, 其受体IL-22R1, 表达在肠干细胞和祖细胞, 而且在肠道炎症组织中IL-22的大量表达[15]. 研究证实UC患者外周血中IL-22水平、Thl7、Th22细胞比例明显升高, 且与疾病活动度密切相关[38]. 因此我们试图探讨IL-22与IBD的关系.

虽然T细胞在肠道炎症中有重要作用, 在过去的几年中已经发现ILC, 特别在肠道中, 从病原和病理学都具有保护作用. 研究表明, 在肠道内, RORγt依赖的ILCs与NK细胞和淋巴组织诱导细胞被认为是IL-22的主要来源. 这些产生IL-22的细胞被称为“ILC22细胞”[39]. 已报道在UC患者, NK细胞、Th17和$CD4^+$ T细胞产生IL-22[40], 在CD患者, $CD4^+$ T细胞表达自然杀伤细胞2族成员产生IL-22[41]. 除此之外, $NKp46^+NKp44^-$和$CD56^+$ILCs在IBD受损黏膜表达IL-22[42]. 在IBD动物模型中, IL-22的表达也有不同. 在Th1细胞介导的实验性结肠炎模型(CD45RB模型), NK细胞和Th17细胞是IL-22的主要来源[43]. 在通过DSS诱导的急性肠道损伤模型中$CD11c^+$树突状细胞是IL-22的主要来源[32].

另外, *IL23R*已被认为是炎症性肠病的易感基因之一[44], 且IL-23是IL-22生成重要的调节因子. IL-23作为IBDs潜在的重要介质, 参与IL-22的来源及调节, 而IL-23功能的实现依赖于其受体IL23R[42]. Schmechel等[45]发现, 在CD患者中, IL-22血清水平显著升高, 并且活动期患者明显升高, 同时IL-22的表达也与IL-23R基因多态性相关. IL-22作为IL-23的下游效应因子, 在IBD的治疗中阻断IL-23的作用产生比较理想的治疗效果[46]. 更好地理解IL-22和IL-23之间的关系为IBD的进一步诊治提供依据有重要作用.

6.1 IL-22在IBD中促炎作用 研究表明IL-22在活动性IBD患者的受损黏膜表达. 通过cDNA微阵列分析显示IL-22可刺激人类结肠上皮下成纤维表达炎性介质: 炎性细胞因子(IL-6、IL-8、IL-11), 趋化因子和MMPs. IL-22通过激活转录核因子和MAPK刺激这些炎性细胞因子的表达进一步促进炎症反应[35]. Brand等[47]研究证实IL-22在CD患者受损黏膜表达升高,并有促炎作用, 之前的研究表明IL-22增加了急性时相蛋白的表达. 在肠上皮细胞中, 通过定量PCR及ELISA法测定, 在IL-22刺激下, 介导炎症的两个细胞因子肿瘤坏死因子α(tumor necrosis factor-alpha, TNF-α)和IL-8的表达显著升高.

6.2 IL-22在IBD中保护作用 从STAT3对肠黏膜平衡的重要性及与IL-22产生效应的相关性来看, IL-22在炎症性肠病中发挥了积极作用, 在不同的小鼠模型结肠炎中发现IL-22具有保护作用. Sugimoto等[48]建立了Th2细胞介导的小鼠UC模型探讨IL-22在这种疾病中的作用. 利用基因传输系统将IL-22传递至受损黏膜处, 通过测量结肠直径、组织病理学评分和杯状细胞耗竭程度评估结肠炎的严重程度, 表明IL-22通过STAT3通路重塑了杯状细胞, 并诱导黏液相关分子的表达, 从而减轻Th2细胞因子介导的结肠炎. Zenewicz等[43]建立的Thl细胞因子介导的结肠炎模型中, *IL-22*基因敲除的小鼠导致了更严重的形态学变化以及高死亡率. 在DSS诱导的小鼠结肠炎也证实了IL-22的保护作用. 除了他的局部作用, IL-22可能在CD中通过诱导脂多糖结合蛋白(LPS-binding protein, LBP)的分泌, 有助于抑制全身炎症反应[49].

IL-22在IBD的保护作用机制可能是增强上皮先天防御机制和屏障的完整性, 其功能主要隔离免疫系统和管腔的共生细菌之间的直接相互作用. (1)IL-22在肠道炎症条件下能促进上皮细胞再生与杯状细胞修复, 防止微生物进一步渗透到上皮层[32,50]. 在炎症条件下, IL-22通过激活STAT3增强了抗凋亡和促增殖基因的转录如: *birc5*、*pla2g5*、*smo*、*myc*、*mull*[51]; (2)IL-22有助于黏液蛋白(mucin, MUC)的产生, 形成必要的静态的外部障碍与肠上皮细胞的肠道菌群分离. IL-22在结肠的过表达导致了黏液的产生增强, 通过诱导如MUC1、MUC3、MUC13的表达, 进而使杯状细胞再生, 黏液产生增加. 这将减少共生细菌易位, 从而对结肠上皮细胞产生保护性作用[48]. 研究证明, IL-22, 通过JAK2和TYK2诱导STAT3的快速激活, STAT3活化刺激上皮细胞产生MUC1, 这些*stat3*、*jak2*和*tyk2*都是CD良好的易感基因, 虽然UC患者易感性相对较低[52]. 最近, 一个全基因组相关研究提出*muc1*基因作为

■创新盘点
本文总结了IL-22的来源、调节、信号通路、与IBD的关系以及在IBD中调节作用相关机制.

■应用要点
深入研究IL-22与IBD发病的关系, 有助于提高对IBD的了解, 可能为IBD的发病机制研究及治疗提供新的认识.

CD相关的潜在候选基因[53]; (3)IL-22对肠道共生微生物有遏制作用, 诱导上皮细胞抗菌蛋白上调, 包括载脂蛋白-2、C型凝集素、再生基因蛋白3β(regenerating gene protein 3β, REG3β)和REG3γ, 抗菌肽S100A8和S100A9, 这些抗菌蛋白通过各种机制进一步隔离以及直接杀死入侵的病原体[54,55]. 据报道, 在溃疡性结肠炎结肠隐窝下表达REG蛋白、Hes1和p-STAT3蛋白, 研究发现Hes1蛋白通过调节IL-22-STAT3介导诱导REG1a, REG3a和REG3g的表达, 除了其抗菌功能, REG1a也被证明有对肠上皮细胞增殖的影响, REG3a也已显示出抑制肠上皮细胞促炎细胞因子的分泌[56]. 深入探索其调节机制, 对于了解炎症性肠病的发病机制有一定的理论意义.

7 结论

IL-22参与IBD的免疫调节, 但IL-22生成具有特殊复杂的调节系统, 不同细胞来源的IL-22及不同的调节因子使其产生不同的生物学功能, 并且IL-22在IBD中作用机制尚不明了, 有待于进一步研究. 随着对IL-22来源及生物学功能研究的深入, 对IBD的认识及诊治水平可能会得到提高. 对其相关因子如IL-17、IL-23等功能以及与IL-22的关系, 及对他们相关信号通路在IBD中调节机制的深入研究能更好地认识IL-22在IBD中的角色, 从而发挥其保护作用, 为把IL-22作为潜在的治疗靶点提供理论基础.

8 参考文献

1 Dumoutier L, Louahed J, Renauld JC. Cloning and characterization of IL-10-related T cell-derived inducible factor (IL-TIF), a novel cytokine structurally related to IL-10 and inducible by IL-9. *J Immunol* 2000; 164: 1814-1819 [PMID: 10657629]

2 Savan R, Ravichandran S, Collins JR, Sakai M, Young HA. Structural conservation of interferon gamma among vertebrates. *Cytokine Growth Factor Rev* 2009; 20: 115-124 [PMID: 19268624 DOI: 10.1016/j.cytogfr.2009.02.006]

3 Ghoreschi K, Laurence A, Yang XP, Tato CM, McGeachy MJ, Konkel JE, Ramos HL, Wei L, Davidson TS, Bouladoux N, Grainger JR, Chen Q, Kanno Y, Watford WT, Sun HW, Eberl G, Shevach EM, Belkaid Y, Cua DJ, Chen W, O'Shea JJ. Generation of pathogenic T(H)17 cells in the absence of TGF-β signalling. *Nature* 2010; 467: 967-971 [PMID: 20962846 DOI: 10.1038/nature09447]

4 Trifari S, Kaplan CD, Tran EH, Crellin NK, Spits H. Identification of a human helper T cell population that has abundant production of interleukin 22 and is distinct from T(H)-17, T(H)1 and T(H)2 cells. *Nat Immunol* 2009; 10: 864-871 [PMID: 19578368 DOI: 10.1038/ni.1770]

5 Hamada H, Garcia-Hernandez Mde L, Reome JB, Misra SK, Strutt TM, McKinstry KK, Cooper AM, Swain SL, Dutton RW. Tc17, a unique subset of CD8 T cells that can protect against lethal influenza challenge. *J Immunol* 2009; 182: 3469-3481 [PMID: 19265125 DOI: 10.4049/jimmunol.0801814]

6 Simonian PL, Wehrmann F, Roark CL, Born WK, O'Brien RL, Fontenot AP. γδ T cells protect against lung fibrosis via IL-22. *J Exp Med* 2010; 207: 2239-2253 [PMID: 20855496 DOI: 10.1084/jem.20100061]

7 Yang XO, Pappu BP, Nurieva R, Akimzhanov A, Kang HS, Chung Y, Ma L, Shah B, Panopoulos AD, Schluns KS, Watowich SS, Tian Q, Jetten AM, Dong C. T helper 17 lineage differentiation is programmed by orphan nuclear receptors ROR alpha and ROR gamma. *Immunity* 2008; 28: 29-39 [PMID: 18164222 DOI: 10.1016/j.immuni.2007.11.016]

8 Luci C, Reynders A, Ivanov II, Cognet C, Chiche L, Chasson L, Hardwigsen J, Anguiano E, Banchereau J, Chaussabel D, Dalod M, Littman DR, Vivier E, Tomasello E. Influence of the transcription factor RORgammat on the development of NKp46+ cell populations in gut and skin. *Nat Immunol* 2009; 10: 75-82 [PMID: 19029904 DOI: 10.1038/ni.1681]

9 Satoh-Takayama N, Vosshenrich CA, Lesjean-Pottier S, Sawa S, Lochner M, Rattis F, Mention JJ, Thiam K, Cerf-Bensussan N, Mandelboim O, Eberl G, Di Santo JP. Microbial flora drives interleukin 22 production in intestinal NKp46+ cells that provide innate mucosal immune defense. *Immunity* 2008; 29: 958-970 [PMID: 19084435 DOI: 10.1016/j.immuni.2008.11.001]

10 Buonocore S, Ahern PP, Uhlig HH, Ivanov II, Littman DR, Maloy KJ, Powrie F. Innate lymphoid cells drive interleukin-23-dependent innate intestinal pathology. *Nature* 2010; 464: 1371-1375 [PMID: 20393462 DOI: 10.1038/nature08949]

11 Rutz S, Eidenschenk C, Ouyang W. IL-22, not simply a Th17 cytokine. *Immunol Rev* 2013; 252: 116-132 [PMID: 23405899 DOI: 10.1111/imr.12027]

12 Khader SA, Gopal R. IL-17 in protective immunity to intracellular pathogens. *Virulence* 2010; 1: 423-427 [PMID: 21178483 DOI: 10.4161/viru.1.5.12862]

13 Blaschitz C, Raffatellu M. Th17 cytokines and the gut mucosal barrier. *J Clin Immunol* 2010; 30: 196-203 [PMID: 20127275 DOI: 10.1007/s10875-010-9368-7]

14 Stange J, Hepworth MR, Rausch S, Zajic L, Kühl AA, Uyttenhove C, Renauld JC, Hartmann S, Lucius R. IL-22 mediates host defense against an intestinal intracellular parasite in the absence of IFN-γ at the cost of Th17-driven immunopathology. *J Immunol* 2012; 188: 2410-2418 [PMID: 22266282 DOI: 10.4049/jimmunol.1102062]

15 Hanash AM, Dudakov JA, Hua G, O'Connor MH, Young LF, Singer NV, West ML, Jenq RR, Holland AM, Kappel LW, Ghosh A, Tsai JJ, Rao UK, Yim NL, Smith OM, Velardi E, Hawryluk EB, Murphy GF, Liu C, Fouser LA, Kolesnick R, Blazar BR, van den Brink MR. Interleukin-22 protects intestinal stem cells from immune-mediated tissue damage and regulates sensitivity to graft versus host disease. *Immunity* 2012; 37: 339-350 [PMID: 22921121 DOI: 10.1016/j.immuni.2012.05.028]

16 Couturier M, Lamarthée B, Arbez J, Renauld JC, Bossard C, Malard F, Bonnefoy F, Mohty M, Perruche S, Tiberghien P, Saas P, Gaugler B. IL-22 deficiency in donor T cells attenuates murine acute graft-versus-host disease mortality while sparing the graft-

versus-leukemia effect. *Leukemia* 2013; 27: 1527-1537 [PMID: 23399894 DOI: 10.1038/leu.2013.39]
17 Van Belle AB, de Heusch M, Lemaire MM, Hendrickx E, Warnier G, Dunussi-Joannopoulos K, Fouser LA, Renauld JC, Dumoutier L. IL-22 is required for imiquimod-induced psoriasiform skin inflammation in mice. *J Immunol* 2012; 188: 462-469 [PMID: 22131335 DOI: 10.4049/jimmunol.1102224]
18 Ki SH, Park O, Zheng M, Morales-Ibanez O, Kolls JK, Bataller R, Gao B. Interleukin-22 treatment ameliorates alcoholic liver injury in a murine model of chronic-binge ethanol feeding: role of signal transducer and activator of transcription 3. *Hepatology* 2010; 52: 1291-1300 [PMID: 20842630 DOI: 10.1002/hep.23837]
19 杨学超, 杨松巍, 杨光, 孙力华, 杨桦. 白细胞介素-22对缺氧条件下肠上皮屏障的保护作用及其机制. 中华实验外科杂志 2013; 30: 476-479
20 Yang XO, Panopoulos AD, Nurieva R, Chang SH, Wang D, Watowich SS, Dong C. STAT3 regulates cytokine-mediated generation of inflammatory helper T cells. *J Biol Chem* 2007; 282: 9358-9363 [PMID: 17277312 DOI: 10.1074/jbc.C600321200]
21 Hutchins AP, Poulain S, Miranda-Saavedra D. Genome-wide analysis of STAT3 binding in vivo predicts effectors of the anti-inflammatory response in macrophages. *Blood* 2012; 119: e110-e119 [PMID: 22323479 DOI: 10.1182/blood-2011-09-381483]
22 Guo X, Qiu J, Tu T, Yang X, Deng L, Anders RA, Zhou L, Fu YX. Induction of innate lymphoid cell-derived interleukin-22 by the transcription factor STAT3 mediates protection against intestinal infection. *Immunity* 2014; 40: 25-39 [PMID: 24412612 DOI: 10.1016/j.immuni.2013.10.021]
23 Schraml BU, Hildner K, Ise W, Lee WL, Smith WA, Solomon B, Sahota G, Sim J, Mukasa R, Cemerski S, Hatton RD, Stormo GD, Weaver CT, Russell JH, Murphy TL, Murphy KM. The AP-1 transcription factor Batf controls T(H)17 differentiation. *Nature* 2009; 460: 405-409 [PMID: 19578362 DOI: 10.1038/nature08114]
24 Betz BC, Jordan-Williams KL, Wang C, Kang SG, Liao J, Logan MR, Kim CH, Taparowsky EJ. Batf coordinates multiple aspects of B and T cell function required for normal antibody responses. *J Exp Med* 2010; 207: 933-942 [PMID: 20421391 DOI: 10.1084/jem.20091548]
25 Qiu J, Heller JJ, Guo X, Chen ZM, Fish K, Fu YX, Zhou L. The aryl hydrocarbon receptor regulates gut immunity through modulation of innate lymphoid cells. *Immunity* 2012; 36: 92-104 [PMID: 22177117 DOI: 10.1016/j.immuni.2011.11.011]
26 Alam MS, Maekawa Y, Kitamura A, Tanigaki K, Yoshimoto T, Kishihara K, Yasutomo K. Notch signaling drives IL-22 secretion in CD4+ T cells by stimulating the aryl hydrocarbon receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; 107: 5943-5948 [PMID: 20231432 DOI: 10.1073/pnas.0911755107]
27 Obata Y, Takahashi D, Ebisawa M, Kakiguchi K, Yonemura S, Jinnohara T, Kanaya T, Fujimura Y, Ohmae M, Hase K, Ohno H. Epithelial cell-intrinsic Notch signaling plays an essential role in the maintenance of gut immune homeostasis. *J Immunol* 2012; 188: 2427-2436 [PMID: 22279105 DOI: 10.4049/jimmunol.1101128]
28 Rutz S, Noubade R, Eidenschenk C, Ota N, Zeng W, Zheng Y, Hackney J, Ding J, Singh H, Ouyang W. Transcription factor c-Maf mediates the TGF-β-dependent suppression of IL-22 production in T(H)17 cells. *Nat Immunol* 2011; 12: 1238-1245 [PMID: 22001828 DOI: 10.1038/ni.2134]
29 Valdez PA, Vithayathil PJ, Janelsins BM, Shaffer AL, Williamson PR, Datta SK. Prostaglandin E2 suppresses antifungal immunity by inhibiting interferon regulatory factor 4 function and interleukin-17 expression in T cells. *Immunity* 2012; 36: 668-679 [PMID: 22464170 DOI: 10.1016/j.immuni.2012.02.013]
30 Wolk K, Kunz S, Witte E, Friedrich M, Asadullah K, Sabat R. IL-22 increases the innate immunity of tissues. *Immunity* 2004; 21: 241-254 [PMID: 15308104 DOI: 10.1016/j.immuni.2004.07.007]
31 Sonnenberg GF, Fouser LA, Artis D. Functional biology of the IL-22-IL-22R pathway in regulating immunity and inflammation at barrier surfaces. *Adv Immunol* 2010; 107: 1-29 [PMID: 21034969 DOI: 10.1016/b978-0-12-381300-8.00001-0]
32 Pickert G, Neufert C, Leppkes M, Zheng Y, Wittkopf N, Warntjen M, Lehr HA, Hirth S, Weigmann B, Wirtz S, Ouyang W, Neurath MF, Becker C. STAT3 links IL-22 signaling in intestinal epithelial cells to mucosal wound healing. *J Exp Med* 2009; 206: 1465-1472 [PMID: 19564350 DOI: 10.1084/jem.20082683]
33 Dumoutier L, de Meester C, Tavernier J, Renauld JC. New activation modus of STAT3: a tyrosine-less region of the interleukin-22 receptor recruits STAT3 by interacting with its coiled-coil domain. *J Biol Chem* 2009; 284: 26377-26384 [PMID: 19632985 DOI: 10.1074/jbc.M109.007955]
34 Yu LZ, Wang HY, Yang SP, Yuan ZP, Xu FY, Sun C, Shi RH. Expression of interleukin-22/STAT3 signaling pathway in ulcerative colitis and related carcinogenesis. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 2638-2649 [PMID: 23674871 DOI: 10.3748/wjg.v19.i17.2638]
35 Andoh A, Zhang Z, Inatomi O, Fujino S, Deguchi Y, Araki Y, Tsujikawa T, Kitoh K, Kim-Mitsuyama S, Takayanagi A, Shimizu N, Fujiyama Y. Interleukin-22, a member of the IL-10 subfamily, induces inflammatory responses in colonic subepithelial myofibroblasts. *Gastroenterology* 2005; 129: 969-984 [PMID: 16143135 DOI: 10.1053/j.gastro.2005.06.071]
36 刘晓, 仲人前. 白细胞介素-22在炎症性肠病中的免疫调节作用. 临床军医杂志 2011; 39: 798-800
37 Ikeuchi H, Kuroiwa T, Hiramatsu N, Kaneko Y, Hiromura K, Ueki K, Nojima Y. Expression of interleukin-22 in rheumatoid arthritis: potential role as a proinflammatory cytokine. *Arthritis Rheum* 2005; 52: 1037-1046 [PMID: 15818686 DOI: 10.1002/art.20965]
38 李莉, 曹江, 刘玲, 朱祖安, 吴克俭, 费素娟. 溃疡性结肠炎患者外周血IL-22及相关CD4(+)T细胞亚群的表达. 中华微生物学和免疫学杂志 2012; 32: 323-325
39 Spits H, Di Santo JP. The expanding family of innate lymphoid cells: regulators and effectors of immunity and tissue remodeling. *Nat Immunol* 2011; 12: 21-27 [PMID: 21113163 DOI: 10.1038/ni.1962]
40 Sekikawa A, Fukui H, Suzuki K, Karibe T, Fujii S, Ichikawa K, Tomita S, Imura J, Shiratori K, Chiba T, Fujimori T. Involvement of the IL-22/REG Ialpha axis in ulcerative colitis. *Lab Invest* 2010; 90: 496-505 [PMID: 20065946 DOI: 10.1038/labinvest.2009.147]
41 Pariente B, Mocan I, Camus M, Dutertre CA, Ettersperger J, Cattan P, Gornet JM, Dulphy N, Charron D, Lémann M, Toubert A, Allez M. Activation of the receptor NKG2D leads to production of Th17 cytokines in CD4+ T cells of patients with Crohn's dis-

■同行评价
本文总结了IL-22在炎症性肠病的调节相关研究进展, 阐述了IL-22信号通路及在IBD中调节机制, 对于了解炎症性肠病的发病机制有一定的理论意义, 为把IL-22作为潜在的治疗靶点提供理论基础.

ease. *Gastroenterology* 2011; 141: 217-226, 226.e1-e2 [PMID: 21600899 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.03.061]

42 Geremia A, Arancibia-Cárcamo CV, Fleming MP, Rust N, Singh B, Mortensen NJ, Travis SP, Powrie F. IL-23-responsive innate lymphoid cells are increased in inflammatory bowel disease. *J Exp Med* 2011; 208: 1127-1133 [PMID: 21576383 DOI: 10.1084/jem.20101712]

43 Zenewicz LA, Yancopoulos GD, Valenzuela DM, Murphy AJ, Stevens S, Flavell RA. Innate and adaptive interleukin-22 protects mice from inflammatory bowel disease. *Immunity* 2008; 29: 947-957 [PMID: 19100701 DOI: 10.1016/j.immuni.2008.11.003]

44 Duerr RH, Taylor KD, Brant SR, Rioux JD, Silverberg MS, Daly MJ, Steinhart AH, Abraham C, Regueiro M, Griffiths A, Dassopoulos T, Bitton A, Yang H, Targan S, Datta LW, Kistner EO, Schumm LP, Lee AT, Gregersen PK, Barmada MM, Rotter JI, Nicolae DL, Cho JH. A genome-wide association study identifies IL23R as an inflammatory bowel disease gene. *Science* 2006; 314: 1461-1463 [PMID: 17068223 DOI: 10.1126/science.1135245]

45 Schmechel S, Konrad A, Diegelmann J, Glas J, Wetzke M, Paschos E, Lohse P, Göke B, Brand S. Linking genetic susceptibility to Crohn's disease with Th17 cell function: IL-22 serum levels are increased in Crohn's disease and correlate with disease activity and IL23R genotype status. *Inflamm Bowel Dis* 2008; 14: 204-212 [PMID: 18022867 DOI: 10.1002/ibd.20315]

46 Tumanov AV, Koroleva EP, Guo X, Wang Y, Kruglov A, Nedospasov S, Fu YX. Lymphotoxin controls the IL-22 protection pathway in gut innate lymphoid cells during mucosal pathogen challenge. *Cell Host Microbe* 2011; 10: 44-53 [PMID: 21767811 DOI: 10.1016/j.chom.2011.06.002]

47 Brand S, Beigel F, Olszak T, Zitzmann K, Eichhorst ST, Otte JM, Diepolder H, Marquardt A, Jagla W, Popp A, Leclair S, Herrmann K, Seiderer J, Ochsenkühn T, Göke B, Auernhammer CJ, Dambacher J. IL-22 is increased in active Crohn's disease and promotes proinflammatory gene expression and intestinal epithelial cell migration. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2006; 290: G827-G838 [PMID: 16537974 DOI: 10.1152/ajpgi.00513.2005]

48 Sugimoto K, Ogawa A, Mizoguchi E, Shimomura Y, Andoh A, Bhan AK, Blumberg RS, Xavier RJ, Mizoguchi A. IL-22 ameliorates intestinal inflammation in a mouse model of ulcerative colitis. *J Clin Invest* 2008; 118: 534-544 [PMID: 18172556 DOI: 10.1172/jci33194]

49 Wolk K, Witte E, Hoffmann U, Doecke WD, Endesfelder S, Asadullah K, Sterry W, Volk HD, Wittig BM, Sabat R. IL-22 induces lipopolysaccharide-binding protein in hepatocytes: a potential systemic role of IL-22 in Crohn's disease. *J Immunol* 2007; 178: 5973-5981 [PMID: 17442982]

50 Yamamoto-Furusho JK, Miranda-Pérez E, Fonseca-Camarillo G, Sánchez-Muñoz F, Dominguez-Lopez A, Barreto-Zuñiga R. Colonic epithelial upregulation of interleukin 22 (IL-22) in patients with ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis* 2010; 16: 1823 [PMID: 20222141 DOI: 10.1002/ibd.21235]

51 Neufert C, Pickert G, Zheng Y, Wittkopf N, Warntjen M, Nikolaev A, Ouyang W, Neurath MF, Becker C. Activation of epithelial STAT3 regulates intestinal homeostasis. *Cell Cycle* 2010; 9: 652-655 [PMID: 20160497 DOI: 10.4161/cc.9.4.10615]

52 Khor B, Gardet A, Xavier RJ. Genetics and pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nature* 2011; 474: 307-317 [PMID: 21677747 DOI: 10.1038/nature10209]

53 Franke A, McGovern DP, Barrett JC, Wang K, Radford-Smith GL, Ahmad T, Lees CW, Balschun T, Lee J, Roberts R, Anderson CA, Bis JC, Bumpstead S, Ellinghaus D, Festen EM, Georges M, Green T, Haritunians T, Jostins L, Latiano A, Mathew CG, Montgomery GW, Prescott NJ, Raychaudhuri S, Rotter JI, Schumm P, Sharma Y, Simms LA, Taylor KD, Whiteman D, Wijmenga C, Baldassano RN, Barclay M, Bayless TM, Brand S, Büning C, Cohen A, Colombel JF, Cottone M, Stronati L, Denson T, De Vos M, D'Inca R, Dubinsky M, Edwards C, Florin T, Franchimont D, Gearry R, Glas J, Van Gossum A, Guthery SL, Halfvarson J, Verspaget HW, Hugot JP, Karban A, Laukens D, Lawrance I, Lemann M, Levine A, Libioulle C, Louis E, Mowat C, Newman W, Panés J, Phillips A, Proctor DD, Regueiro M, Russell R, Rutgeerts P, Sanderson J, Sans M, Seibold F, Steinhart AH, Stokkers PC, Torkvist L, Kullak-Ublick G, Wilson D, Walters T, Targan SR, Brant SR, Rioux JD, D'Amato M, Weersma RK, Kugathasan S, Griffiths AM, Mansfield JC, Vermeire S, Duerr RH, Silverberg MS, Satsangi J, Schreiber S, Cho JH, Annese V, Hakonarson H, Daly MJ, Parkes M. Genome-wide meta-analysis increases to 71 the number of confirmed Crohn's disease susceptibility loci. *Nat Genet* 2010; 42: 1118-1125 [PMID: 21102463 DOI: 10.1038/ng.717]

54 Stelter C, Käppeli R, König C, Krah A, Hardt WD, Stecher B, Bumann D. Salmonella-induced mucosal lectin RegIIIβ kills competing gut microbiota. *PLoS One* 2011; 6: e20749 [PMID: 21694778 DOI: 10.1371/journal.pone.0020749]

55 Damo SM, Kehl-Fie TE, Sugitani N, Holt ME, Rathi S, Murphy WJ, Zhang Y, Betz C, Hench L, Fritz G, Skaar EP, Chazin WJ. Molecular basis for manganese sequestration by calprotectin and roles in the innate immune response to invading bacterial pathogens. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2013; 110: 3841-3846 [PMID: 23431180 DOI: 10.1073/pnas.1220341110]

56 Murano T, Okamoto R, Ito G, Nakata T, Hibiya S, Shimizu H, Fujii S, Kano Y, Mizutani T, Yui S, Akiyama-Morio J, Nemoto Y, Tsuchiya K, Nakamura T, Watanabe M. Hes1 promotes the IL-22-mediated antimicrobial response by enhancing STAT3-dependent transcription in human intestinal epithelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2014; 443: 840-846 [PMID: 24342613 DOI: 10.1016/j.bbrc.2013.12.061]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年6月8日; 22(16): 2265-2270
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

文献综述 REVIEW

肛瘘术前评估方法的研究进展

王永刚, 丁健华, 赵 克

王永刚, 丁健华, 赵克, 中国人民解放军第二炮兵总医院结直肠肛门外科 北京市 100088
王永刚, 辽宁医学院硕士研究生, 主要从事结直肠肛门外科的研究.
首都临床特色应用研究基金资助项目, No. Z121107001012135
作者贡献分布: 本文综述由王永刚与丁健华完成; 赵克审校.
通讯作者: 丁健华, 副主任医师, 100088, 北京市西城区新街口外大街16号, 中国人民解放军第二炮兵总医院结直肠肛门外科. jianhuading75@163.com
电话: 010-66343440
收稿日期: 2014-02-24 修回日期: 2014-04-05
接受日期: 2014-04-14 在线出版日期: 2014-06-08

Methods for preoperative assessment of anal fistula

Yong-Gang Wang, Jian-Hua Ding, Ke Zhao

Yong-Gang Wang, Jian-Hua Ding, Ke Zhao, Department of Colorectal & Anal Surgery, the Second Artillery General Hospital of Chinese People's Liberation Army, Beijing 100088, China
Correspondence to: Jian-Hua Ding, Associate Chief Physician, Department of Colorectal & Anal Surgery, the Second Artillery General Hospital of Chinese People's Liberation Army, 16 Xinjiekouwai Street, Xicheng District, Beijing100088, China. jianhuading75@163.com
Received: 2014-02-24 Revised: 2014-04-05
Accepted: 2014-04-14 Published online: 2014-06-08

Abstract
Anal fistula is one of the most common perianal diseases, and methods for its preoperative assessment are diverse. Traditional methods include physical examination, probing, Goodsall's law, methylene blue test, and so on. Although traditional methods play a role, their accuracy for complex anal fistulas is low. Therefore, their application must be combined with other methods. Fistulography fails to depict the relationship of the fistula to the sphincter complex, and computed tomography lacks specificity to distinguish between fistula and surrounding muscle tissue. Both methods are rarely used now. Magnetic resonance imaging and three-dimensional anorectal endosonography have become routine preoperative examinations and play an important role for guiding precise surgery. However, they also have their own shortcomings. In this paper, we will summarize a variety of methods for preoperative assessment of anal fistula.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Anal fistula; Preoperative assessment methods; Magnetic resonance imaging; Three-dimensional endoanal ultrasound

Wang YG, Ding JH, Zhao K. Methods for preoperative assessment of anal fistula. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(16): 2265-2270 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2265.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i16.2265

摘要
肛瘘是最常见的肛周疾病之一, 其术前评估方法多种多样, 传统方法包括查体、探针探查、Goodsall定律、亚甲蓝试验等, 尽管传统方法发挥了一定的作用, 但其对复杂性肛瘘诊断准确率低, 须与其他方法联合应用. 瘘管X线造影无法明确瘘管与括约肌的关系, CT成像技术对区分瘘管组织与周围肌肉缺乏特异性, 二者现已很少应用. 核磁共振和三维肛管直肠腔内超声已逐渐成为肛瘘术前常规的检查方法, 对指导精准手术发挥了重要作用, 但二者也存在各自的缺点. 本文将对各种肛瘘术前评估方法作一综述.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 肛瘘; 术前评估方法; 核磁共振; 三维肛管直肠腔内超声

核心提示: 肛瘘术前评估的传统方法包括查体、探针探查、Goodsall定律、亚甲蓝试验等, 其对复杂性肛瘘诊断准确率低, 须与其他方法联合应用. 瘘管X线造影无法明确瘘管与括约肌的关系, 电子计算机X射线断层扫描技术(computed tomography)对区分瘘管组织与周围肌肉缺乏特异性. 核磁共振和三维肛管直肠腔内超声已逐渐成为肛瘘术前常规的检查方法, 对指导精准手术发挥了重要作用, 但二者也存在各自的缺点.

■背景资料
肛瘘占肛周感染性疾病的70%, 手术常比较困难, 是引起医患纠纷的常见病种之一. 主要是因为肛瘘术后容易复发和发生不同程度肛门失禁. 导致上述情况的主要原因是内口定位不准确、瘘管处理不彻底或遗漏了瘘管分支、对瘘管走行不了解等, 目前术前评估方法多种多样, 各有其优缺点.

■同行评议者
朱亮, 副教授, 大连医科大学

■研发前沿
MRI和肛管直肠腔内超声是目前主要的检查方法，二者对肛瘘术前评估均具有较高的准确率，本文重点介绍了二者的优缺点.

王永刚, 丁健华, 赵克. 肛瘘术前评估方法的研究进展. 世界华人消化杂志 2014; 22(16): 2265-2270 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2265.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i16.2265

0 引言

肛瘘是最常见的肛周疾病之一, 占肛周感染性疾病的70%, 其中90%为腺源性肛瘘[1]. 根据瘘管与括约肌复合体的解剖关系将肛瘘分为[2]: 括约肌间、经括约肌、括约肌外、括约肌上肛瘘, 其治疗原则是破坏内口、去除瘘管并最大限度地保留肛门括约肌. 肛瘘切开范围过大可能导致术后大便失禁, 而不适当的保留肛门括约肌又会导致肛瘘复发. 文献报道肛瘘术后不同程度肛门失禁的发生率为0-40%, 术后复发率为0-26.5%[3,4]. 导致上述情况的主要原因是未能准确定位内口、瘘管处理不彻底或遗漏了分支瘘管、对瘘管走行不了解等[5]. 因此, 肛瘘术前准确找到内口、明确是否存在分支瘘管和瘘管走行与括约肌关系, 对降低术后复发率, 避免损伤括约肌、保护肛门功能至关重要. 近年对肛瘘术前评估方面取得了长足进展, 现综述如下.

1 传统方法

传统方法包括查体、探针探查、Goodsall定律、亚甲蓝试验.

查体包括视诊和触诊, 是肛瘘术前的基本检查方法, 有经验的外科医生通过查体可以区分是复杂性肛瘘还是简单性肛瘘, 明确简单性肛瘘瘘管的走行和内口的位置, 但其对复杂性或复发性肛瘘的内口定位和瘘管走行的准确率低[6,7].

探针探查因可造成患者明显的疼痛不适, 主要应用于手术过程中或麻醉状态下, 对于直瘘和瘘管明确的肛瘘, 其具有较高的准确率, 而瘘管狭小或瘘管屈曲的肛瘘, 因探针无法通过,不能明确瘘管走形及定位内口. 另外, 探针探查过程中过度用力, 有可能造成“假瘘管”或“假内口”, 导致术后复发. 指诊和探针探查曾被认为是肛瘘术前评估的金标准, 但其准确率低, 尤其对于严重瘢痕化和复杂性肛瘘缺乏特异性[8], 已经被许多专家所质疑.

根据肛瘘外口位置来判断内口的Goodsall定律被广泛应用于肛瘘的术前评估, 对于经后位的肛瘘其内口定位准确率为88.7%, 而对经前位肛瘘内口定位准确率较低, 尤其对于女性患者, 准确率为65.1%[9]. 而且, 肛瘘的直与弯, 除与位于肛管的前、后有关系外, 与肛瘘的高位及低位、外口距肛缘的远近都有一定关系. 因此, 单纯应用Goodsall定律对患者进行术前评估, 可能造成误导, 导致术后复发, 应结合其他检查综合评估提高术前诊断准确率.

通过外口向瘘管内注射亚甲蓝溶液, 在肛管内观察内口位置, 文献报道其内口定位准确率达83%, 但对于瘢痕化严重、瘘管过于屈曲狭长或伴有脓肿存在的肛瘘, 其应用受到局限[10]. 另外, 因亚甲蓝可造成瘘管周围组织蓝染, 而无法准确定位内口.

2 瘘管X线造影及CT成像技术

瘘管造影是应用最早的肛瘘成像技术, 通过瘘管内注射水溶性造影剂, 在X光下可清晰显示瘘管, 对于外口明确且外口距离肛缘较远的, 尤其对于活动期的慢性肛瘘具有较高的准确率, 但不能明确瘘管与括约肌复合体的解剖关系. 另外, 瘘管造影存在电离辐射, 还可能因加压注射造影剂使细菌、对比剂进入血流分别引起菌血症、对比剂不良反应. 研究显示, 瘘管造影诊断准确率<16%[11,12]. 随着多层螺旋CT、磁共振等技术应用于肛瘘术前评估, X线造影技术已逐渐被淘汰. 多层螺旋CT的应用明显提高了对肛瘘诊断的准确率, 术前对内口、支管评价的准确率分别为62.1%、89.3%, 多层螺旋CT后处理重建技术中, 曲面重建可清晰显示瘘管的具体位置及其与肛管内外括约肌、肛提肌的关系, 容量重建能三维再现瘘管的形态和走行特点[13]. 但因瘘管组织对CT成像的衰减作用与括约肌、脂肪层类似, 对区分纤维化的瘘管与括约肌复合体和盆底肌肉缺乏特异性[8,14].

3 核磁共振检查

磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)因具有对软组织成像清晰、分辨率高、扫描范围广泛、多层面扫描等优点而广泛应用于肛瘘的术前评估, 对于复杂性肛瘘, 其作用更为显著[15]. 肛瘘MRI表现为: 于T2WI及脂肪抑制T2WI表现高信号, T1WI为条索状略低信号影, 增强扫描瘘管壁有明显强化, 内口表现为圆点状强化[16]. 瘢痕组织及术后纤维化在脂肪抑制T1WI、T2WI图像上均呈低信号, 且增强后无强化. T2WI能够区分活动期的瘘管与周围纤维化组织, 以及描述瘘管与括约肌的关系. 静脉内注射钆进行动态对比增强, 提高了瘘管的清晰度, 尤其是对

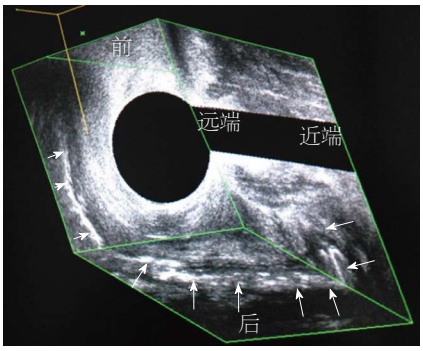


图 1 增强后瘘管图像特征. 箭头所示瘘管走行.

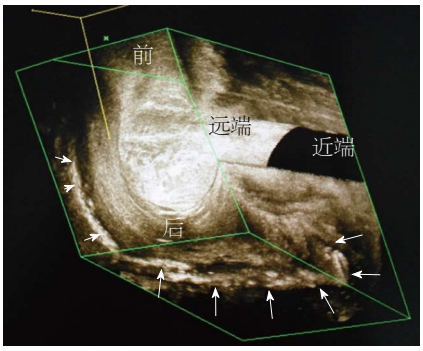


图 2 向量渲染后瘘管图像特征. 箭头所示瘘管走行.

■创新盘点
简明扼要并且全面地介绍各种肛瘘术前评估方法.

T2WI不清晰的非活动期的肛瘘, T1WI具有更高的分辨能力[17]. 通过轴位、冠状位、矢状位等多方位扫描, 精确描述瘘管与括约肌复合体的关系及瘘管走向, 特别是复杂性肛瘘的数目、瘘管走行、支管形成及内口的位置和瘘管与周围肌肉的关系、有无脓肿形成, 文献报道诊断主瘘管的准确率达88%-100%, 诊断分支瘘管的准确率达91%, 马蹄形肛瘘诊断准确率达100%, 内口定位准确率达96%[18], 而腔内MRI成像技术对主瘘管诊断的准确率达93%[19]. 国外许多文献也证实了MRI在肛瘘术前评估中的作用[20-24]. 近年, 国内也对MRI在肛瘘评估中的作用进行了报道[25]. 术前应用磁共振检查还可以降低术后复发率[21,26]. 体外相控阵线圈具有更高的分辨率, 并且避免了腔内线圈对患者所引起的不适. 包括脂肪抑制和对比增强在内的多平面、多序列扫描技术的应用改善了磁共振对肛瘘的诊断, 三维磁共振的应用进一步提高了对肛瘘诊断的准确率[27,28]. 术前行MRI检查已逐渐成为术前肛瘘诊断的金标准[29]. 但其检查费用高, 操作耗费时间相对较长, 限制了这一技术的普及和应用.

4 肛管直肠腔内超声

4.1 二维肛管直肠腔内超声 二维肛管直肠腔内超声于20年前由泌尿外科医生首次应用于临床, 因其具有简单易学、费用低、不会引起患者过多不适等优点, 被用于直肠、肛管肿瘤的分期和对肛门括约肌、盆底良性病变的评估. 其能够清晰显示瘘管走形、内口位置, 通过外口注射过氧化氢, 使瘘管呈现高回声, 明显提高对肛瘘诊断的准确率. 研究发现其诊断瘘管类型的准确率达63%-94%[30,31], 内口定位的准确率达93%[30]. 过氧化氢增强后主瘘管诊断准确率为95%[32]. 但二维肛管直肠腔内超声也有缺点: (1)内口紧贴探头表面, 受外力挤压使内口呈假性闭合状态, 影响诊断; (2)因水肿的存在使内口回声界面复杂, 呈现与内膜相似的高回声而难以判断; (3)二维图像不能轴向显示瘘管的长度及其分支的走行全貌[33]. 近年, 也有经会阴超声检查评估肛瘘的报道, 瘘管类型判断准确率为85.2%, 内口定位准确率为72.3%. 对于复杂性肛瘘、肛管畸形和怀疑有直肠阴道瘘的患者具有独特优势[34].

4.2 三维肛管直肠腔内超声 采用360度旋转的6-16 MHz高频探头, 通过软件三维重建形成立体图像, 精确地测量角度、距离、范围及容量, 通过各个角度对三维图像进行旋转、倾斜、剪切, 从而获得定性和定量信息[35], 可同时从矢状面、冠状面、横断面观察肛管、直肠结构, 比二维肛管直肠腔内超声提供更加精确的信息, 进一步提高了内口及瘘管诊断的准确率[36-39]. 三维肛管直肠腔内超声能够很好地显示瘘管的走行全貌、与括约肌复合体的关系及手术可能涉及的括约肌范围[35,40]. 肛瘘内口可以为低回声型, 也可以为高回声型. 内口位置的超声诊断标准为: (1)由括约肌间瘘管形成的出芽形表现, 且与肛门内括约肌相连; (2)内括约肌缺如的出芽形表现; (3)通过内括约肌缺如部位, 连于括约肌间瘘管的皮下组织破坏的表现. 操作过程中通过外口向瘘管内注入过氧化氢产生气泡, 使瘘管走行从低回声变为高回声(图1), 可提高对肛瘘类型诊断的正确率[41,42], 通过向量渲染使瘘管显影更加清晰(图2), 同时具有实时直观等优势. 文献报道, 三维肛管直肠腔内超声所见和术中探查情况符合率达85.8%[43]. 目前, 国内也有文献报道了其在肛瘘术前评估中的重要作用[44-46]. 另外, 三维肛管直肠腔内超声还可以辨识克罗恩病合并的肛瘘是肛腺感染所致还是克罗恩病所致[47-49]. 对于克罗恩病所致肛瘘, 在超声直视下对瘘管和脓腔进行冲洗, 对预后取得了良好的

■应用要点
指导临床医生选择合适的术前评估方法, 制定合适的手术方案.

效果[50]. 同时, 其操作方便灵活, 可在床旁、门诊、手术室随时检查, 检查过程中过氧化氢增强可实时动态显示内口及瘘管走行, 检查时间短、费用低、设备不昂贵便于普及. 因此, 越来越多的专家将三维肛管直肠腔内超声作为肛瘘术前标准的诊断性检查方法, 明显地提高了治愈率, 降低了术后大便失禁率.

5 MRI与肛管直肠腔内超声应用价值比较

许多研究比较了肛管直肠腔内超声与MRI评估肛瘘的准确性, 结果显示两者在发现主瘘管、分支瘘管、内口等方面的敏感性相当[8,51,52], 三维增强肛管直肠腔内超声和磁共振成像对主瘘管(81% *vs* 90%)、分支瘘管(67% *vs* 57%)、内口定位(86% *vs* 86%)均有较高的准确率[53]. 肛管直肠腔内超声对于肛提肌上及坐骨直肠窝脓肿特异性较低, 而磁共振成像技术因具有扫描范围广泛和多层次扫描等优点填补了肛管直肠腔内超声这一缺陷. 但三维肛管直肠腔内超声实时直观, 可三维展现瘘管走形全貌, 精确测量瘘管长度和累及括约肌长度, 对精准手术具有指导作用, 研究显示, 若二者联合应用将诊断准确率提升到100%[54].

总之, 肛瘘术前检查明确内口位置、瘘管走行及是否存在分支瘘管, 尤其是复杂性肛瘘, 对降低术后复发率和大便失禁率至关重要, 而现有的的术前检查方法各有利弊. MRI和肛管直肠腔内超声是目前主要的检查方法, 二者对肛瘘术前评估均具有较高的准确率, 且各有优缺点, 因此应根据具体情况优化选择合适的术前评估方法.

6 参考文献

1 Senéjoux A. [Anal suppurations]. *Rev Prat* 2001; 51: 26-31 [PMID: 11234090]
2 Parks AG, Gordon PH, Hardcastle JD. A classification of fistula-in-ano. *Br J Surg* 1976; 63: 1-12 [PMID: 1267867]
3 Rosa G, Lolli P, Piccinelli D, Mazzola F, Bonomo S. Fistula in ano: anatomoclinical aspects, surgical therapy and results in 844 patients. *Tech Coloproctol* 2006; 10: 215-221 [PMID: 16969614 DOI: 10.1007/s10151-006-0282-1]
4 Sudoł-Szopińska I, Kołodziejczak M, Szopiński TR. The accuracy of a postprocessing technique--volume render mode--in three-dimensional endoanal ultrasonography of anal abscesses and fistulas. *Dis Colon Rectum* 2011; 54: 238-244 [PMID: 21228675 DOI: 10.1007/DCR.0b013e3181ff44de]
5 Halligan S, Stoker J. Imaging of fistula in ano. *Radiology* 2006; 239: 18-33 [PMID: 16567481 DOI: 10.1148/radiol.2391041043]
6 Lindsey I, Humphreys MM, George BD, Mortensen NJ. The role of anal ultrasound in the management of anal fistulas. *Colorectal Dis* 2002; 4: 118-122 [PMID: 12780634]
7 Buchanan GN, Halligan S, Bartram CI, Williams AB, Tarroni D, Cohen CR. Clinical examination, endosonography, and MR imaging in preoperative assessment of fistula in ano: comparison with outcome-based reference standard. *Radiology* 2004; 233: 674-681 [PMID: 15498901 DOI: 10.1148/radiol.2333031724]
8 Herbst F. Pelvic radiological imaging: a surgeon's perspective. *Eur J Radiol* 2003; 47: 135-141 [PMID: 12880994]
9 Coremans G, Dockx S, Wyndaele J, Hendrickx A. Do anal fistulas in Crohn's disease behave differently and defy Goodsall's rule more frequently than fistulas that are cryptoglandular in origin? *Am J Gastroenterol* 2003; 98: 2732-2735 [PMID: 14687825 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2003.08716.x]
10 Gonzalez-Ruiz C, Kaiser AM, Vukasin P, Beart RW, Ortega AE. Intraoperative physical diagnosis in the management of anal fistula. *Am Surg* 2006; 72: 11-15 [PMID: 16494174]
11 Himes N, Min JY, Lee R, Brown C, Shea J, Huang X, Xiao YF, Morgan JP, Burstein D, Oettgen P. In vivo MRI of embryonic stem cells in a mouse model of myocardial infarction. *Magn Reson Med* 2004; 52: 1214-1219 [PMID: 15508153]
12 Morris J, Spencer JA, Ambrose NS. MR imaging classification of perianal fistulas and its implications for patient management. *Radiographics* 2000; 20: 623-635; discussion 635-637 [PMID: 10835116 DOI: 10.1148/radiographics]
13 左志贵, 宋华羽, 徐昶, 杨运俊, 倪士昌, 李激, 陈绍棋. 多层螺旋CT在肛瘘定位诊断中的应用探讨. 中国实用外科杂志 2008; 28: 653-656
14 Dwarkasing S, Hussain SM, Krestin GP. Magnetic resonance imaging of perianal fistulas. *Semin Ultrasound CT MR* 2005; 26: 247-258 [PMID: 16152739]
15 Joyce M, Veniero JC, Kiran RP. Magnetic resonance imaging in the management of anal fistula and anorectal sepsis. *Clin Colon Rectal Surg* 2008; 21: 213-219 [PMID: 20011419 DOI: 10.1055/s-2008-1081000]
16 Al-Khawari HA, Gupta R, Sinan TS, Prakash B, Al-Amer A, Al-Bolushi S. Role of magnetic resonance imaging in the assessment of perianal fistulas. *Med Princ Pract* 2005; 14: 46-52 [PMID: 15608481 DOI: 10.1159/000081923]
17 Schaefer O, Lohrmann C, Kreisel W, Rasenack J, Ruf G, Hopt U, Langer M. Differentiation of perianal fistulas with digital subtraction magnetic resonance fistulography. *Inflamm Bowel Dis* 2005; 11: 383-387 [PMID: 15803029]
18 Beets-Tan RG, Beets GL, van der Hoop AG, Kessels AG, Vliegen RF, Baeten CG, van Engelshoven JM. Preoperative MR imaging of anal fistulas: Does it really help the surgeon? *Radiology* 2001; 218: 75-84 [PMID: 11152782 DOI: 10.1148/radiology.218.1.r01dc0575]
19 Hussain SM, Stoker J, Schouten WR, Hop WC, Laméris JS. Fistula in ano: endoanal sonography versus endoanal MR imaging in classification. *Radiology* 1996; 200: 475-481 [PMID: 8685344 DOI: 10.1148/radiology.200.2.8685344]
20 Mullen R, Deveraj S, Suttie SA, Matthews AG, Yalamarthi S. MR imaging of fistula in ano: indications

and contribution to surgical assessment. *Acta Chir Belg* 2011; 111: 393-397 [PMID: 22299328]
21 George U, Sahota A, Rathore S. MRI in evaluation of perianal fistula. *J Med Imaging Radiat Oncol* 2011; 55: 391-400 [PMID: 21843174 DOI: 10.1111/j.1754-9485.2011.02268.x]
22 Yildirim N, Gökalp G, Öztürk E, Zorluoğlu A, Yilmazlar T, Ercan I, Savci G. Ideal combination of MRI sequences for perianal fistula classification and the evaluation of additional findings for readers with varying levels of experience. *Diagn Interv Radiol* 2012; 18: 11-19 [PMID: 21348010 DOI: 10.4261/1305-3825.DIR.4092-10.1]
23 de Miguel Criado J, del Salto LG, Rivas PF, del Hoyo LF, Velasco LG, de las Vacas MI, Marco Sanz AG, Paradela MM, Moreno EF. MR imaging evaluation of perianal fistulas: spectrum of imaging features. *Radiographics* 2012; 32: 175-194 [PMID: 22236900 DOI: 10.1148/rg.321115040]
24 Waniczek D, Adamczyk T, Arendt J, Kluczewska E, Kozińska-Marek E. Usefulness assessment of preoperative MRI fistulography in patients with perianal fistulas. *Pol J Radiol* 2011; 76: 40-44 [PMID: 22802853]
25 张霖, 刘汉菊, 金银华, 宋扬, 闫敏, 许珊, 申国强. 复杂性肛瘘患者MRI与超声诊断对比分析. 中国老年学杂志 2014; 34: 371-373
26 O'Malley RB, Al-Hawary MM, Kaza RK, Wasnik AP, Liu PS, Hussain HK. Rectal imaging: part 2, Perianal fistula evaluation on pelvic MRI--what the radiologist needs to know. *AJR Am J Roentgenol* 2012; 199: W43-W53 [PMID: 22733931 DOI: 10.2214/AJR.11.8361]
27 Rofsky NM, Lee VS, Laub G, Pollack MA, Krinsky GA, Thomasson D, Ambrosino MM, Weinreb JC. Abdominal MR imaging with a volumetric interpolated breath-hold examination. *Radiology* 1999; 212: 876-884 [PMID: 10478260 DOI: 10.1148/radiology.212.3.r99se34876]
28 胡道予, 王承缘. MR不同序列成像诊断肛瘘的研究. 中华放射学杂志 2004; 38: 66-69
29 Mónica AN, Costa A, Aleluia C. [MRI evaluation of fistula in ano]. *Acta Med Port* 2007; 20: 319-324 [PMID: 18198075]
30 Lengyel AJ, Hurst NG, Williams JG. Pre-operative assessment of anal fistulas using endoanal ultrasound. *Colorectal Dis* 2002; 4: 436-440 [PMID: 12790915]
31 Santoro GA, Fortling B. The advantages of volume rendering in three-dimensional endosonography of the anorectum. *Dis Colon Rectum* 2007; 50: 359-368 [PMID: 17237912 DOI: 10.1007/s10350-006-0767-z]
32 Cho DY. Endosonographic criteria for an internal opening of fistula-in-ano. *Dis Colon Rectum* 1999; 42: 515-518 [PMID: 10215054]
33 金玉明, 洪桂荣, 曹炎, 陆坚. 腔内超声诊断肛瘘的临床价值. 上海医学影像 2011; 20: 232-233
34 Nevler A, Beer-Gabel M, Lebedyev A, Soffer A, Gutman M, Carter D, Zbar AP. Transperineal ultrasonography in perianal Crohn's disease and recurrent cryptogenic fistula-in-ano. *Colorectal Dis* 2013; 15: 1011-1018 [PMID: 23489598 DOI: 10.1111/codi.12204]
35 Garcés-Albir M, García-Botello SA, Esclapez-Valero P, Sanahuja-Santafé A, Raga-Vázquez J, Espi-Macías A, Ortega-Serrano J. Quantifying the extent of fistulotomy. How much sphincter can we safely divide? A three-dimensional endosonographic study. *Int J Colorectal Dis* 2012; 27: 1109-1116 [PMID: 22418879 DOI: 10.1007/s00384-012-1437-3]
36 Garcés Albir M, García Botello S, Esclápez Valero P, Sanahuja Santafé A, Espí Macías A, Flor Lorente B, García-Granero E. [Evaluation of three-dimensional endoanal endosonography of perianal fistulas and correlation with surgical findings]. *Cir Esp* 2010; 87: 299-305 [PMID: 20392442 DOI: 10.1016/j.ciresp.2010.02.006]
37 Subasinghe D, Samarasekera DN. Comparison of preoperative endoanal ultrasonography with intraoperative findings for fistula in ano. *World J Surg* 2010; 34: 1123-1127 [PMID: 20174805 DOI: 10.1007/s00268-010-0478-4]
38 Murad-Regadas SM, Regadas FS, Rodrigues LV, Holanda Ede C, Barreto RG, Oliveira L. The role of 3-dimensional anorectal ultrasonography in the assessment of anterior transsphincteric fistula. *Dis Colon Rectum* 2010; 53: 1035-1040 [PMID: 20551756 DOI: 10.1007/DCR.0b013e3181dce163]
39 Gravante G, Giordano P. The role of three-dimensional endoluminal ultrasound imaging in the evaluation of anorectal diseases: a review. *Surg Endosc* 2008; 22: 1570-1578 [PMID: 18401655 DOI: 10.1007/s00464-008-9865-4]
40 Murad-Regadas SM, Regadas FS, Rodrigues LV, Fernandes GO, Buchen G, Kenmoti VT, Soares Gdos S, Holanda Ede C. Anatomic characteristics of anal fistula on three-dimensional anorectal ultrasonography. *Dis Colon Rectum* 2011; 54: 460-466 [PMID: 21383567 DOI: 10.1007/DCR.0b013e3182060c84]
41 Poen AC, Felt-Bersma RJ, Eijsbouts QA, Cuesta MA, Meuwissen SG. Hydrogen peroxide-enhanced transanal ultrasound in the assessment of fistula-in-ano. *Dis Colon Rectum* 1998; 41: 1147-1152 [PMID: 9749499]
42 Kim Y, Park YJ. Three-dimensional endoanal ultrasonographic assessment of an anal fistula with and without H(2)O(2) enhancement. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 4810-4815 [PMID: 19824116]
43 Jeon HJ, Park UC, Park HS, Kim YJ, Jung SI, Park SW. Clinical usefulness of endoanal ultrasound in patients with complex anal fistula. *ULTRASOUND MED BIOL* 2011; 37: S14-S14 [DOI: 10.1016/j.ultrasmedbio.2011.05.084]
44 项晓宇, 程遵华, 童仙君. 经直肠超声在肛瘘诊断中的应用价值. 中华医学超声杂志(电子版) 2011; 8: 1064-1069
45 李涛, 丁克, 王建新. 三维肛管直肠腔内超声在肛瘘诊治中的应用. 中华外科杂志 2010; 48: 1210-1213
46 薛雅红, 丁曙晴, 刘飞, 章蓓, 裴穗东, 王小峰, 谭妍妍. 三维腔内超声对肛瘘手术指导价值的研究. 实用医学杂志 2013; 29: 3360-3362
47 Blom J, Nyström PO, Gunnarsson U, Strigård K. Endoanal ultrasonography may distinguish Crohn's anal fistulae from cryptoglandular fistulae in patients with Crohn's disease: a cross-sectional study. *Tech Coloproctol* 2011; 15: 327-330 [PMID: 21761164 DOI: 10.1007/s10151-011-0719-z]
48 Zawadzki A, Starck M, Bohe M, Thorlacius H. A unique 3D endoanal ultrasound feature of perianal Crohn's fistula: the 'Crohn ultrasound fistula sign'. *Colorectal Dis* 2012; 14: e608-e611 [PMID: 22507755 DOI: 10.1111/j.1463-1318.2012.03047.x]
49 Viganò C, Losco A, Caprioli F, Basilisco G. Incidence and clinical outcomes of intersphincteric

■同行评价
全面概括了目前所有肛瘘术前评估方法, 总体评价较好.

abscesses diagnosed by anal ultrasonography in patients with crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2011; 17: 2102-2108 [PMID: 21910171 DOI: 10.1002/ibd.21596]

50 Vitton V, Gascou G, Ezzedine SS, Gasmi M, Grimaud JC, Barthet M. Endoanal ultrasonography-assisted percutaneous transperineal management of anorectal sepsis. *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech* 2012; 22: 148-153 [PMID: 22487630 DOI: 10.1097/SLE.0b013e318244df7e]

51 Siddiqui MR, Ashrafian H, Tozer P, Daulatzai N, Burling D, Hart A, Athanasiou T, Phillips RK. A diagnostic accuracy meta-analysis of endoanal ultrasound and MRI for perianal fistula assessment. *Dis Colon Rectum* 2012; 55: 576-585 [PMID: 22513437 DOI: 10.1097/DCR.0b013e318249d26c]

52 Navarro-Luna A, García-Domingo MI, Rius-Macías J, Marco-Molina C. Ultrasound study of anal fistulas with hydrogen peroxide enhancement. *Dis Colon Rectum* 2004; 47: 108-114 [PMID: 14719157 DOI: 10.1007/s10350-003-0015-8]

53 West RL, Dwarkasing S, Felt-Bersma RJ, Schouten WR, Hop WC, Hussain SM, Kuipers EJ. Hydrogen peroxide-enhanced three-dimensional endoanal ultrasonography and endoanal magnetic resonance imaging in evaluating perianal fistulas: agreement and patient preference. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2004; 16: 1319-1324 [PMID: 15618839]

54 Schwartz DA, Wiersema MJ, Dudiak KM, Fletcher JG, Clain JE, Tremaine WJ, Zinsmeister AR, Norton ID, Boardman LA, Devine RM, Wolff BG, Young-Fadok TM, Diehl NN, Pemberton JH, Sandborn WJ. A comparison of endoscopic ultrasound, magnetic resonance imaging, and exam under anesthesia for evaluation of Crohn's perianal fistulas. *Gastroenterology* 2001; 121: 1064-1072 [PMID: 11677197]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com
世界华人消化杂志 2014年6月8日; 22(16): 2271-2276
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

文献综述 REVIEW

幽门螺杆菌对甲硝唑耐药机制的研究进展

马春婷, 高 峰

马春婷, 高峰, 新疆维吾尔自治区人民医院消化内科 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830000
马春婷, 主要从事幽门螺杆菌与消化系统疾病相关性的研究.
作者贡献分布: 马春婷完成本文综述; 高峰审校.
通讯作者: 高峰, 主任医师, 830000, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市天池路91号, 新疆维吾尔自治区人民医院消化内科.
xjgf@sina.com
收稿日期: 2014-02-18 修回日期: 2014-04-03
接受日期: 2014-04-09 在线出版日期: 2014-06-08

Mechanisms underlying resistance of *Helicobacter pylori* to metronidazole

Chun-Ting Ma, Feng Gao

Chun-Ting Ma, Feng Gao, Department of Gastroenterology, People's Hospital of Xinjiang Uygur Autonomous Region, Urumqi 830000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China
Correspondence to: Feng Gao, Chief Physician, Department of Gastroenterology, People's Hospital of Xinjiang Uygur Autonomous Region, 91 Tianchi Road, Urumqi 830000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. xjgf@sina.com
Received: 2014-02-18 Revised: 2014-04-03
Accepted: 2014-04-09 Published online: 2014-06-08

Abstract

Many diseases of the digestive system are related to *Helicobacter pylori* (*H. pylori*), which is an microaerophilic bacterium and has the highest infection rate in humans around the world. Metronidazole is an effective drug to kill *H. pylori*. The resistance to metronidazole in *H. pylori* has increased in recent years. The precise mechanism underlying the resistance of *H. pylori* to metronidazole is still unknown. This article reviews the latest progress in understanding the resistance to metronidazole in *H. pylori*.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: *Helicobacter pylori*; Metronidazole; Drug resistance; Gene mutations

Ma CT, Gao F. Mechanisms underlying resistance of *Helicobacter pylori* to metronidazole. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(16): 2271-2276 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2271.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i16.2271

摘要

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)是一种微需氧菌, 与多种消化系统疾病相关, 是目前世界上感染率最高的细菌之一. 甲硝唑具有较强的抗*H. pylori*的活性, 但近年*H. pylori*对甲硝唑耐药率逐年上升, 而*H. pylori*的耐药机制尚不明确, 现就对*H. pylori*甲硝唑耐药机制的相关性研究予以综述.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 幽门螺杆菌; 甲硝唑; 耐药机制; 基因突变

核心提示: 此文章从甲硝唑抗幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)机制、*H. pylori*耐药机制及目前发现的多种基因突变、失活等发面, 对*H. pylori*甲硝唑耐药机制进行了多角度的综述, 使读者能对耐药机制有更全面的了解.

马春婷, 高峰. 幽门螺杆菌对甲硝唑耐药机制的研究进展. 世界华人消化杂志 2014; 22(16): 2271-2276 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2271.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i16.2271

0 引言

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)是目前世界上感染率最高的细菌之一[1], 其在全球自然人群中的感染率超过50%[2], 发展中国家高于发达国家[3,4]. 国内张吉等[5]于2011年在上海瑞金医院进行的研究中发现, 该院消化科健康体检人群中, *H. pylori*感染率达48.31%. *H. pylori*感染被证实与某些胃肠道疾病及胃肠道外疾病的发生发展具有密切关系, 因此根除*H. pylori*对于这些疾病的防治具有重要意义. 2006年世界*H. pylori*研究小组召开了Maastricht第三次会议[6]提出了最新的*H. pylori*治疗指南, 其中推荐的一线抗*H. pylori*治疗所使用的抗生素为: 甲硝唑、克拉霉素和阿莫西林. 2007年, 我国召开的庐山会议中

■背景资料
幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)对甲硝唑耐药率逐年升高, 其耐药机制受诸多因素影响, 是综合作用的结果, 目前研究认为硝基还原酶基因的突变失活是*H. pylori*对甲硝唑耐药的主要机制, 随着研究的逐步深入, 各种检测方式的开展应用, 关于*H. pylori*耐药的机制将不断完善.

■同行评议者
汤静, 主管药师, 上海交通大学附属第一人民医院药学部

■研发前沿
*H. pylori*耐药机制目前研究的热点为基因突变失活对于耐药发生的作用方式. 研究的重点是临床上对于*H. pylori*耐药所采取的根除率高的治疗方案. 目前对于有效的降低*H. pylori*耐药的发生率是迫切需要解决的问题.

提到: 在选择根除*H. pylori*治疗方法时, 应考虑到以质子泵抑制剂(proton pump inhibitors, PPI)为主的三联疗法中所应用抗生素耐药率的上升[7,8]. 有学者[9]进行的多中心性研究显示, 我国*H. pylori*对甲硝唑、克拉霉素和阿莫西林的耐药率分别为75.6%、27.6%和2.7%.

抗*H. pylori*治疗所使用的抗生素中, 因甲硝唑能够在胃内高酸环境中仍保持较高的药物浓度, 具有较强的抗*H. pylori*活性, 而且稳定性好, 价格低廉, 因此常被用于抗*H. pylori*的一线治疗. 但随着甲硝唑的大量应用, 短时间内出现大量的甲硝唑耐药*H. pylori*菌株, 使根除*H. pylori*治疗的难度加大[10], *H. pylori*对甲硝唑的耐药机制尚未明了, 成为了国内外众多学者的研究热点[11]. 下面结合文献, 对其耐药机制综述如下.

1 甲硝唑抗*H. pylori*的作用机制

根除*H. pylori*的药物中, 甲硝唑最常用, 他属于硝基咪唑类衍生物, 本身不具有杀菌作用, 在抗*H. pylori*治疗中, 其有效成分硝基咪唑进入胃内, 穿过胃黏膜后在高酸环境中形成硝基团, 经过*H. pylori*细胞壁的被动扩散进入胞浆, 胞浆中的硝基团在对氧不敏感的硝基还原酶催化作用下, 被还原为亚硝基衍生物、羟胺衍生物等, 这些还原产物具有细胞毒性, 作用于DNA链, 使其断裂、损伤, 从而干扰*H. pylori*增殖, 达到抗*H. pylori*的目的.

2 *H. pylori*对抗生素的耐药机制

*H. pylori*对抗生素的耐药机制与其他细菌相同, 主要包括以下3种类型: (1)固有性耐药, 是指细菌对某种抗生素的耐药性是其先天所特有的能力, 多见于阻碍化合物渗透的屏障效应导致耐药的发生; (2)获得性耐药, 是指正常情况下对抗生素敏感的细菌群体, 由于基因突变、质粒介导转变或者蛋白质的改变使其成为对抗生素耐药的菌株; (3)其他类型的耐药性, 菌株在体外对抗生素敏感, 却在体内耐药, 耐药性出现的最主要原因, 是抗菌药物虽然达到有效浓度, 却无法到达感染位点, 不能发挥抗菌作用[12]. 同一种细菌群体对不同抗生素的耐药情况及机制不相同.

*H. pylori*对抗生素耐药机制较为复杂, 目前大部分学者的观点认为, 耐药的发生主要与抗生素作用靶点相关的基因突变有关, 也有人提出外排泵、孔道蛋白及热休克蛋白等物质的改变亦会影响抗生素的敏感性.

3 *H. pylori*对甲硝唑的耐药机制

*H. pylori*对甲硝唑耐药的机制尚不明确, 目前研究发现可能有以下几种.

3.1 *rdxA*、*frxA*、*fdxB*基因突变, 导致硝基还原酶活性的降低 许多研究[13]推测*rdxA*、*frxA*、*fdxB*基因突变与甲硝唑耐药相关, 其中大部分研究显示*rdxA*基因的突变是引发耐药的主要原因, 而*frxA*、*fdxB*基因单独突变并不能导致*H. pylori*的耐药, 但能增强*rdxA*的耐药作用[14].

3.1.1 *rdxA*基因突变: *rdxA*基因编码氧不敏感的NADPH硝基还原酶, 目前认为[15-17]*rdxA*基因的突变可使硝基还原酶失活, 引起酶活性的丧失, 使甲硝唑产生的亚硝基不能被还原, 进而导致*H. pylori*对甲硝唑耐药[18].

在*H. pylori*对甲硝唑耐药研究的大多数临床分离株中, *rdxA*基因突变率为56.7%, 而且发现耐药菌株中*rdxA*基因突变位点不固定, 不能确定某一位点突变与耐药性相关, 突变大多为随机性, 缺乏规律[19], 因此也给临床上使用分子生物学方法检测*H. pylori*对甲硝唑的耐药性带来困难. 甲硝唑还原产物羟胺的量在没有达到杀菌浓度时, 即可诱导细菌DNA发生变异, 这可能是*rdxA*基因多发、无规律变异的原因.

Goodwin等[20]将*rdxA*基因导入对甲硝唑耐药的*H. pylori*菌株, 发现其转变为甲硝唑敏感菌株, 而在反向实验中, 将*rdxA*的等位基因导入对甲硝唑敏感的*H. pylori*菌株中, *H. pylori*菌株出现了耐药表现. 因此推测, *H. pylori*对甲硝唑的耐药机制, 与编码对氧不敏感的NADPH硝基还原酶的*rdxA*基因密切相关, *rdxA*基因的突变失活将会导致耐药的发生.

同时近年有研究发现, *H. pylori*对甲硝唑的耐药机制与*cagA*基因有关, 实验发现, 15株cagA表达阳性且高耐药的菌株, 全部发生*rdxA*基因突变, 由此推测带有*cagA*基因的菌株可能同时存在着*rdxA*基因突变, 可能更易引起*H. pylori*对甲硝唑产生高水平耐药[21,22]. 但研究中发现, 6株cagA表达阴性的高耐药菌株的*rdxA*基因未发现突变, 说明完整的*rdxA*基因也可产生高水平的耐药性[23,24].

但也有研究提出[25,26], *rdxA*基因的突变失活仅引起*H. pylori*对甲硝唑中度耐药, 而临床分离所得的甲硝唑耐药菌株多为重度耐药, 二者最低抑菌浓度(minimal inhibitory concentration, MIC)值之间具有明显差异, 同时也发现, 一些耐药的*H. pylori*菌株与对药物敏感的亲代菌株之

间, *rdxA*基因表达并无差别, 因此仅用*rdxA*基因的突变失活难以解释耐药的发生.

3.1.2 *fdxB*及*frxA*基因突变: 研究发现, *H. pylori*的*frxA*基因和*fdxB*基因分别编码NADPH黄素氧化还原酶及铁氧化还原蛋白相似性蛋白, 他们的变异在*H. pylori*对甲硝唑高度耐药中发挥相当重要的作用, 但均以*rdxA*基因的变异作为发生耐药的基础. 研究发现, 单一*fdxB*基因突变只导致*H. pylori*对甲硝唑的低水平耐药, 甚至不耐药, 而*rdxA*或*frxA*基因突变会导致*H. pylori*对甲硝唑产生中等程度的耐药; 当*rdxA*与*fdxB*或*frxA*基因联合突变, 则会导致*H. pylori*对甲硝唑产生高水平耐药[27,28]. 因此有人推测, *rdxA*基因的变异是诱导*H. pylori*对甲硝唑发生耐药的基础, *frxA*和*fdxB*基因突变, 在*rdxA*基因突变所诱导的甲硝唑耐药中则起协同作用[29].

Kwon等[28]发现*frxA*和*fdxB*基因的突变均能使甲硝唑敏感*H. pylori*菌株和耐药*H. pylori*菌株的MIC值增高, 将失活的*frxA*基因转入甲硝唑敏感*H. pylori*菌株中, 该菌株转变为耐药菌株; 反之, 通过将对甲硝唑敏感大肠杆菌菌株成功转化为耐药菌株的实验, 也更加证实了这一观点.

也有学者认为[30], 单一的*frxA*基因突变失活, 而*rdxA*基因正常, 也可引起*H. pylori*对甲硝唑耐药; 单一的*fdxB*基因突变不足以导致*H. pylori*对甲硝唑耐药, 但当其与*rdxA*基因同时发生突变时可成倍提高MIC值. 故推测, *rdxA*基因可能在菌株生长中起基本的营养支持作用, 单一的*frxA*基因突变失活仅能够加强rdxA失活引起的耐药[31]. 对*fdxB*基因的功能研究认为, *fdxB*基因的突变失活不足以引起*H. pylori*对甲硝唑耐药[32], 但在其他耐药基因突变失活的前提下, *H. pylori*基因的突变失活可成倍增加*H. pylori*对甲硝唑的耐药性[28].

在对于*H. pylori*耐药菌株的基因分析中, 有*rdxA*和*frxA*基因均未发生突变的耐药菌株出现, 提示耐药性与基因突变并非完全一致, 应该有其他耐药机制存在, 基因表达的调控机制改变也可能成为耐药性产生的原因之一.

3.2 编码DNA修复酶的*RecA*基因突变, 使细菌DNA的修复能力增加 *RecA*基因是原核生物重要的DNA重组修复基因. 有实验将*RecA*基因转化到*H. pylori*甲硝唑敏感菌株中, 产生了耐药菌株, 并且在敏感和耐药菌株的比较中发现位于*RecA*基因上两个位点的突变, 从而推断该基因的突变可能与*H. pylori*对甲硝唑的耐药相关[33]. 然而, Marais等[27]在研究中却发现耐药菌株的*RecA*基因以及*rdxA*、*frxA*、*fdxB*基因均没有任何突变.

3.3 细菌外排泵及渗透能力的改变, 导致药物摄入减少或外排增加 戴宁等[34]和Lathan等[35]发现, 维拉帕米能通过抑制药物外排而降低*H. pylori*耐甲硝唑菌株的MIC值, 推测可能是由于其抑制了*H. pylori*膜上的药物泵所致. 在ABC转运蛋白家族的外排泵实验及多重耐药研究[36]中发现, 5个家族的外排泵中有2个家族的外排泵在*H. pylori*多重耐药中起作用, 但是不能完全解释多重耐药的发生机制, 外排泵在*H. pylori*耐药中的作用机制还需要进一步的研究[37].

关于药物摄入和外排方面, Moore等[38]认为在*H. pylori*中存在具活性的甲硝唑转运体, 但由于其活性在敏感菌和耐药菌中没有发现区别, 因而不认为甲硝唑耐药是由于药物摄入减少所致. 胡伟玲等[39]报道甲硝唑与外膜的结合作用下降, 可能会影响外膜对甲硝唑的渗透性, 导致胞质中的甲硝唑浓度下降, 从而出现耐药.

3.4 过氧化氢酶和超氧化物歧化酶活性下降, 导致氧清除能力下降 有学者推测[40,41], 超氧化物歧化酶和过氧化氢酶的活性增加可能参与*H. pylori*菌株对甲硝唑耐药, Jorgensen等[42]研究发现*H. pylori*甲硝唑耐药菌株中以上两个酶的活性并不受甲硝唑的诱导而增加, 而且耐药菌株与其并无相关性. 直至目前, 许多研究也发现, 编码耐药菌与敏感菌过氧化氢酶和超氧化物歧化酶的活性没有明显的差别, 此结论进一步被证实.

3.5 热休克蛋白的保护机制与*H. pylori*耐药 groEL和dnaK属于热休克蛋白家族, 广泛存在于原核与真核生物中, 是细胞最保守的保护机制之一[43]. 研究发现, 热休克蛋白的保护机制与*H. pylori*耐药菌株在抗生素环境下的存活密切相关, 实验也发现在*H. pylori*耐药菌株中热休克蛋白groEL和dnaK表达量增加[44,45].

*H. pylori*对甲硝唑的耐药机制很复杂, 可能多种机制共同发挥作用, 目前发现的机制尚不能完全解释*H. pylori*对甲硝唑的耐药现象, 因此是否存在其他耐药相关基因及耐药机制有待进一步研究.

4 结论

*H. pylori*与功能性消化不良、胃溃疡、十二指肠溃疡及胃癌等疾病密切相关, 而*H. pylori*耐药

■应用要点

此文章旨在综述*H. pylori*甲硝唑耐药机制, 对临床上日益升高的*H. pylori*甲硝唑耐药率有所帮助, 对于临床上选择合适的抗*H. pylori*治疗方案提供一定的指导, 同时对今后的耐药机制相关研究提供帮助.

■同行评价
本文对*H. pylori*对甲硝唑耐药机制的研究进展进行综述, 内容较全面.

性是其根除治疗失败的主要原因. 解决*H. pylori*耐药相关问题是刻不容缓的, *H. pylori*对甲硝唑具体耐药机制尚不明了, 所以目前克服*H. pylori*耐药[46,47]是首要问题.

研究[48,49]显示甲硝唑方案的疗效减少到何种程度, 取决于方案中其他药物成份和治疗时间. 与标准三联疗法相比, 耐药对四联疗法的影响较小[50]; 治疗时间越长, 甲硝唑耐药对疗效影响越小[51], 临床抗*H. pylori*治疗需规范化, 根据临床上发生耐药的具体情况, 酌情调整联合治疗药物、剂量及治疗时间, 必要时治疗前应进行抗生素敏感试验, 避免使用*H. pylori*耐药的抗生素.

5 参考文献

1 中华医学会消化病学分会, 幽门螺杆菌学组/幽门螺杆菌科研协作组. 第三次全国幽门螺杆菌感染若干问题共识报告. 中华胃肠病学 2008; 13: 42-46
2 Dunn BE, Cohen H, Blaser MJ. Helicobacter pylori. *Clin Microbiol Rev* 1997; 10: 720-741 [PMID: 9336670]
3 Jenks PJ, Edwards DI. Metronidazole resistance in Helicobacter pylori. *Int J Antimicrob Agents* 2002; 19: 1-7 [PMID: 11814762 DOI: 10.1016/S0924-8579(01)00468-X]
4 Miendje Deyi VY, Bontems P, Vanderpas J, De Koster E, Ntounda R, Van den Borre C, Cadranel S, Burette A. Multicenter survey of routine determinations of resistance of Helicobacter pylori to antimicrobials over the last 20 years (1990 to 2009) in Belgium. *J Clin Microbiol* 2011; 49: 2200-2209 [PMID: 21450969 DOI: 10.1128/JCM.02642-10]
5 张吉, 陈明, 钟捷, 李文艳, 江石湖, 张晨莉. 健康体检人群中Hp感染与糖代谢异常及胰岛素抵抗的相关性分析. 国际消化病杂志 2013; 33: 57-60
6 刘文忠, 译. 幽门螺杆菌感染处理的当代概念Maastricht III 共识报告. 中华消化杂志 2007; 27: 257-261
7 Raymond J, Kalach N, Bergeret M, Benhamou PH, Barbet JP, Gendrel D, Dupont C. Effect of metronidazole resistance on bacterial eradication of Helicobacter pylori in infected children. *Antimicrob Agents Chemother* 1998; 42: 1334-1335 [PMID: 9624470]
8 Khademi F, Faghri J, Poursina F, Esfahani BN, Moghim S, Fazeli H, Adibi P, Mirzaei N, Akbari M, Safaei HG. Resistance pattern of Helicobacter pylori strains to clarithromycin, metronidazole, and amoxicillin in Isfahan, Iran. *J Res Med Sci* 2013; 18: 1056-1060 [PMID: 24523796]
9 中华医学会消化病学分会, 幽门螺杆菌学组/幽门螺杆菌科研协作组. 中国幽门螺杆菌耐药状况以及耐药对治疗的影响–全国多中心临床研究. 胃肠病学 2007; 12: 525-530
10 Graham DY, Fischbach L. Helicobacter pylori treatment in the era of increasing antibiotic resistance. *Gut* 2010; 59: 1143-1153 [PMID: 20525969 DOI: 10.1136/gut.2009.192757]
11 Ierardi E, Giorgio F, Losurdo G, Di Leo A, Principi M. How antibiotic resistances could change Helicobacter pylori treatment: A matter of geography? *World J Gastroenterol* 2013; 19: 8168-8180 [PMID: 24363506 DOI: 10.3748/wjg.v19.i45.8168]
12 Pajares García JM, Pajares-Villarroya R, Gisbert JP. [Helicobacter pylori infection: antibiotic resistance]. *Rev Esp Enferm Dig* 2007; 99: 63-70 [PMID: 17417916 DOI: 10.4321/S1130-01082007000200001]
13 郜恒骏, 盛海辉. 耐药基因检测与幽门螺杆菌根除治疗(幽门螺杆菌感染治疗的新路径,专题论坛). 中华医学杂志 2012; 92: 657-659
14 李耿, 田拥军, 叶嗣颖, 张正茂, 崔斌, 宋启发, 熊萍. 幽门螺杆菌对甲硝唑耐药性及多重相关基因DNA和氨基酸序列分析. 华中科技大学学报(医学版) 2005; 34: 138-140
15 Hughes NJ, Clayton CL, Chalk PA, Kelly DJ. Helicobacter pylori porCDAB and oorDABC genes encode distinct pyruvate: flavodoxin and 2-oxoglutarate: acceptor oxidoreductases which mediate electron transport to NADP. *J Bacteriol* 1998; 180: 1119-1128 [PMID: 9495749]
16 Burucoa C, Lhomme V, Fauchere JL. Performance criteria of DNA fingerprinting methods for typing of Helicobacter pylori isolates: experimental results and meta-analysis. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 4071-4080 [PMID: 10565934]
17 Kaihovaara P, Höök-Nikanne J, Uusi-Oukari M, Kosunen TU, Salaspuro M. Flavodoxin-dependent pyruvate oxidation, acetate production and metronidazole reduction by Helicobacter pylori. *J Antimicrob Chemother* 1998; 41: 171-177 [PMID: 9533458 DOI: 10.1093/jac/41.2.171]
18 Jeong JY, Mukhopadhyay AK, Akada JK, Dailidiene D, Hoffman PS, Berg DE. Roles of FrxA and RdxA nitroreductases of Helicobacter pylori in susceptibility and resistance to metronidazole. *J Bacteriol* 2001; 183: 5155-5162 [PMID: 11489869 DOI: 10.1128/JB.183.17.5155-5162.2001]
19 谢国艳. 上海崇明地区幽门螺杆菌的耐药性及cagA基因、rdxA基因在幽门螺杆菌耐甲硝唑中的作用. 江苏: 中国科学技术信息研究所, 2011: 28-29
20 Goodwin A, Kersulyte D, Sisson G, Veldhuyzen van Zanten SJ, Berg DE, Hoffman PS. Metronidazole resistance in Helicobacter pylori is due to null mutations in a gene (rdxA) that encodes an oxygen-insensitive NADPH nitroreductase. *Mol Microbiol* 1998; 28: 383-393 [PMID: 9622362 DOI: 10.1046/j.1365-2958.1998.00806.x]
21 Scholte GH, van Doorn LJ, Cats A, Bloemena E, Lindeman J, Quint WG, Meuwissen SG, Kuipers EJ. Genotyping of Helicobacter pylori in paraffin-embedded gastric biopsy specimens: relation to histological parameters and effects on therapy. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 1687-1695 [PMID: 12135019 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2002.05775.x]
22 Latham SR, Labigne A, Jenks PJ. Production of the RdxA protein in metronidazole-susceptible and -resistant isolates of Helicobacter pylori cultured from treated mice. *J Antimicrob Chemother* 2002; 49: 675-678 [PMID: 11909843 DOI: 10.1093/jac/49.4.675]
23 Kim SY, Joo YM, Lee HS, Chung IS, Yoo YJ, Merrell DS, Cha JH. Genetic analysis of Helicobacter pylori clinical isolates suggests resistance to metronidazole can occur without the loss of functional rdxA. *J Antibiot* (Tokyo) 2009; 62: 43-50 [PMID: 19132060 DOI: 10.1038/ja.2008.6]
24 Chisholm SA, Owen RJ. Mutations in Helicobacter pylori rdxA gene sequences may not contribute to metronidazole resistance. *J Antimicrob Chemother* 2003; 51: 995-999 [PMID: 12654749 DOI: 10.1093/

jac/dkg192]
25 Jenks PJ, Ferrero RL, Labigne A. The role of the rdxA gene in the evolution of metronidazole resistance in Helicobacter pylori. *J Antimicrob Chemother* 1999; 43: 753-758 [PMID: 10404313 DOI: 10.1093/jac/43.6.753]
26 Tankovic J, Lamarque D, Delchier JC, Soussy CJ, Labigne A, Jenks PJ. Frequent association between alteration of the rdxA gene and metronidazole resistance in French and North African isolates of Helicobacter pylori. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44: 608-613 [PMID: 10681326 DOI: 10.1128/AAC.44.3.608-613.2000]
27 Marais A, Bilardi C, Cantet F, Mendz GL, Mégraud F. Characterization of the genes rdxA and frxA involved in metronidazole resistance in Helicobacter pylori. *Res Microbiol* 2003; 154: 137-144 [PMID: 12648728 DOI: 10.1016/S0923-2508(03)00030-5]
28 Kwon DH, El-Zaatari FA, Kato M, Osato MS, Reddy R, Yamaoka Y, Graham DY. Analysis of rdxA and involvement of additional genes encoding NAD(P)H flavin oxidoreductase (FrxA) and ferredoxin-like protein (FdxB) in metronidazole resistance of Helicobacter pylori. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44: 2133-2142 [PMID: 10898687 DOI: 10.1128/AAC.44.8.2133-2142.2000]
29 张姝, 莫非, 孙朝琴, 张然, 玉莹, 李寅, 罗昭逊, 夏曙华. 幽门螺杆菌对甲硝唑的耐药性分析. 中国人兽共患病学报 2011; 27: 1115-1117
30 Aldana LP, Kato M, Kondo T, Nakagawa S, Zheng R, Sugiyama T, Asaka M, Kwon DH. In vitro induction of resistance to metronidazole, and analysis of mutations in rdxA and frxA genes from Helicobacter pylori isolates. *J Infect Chemother* 2005; 11: 59-63 [PMID: 15856372]
31 Gerrits MM, van der Wouden EJ, Bax DA, van Zwet AA, van Vliet AH, de Jong A, Kusters JG, Thijs JC, Kuipers EJ. Role of the rdxA and frxA genes in oxygen-dependent metronidazole resistance of Helicobacter pylori. *J Med Microbiol* 2004; 53: 1123-1128 [PMID: 15496391 DOI: 10.1099/jmm.0.45701-0]
32 Masaoka T, Suzuki H, Kurabayashi K, et al. Could frameshift mutations in the frxA and rdxA genes of Heicobacter pylori be a marker for metronidazole resistance? *Aliment Pharmacol Ther* 2006; 24: 81-87 [DOI: 10.1111/j.1365-2036.2006.00029.x]
33 Chang KC, Ho SW, Yang JC, Wang JT. Isolation of a genetic locus associated with metronidazole resistance in Helicobacter pylori. *Biochem Biophys Res Commun* 1997; 236: 785-788 [PMID: 9245734 DOI: 10.1006/bbrc.1997.7050]
34 戴宁, 朱永良, 钱克达, 唐训球. 维拉帕米对幽门螺杆菌甲硝唑耐药性的作用. 中华消化杂志 1998; 18: 352-354
35 Latham SR, Owen RJ, Elviss NC, Labigne A, Jenks PJ. Differentiation of metronidazole-sensitive and -resistant clinical isolates of Helicobacter pylori by immunoblotting with antisera to the RdxA protein. *J Clin Microbiol* 2001; 39: 3052-3055 [PMID: 11526127 DOI: 10.1128/JCM.39.9.3052-3055.2001]
36 Thanassi DG, Cheng LW, Nikaido H. Active efflux of bile salts by Escherichia coli. *J Bacteriol* 1997; 179: 2512-2518 [PMID: 9098046]
37 van Amsterdam K, Bart A, van der Ende A. A Helicobacter pylori TolC efflux pump confers resistance to metronidazole. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49: 1477-1482 [PMID: 15793129 DOI: 10.1128/AAC.49.4.1477-1482.2005]
38 Moore RA, Beckthold B, Bryan LE. Metronidazole uptake in Helicobacter pylori. *Can J Microbiol* 1995; 41: 746-749 [PMID: 7553456 DOI: 10.1139/m95-102]
39 胡伟玲, 戴宁, 朱永良. 幽门螺杆菌外膜和甲硝唑的结合与耐药性的关系. 世界华人消化杂志 2002; 10: 1054-1056
40 Olekhnovich IN, Vitko S, Valliere M, Hoffman PS. Response to metronidazole and oxidative stress is mediated through homeostatic regulator HsrA (HP1043) in Helicobacter pylori. *J Bacteriol* 2014; 196: 729-739 [PMID: 24296668 DOI: 10.1128/JB.01047-13]
41 Wassmann C, Hellberg A, Tannich E, Bruchhaus I. Metronidazole resistance in the protozoan parasite Entamoeba histolytica is associated with increased expression of iron-containing superoxide dismutase and peroxiredoxin and decreased expression of ferredoxin 1 and flavin reductase. *J Biol Chem* 1999; 274: 26051-26056 [PMID: 10473552 DOI: 10.1074/jbc.274.37.26051]
42 Jorgensen MA, Manos J, Mendz GL, Hazell SL. The mode of action of metronidazole in Helicobacter pylori: futile cycling or reduction? *J Antimicrob Chemother* 1998; 41: 67-75 [PMID: 9511039 DOI: 10.1093/jac/41.1.67]
43 Hartl FU, Martin J. Molecular chaperones in cellular protein folding. *Curr Opin Struct Biol* 1995; 5: 92-102 [PMID: 7773752 DOI: 10.1016/0959-440X(95)80014-R]
44 于晗. 幽门螺杆菌甲硝唑耐药的比较蛋白质组学初步研究. 山东: 山东大学, 2008: 31-32
45 Huesca M, Goodwin A, Bhagwansingh A, Hoffman P, Lingwood CA. Characterization of an acidic-pH-inducible stress protein (hsp70), a putative sulfatide binding adhesin, from Helicobacter pylori. *Infect Immun* 1998; 66: 4061-4067 [PMID: 9712748]
46 Kawakubo M, Ito Y, Okimura Y, Kobayashi M, Sakura K, Kasama S, Fukuda MN, Fukuda M, Katsuyama T, Nakayama J. Natural antibiotic function of a human gastric mucin against Helicobacter pylori infection. *Science* 2004; 305: 1003-1006 [PMID: 15310903 DOI: 10.1126/science.1099250]
47 Rossi G, Ruggiero P, Peppoloni S, Pancotto L, Fortuna D, Lauretti L, Volpini G, Mancianti S, Corazza M, Taccini E, Di Pisa F, Rappuoli R, Del Giudice G. Therapeutic vaccination against Helicobacter pylori in the beagle dog experimental model: safety, immunogenicity, and efficacy. *Infect Immun* 2004; 72: 3252-3259 [PMID: 15155627 DOI: 10.1128/IAI.72.6.3252-3259.2004]
48 van der Wouden EJ, Thijs JC, Kusters JG, van Zwet AA, Kleibeuker JH. Mechanism and clinical significance of metronidazole resistance in Helicobacter pylori. *Scand J Gastroenterol Suppl* 2001; (234): 10-14 [PMID: 11768554 DOI: 10.1080/003655201753265055]
49 Mégraud F. Resistance of Helicobacter pylori to antibiotics and its impact on treatment options. *Drug Resist Updat* 2001; 4: 178-186 [PMID: 11768331 DOI: 10.1054/drup.2001.0203]
50 Camargo MC, García A, Riquelme A, Otero W, Camargo CA, Hernandez-García T, Candia R, Bruce MG, Rabkin CS. The Problem of Helicobacter pylori Resistance to Antibiotics: A Systematic Review in Latin America. *Am J Gastroenterol* 2014; 109: 485-495 [PMID: 24589670 DOI: 10.1038/ajg.2014.24]
51 Chan KL, Zhou H, Ng DK, Tam PK. A prospec-

tive study of a one-week nonbismuth quadruple therapy for childhood Helicobacter pylori infection. *J Pediatr Surg* 2001; 36: 1008-1011 [PMID: 11431766 DOI: 10.1053/jpsu.2001.24726]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊

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

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com
世界华人消化杂志 2014年6月8日; 22(16): 2277-2284
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

研究快报 RAPID COMMUNICATION

番木瓜种子提取物异硫氰酸苄酯对肝癌细胞凋亡的影响

朱明月, 李 伟, 鲁 琰, 蔡小妹, 董 栩, 陈 杉, 郭峻莉, 李孟森

朱明月, 海南大学农学院 海南省海口市 570228
朱明月, 李伟, 鲁琰, 董栩, 陈杉, 郭峻莉, 李孟森, 海南省肿瘤发生和干预重点实验室 海南医学院 海南省海口市 571199
朱明月, 李伟, 鲁琰, 董栩, 陈杉, 李孟森, 海南医学院分子生物学重点实验室 海南省海口市 571199
朱明月, 中国热带农业科学院热带生物技术研究所 海南省海口市 571101
蔡小妹, 海南医学院基础医学院生物技术专业 海南省海口市 571199
朱明月, 助理研究员, 主要从事肿瘤分子生物学方面的研究.
国家自然科学基金资助项目, Nos. 81360307, 81260306, 81160261, 31060164
教育部新世纪优秀人才支持计划基金资助项目, No. NCET-10-0124
教育部科学技术研究重点基金资助项目, No. 211146
海南省重点科技基金资助项目, No. DZXM20110038
海南省自然科学基金资助项目, Nos. 310044, 811208
作者贡献分布: 朱明月负责异硫氰酸苄酯对肝癌细胞增殖的影响的检测、研究数据的分析及论文撰写; 李伟负责异硫氰酸苄酯对细胞凋亡形态学的观察; 鲁琰与蔡小妹负责细胞培养; 董栩与郭峻莉负责蛋白表达的检测; 陈杉负责Caspase3酶活性检测; 李孟森负责研究内容的设计、研究数据的分析以及论文的撰写与审校.
通讯作者: 李孟森, 教授, 571199, 海南省海口市龙华区学院路3号, 海南省肿瘤发生和干预重点实验室, 海南医学院分子生物学重点实验室. mengsenli@163.com
电话: 0898-66895322
收稿日期: 2014-02-10 修回日期: 2014-03-11
接受日期: 2014-04-24 在线出版日期: 2014-06-08

Benzyl isothiocyanate induces apoptosis of hepatocarcinoma cells

Ming-Yue Zhu, Wei Li, Yan Lu, Xiao-Mei Cai, Xu Dong, Yi Chen, Jun-Li Guo, Meng-Sen Li

Ming-Yue Zhu, College of Agriculture, Hainan University, Haikou 570228, Hainan Province, China
Ming-Yue Zhu, Wei Li, Yan Lu, Xu Dong, Yi Chen, Jun-Li Guo, Meng-Sen Li, Hainan Provincial Key Laboratory of Carcinogenesis and Intervention, Hainan Medical College, Haikou 571199, Hainan Province, China
Ming-Yue Zhu, Wei Li, Yan Lu, Xu Dong, Yi Chen, Meng-Sen Li, Key Laboratory of Molecular Biology, Hainan Medical College, Haikou 571199, Hainan Province, China
Ming-Yue Zhu, Institute of Tropical Bioscience and Biotechnology, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou 571101, Hainan Province, China
Xiao-Mei Cai, Department of Basic Medical Science, Hainan Medical College, Haikou 571199, Hainan Province, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, Nos. 81360307, 81260306, 81160261, and 31060164; the Program for New Century Excellent Talents in University of China, No. NCET-10-0124; Key Program of Science and Technology, Ministry of Education of China, No. 211146; Key Program of Science and Technology of Hainan Province, No. DZXM20110038; the Natural Science Foundation of Hainan Province, Nos. 310044 and 811208
Correspondence to: Meng-Sen Li, Professor, Hainan Provincial Key Laboratory of Carcinogenesis and Intervention, Hainan Medical College, 3 Xueyuan Road, Longhua District, Haikou 571199, Hainan Province, China. mengsenli@163.com
Received: 2014-02-10 Revised: 2014-03-11
Accepted: 2014-04-24 Published online: 2014-06-08

Abstract

AIM: To investigate the influence of benzyl isothiocyanate (BITC) on apoptosis of hepatoma carcinoma cell lines HLE and Bel-7402 *in vitro*, and to explore the possible mechanism involved.

METHODS: After HLE and Bel-7402 cells were treated with an optimal concentration of BITC for 24 h, cell proliferation was tested by MTT assay, the morphology of apoptotic hepatoma cells was observed after DAPI staining, the enzymatic activity of caspase 3 was assayed using Caspase3 Activity Assay Kit, and expression of caspase 8, caspase 3 and cell cycle related protein cyclin D1 were detected by Western blot.

RESULTS: MTT analysis showed that BITC had an obvious inhibitory effect on the proliferation of hepatoma cells. The growth rates of HLE and Bel-7402 cells treated with 40 μmol/L BITC were 71.56% and 78.09% ($P < 0.05$ *vs* control groups), respectively, and the growth rates of HLE and Bel-7402 cells treated with 80 μmol/BITC were 32.91% and 53.06% ($P < 0.01$ *vs* control groups), respectively. Hepatoma cells treated with BITC tended to showed characteristic morphological changes of apoptosis. BITC treatment elevated the activity of caspase 3 in hepatoma cells, stimulated the expression of caspase 3 and caspase 8, but inhibited cyclin D1 expression.

CONCLUSION: BITC induces apoptosis of hepatoma cells possibly by activating the cas-

■背景资料
肝癌是常见恶性肿瘤, 但目前没有良好的药物治疗方法, 寻找理想的药物治疗是本领域研究的重点和热点之一. 近年研究发现, 异硫氰酸苄酯(benzyl isothiocyanate, BITC)除了具有优越的对肿瘤发生有预防作用外, 还具有较好的抗肿瘤作用. 所以研究BITC抗肝癌细胞生长有重要的科学意义..

■同行评议者
郭俊明, 教授, 宁波大学医学院生物化学与分子生物学研究所

■研发前沿
研究表明BITC对前列腺癌、乳腺癌、宫颈癌、肺癌、胰腺癌和卵巢癌等肿瘤细胞系均具有较好的抗肿瘤作用, 其机制主要与阻滞细胞周期, 抑制细胞增殖, 诱导肿瘤细胞凋亡以及抑制肿瘤转移等有关, 但具体机制仍需进一步研究.

pase signal pathway and inhibiting cell cycle progression.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Hepatoma cell; Benzyl isothiocyanate; Apoptosis; Cell cycle

Zhu MY, Li W, Lu Y, Cai XM, Dong X, Chen Y, Guo JL, Li MS. Benzyl isothiocyanate induces apoptosis of hepatocarcinoma cells. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(16): 2277-2284 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2277.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i16.2277

摘要

目的: 通过异硫氰酸苄酯(benzyl-isothiocyanate, BITC)对体外培养的人肝癌细胞株HLE和Bel 7402的凋亡影响, 初步探讨BITC调控肝癌细胞凋亡的可能机制.

方法: 3-(4,5-二甲基噻唑-2)-2,5-二苯基四氮唑溴盐(MTT)染色法检测不同浓度BITC对肝癌细胞增殖的影响; 选择具有抑制肝癌细胞生长的BITC浓度处理肝癌细胞后4,6-二脒基-2-苯基吲哚二盐酸盐(DAPI)染色法进行凋亡的形态学观察; Caspase3酶活性检测试剂盒检测细胞中的Caspase3酶活性; Western blot法检测具代表性的凋亡相关蛋白Caspase8和Caspase3, 细胞周期相关蛋白Cyclin D1的表达.

结果: MTT结果显示BITC对人肝癌细胞的增殖有明显的抑制作用, 用浓度为40 μmol/L的BITC处理时, HLE和Bel 7402细胞存活率分别为71.56%和78.09%, 和对照组比较, 有统计学差异(P<0.05); 当用浓度为80 μmol/L的BITC处理时, HLE和Bel 7402生长率分别为32.91%和53.06%, 和对照组比较, 有统计学显著性差异(P<0.01); 经BITC处理后的细胞, DAPI染色显示细胞特征性凋亡变化; Western blot和Caspase活性检测结果显示, 随着BITC浓度增加, Caspase8和Caspase3蛋白表达水平及活性呈上升趋势, 而细胞周期蛋白Cyclin D1的表达则明显下降.

结论: BITC对人肝癌细胞增殖有抑制作用, 并能诱导肝癌细胞凋亡; BITC通过激活Caspase8和Caspase3信号途径以及抑制细胞周期进展诱导细胞凋亡.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 肝癌细胞; 异硫氰酸苄酯; 细胞凋亡; 细胞周期

核心提示: 肝癌是常见的恶性肿瘤之一, 其恶性程度大, 死亡率很高, 目前没有良好的治疗方法, 寻找理想的化疗药物给肝癌的治疗带来新的希望. 目前研究已经发现, 番木瓜种子提取物-异硫氰酸苄酯(benzyl isothiocyanate, BITC)不仅具有预防肿瘤发生的作用, 而且还具有较好的抗肿瘤作用, 但其是否能抑制肝癌细胞增殖和诱导癌细胞凋亡的作用尚不清楚. 本研究证实BITC能够抑制肝癌细胞增殖和诱导癌细胞凋亡, 通过激活Caspases信号途径以及抑制细胞周期进展发挥其抑癌作用, 这为将来BITC应用于肝癌的临床治疗奠定了一定的基础.

朱明月, 李伟, 鲁琰, 蔡小妹, 董栩, 陈移, 郭峻莉, 李孟森. 番木瓜种子提取物异硫氰酸苄酯对肝癌细胞凋亡的影响. 世界华人消化杂志 2014; 22(16): 2277-2284 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2277.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i16.2277

0 引言

近年有研究发现, 番木瓜中含有丰富的具芳香烷侧链的异硫氰酸盐(isothiocyanates, ITCs)成分-异硫氰酸苄酯(benzyl isothiocyanate, BITC)[1]. 早期的研究结果表明, BITC可通过抑制Ⅰ相酶的活性[2]或诱导Ⅱ相解毒酶的活性[3]从而抑制化学致癌物的致癌作用. 而近年来研究发现, BITC除了具有优越的化学预防作用外, 还可直接作用于肿瘤细胞, 对前列腺癌[4]、乳腺癌[5,6]、宫颈癌[7]、肺癌[8,9]、胰腺癌[10-12]和卵巢癌[13]等肿瘤细胞系均具有较好的抗肿瘤作用, 但BITC是否能诱导肝癌细胞凋亡及凋亡的机制如何尚未有报道. 本研究主要探讨BITC对肝癌细胞凋亡的影响及其可能机制.

1 材料和方法

1.1 材料 BITC从番木瓜种子中提取获得, 由中国热带农业科学院热带生物技术研究所提供; 人肝癌细胞株Bel 7402和HLE以及正常人肝细胞株L02购自中科院上海细胞所; DMEM培养基为Gibco公司产品; 胎牛血清(fetal calf serum, FCS)为Hyclone公司产品, 牛血清白蛋白(bovine serum albumin, BSA), 四甲基偶氮唑盐[3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5- diphenyltetrazolium bromide, MTT], 二甲基亚砜(DMSO)为Sigma公司产品; 脂质体2000购自Invitrogen公司; 预染彩虹

蛋白Marker为Fermentas公司产品; Anti-Caspase3抗体、Anti-Caspase8抗体、Anti-Cyclin D1抗体等购自Abcam公司(Britain, Cambridge); 4,6-二脒基-2-苯基吲哚二盐酸盐(4,6-diamidino-2-phenylindole dihydrochlorid, DAPI), Caspase3活性检测试剂盒和Caspase3抑制剂Ac-DEVD-CHO购自碧云天生物技术有限公司(中国江苏省海门市), 其他试剂为国产分析纯级或进口分装.

1.2 方法

1.2.1 细胞培养: 用含有10%胎牛血清的DMEM培养基培养人正常肝细胞L02和肝癌细胞Bel 7402、HLE, 待细胞长到90%融合时, 用0.25%的胰蛋白酶消化细胞, 再用含有10%胎牛血清的DMEM培养基吹散细胞, 把细胞调整到一定的数目, 进行相关的实验研究.

1.2.2 MTT法检测不同浓度BITC对肝癌细胞增殖的影响: Bel 7402和HLE细胞达到90%融合后, 用0.25%的胰蛋白酶消化, 再用含有10%胎牛血清的DMEM培养基吹散细胞, 调整细胞数目为2.5×10^4个/mL, 培养于96孔培养板中, 每孔100 μL, 每组设6个平行孔, 适应培养24 h后, 细胞被饥饿处理12 h(用不加血清的培养液), 换成含10%胎牛血清的培养液培养12 h, 加入各种浓度的BITC(10、20、30、40、50、60、70、80 μmol/L), 处理24 h后, 每孔加入20 μL的MTT(5 g/L), 37 ℃孵育4 h, 去掉所有的液体, 每孔加入150 μL DMSO, 震荡30 min, 用酶标仪测定570 nm的吸光度(*A*)值.

1.2.3 DAPI染色检测BITC诱导肝癌细胞凋亡: 用含有10%胎牛血清的DMEM培养液把HLE和Bel 7402细胞调整到2.0×10^4个/mL, 取2 mL细胞悬液培养于6孔细胞培养板中, 待细胞长到80%融合, 加入BITC(40、80 μmol/L)处理24 h后, 收集悬浮细胞到离心管, 再用0.25%的胰蛋白酶消化贴壁细胞, 用先收集的悬浮细胞培养液把细胞轻轻吹下, 收集到原来的离心管中, 离心(1000 r/min, 5 min), PBS漂洗3次后, 用1 mL PBS把细胞轻轻吹散, 加入10 μL浓度为10 μg/mL DAPI, 室温避光15 min后, 离心(1000 r/min, 5 min), 用1 mL PBS把细胞轻轻吹散, 清洗细胞3次, 去掉上清液, 加入100 μL PBS把细胞吹散, 吸出20 μL细胞悬液加到已经滴加了1滴抗荧光淬灭剂的干净的载玻片上, 再轻轻压上盖玻片, 静置5 min后, 用荧光显微镜观察细胞凋亡小体, 用荧光显微镜观察并拍摄图像.

1.2.4 Caspase3蛋白酶活性测定: 人肝癌细胞Bel 7402和HLE按1.0×10^5个/mL, 培养于33 cm^2培养瓶中, 每组设3个平行瓶, 每瓶5 mL, 待细胞长到70%-80%融合, 饥饿细胞(不加血清的培养液)24 h后换成含10%胎牛血清的培养液培养12 h, 加入BITC(40和80 μmol/L)处理24 h后, 收集细胞, 按测定Caspase3活性检测试剂盒的操作说明裂解细胞, 提取蛋白质. 考马斯亮蓝法测定蛋白含量, 蛋白质浓度调整到2-3 mg/mL, 把相同蛋白量加到96孔平底酶标板, 每组设3个平行孔, 然后按照要求加入相应的反应底物、提取的蛋白、酶活性抑制物等, 充分混匀, 避光置于37 ℃保温6 h, 在波长405 nm测光密度(*A*)的改变.

1.2.5 Western blot检测细胞周期相关蛋白及细胞凋亡相关蛋白的表达: 人肝癌细胞Bel 7402和HLE按1.0×10^5个/mL, 培养于33 cm^2培养瓶中, 每组设3个平行瓶, 每瓶5 mL, 待细胞长到70%-80%融合, 饥饿细胞(不加血清的培养液)24 h后换成含10%胎牛血清的培养液培养12 h, 加入BITC(40 μmol/L和80 μmol/L)处理24 h后, 收集并裂解细胞, 提取细胞蛋白质, 行聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE), 转膜, 加入一抗在4 ℃轻轻混合12 h, 用辣根过氧化物酶标记的羊抗鼠或羊抗兔的二抗在室温轻轻摇动2 h后, 用发光显影法(Western blot Luminol Reagent)检测Caspase3、Caspase8、Cyclin D1和β-actin蛋白的表达, 并用化学发光/荧光仪拍摄杂交蛋白质条带. 详细方法按文献[14]进行.

统计学处理 所有数据采用SPSS11.5统计软件用*t*检验方法进行分析, 数据的表示为mean±SD, $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 BITC对HLE、Bel-7402细胞增殖有抑制作用

为检测BITC是否对肝癌细胞HLE和Bel 7402的细胞增殖有影响, 我们用不同浓度的BITC处理HLE和Bel 7402细胞并进行MTT检测. 结果如图1所示, BITC作用于肝癌细胞时, 对细胞增殖的抑制作用具有浓度依赖性, 作用相同的时间(24 h), 随药物浓度的增加, 细胞存活率逐渐下降. 当BITC浓度为40 μmol/L时HLE和Bel 7402细胞存活率均受到显著性抑制(HLE细胞生长率为71.56%, Bel 7402细胞生长率为78.09%), 当BITC浓度为80 μmol/L时HLE和Bel 7402生长率均受到更显著抑制(分别为32.91%和53.06%). 光镜下观察显示, 当浓度为80 μmol/L时, 肝癌细胞几乎都皱缩成圆形, 大部分漂浮于培养基上层,

■相关报道
Hwang等研究表明BITC通过抑制MAPK激酶导致基质金属蛋白酶-2/-9(MMP-2/-9)表达下调从而抑制肝癌细胞SK-Hep1生长, 但BITC是否能诱导肝癌细胞凋亡及凋亡的机制如何尚未有报道.

■创新盘点

BITC对多种肿瘤细胞系具有较好的抗肿瘤作用, 但其对肝癌细胞的作用研究报道较少, 以肝癌细胞Bel 7402和HLE作为其作用对象是本研究的创新之一; 研究BITC对肝癌细胞增殖和凋亡及其可能分子机制是本研究的另一个创新之处.

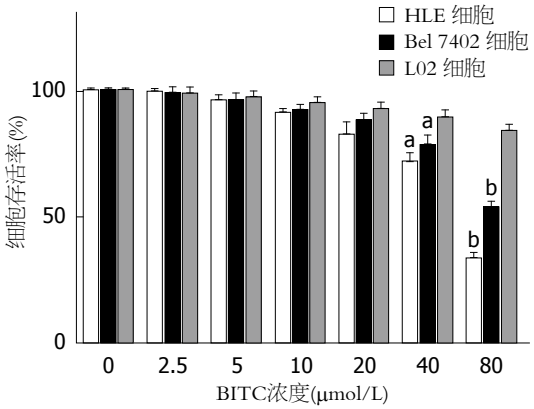


图 1 不同剂量的BITC对肝癌细胞和人正常肝细胞生长的影响. 不同剂量的BITC(0、2.5、5、10、20、40、60、80 μmol/L)处理HLE、Bel 7402、L02细胞24 h后, 用MTT法检测HLE、Bel 7402、L02细胞的生长, DMSO为阳性对照. $^{a}P<0.05$, $^{b}P<0.01$ *vs* 空白对照组. BITC: 异硫氰酸苄酯.

仅有少部分贴壁. 作为空白对照的DMSO对HLE和Bel 7402细胞的增殖和存活率均没有影响, 而BITC对正常肝细胞L02的生长率无明显影响, 细胞生长状态良好. 这些结果显示BITC对人肝癌细胞生长具有明显的抑制作用, 且对HLE的抑制作用比对Bel 7402的抑制作用更显著, 但对人正常肝细胞的生长则没有明显的抑制作用.

2.2 DAPI染色证明BITC能够诱导HLE、Bel 7402细胞凋亡 为检测BITC诱导HLE、Bel 7402细胞死亡是否具有凋亡的形态特征, 我们用不同浓度的BITC处理HLE、Bel7402细胞后进行DAPI染色. 结果如图2所示. 经BITC处理HLE、Bel 7402细胞24 h后, 随着作用浓度的增加, HLE、Bel 7402细胞呈现出显著的形态学变化, 细胞皱缩、变圆、体积变小, 细胞核断裂, 并有凋亡小体的产生, 当BITC浓度为80 μmol/L时, HLE、Bel 7402细胞的形态变化最显著. Caspase3抑制剂和BITC共同作用细胞后, HLE、Bel 7402细胞的形态变化较未加抑制剂的细胞的形态变化小. 加入DMSO为对照的HLE、Bel 7402细胞以及加入BITC的L02细胞, 其细胞形态和核结构完整, 未见有细胞凋亡的形态. 这些结果表明, BITC能够诱导HLE、Bel 7402细胞的凋亡, 而对人正常肝细胞L02则没有明显作用(图2).

2.3 Caspase酶活性检测证明BITC通过Caspase途径诱导肝癌细胞凋亡 为进一步检测BITC诱导细胞凋亡是否通过Caspase途径, 我们检测了不同浓度BITC及抑制剂处理HLE、Bel 7402细胞后Caspase3的活性的改变. 结果如图3所示, 随着药物浓度的升高, 细胞中Caspase3的活性也逐渐增强, 而在Caspase抑制剂处理的细胞中, BTIC诱导的Caspase3酶活性比单独用BITC处理的细胞中的酶活性较低, 而比DMSO单独处理(对照)的细胞中的酶活性又偏高, 有统计学意义($P<0.05$). BITC诱导的HLE细胞和Bel 7402的Caspase3酶活性之间也有极显著的差异($P<0.01$). BITC处理HLE细胞和Bel 7402细胞24 h后, HLE细胞的Caspase3酶活性升高程度明显高于Bel 7402细胞的Caspase3酶活性(图3C). 这些结果表明, BITC诱导肝癌细胞凋亡至少部分地通过Caspase3途径; BITC诱导HLE Caspase3酶活性升高比对诱导Bel 7402 Caspase3酶活性升高程度更显著.

2.4 BITC能够诱导凋亡相关蛋白和抑制细胞周期相关蛋白的表达 为检测BITC诱导细胞凋亡引起的蛋白表达的变化, 我们用不同浓度BITC作用于HLE, Bel 7402细胞24 h后提取总蛋白并对Caspase3、Caspase8、Cyclin D1等蛋白进行了Western blot分析. 结果如图4所示. 与对照组相比, BITC作用后, 对于HLE细胞Caspase3的表达没有显著性改变, 但却能明显的促进Caspase8的断裂(从酶原变成有活性的酶), 而对Cyclin D1的表达则有明显的抑制作用; 对于Bel 7402细胞, BITC作用后, 不仅能显著性诱导Caspase3的表达, 而且也能促进Caspase8断裂和抑制Cyclin D1表达, 这些改变随着BITC浓度增加而有逐渐上升趋势. 与BITC单独作用细胞相比较, Caspase3抑制剂和BITC共同处理的HLE, Bel 7402细胞后, 能有效的抑制BITC对细胞诱导Caspase8的表达和断裂以及对细胞Cyclin D1蛋白表达降低的影响. 以上结果说明BITC可能部分地通过Caspase3或8的途径诱导肝癌细胞凋亡.

3 讨论

ITCs是主要存在于十字花科植物中的一类天然活性成分, 其具有防癌、抗癌、抗氧化、免疫调节、抗炎、抗高血压、抗辐射、抗菌等多种药理作用[15,16]. 目前, 已有20余种天然和人工合成的ITCs被鉴定为致癌作用的有效抑制剂. 据文献[17]报道, 番木瓜科植物(carica papaya)中BITC含量很丰富, 可以在各个组织中检测到, 但成熟果肉中含量较低, 而以种子含量最高. 我们的研究证实从番木瓜种子中提取的BITC具有诱导肝癌细胞HLE和Bel 7402细胞凋亡的作用. 从MTT法测定细胞生长率到DAPI染色法观察细胞形态, 均从不同侧面反映BITC具有诱导肝癌细

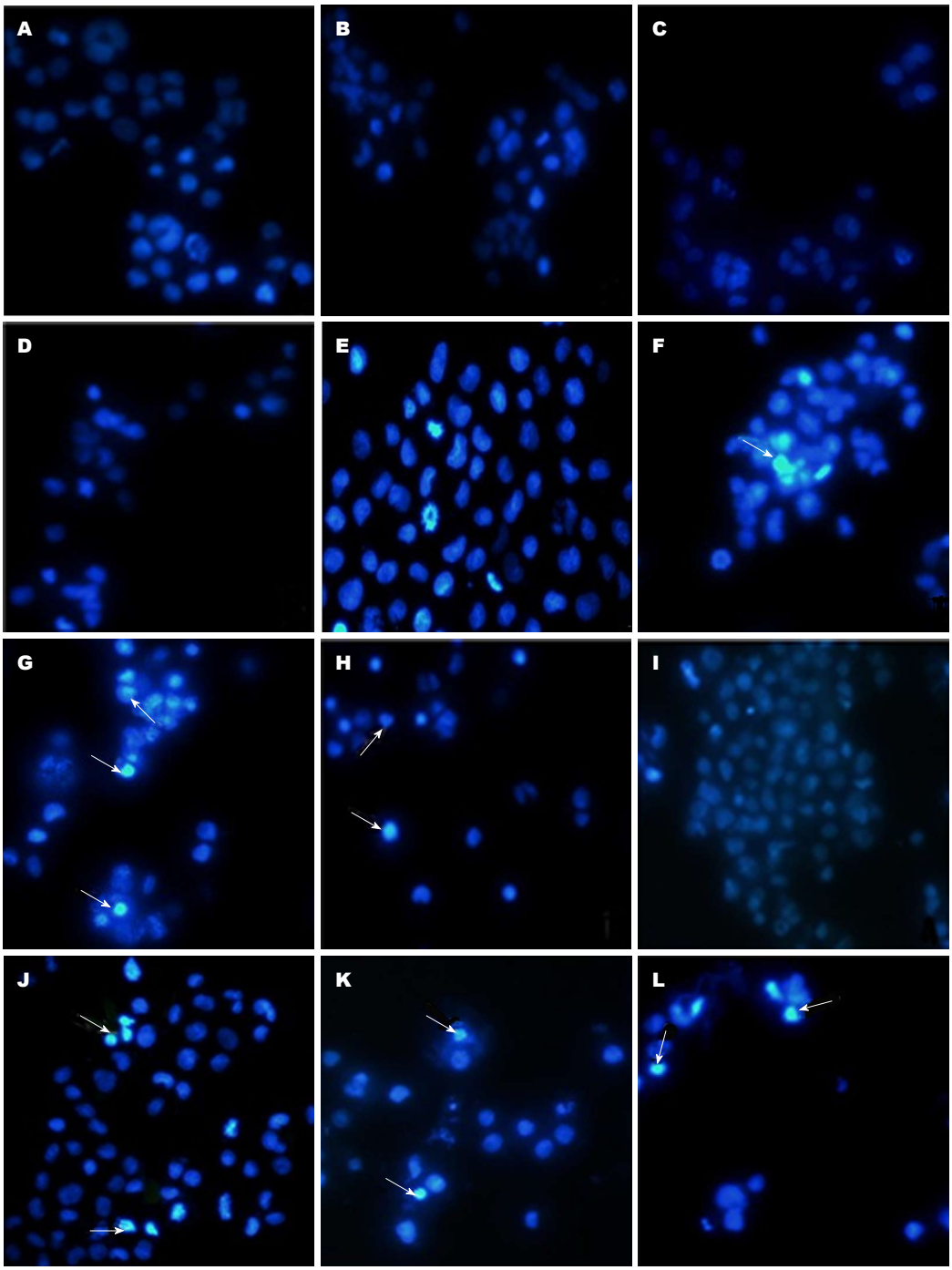


图 2 BITC诱导HLE、Bel 7402、L02细胞凋亡小体形态(×40). A: L02细胞DMSO对照组; B: L02细胞40 μmol/L BITC+Ac处理组; C: L02细胞40 μmol/L BITC处理组; D: L02细胞80 μmol/L BITC处理组; E: HLE细胞DMSO对照组; F: HLE细胞40 μmol/L BITC+Ac处理组; G: HLE细胞40 μmol/L BITC处理组; H: HLE细胞80 μmol/L BITC处理组; I: Bel 7402细胞DMSO对照组; J: Bel 7402细胞40 μmol/L BITC+Ac处理组; K: Bel 7402细胞40 μmol/L BITC处理组; L: Bel 7402细胞80 μmol/L BITC处理组. 白色箭头显示凋亡小体的位置. Ac: Ac-DEVD-CHO, Caspase3抑制剂; BITC: 异硫氰酸苄酯.

■应用要点
本研究证实BITC能够诱导肝癌细胞凋亡以及抑制细胞周期进展, 这为将来BITC应用于肝癌的临床治疗奠定了一定的基础.

胞凋亡, 抑制肝癌细胞生长的作用, 且表现出明显的剂量依赖性.

Caspases是在凋亡执行中起关键作用的半胱氨酸蛋白酶, 多种化疗和化学预防制剂被证明通过介导Caspases而引起凋亡性细胞死亡[18,19]. 例如, Yu等[20]首次用一种BITC的结构类似物-PITC处理的HeLa细胞后, 观察到Caspase3活性被诱导. Caspase3是Caspase信号途径诱导凋亡的执行者, 他的活化能通过剪切重要的蛋白如PARP[18,19]而系统地摧毁细胞. 尽管细胞凋亡的通路包括线粒体通路, 死亡受体通路和内质网通路, 但这三条通路最后都存在Caspases的激

■同行评价
研究内容较新颖，在国内尚未查到BITC对肝癌细胞作用的相关文献，具有一定的指导意义.

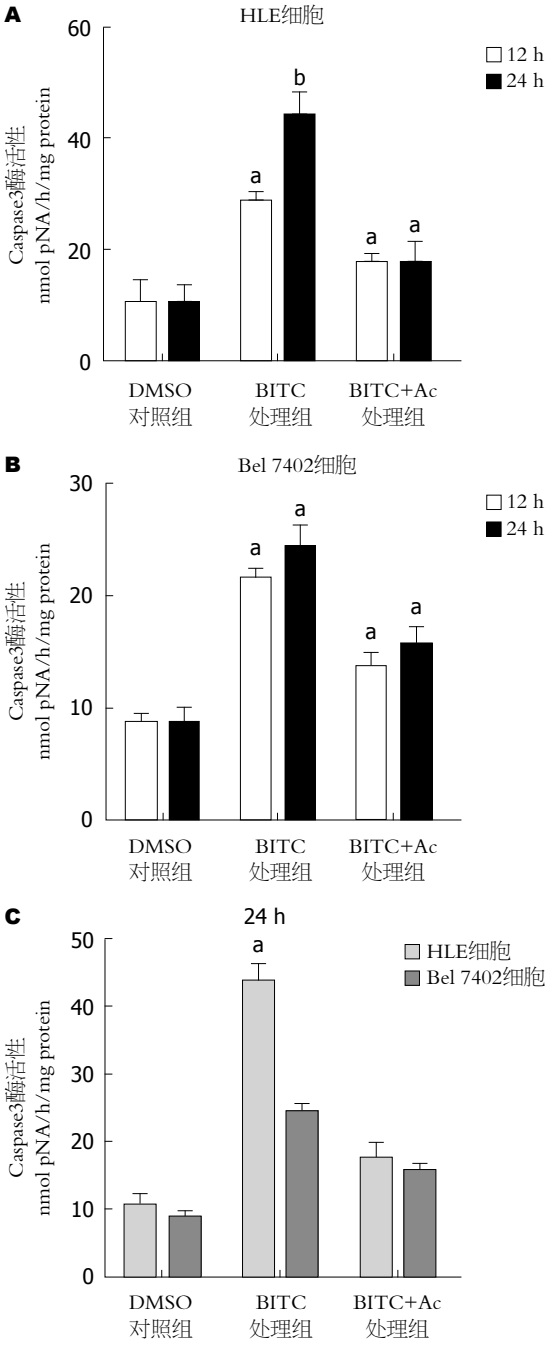


图 3 BITC对HLE, Bel 7402细胞Caspase3酶活性的影响. A: HLE细胞被处理12、24 h后的Caspase3酶活性变化, [a]P<0.05, [b]P<0.01 *vs* DMSO对照组; B: Bel 7402细胞被处理12、24 h后的Caspase3酶活性变化, [a]P<0.05 *vs* DMSO对照组; C: HLE细胞和Bel7402细胞用BITC处理24 h后, Caspase3酶活性变化, [a]P<0.05 *vs* Bel 7402细胞. 结果代表3次独立的重复实验. Ac: Ac-DEVD-CHO, Caspase3抑制剂; BITC: 异硫氰酸苄酯.

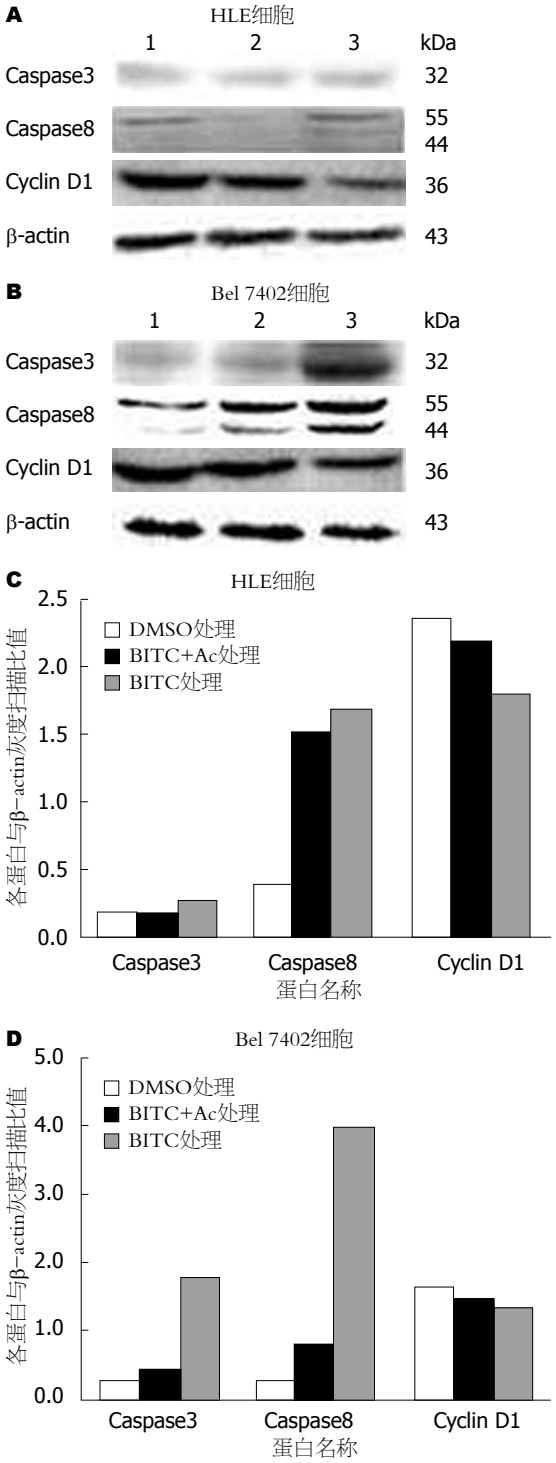


图 4 Western blot检测BITC对Caspase3、Caspase8和Cyclin D1表达的影响. A: Western blot检测HLE细胞Caspase3、Caspase8和Cyclin D1表达; B: Western blot检测Bel 7402细胞Caspase3、Caspase8和Cyclin D1表达; C: 灰度扫描HLE细胞蛋白质表达量; D: 灰度扫描Bel 7402细胞蛋白质表达量. 1: DMSO对照组; 2: 40 μmol/L BITC和Caspase3抑制剂联合处理组; 3: 40 μmol/L BITC单独处理组. BITC: 异硫氰酸苄酯.

活[21-24], 这说明Caspases是诸多调控通路的关键. 我们的研究也证实, 在BITC诱导的肝癌细胞凋亡中, Caspase3的酶活性均有升高, 且酶活性部分地受到Caspase3抑制剂的抑制作用. 这表明BITC至少部分地通过Caspase3途径诱导肝癌细胞凋亡. 在本研究过程中, 令我们感到惊讶的是, BITC作用后, 对于HLE细胞, 能提升Caspase3的活性, 但是对该蛋白的表达没有显著性影响, 提

示蛋白酶的表达量不能代表酶活性的改变; 而对于Bel 7402细胞, BITC不仅能提升Caspase3的活性, 而且也能促进Caspase3的表达以及Caspase8的断裂, 显示BITC对诱导不同肝癌细胞系的凋亡侧重于不同Caspases酶系. 我们前期研究显示, Bel 7402细胞表达甲胎蛋白(alpha fetoprotein, AFP), 而HLE细胞则不表达AFP, AFP能选择性抑制Caspase3的活性, 从而抗通过Caspase3途径诱导细胞凋亡的药物作用[24], 沉默*AFP*基因能诱导Caspase3的表达并能促进肝癌细胞凋亡[25,26], 这些结果提示, AFP存在是肝癌细胞抗凋亡的一个重要的因素. 本研究结果显示, HLE细胞在BITC作用后, 其对BITC敏感性高于Bel 7402细胞, 我们推测这可能与Bel 7402细胞表达AFP有密切的相关性.

肿瘤的增殖异常主要是由于细胞周期相关机制的调控失衡所致. 细胞周期是在一系列检验点的严格检控下进行的, 主要的检验点包括: G_1/S检验点、S期检验点、G_2/M检验点和中-后期检验点. 当DNA发生损伤, 复制不完全或纺锤体形成不正常时, 周期将被阻断. 在已存在的细胞周期复合物添加外在的细胞周期调节子可能会阻断癌症的发生或发展. 相同的ITC可能会以细胞株依赖的方式诱导细胞在不同的周期停滞, 如G_0/G_1期或G_2/M期, 而BITC在G_1期和G_2/M期都能引起阻滞[27]. Cyclin D1是调控细胞周期G_1期的关键蛋白[28], 对细胞周期调控至关重要, 其主要功能是促进细胞增殖. 多项研究[29-32]表明在外来细胞周期调控因子诱导的G_1期阻滞中Cyclin D1的表达明显降低. 我们的研究也证实, 在BITC诱导的肝癌细胞中, Cyclin D1的表达有所降低. 这表明BITC除了能通过Caspase途径诱导肝癌细胞凋亡, 还能通过诱导细胞周期阻滞而抑制细胞增殖. 本研究结果显示, BITC能诱导肝癌细胞凋亡, 但是对正常肝细胞的生长没有抑制作用, 提示BITC是一种新的有效治疗肝癌的药物.

4 参考文献

1 Rossetto MR, Oliveira do Nascimento JR, Purgatto E, Fabi JP, Lajolo FM, Cordenunsi BR. Benzylglucosinolate, benzylisothiocyanate, and myrosinase activity in papaya fruit during development and ripening. *J Agric Food Chem* 2008; 56: 9592-9599 [PMID: 18826320 DOI: 10.1021/jf801934x]

2 Chung EL. Chemoprevention of lung cancer by isothiocyanates and their conjugates in A/J mouse. *Exp Lung Res* 2001; 27: 319-330 [PMID: 11293331]

3 Barceló S, Macé K, Pfeifer AM, Chipman JK. Production of DNA strand breaks by N-nitrosodimethylamine and 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline in THLE cells expressing human CYP isoenzymes and inhibition by sulforaphane. *Mutat Res* 1998; 402: 111-120 [PMID: 9675256]

4 Basu A, Haldar S. Dietary isothiocyanate mediated apoptosis of human cancer cells is associated with Bcl-xL phosphorylation. *Int J Oncol* 2008; 33: 657-663 [PMID: 18813778]

5 Xiao D, Powolny AA, Singh SV. Benzyl isothiocyanate targets mitochondrial respiratory chain to trigger reactive oxygen species-dependent apoptosis in human breast cancer cells. *J Biol Chem* 2008; 283: 30151-30163 [PMID: 18768478 DOI: 10.1074/jbc.M802529200]

6 Kim EJ, Eom SJ, Hong JE, Lee JY, Choi MS, Park JH. Benzyl isothiocyanate inhibits basal and hepatocyte growth factor-stimulated migration of breast cancer cells. *Mol Cell Biochem* 2012; 359: 431-440 [PMID: 21892609 DOI: 10.1007/s11010-011-1039-3]

7 Miyoshi N, Watanabe E, Osawa T, Okuhira M, Murata Y, Ohshima H, Nakamura Y. ATP depletion alters the mode of cell death induced by benzyl isothiocyanate. *Biochim Biophys Acta* 2008; 1782: 566-573 [PMID: 18675902 DOI: 10.1016/j.bbadis.2008.07.002]

8 Mi L, Gan N, Cheema A, Dakshanamurthy S, Wang X, Yang DC, Chung FL. Cancer preventive isothiocyanates induce selective degradation of cellular alpha- and beta-tubulins by proteasomes. *J Biol Chem* 2009; 284: 17039-17051 [PMID: 19339240 DOI: 10.1074/jbc.M901789200]

9 Yan H, Zhu Y, Liu B, Wu H, Li Y, Wu X, Zhou Q, Xu K. Mitogen-activated protein kinase mediates the apoptosis of highly metastatic human non-small cell lung cancer cells induced by isothiocyanates. *Br J Nutr* 2011; 106: 1779-1791 [PMID: 21733335 DOI: 10.1017/S0007114511002315]

10 Srivastava SK, Singh SV. Cell cycle arrest, apoptosis induction and inhibition of nuclear factor kappa B activation in anti-proliferative activity of benzyl isothiocyanate against human pancreatic cancer cells. *Carcinogenesis* 2004; 25: 1701-1709 [PMID: 15117814 DOI: 10.1093/carcin/bgh179]

11 Boreddy SR, Pramanik KC, Srivastava SK. Pancreatic tumor suppression by benzyl isothiocyanate is associated with inhibition of PI3K/AKT/FOXO pathway. *Clin Cancer Res* 2011; 17: 1784-1795 [PMID: 21350002 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-10-1891]

12 Ohara M, Kimura S, Tanaka A, Ohnishi K, Okayasu R, Kubota N. Benzyl isothiocyanate sensitizes human pancreatic cancer cells to radiation by inducing apoptosis. *Int J Mol Med* 2011; 28: 1043-1047 [PMID: 21833466 DOI: 10.3892/ijmm.2011.770]

13 Kalkunte S, Swamy N, Dizon DS, Brard L. Benzyl isothiocyanate (BITC) induces apoptosis in ovarian cancer cells in vitro. *J Exp Ther Oncol* 2006; 5: 287-300 [PMID: 17024969]

14 Sambrook J, Fritsch E F, Maniatis T. Molecular cloning: A laboratory manual. 2nd ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989: 888-897

15 Keum YS, Jeong WS, Kong AN. Chemoprevention by isothiocyanates and their underlying molecular signaling mechanisms. *Mutat Res* 2004; 555: 191-202 [PMID: 15476860 DOI: 10.1016/j.mrfmmm.2004.05.024]

16 Talalay P, Fahey JW. Phytochemicals from cruciferous plants protect against cancer by modu-

lating carcinogen metabolism. *J Nutr* 2001; 131: 3027S-3033S [PMID: 11694642]
17 Nakamura Y, Yoshimoto M, Murata Y, Shimoishi Y, Asai Y, Park EY, Sato K, Nakamura Y. Papaya seed represents a rich source of biologically active isothiocyanate. *J Agric Food Chem* 2007; 55: 4407-4413 [PMID: 17469845 DOI: 10.1021/jf070159w]
18 Earnshaw WC, Martins LM, Kaufmann SH. Mammalian caspases: structure, activation, substrates, and functions during apoptosis. *Annu Rev Biochem* 1999; 68: 383-424 [PMID: 10872455 DOI: 10.1146/annurev.biochem.68.1.383]
19 Thornberry NA, Lazebnik Y. Caspases: enemies within. *Science* 1998; 281: 1312-1316 [PMID: 9721091]
20 Yu R, Mandlekar S, Harvey KJ, Ucker DS, Kong AN. Chemopreventive isothiocyanates induce apoptosis and caspase-3-like protease activity. *Cancer Res* 1998; 58: 402-408 [PMID: 9458080]
21 Chen J, Li HM, Zhang XN, Xiong CM, Ruan JL. Dioscin-induced apoptosis of human LNCaP prostate carcinoma cells through activation of caspase-3 and modulation of Bcl-2 protein family. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci* 2014; 34: 125-130 [PMID: 24496691 DOI: 10.1007/s11596-014-1243-y]
22 Xia T, Wang JC, Xu W, Xu LH, Lao CH, Ye QX, Fang JP. 20S-Ginsenoside Rh2 induces apoptosis in human Leukaemia Reh cells through mitochondrial signaling pathways. *Biol Pharm Bull* 2014; 37: 248-254 [PMID: 24492721]
23 Zhou J, Luo YH, Wang JR, Lu BB, Wang KM, Tian Y. Gambogenic acid induction of apoptosis in a breast cancer cell line. *Asian Pac J Cancer Prev* 2013; 14: 7601-7605 [PMID: 24460340]
24 Li M, Li H, Li C, Zhou S, Guo L, Liu H, Jiang W, Liu X, Li P, McNutt MA, Li G. Alpha fetoprotein is a novel protein-binding partner for caspase-3 and blocks the apoptotic signaling pathway in human hepatoma cells. *Int J Cancer* 2009; 124: 2845-2854 [PMID: 19267404 DOI: 10.1002/ijc.24272]
25 Zhang L, He T, Cui H, Wang Y, Huang C, Han F. Effects of AFP gene silencing on apoptosis and proliferation of a hepatocellular carcinoma cell line. *Discov Med* 2012; 14: 115-124 [PMID: 22935208]
26 Yang X, Zhang Y, Zhang L, Zhang L, Mao J. Silencing alpha-fetoprotein expression induces growth arrest and apoptosis in human hepatocellular cancer cell. *Cancer Lett* 2008; 271: 281-293 [PMID: 18657899 DOI: 10.1016/j.canlet.2008.06.017]
27 Zhang Y, Tang L, Gonzalez V. Selected isothiocyanates rapidly induce growth inhibition of cancer cells. *Mol Cancer Ther* 2003; 2: 1045-1052 [PMID: 14578469]
28 Guo L, Xue TY, Xu W, Gao JZ. Matrine promotes G0/G1 arrest and down-regulates cyclin D1 expression in human rhabdomyosarcoma cells. *Panminerva Med* 2013; 55: 291-296 [PMID: 24088803]
29 Leu WJ, Chang HS, Chan SH, Hsu JL, Yu CC, Hsu LC, Chen IS, Guh JH. Reevesioside A, a cardenolide glycoside, induces anticancer activity against human hormone-refractory prostate cancers through suppression of c-myc expression and induction of G1 arrest of the cell cycle. *PLoS One* 2014; 9: e87323 [PMID: 24475272 DOI: 10.1371/journal.pone.0087323]
30 Liang X, Wang P, Gao Q, Tao X. Exogenous activation of LKB1/AMPK signaling induces G_1 arrest in cells with endogenous LKB1 expression. *Mol Med Rep* 2014; 9: 1019-1024 [PMID: 24469340 DOI: 10.3892/mmr.2014.1916]
31 Xu WS, Li T, Wu GS, Dang YY, Hao WH, Chen XP, Lu JJ, Wang YT. Effects of furanodiene on 95-D lung cancer cells: apoptosis, autophagy and G1 phase cell cycle arrest. *Am J Chin Med* 2014; 42: 243-255 [PMID: 24467547 DOI: 10.1142/S0192415X14500165]
32 Zhang S, Cheng B, Li H, Xu W, Zhai B, Pan S, Wang L, Liu M, Sun X. Matrine inhibits proliferation and induces apoptosis of human colon cancer LoVo cells by inactivating Akt pathway. *Mol Biol Rep* 2014; 41: 2101-2108 [PMID: 24452711 DOI: 10.1007/s11033-014-3059-z]

编辑 郭鹏 电编 都珍珍

世界华人消化杂志 2014年6月8日; 22(16): 2285-2289
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

研究快报 RAPID COMMUNICATION

胃饥饿素对大鼠急性重症胰腺炎AMY、IL-6和TNF-α水平及病理学的影响

哈红萍, 李建华

哈红萍, 青海大学医学院解剖教研室 青海省西宁市 810000
李建华, 青海大学医学院基础医学部 青海省西宁市 810000
哈红萍, 讲师, 主要从事解剖工作.
作者贡献分布: 本文主要由哈红萍完成; 李建华参与实验研究.
通讯作者: 哈红萍, 讲师, 810000, 青海省西宁市黄河路, 青海大学医学院解剖教研室. 85495151@qq.com
收稿日期: 2013-12-23 修回日期: 2014-04-02
接受日期: 2014-04-09 在线出版日期: 2014-06-08

Effect of ghrelin on serum levels of amylase, interleukin-6 and tumor necrosis factor-α in rats with severe acute pancreatitis

Hong-Ping Ha, Jian-Hua Li

Hong-Ping Ha, Department of Anatomy, the Medical College of Qinghai University, Xining 810000, Qinghai Province, China
Jian-Hua Li, Department of Basic Medicine, the Medical College of Qinghai University, Xining 810000, Qinghai Province, China
Correspondence to: Hong-Ping Ha, Lecturer, Department of Anatomy, the Medical College of Qinghai University, Huanghe Road, Xining 810000, Qinghai Province, China. 85495151@qq.com
Received: 2013-12-23 Revised: 2014-04-02
Accepted: 2014-04-09 Published online: 2014-06-08

Abstract

AIM: To explore the effect of ghrelin on serum levels of amylase (AMY), interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor-α (TNF-α) in rats with severe acute pancreatitis.

METHODS: Sixty Wistar rats were randomly divided into four groups: A, B, C and D. Groups B, C and D were treated with sodium taurocholate hydrate to induce SAP, while group A did not. Before induction of SAP, group D was treated with [D-Lys3]GHRP-6. After induction of SAP, groups C and D were treated with ghrelin. Serum levels of AMY, IL-6, and TNF-α, the moisture content of the pancreas, and the pathological changes in the pancreatic tissue were determined and compared between different groups.

RESULTS: Serum levels of AMY, IL-6 and THF-α in group C were significantly lower than those in group B (3806.02 U/L ± 536.27 U/L *vs* 4794.86 U/L ± 477.98 U/L, 167.22 pg/mL ± 11.75 pg/mL *vs* 204.96 pg/mL ± 17.44 pg/mL, 2.62 pg/mL ± 0.72 pg/mL *vs* 3.25 pg/mL ± 0.92 pg/mL; $P < 0.05$ for all). Serum levels of AMY, IL-6 and THF-α in group D were significantly higher than those in group C (4451.16 U/L ± 238.86 U/L *vs* 3806.02 U/L ± 536.27 U/L, 197.73 pg/mL ± 17.38 pg/mL *vs* 167.22 pg/mL ± 11.75 pg/mL, 3.17 pg/mL ± 0.69 pg/mL *vs* 2.62 pg/mL ± 0.72 pg/mL; $P < 0.05$ for all). The moisture contents of the pancreas in groups C and D were significantly lower than that in group B (28.65% ± 0.77% *vs* 35.41% ± 0.78%, 29.30% ± 0.40% *vs* 35.41% ± 0.78%; $P < 0.01$ for both). The edema, inflammation, hemorrhage and necrosis scores in group C were significantly lower than those in group B (2.06 ± 0.41 *vs* 2.82 ± 0.55, 2.52 ± 0.63 *vs* 3.18 ± 0.47, 1.93 ± 0.64 *vs* 2.79 ± 0.58, 2.22 ± 0.74 *vs* 2.84 ± 0.63; $P < 0.01$ for all), while edema, inflammation, hemorrhage and necrosis scores in group D were significantly higher than those in group C (2.66 ± 0.32 *vs* 2.06 ± 0.41, 3.09 ± 0.78 *vs* 2.52 ± 0.63, 2.42 ± 0.39 *vs* 1.93 ± 0.64, 2.63 ± 0.26 *vs* 2.22 ± 0.74, $P < 0.05$ for all).

CONCLUSION: Ghrelin can improve serum levels of AMT, IL-6 and TNF-α and the pathological injury in the pancreas in rats with SAP.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Ghrelin; Severe acute pancreatitis; Amylase

Ha HP, Li JH. Effect of ghrelin on serum levels of amylase, interleukin-6 and tumor necrosis factor-α in rats with severe acute pancreatitis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(16): 2285-2289 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2285.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i16.2285

摘要

目的: 探讨Ghrelin对急性重症胰腺炎(severe

■背景资料
临床研究表明炎症介质和细胞因子在急性重症胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)的发病及病情进展中有关键作用. 相关文献报道指出, SAP发病后引起胰腺组织病损, 从而激活巨噬细胞等炎症细胞, 并释放大量细胞因子. 这些细胞因子通过扳机样作用引发炎症介质瀑布样级联反应. 其中白介素-6(interleukin-6, IL-6)、肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)均被证实在SAP发病过程中起核心作用, 同时也是诱发全身炎症反应综合征和多器官功能障碍的重要危险因素. 因此, IL-6和TNF-α水平可作为SAP临床诊断和判断疗效的重要依据.

■同行评议者
江建新, 副主任医师, 贵阳医学院附属医院肝胆外科

■研发前沿
SAP具有发病急骤、病情进展迅速、并发症多及死亡率较高等特点，其中全身炎症反应综合征最为严重，能够进一步引发多器官功能障碍及多器官功能衰竭，导致患者死亡. 目前，临床上尚无对其发病机制的明确研究结果，也缺乏特效治疗药物.

acute pancreatitis, SAP)血清淀粉酶(amylase, AMY)、白介素-6(interleukin-6, IL-6)、肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)水平及病理学的影响效果.

方法: 按照随机数字表法将60只SPF级Wistar大鼠均分为A、B、C、D 4组, A组大鼠不使用牛磺胆酸钠诱发SAP, B、C、D三组大鼠均使用牛磺胆酸钠诱发SAP, C组术后使用Ghrelin治疗, D组术前使用[D-Lys3]GHRP-6, 术后使用Ghrelin治疗, 比较4组大鼠血清AMY、IL-6、TNF-α水平、胰腺含水量, 并切片比较光镜下胰腺组织病理学图像及光镜下胰腺组织病理评分.

结果: C组大鼠血清AMY、IL-6和TNF-α水平均明显低于B组(3806.02 U/L±536.27 U/L *vs* 4794.86 U/L±477.98 U/L、167.22 pg/mL±11.75 pg/mL *vs* 204.96 pg/mL±17.44 pg/mL、2.62 pg/mL±0.72 pg/mL *vs* 3.25 pg/mL±0.92 pg/mL), 差异具有统计学意义(P<0.05); D组大鼠血清AMY、IL-6和TNF-α水平均明显高于C组(4451.16 U/L±238.86 U/L *vs* 3806.02 U/L±536.27 U/L、197.73 pg/mL±17.38 pg/mL *vs* 167.22 pg/mL±11.75 pg/mL、3.17 pg/mL±0.69 pg/mL *vs* 2.62 pg/mL±0.72 pg/mL), 差异具有统计学意义(P<0.05); C组和D组大鼠胰腺含水量均明显低于B组(28.65%±0.77% *vs* 35.41%±0.78%、29.30%±0.40% *vs* 35.41%±0.78%), 差异具有显著统计学意义(P<0.01); C组大鼠水肿、炎症、出血及坏死评分均明显低于B组(2.06分±0.41分 *vs* 2.82分±0.55分、2.52分±0.63分 *vs* 3.18分±0.47分、1.93分±0.64分 *vs* 2.79分±0.58分、2.22分±0.74分 *vs* 2.84分±0.63分), 差异具有显著统计学意义(P<0.01); D组大鼠水肿、炎症、出血及坏死评分均明显高于C组(2.66分±0.32分 *vs* 2.06分±0.41分、3.09分±0.78分 *vs* 2.52分±0.63分、2.42分±0.39分 *vs* 1.93分±0.64分、2.63分±0.26分 *vs* 2.22分±0.74分), 差异具有统计学意义(P<0.05).

结论: Ghrelin治疗能够有效改善大鼠AMY、IL-6和TNF-α水平, 改善胰腺病理损害, 对SAP有良好的治疗效果.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: Ghrelin; **急性重症胰腺炎; 影响效果**

核心提示: 本研究中使用Ghrelin治疗急性重症胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP), 结果显示C组大鼠血清淀粉酶(amylase, AMY)、白介素-6(interleukin-6, IL-6)、肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)水平、胰腺含水量、水肿、炎症、出血及坏死评分均明显低于B组. 表明Ghrelin对SAP有确切的临床疗效, 能够有效改善炎性因子释放聚集, 减轻胰腺受损程度. 而加用[D-Lys3]GHRP-6的D组大鼠血清AMY、IL-6和TNF-α水平以及水肿、炎症、出血、坏死评分均明显高于C组, 差异具有显著性, B、D两组大鼠血清AMY、IL-6和TNF-α水平以及水肿、炎症、出血、坏死评分比较, 差异无统计学意义. 表明GHS-R拮抗剂[D-Lys3]GHRP-6能够抑制Ghrelin与受体结合而影响其作用发挥, 与相关文献报道相似.

哈红萍, 李建华. 胃饥饿素对大鼠急性重症胰腺炎AMY、IL-6和TNF-α水平及病理学的影响. 世界华人消化杂志 2014; 22(16): 2285-2289 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2285.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i16.2285

0 引言

急性重症胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)是指胰酶在胰腺内受到多种因素刺激导致胰腺组织自身消化、水肿、出血、坏死的炎症反应, 在临床上较为常见[1]. SAP发病原因复杂, 患者死亡率较高. 临床研究表明Ghrelin属于一个生长激素促分泌受体(growth hormone secretagogue receptor, GHS-R)的内源性配体, 具有改善胰腺功能的生物学作用[2]. 现对Ghrelin应用于大鼠重症胰腺炎的临床效果和作用机制进行研究分析, 探讨其在重症胰腺炎临床治疗中的应用价值, 报道如下.

1 材料和方法

1.1 材料 选取60只健康SPF级Wistar大鼠(实验动物合格证号: SCXK(新)2003-0002), 作为本研究研究对象, 所有大鼠均购自南京市模式动物研究所, 雌雄各半. 大鼠平均体质量为205.41 g±20.06 g, 分为5只/笼, 在22.0 ℃±1.0 ℃和40%-70%湿度下进行明暗各12 h喂养[3]. 注意保持鼠笼通风和清洁, 每日更换饮水和饲料. 在使用普通基础饲料喂养适应性喂养1 wk后, 按照随机数字表法将60只大鼠均分为A、B、C、D 4组, 4组大鼠平均体质量比较差异无统计学意义(P>0.05), 具有可比性.

1.2 方法

1.2.1 实验: 4组大鼠术前均禁食12 h, 称质量并

表 1 4组大鼠血清AMY、IL-6和TNF-α水平比较 (n = 15)

分组	AMY(U/L)	IL-6(pg/mL)	TNF-α(pg/mL)
A组	1347.92 ± 311.79	143.70 ± 12.33	2.11 ± 0.33
B组	4794.86 ± 477.98[b]	204.96 ± 17.44[b]	3.25 ± 0.92[b]
C组	3806.02 ± 536.27[ad]	167.22 ± 11.75[ad]	2.62 ± 0.72[ad]
D组	4451.16 ± 238.86[bc]	197.73 ± 17.38[bc]	3.17 ± 0.69[bc]

[a]P<0.05 *vs* B组; [b]P<0.01, [d]P<0.01 *vs* A组; [c]P<0.05 *vs* C组. AMY: 血清淀粉酶; IL-6: 白介素-6; TNF-α: 肿瘤坏死因子-α.

■相关报道
Ghrelin是日本科学家首次从大鼠胃组织中分离纯化得到的小分子多肽, 属于GHS-R的内源性配体, 具有促进生长激素释放、促进胃肠蠕动以及抑制炎症因子释放等多种生物学作用.

进行麻醉药物和牛磺胆酸钠(美国Sigma公司, 批号: T4009-088K0097)用药剂量. B、C、D三组大鼠术前腹腔注射10%水合氯酸(我院药剂科)3-4 mL/kg进行麻醉, 效果满意后进行腹部备皮, 常规消毒铺巾后取剑突下腹正中2 cm切口开腹, 探查游离十二指肠及其系膜内胆胰管, 使用止血钳阻断胆总管出肝门处动脉, 并将一次性静脉留置套管针穿刺进入胆胰管开口处十二指肠对侧壁, 进入肠腔后退出针芯并将套管沿胆胰管开口进入1 cm左右[4]. 使用微量注射泵缓慢注入5%质量浓度的牛磺胆酸钠诱发SAP, 注射速度为0.1 mL/min, 注射剂量为1 mL/kg[5]. 拔出套管并使用止血钳夹闭胆总管入十二指肠处, 5 min后缝合穿刺孔并清洗腹腔, 逐层关腹. A组大鼠与其余三组大鼠麻醉和手术方式相同, 但不注射牛磺胆酸钠.

C组大鼠于制模后1 h给予Ghrelin腹腔注射治疗, 剂量为20 nmol/kg; D组大鼠于制模前0.5 h腹腔注射[D-Lys3]GHRP-6(美国Sigma公司, 批号: 136054-22-3), 注射剂量为1 μmol/kg, 制模后模后1 h给予Ghrelin腹腔注射治疗, 剂量与C组相同.

1.2.2 观察指标: 术后24 h比较4组大鼠血清AMY、IL-6、TNF-α、胰腺含水量, 并切片比较光镜下胰腺组织病理学图像及光镜下胰腺组织病理评分[6].

统计学处理 本研究数据均采用SPSS18.0进行统计学处理, 计量资料采用mean±SD表示, 差异性比较使用t检验, P<0.05为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 4组大鼠血清AMY、IL-6和TNF-α水平比较 B、C、D三组大鼠血清AMY、IL-6和TNF-α水平均明显高于A组, 差异极显著(P<0.01); C组大鼠血清AMY、IL-6和TNF-α水平均明显低于B组, 差异具有显著性(P<0.05); D组大鼠血清AMY、IL-6和TNF-α水平均明显高于C组, 差异具有显著性(P<0.05); B、D两组大鼠血清AMY、IL-6和TNF-α水平比较, 差异无统计学意义(P>0.05)(表1).

2.2 4组大鼠胰腺含水量比较 B、C、D三组大鼠胰腺含水量均明显高于A组, 差异极显著(35.41%±0.78%, 28.65%±0.77%, 29.30%±0.40% *vs* 21.36%±0.85%, P<0.01); C组和D组大鼠胰腺含水量均明显低于B组, 差异极显著(P<0.01); C、D两组大鼠胰腺含水量比较, 差异无统计学意义(P>0.05).

2.3 4组大鼠光镜下胰腺组织病理学检查结果比较 A组大鼠为正常胰腺组织(图1A), 光镜下胰腺边界清晰, 小叶结构完整, 腺泡轮廓清楚, 核仁及胞装成分着色清楚, 无明显水肿、中性粒细胞浸润、出血及坏死. B组大鼠光镜下胰腺边界不清晰, 胰腺实质内有散在的灶状凝固性坏死且坏死区结构模糊, 腺泡破裂且内部细胞核固缩、坏死, 局部可见灶性及片状出血, 大量炎性细胞浸润(图1B). C组大鼠光镜下胰腺组织出现不同程度水肿、腺细胞变性坏死及炎症细胞浸润等, 但明显好于B组(图1C). D组大鼠光镜下胰腺组织表现与C组相似, 但严重程度高于C组(图1D).

2.4 4组大鼠光镜下胰腺组织病理评分比较 B、C、D三组大鼠水肿、炎症、出血及坏死评分均明显高于A组, 差异极显著(P<0.01); C组大鼠水肿、炎症、出血及坏死评分均明显低于B组, 差异极显著(P<0.01); D组大鼠水肿、炎症、出血及坏死评分均明显高于C组, 差异具有显著性(P<0.05); B、D两组大鼠水肿、炎症、出血及坏死评分比较, 差异无统计学意义(P>0.05)(表2).

3 讨论

SAP具有发病急骤、病情进展迅速、并发症多

■应用要点
Ghrelin治疗能够有效改善大鼠血清淀粉酶(amylase)、IL-6和TNF-α水平, 改善胰腺病理损害, 对SAP有良好的治疗效果. 但其在人SAP临床治疗中的确切疗效还需要进一步深入研究.

表 2 4组大鼠光镜下胰腺组织病理评分比较 (n = 15)

分组	水肿	炎症	出血	坏死
A组	0.15 ± 0.05	0	0	0
B组	2.82 ± 0.55[b]	3.18 ± 0.47[b]	2.79 ± 0.58[b]	2.84 ± 0.63[b]
C组	2.06 ± 0.41[ad]	2.52 ± 0.63[ad]	1.93 ± 0.64[ad]	2.22 ± 0.74[ad]
D组	2.66 ± 0.32[bc]	3.09 ± 0.78[bc]	2.42 ± 0.39[bc]	2.63 ± 0.26[bc]

[a]P<0.05 *vs* B组; [b]P<0.01, [d]P<0.01 *vs* A组; [c]P<0.05 *vs* C组.

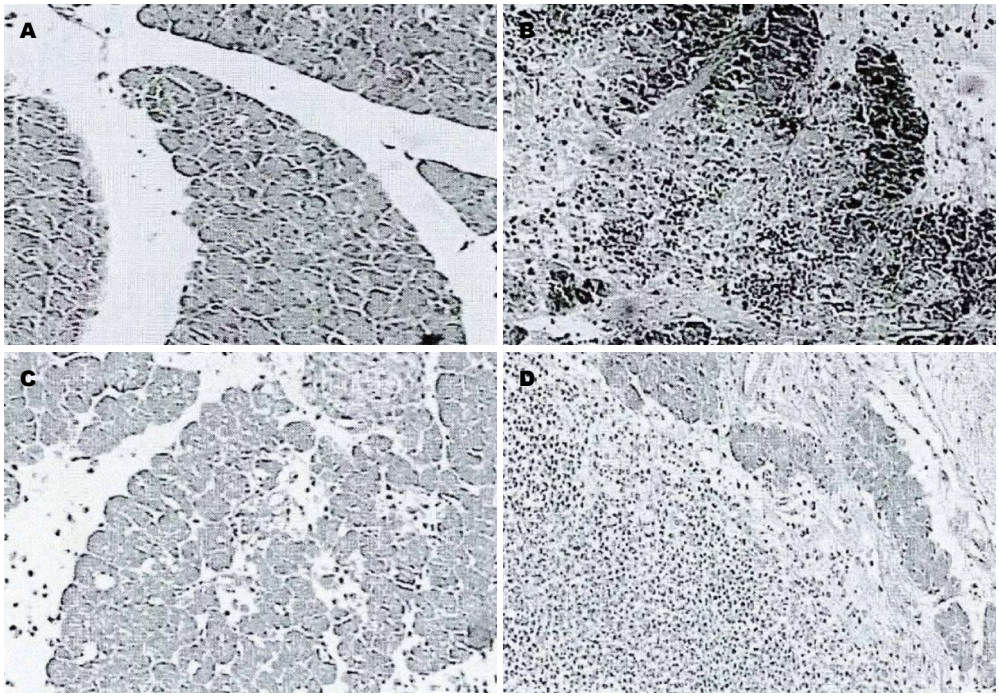


图 1 4组大鼠光镜下胰腺组织(×100). A: A组大鼠为正常胰腺组织; B: B组大鼠灶性及片状出血; C: C组大鼠炎性细胞浸润, 细胞水肿; D: D组大鼠大量炎性细胞浸润, 坏死.

及死亡率较高等特点, 其中全身炎症反应综合征最为严重, 能够进一步引发多器官功能障碍及多器官功能衰竭, 导致患者死亡[7]. 目前, 临床上尚无对其发病机制的明确研究结果, 也缺乏特效治疗药物.

临床研究表明炎症介质和细胞因子在SAP的发病及病情进展中有关键作用[8]. 相关文献报道指出, SAP发病后引起胰腺组织病损, 从而激活巨噬细胞等炎症细胞, 并释放大量细胞因子[9]. 这些细胞因子通过扳机样作用引发炎症介质瀑布样级联反应. 其中IL-6、TNF-α均被证实在SAP发病过程中起核心作用, 同时也是诱发全身炎症反应综合征和多器官功能障碍的重要危险因素[10]. 因此, IL-6和TNF-α水平可作为SAP临床诊断和判断疗效的重要依据.

AMY为胰腺分泌的消化酶, 大部分进入十二指肠参与消化, 少部分可进入血液中[9]. SAP发病后引起胰腺外分泌异常增加, 胰管内压力剧增, 破裂后大量胰酶释放入间质, 不仅对胰腺组织产生损害, 也导致血清中胰酶含量异常升高[11]. 目前血清AMY测定仍是多数医院诊断SAP的重要指标, 但其升高程度并不与SAP严重程度呈正比.

本研究结果显示, B、C、D三组大鼠经牛磺胆酸钠诱发SAP后血清AMY、IL-6和TNF-α水平均明显高于A组, 与上述文献报道相符.

Ghrelin是日本科学家首次从大鼠胃组织中分离纯化得到的小分子多肽, 属于GHS-R的内源性配体, 具有促进生长激素释放、促进胃肠螺动以及抑制炎症因子释放等多种生物学作用[12]. 临床研究表明, Ghrelin能够准确反映炎症性疾病的严重程度及机体营养状况[13]. 本研

究中使用Ghrelin治疗SAP, 结果显示C组大鼠血清AMY、IL-6、TNF-α水平、胰腺含水量、水肿、炎症、出血及坏死评分均明显低于B组. 表明Ghrelin对SAP有确切的临床疗效, 能够有效改善炎性因子释放聚集, 减轻胰腺受损程度. 而加用[D-Lys3]GHRP-6的D组大鼠血清AMY、IL-6和TNF-α水平以及水肿、炎症、出血、坏死评分均明显高于C组, 差异具有显著性, B、D两组大鼠血清AMY、IL-6和TNF-α水平以及水肿、炎症、出血、坏死评分比较, 差异无统计学意义. 表明GHS-R拮抗剂[D-Lys3]GHRP-6能够抑制Ghrelin与受体结合而影响其作用发挥, 与相关文献报道相似[14].

总之, Ghrelin治疗能够有效改善大鼠AMY、IL-6和TNF-α水平, 改善胰腺病理损害, 对SAP有良好的治疗效果. 但其在人SAP临床治疗中的确切疗效还需要进一步深入研究.

4 参考文献

1 卢世云, 潘秀珍. 重症急性胰腺炎发病机制研究现状. 世界华人消化杂志 2011; 19: 2421-2425
2 陈锐, 朱尤庆. 脑肠肽Ghrelin的研究进展. 武汉大学学报(医学版) 2010; 31: 417-420
3 王皓, 刘江伟, 李之令, 薛晓玉, 赵红艳, 郭飞, 许永华. 大鼠重症急性胰腺炎相关性肺损伤模型的建立. 世界华人消化杂志 2013; 21: 211-219
4 尚占民, 王宝恩, 张淑文, 次秀丽. 大鼠急性重症胰腺炎模型的建立. 世界华人消化杂志 2000; 8: 921
5 孔雷, 杨华丽, 谢爽, 张敏, 奉典旭, 秦建民, 陈腾, 韩峰, 韩天权, 张圣道. 牛磺胆酸钠诱导的急性坏死性胰腺炎大鼠脏器功能障碍观察. 肝胆胰外科杂志 2009; 21: 91-94
6 王东旭, 林连捷, 郑长青. 急性胰腺炎的评分系统. 世界华人消化杂志 2013; 21: 880-885
7 许爱平, 李淑德. 重症急性胰腺炎治疗研究进展. 世界华人消化杂志 2010; 18: 213-216
8 Karpavicius A, Dambrauskas Z, Sileikis A, Vitkus D, Strupas K. Value of adipokines in predicting the severity of acute pancreatitis: comprehensive review. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 6620-6627 [PMID: 23236237 DOI: 10.3748/wjg.v18.i45.6620]
9 Dhaliwal R, Madden SM, Cahill N, Jeejeebhoy K, Kutsogiannis J, Muscedere J, McClave S, Heyland DK. Guidelines, guidelines, guidelines: what are we to do with all of these North American guidelines? *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 2010; 34: 625-643 [PMID: 21097763 DOI: 10.1177/0148607110378104]
10 曲永柏, 董琦, 隋武, 徐彦. 血清IL-6、TNF-α测定对急性重症胰腺炎预后评价的意义. 宁夏医学杂志 2005; 27: 383-385
11 Yang C, Guanghua F, Wei Z, Zhong J, Penghui J, Xin F, Xiping Z. Combination of hemofiltration and peritoneal dialysis in the treatment of severe acute pancreatitis. *Pancreas* 2010; 39: 16-19 [PMID: 19752769 DOI: 10.1097/MPA.0b013e3181bab38b]
12 王丽晔, 李峰, 宋月晗, 马佳美, 李思耐, 关冰河. Ghrelin发现和结构的研究现状. 现代生物医学进展 2011; 11: 3589-3591
13 齐文杰, 张淑文, 王红, 张苗苗, 文艳, 王宝恩. 急性重症胰腺炎湿热证动物模型建立初探. 中国中医药信息杂志 2011; 18: 47-50
14 Tian C, Ye F, Xu T, Wang S, Wang X, Wang H, Wan F, Lei T. GHRP-6 induces CREB phosphorylation and growth hormone secretion via a protein kinase Csigma-dependent pathway in GH3 cells. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci* 2010; 30: 183-187 [PMID: 20407870 DOI: 10.1007/s11596-010-0210-5]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

同行评价

本文设计合理, 结果可靠, 有一定的学术价值.

世界华人消化杂志 2014年6月8日; 22(16): 2290-2293
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

长期鼻饲老年患者硅胶胃管在胃内留置的安全时间

俞冬丽, 叶建虹, 胡芝萍

■背景资料
老年患者大多合并多器官障碍, 易导致吞咽功能障碍而不能正常进食, 临床上多采用硅胶胃管留置, 但实际工作中发现, 硅胶胃管留置时间界定差异较大, 短者7 d, 长者31 d. 留置时间过短, 则会增加患者插管频率, 增加患者不必要的痛苦及感染机率; 留置时间过长, 则会增加并发症发生率.

俞冬丽, 叶建虹, 胡芝萍, 浙江医院普外科 浙江省杭州市 310012
俞冬丽, 护师, 主要从事外科疾病的护理.
作者贡献分布: 课题的设计及论文写作由俞冬丽完成; 研究过程, 数据分析由叶建虹与胡芝萍完成.
通讯作者: 俞冬丽, 护师, 310012, 浙江省杭州市西湖区灵隐路12号, 浙江医院普外科. yudongli81b@163.com
收稿日期: 2014-03-03 修回日期: 2014-04-01
接受日期: 2014-04-09 在线出版日期: 2014-06-08

Optimal placement time of long-term indwelling stomach tube in elderly patients

Dong-Li Yu, Jian-Hong Ye, Zhi-Ping Hu

Dong-Li Yu, Jian-Hong Ye, Zhi-Ping Hu, Department of General Surgery, Zhejiang Hospital, Hangzhou 310012, Zhejiang Province, China
Correspondence to: Dong-Li Yu, Nurse, Department of General Surgery, Zhejiang Hospital, 12 Lingyin Road, Xihu District, Hangzhou 310012, Zhejiang Province, China. yudongli81b@163.com
Received: 2014-03-03 Revised: 2014-04-01
Accepted: 2014-04-09 Published online: 2014-06-08

Abstract

AIM: To investigate the optimal placement time of the long-term indwelling stomach tube among elderly patients to ensure its safe use and reduce the incidence of complications.

METHODS: One hundred and twenty geriatric patients with indwelling stomach tube placement were randomly selected and divided into three groups (two, three and four weeks to replace the tube, respectively), with 40 patients in each group. Gastric pH, gastric tube traits (color, anti-crease, fracture) and nasopharyngeal mucosal injury (hyperemia, ulceration, edema, erosion) were compared between the three groups.

RESULTS: Gastric pH and gastric tube rupture did not differ significantly between the three groups ($P > 0.05$). The changes in tube color and anti-crease occurred significantly less frequently in the two and three weeks groups than in the four weeks group ($\chi^2 = 25.601$ and 17.144 for the two weeks group; $\chi^2 = 19.767$ and 13.788 for the three weeks group; $P < 0.05$ for all). Nasal congestion, edema, and erosion occurred significantly less frequently in the two and three weeks groups than in the four weeks group ($\chi^2 = 25.858$, 11.204 and 13.113 for the two weeks group; $\chi^2 = 18.825$, 6.193 and 13.113 for the three weeks group; $P < 0.05$ for all), while the incidence of ulcer did not differ between the three groups ($P > 0.05$).

CONCLUSION: Placement of long-term indwelling stomach tube in elderly patients should not be more than three weeks in order to relieve pain and reduce complications.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Indwelling stomach tube; Elderly patients; Optimal time

Yu DL, Ye JH, Hu ZP. Optimal placement time of long-term indwelling stomach tube in elderly patients. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(16): 2290-2293 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2290.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i16.2290

摘要

目的: 探讨长期鼻饲的老年患者胃管在胃内留置的适宜时间, 以确保胃管的使用安全, 降低并发症发生率.

方法: 随机选取120例我院老年科留置胃管处理的患者, 分为2 wk更换组、3 wk更换组及4 wk更换组各40例, 对比观察与分析三组患者的胃液pH值、胃管性状(颜色、反折痕、断裂)及鼻咽部黏膜损伤情况(充血、溃疡、水肿、糜烂).

结果: 胃液pH值及胃管断裂情况, 三组差异无统计学意义($P>0.05$). 胃管颜色及反折痕方面, 2及3 wk更换组发生例数均少于4 wk更换组, 三组患者差异有统计学意义($P<0.05$). 2 wk更换组少于4 wk更换组(χ^2分别等于25.601、17.144), 3 wk更换组少于4 wk更换组(χ^2分别等于19.767、13.788). 鼻黏膜充血、水肿、糜

■同行评议者
孔静, 副教授, 副主任医师, 中国医科大学附属盛京医院胆道、血管外科、微创外科

烂情况, 2及3 wk更换组发生例数均少于4 wk更换组, 三组患者差异有统计学意义(P<0.05), 溃疡情况, 三组患者差异无统计学意义(P>0.05). 2 wk更换组少于4 wk更换组(χ^2分别等于25.858、11.204、13.113, P<0.01), 3 wk更换组少于4 wk更换组(χ^2分别等于18.825、6.193、13.113, P<0.05).

结论: 长期接受留置胃管的老年患者, 为减轻痛苦, 减少并发症发生, 胃内留置时间不宜超过3 wk.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 留置胃管; 老年患者; 适宜时间

核心提示: 本实验研究以老年患者为研究对象, 采用的是硅胶胃管, 避免了橡胶胃管管腔小、塑料味重、易堵塞等缺点. 结果显示上述不同留置时间拔出后胃管均无老化变硬等弹性改变, 差异无统计学意义(P>0.05); 留置4 wk的胃管前端可见反折痕明显, 像树枝一样, 明显坚硬, 且颜色变黑, 侧孔处呈钩状改变; 而留置3 wk的胃管无明显变化, 差异有统计学意义(P<0.05). 并发症方面, 鼻黏膜受刺激程度随胃管留置时间延长而加重, 结果显示溃疡情况, 三组患者差异无统计学意义(P>0.05). 鼻黏膜充血、水肿、糜烂情况, 2及3 wk更换组发生例数均少于4 wk更换组, 三组患者差异有统计学意义(P<0.05).

俞冬丽, 叶建虹, 胡芝萍. 长期鼻饲老年患者硅胶胃管在胃内留置的安全时间. 世界华人消化杂志 2014; 22(16): 2290-2293
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2290.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i16.2290

0 引言

鼻饲法是一种针对昏迷或不能经口进食患者的治疗方法, 借助鼻胃管将食物及药物注入患者胃内, 以满足患者基本营养或治疗疾病的需要[1]. 老年患者大多合并多器官障碍, 易导致吞咽功能障碍而不能正常进食[2], 临床上多采用硅胶胃管留置, 但实际工作中发现, 硅胶胃管留置时间界定差异较大, 短者7 d, 长者31 d[3]. 留置时间过短, 则会增加患者插管频率, 增加患者不必要的痛苦及感染机率; 留置时间过长, 则会增加并发症发生率(吸入性肺炎、胃滞留、便秘、食物反流、鼻饲管堵塞等)[4], 为确保胃管的使用安全, 降低并发症发生率, 本文通过对本院老年科120例留置胃管的患者进行不同留置时间效果对比观察报道如下.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2012-08/2013-08我院老年科予以留置胃管的120例患者为研究对象. 纳入标准: (1)自愿参与, 签署知情同意书; (2)符合留置胃管指征; (3)年龄>60岁. 排除标准: (1)消化系出血者; (2)存在胃溃疡、胃功能吸收障碍、胃恶性肿瘤者. 剔除标准: (1)拒绝参与研究者; (2)非计划拔管者; (3)研究期间死亡者. 根据随机数字表法, 将符合上述标准的患者分为3组, 每组40例, 各组患者间的一般情况差异无统计学意义(P>0.05).

1.2 方法

1.2.1 插管: 三组患者均采用同一公司生产的16号硅胶胃管进行插管, 将导丝置入鼻胃管内, 直至所需长度, 再向外拔出导丝[5]. 根据患者状态予以不同的插管方式, 清醒患者, 当胃管达咽喉部, 用小汤勺喂入温开水, 嘱患者吞咽, 同时将胃管送至胃内; 不能喂入温开水者, 则抬高其下颌, 将鼻饲管插至所需长度[6-8]. 鼻饲前予以呼吸道分泌物处理, 鼻饲中及鼻饲后半小时尽量不吸痰, 以免吸痰次数过频、时间过长引起患者呕吐, 插管完成后抽取胃内液体, 以确保胃管成功插至胃腔内, 同时可根据抽取液颜色及量判断患者有无消化系出血, 以便及时处理[9]; 第1组患者每2 wk更换1次胃管, 第2组每3 wk更换1次, 第3组每4 wk更换1次; 插管与管道维护均由固定专人按照常规方法进行, 每次置换均由另一侧鼻腔插入.

1.2.2 观察指标: 对比观察三组患者胃管留置情况: (1)胃液pH值. 置管期间每日7:00测量胃液pH值; (2)胃管性状. 胃管前端10 cm硬度(用邵氏硬度计测量)、颜色与反折痕(反折后回弹角度); (3)鼻咽部黏膜损伤(充血、溃疡、水肿、糜烂)情况.

统计学处理 采用SPSS16.0软件进行数据分析, 计量资料用mean±SD表示, 组间均数比较用单因素方差分析, 计数资料比较用χ^2检验. P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 胃液pH值及胃管性状情况 胃液pH值及胃管断裂情况, 三组差异无统计学意义(P>0.05). 胃管颜色及反折痕方面, 2及3 wk更换组发生例数均少于4 wk更换组, 三组患者差异有统计学意义(P<0.05). 进一步两两比较得出: 2 wk更换组少于4 wk更换组(χ^2分别等于25.601、17.144,

■研发前沿
长期临床应用过程中, 发现胃管留置适宜时间存在较大争议.

■相关报道
以往研究认为硅胶胃管留置时间为18-21 d, 可减少反复插管对患者鼻黏膜造成刺激, 减少感染, 减轻患者痛苦, 与本研究时间结果接近.

表 1 3组患者的胃液pH值及胃管性状情况 (n = 40)

分组	颜色变黑(n)	反折痕(n)	硬度(mN)	弹性(度)	pH值	断裂(n)
2 wk更换组	4	0	74.91 ± 4.30	178.22 ± 6.31	3.12 ± 0.51	0
3 wk更换组	8	2	69.82 ± 6.21	145.23 ± 11.30	3.01 ± 0.59	0
4 wk更换组	38	24	41.32 ± 5.30	12.00 ± 15.11	3.11 ± 0.35	6
χ^2/F值	31.668	24.047	12.211	10.365	2.028	2.764
P值	0.000	0.000	0.000	0.000	0.693	0.321

表 2 3组患者的鼻黏膜损伤情况 (n = 40)

分组	充血	水肿	糜烂	溃疡
2 wk更换组	5	0	0	0
3 wk更换组	12	2	1	2
4 wk更换组	37	14	15	4
χ^2值	27.763	10.567	15.586	1.922
P值	0.000	0.001	0.003	0.767

P<0.01), 3 wk更换组少于4 wk更换组(χ^2分别等于19.767、13.788, P<0.01), 2 wk更换组与3 wk更换组差异无统计学意义(P>0.05)(表1).

2.2 并发症情况 溃疡情况, 三组患者差异无统计学意义(P>0.05). 鼻黏膜充血、水肿、糜烂情况(图1), 2及3 wk更换组发生例数均少于4 wk更换组, 三组患者差异有统计学意义(P<0.05). 进一步两两比较得出: 2 wk更换组少于4 wk更换组(χ^2分别等于25.858、11.204、13.113, P<0.01), 3 wk更换组少于4 wk更换组(χ^2分别等于18.825、6.193、13.113, P<0.05), 2 wk更换组与3 wk更换组差异无统计学意义(P>0.05)(表2).

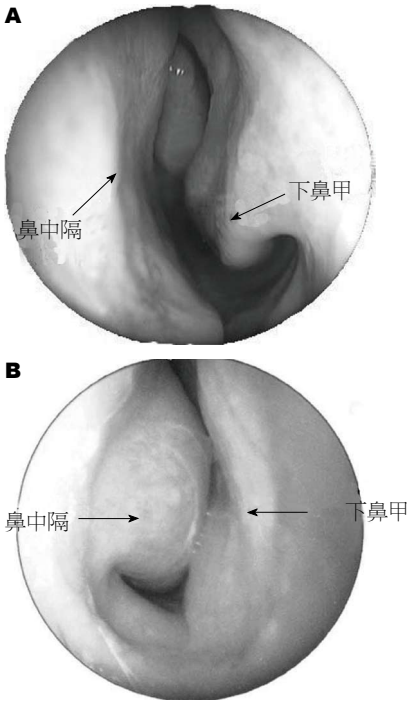


图 1 鼻黏膜充血、水肿、糜烂情况. A: 正常鼻黏膜; B: 充血、水肿鼻黏膜.

3 讨论

老年患者因基础疾病较多, 且食管解剖结构的不同、下食管括约肌的松弛及胃食管反流生理屏障功能减弱, 而大部分予以鼻饲治疗[10-13], 长期临床应用过程中, 发现胃管留置适宜时间存在较大争议, 留置胃管时间由患者病情及胃管材质决定, 长时间留置胃管易出现胃管老化断裂导致食道、鼻、咽黏膜出血、糜烂, 因此, 应尽量缩短更换胃管时间[14,15].

本实验研究以老年患者为研究对象, 采用的是硅胶胃管, 避免了橡胶胃管管腔小、塑料味重、易堵塞等缺点. 结果显示上述不同留置时间拔出后胃管均无老化变硬等弹性改变, 差异无统计学意义(P>0.05); 留置4 wk的胃管前端可见反折痕明显, 像树枝一样, 明显坚硬, 且颜色变黑, 侧孔处呈钩状改变; 而留置3 wk的胃管无明显变化, 差异有统计学意义(P<0.05). 并发症方面, 鼻黏膜受刺激程度随胃管留置时间延长而加重, 结果显示溃疡情况, 三组患者差异无统计学意义(P>0.05). 鼻黏膜充血、水肿、糜烂情况, 2及3 wk更换组发生例数均少于4 wk更换组, 三组患者差异有统计学意义(P<0.05). 老年患者本身鼻黏膜干燥、萎缩、变薄, 若胃管时间超过3 wk, 由于鼻黏膜长期受刺激、生理功能降低、局部血管扩张、充血, 而导致浆液渗出出现鼻黏膜水肿、加速溃烂等病理改变[16,17]; 胃管留置时间小于3 wk者, 鼻黏膜受刺激程度较轻, 减少并发症出现机率; 以往研究认为硅胶胃管留置时间为18-21 d[18-20], 可减少反复插管对患者鼻黏膜造成刺激, 减少感染, 减轻患者痛苦, 与本研究时间结果接近.

此外, 发现胃管颜色、硬度与反折痕改变与留置时间成正比, 时间越长, 颜色越深、硬度越大、反折痕越明显、鼻黏膜充血水肿也越明显. 胃液pH值与留置时间无明显关联, 可能是因管饲食物差异造成, 胃管长时间受到酸性胃液侵蚀, 出现质的改变, 导致胃管质地变硬及断裂[21,22], 如本研究中出现的胃管前端钩状改变与断裂. 相关研究表明胃管的变形与移位与胃蠕动引起的机械性刺激有关, 故长时间留置胃管会增加并发症危险[23,24]. 进一步两两比较2与3 wk更换组, 在胃液pH值、胃管性状情况及出现并发症情况中, 差异均无统计学意义(P>0.05), 可能是由于样本含量小造成, 因此尚不能比较2与3 wk更换组之间的优劣, 有待进一步高质量、大样本、多中心的研究.

总之, 老年患者长时间留置胃管适宜时间的探讨, 对临床工作具有十分重要的指导, 本次研究表明, 老年患者长时间硅胶胃管胃内留置适宜时间为不超过3 wk, 能减少并发症发生, 减轻患者痛苦.

4 参考文献

1 韩君, 汤丰榕, 江有琴. 心理干预在普外科留置胃管患者中的应用与体会. 海军医学杂志 2012; 33: 59-60
2 张秀花, 徐建. 腹腔镜结直肠癌根治术后患者胃管留置时间的探讨. 腹腔镜外科杂志 2012; 17: 817-820
3 刘玲玲. 安全型留置胃管固定套的制作与应用. 中华现代护理杂志 2013; 2: 4303-4303
4 Nishide N, Ono H, Kakushima N, Takizawa K, Tanaka M, Matsubayashi H, Yamaguchi Y. Clinical outcomes of endoscopic submucosal dissection for early gastric cancer in remnant stomach or gastric tube. *Endoscopy* 2012; 44: 577-583 [PMID: 22402983]
5 朱领芝. 儿童气管插管前后留置胃管的研究. 健康必读(中旬刊) 2012; 11: 325
6 秦俊春, 许瑞华, 叶辉, 冯缓, 高敏. 快速康复外科不留置胃管在胆道手术中的应用研究. 护士进修杂志 2011; 26: 7-8
7 祝晓娟, 柏慧华, 范莉花, 姚秋近, 陈静, 张一. GUSS作为脑出血术后留置胃管患者拔管指征的效果评价. 中国实用护理杂志 2013; 29: 24-26
8 张艳, 王娜卿, 刘均娥, 郎韧. 留置胃管所致患者不适反应程度及相关因素调查. 护理管理杂志 2011; 11: 10-12
9 董玉兰, 杨永清, 张晓华, 张彩霞, 杨雪梅, 扈雅, 张丽琼, 苟晓霞, 陆冬梅. 改良留置胃管方法在昏迷患者中的应用. 护士进修杂志 2012; 27: 1306-1308
10 Yegane RA, Bashashati M, Bashtar R, Ahmadi M. Gastrointestinal obstruction due to plaster ingestion: a case-report. *BMC Surg* 2006; 6: 4 [PMID: 16483375 DOI: 10.1186/1471-2482-6-4]
11 黄银英. 留置胃管固定方法的研究进展. 海南医学 2011; 22: 147-149
12 陈亚红. 舒适护理对改善留置胃管患者负性情绪的效果分析. 中国实用护理杂志 2011; 27: 19-20
13 文艳梅, 伍虹云, 苏仁芳. 经鼻气管插管并经口留置胃管的护理体会. 中国当代医药 2011; 18: 125-126
14 钱越. 盐酸利多卡因胶浆在留置胃管中的应用及护理. 国际护理学杂志 2013; 32: 2397-2399
15 胡琼, 徐丽芬, 蒋小娟. 胃手术同时留置胃管和鼻肠管的护理. 局解手术学杂志 2011; 20: 106
16 罗伟燕, 谢月霞, 凌小容. 利多卡因局麻咽喉部在留置胃管中的应用. 现代临床护理 2011; 10: 29-30
17 王志新, 刘颖, 李静, 顾妍. 留置胃管的护理研究进展. 中国实用护理杂志 2013; 29: 171-172
18 李胜群, 魏永娟. 留置胃管患儿不良反应原因分析及护理. 齐鲁护理杂志 2012; 18: 33-34
19 Shen JS, Chai Z, Song LJ, Liu JX, Wu YM. Insertion depth of oral stomach tubes may affect the fermentation parameters of ruminal fluid collected in dairy cows. *J Dairy Sci* 2012; 95: 5978-5984 [PMID: 22921624]
20 缪红梅. 个性化质量管理在老年脑卒中患者留置胃管中的应用. 护士进修杂志 2013; (24): 2284-2286
21 Rolet G, De Ridder C. Transfer and incorporation of D-glucose across the wall of the gastric caecum, the stomach and the intestine of the echinoid Echinocardium cordatum. *Cahiers de Biologie Marine* 2012; 53: 533-539
22 郑柳花. 放松训练在食管癌病人术前留置胃管中的应用. 护理研究 2012; 26: 3224-3226
23 吴泽秀, 佘秋群, 马文琼, 王玉红. 控制留置胃管操作流程关键环节的探讨. 护理实践与研究 2012; 09: 99-101
24 张晓容, 袁强, 尔古小迷, 刘珉甬. 垫肩颈枕仰头位留置胃管的临床效果研究. 护理研究 2013; 27: 3726-3727

编辑 田滢 电编 鲁亚静

■同行评价

老年患者长时间留置胃管适宜时间的探讨, 对临床工作具有十分重要的指导意义.

世界华人消化杂志 2014年6月8日; 22(16): 2294-2299
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

内镜下晚期胃癌缩瘤术联合深部热疗对患者长期生存状况的改善

胡 健, 李明峰, 赵建华, 顾剑锋, 曾 玥, 丁 威, 李婷婷

■背景资料
胃癌是我国最常见的消化系恶性肿瘤之一, 大多数患者在疾病诊断时已处于疾病晚期, 肿瘤所致的消化系梗阻、出血是此类患者常见的临床表现之一, 导致患者呕吐、进食困难、乏力以及贫血等非特异性症状, 临床工作中亟需行之有效的姑息治疗方法解除梗阻和止血, 是此类晚期患者进行后续治疗的前提条件.

胡健, 李明峰, 赵建华, 顾剑锋, 曾玥, 丁威, 李婷婷, 中国人民解放军455医院消化肿瘤科 上海市 200052
胡健, 主治医师, 从事消化系肿瘤及消化内镜的诊治.
作者贡献分布: 此课题由李明峰与胡健设计; 研究过程由胡健、李明峰、赵建华、顾剑锋、曾玥、丁威及李婷婷操作完成; 数据分析由胡健与李明峰完成; 本论文写作由胡健与李明峰共同完成.
通讯作者: 李明峰, 主任医师, 200052, 上海市淮海西路338号, 中国人民解放军455医院消化肿瘤科. limingfengzhuren@163.com
电话: 021-81815171
收稿日期: 2014-02-26 修回日期: 2014-04-04
接受日期: 2014-04-14 在线出版日期: 2014-06-08

Locally endoscopic cytoreductive surgery combined with inner diathermy improves survival in patients with advanced gastric cancer

Jian Hu, Ming-Feng Li, Jian-Hua Zhao, Jian-Feng Gu, Yue Zeng, Wei Ding, Ting-Ting Li

Jian Hu, Ming-Feng Li, Jian-Hua Zhao, Jian-Feng Gu, Yue Zeng, Wei Ding, Ting-Ting Li, Department of Gastroenterology and Medical Oncology, 455th Hospital of Chinese PLA, Shanghai 200052, China
Correspondence to: Ming-Feng Li, Chief Physician, Department of Gastroenterology and Medical Oncology, 455th Hospital of Chinese PLA, 338 Huaihai West Road, Changning District, Shanghai 200052, China. limingfengzhuren@163.com
Received: 2014-02-26 Revised: 2014-04-04
Accepted: 2014-04-14 Published online: 2014-06-08

Abstract

AIM: To evaluate the efficacy and safety of locally endoscopic cytoreductive surgery combined with inner diathermy in the treatment of advanced gastric cancer.

METHODS: Clinical data for 102 patients with inoperable advanced gastric cancer were retrospectively analyzed. The patients were classified into three groups by their treatments: endoscopic cytoreductive surgery combined with inner diathermy (group A), endoscopic cytoreductive surgery alone (group B) and best supportive care (group C). Clinical parameters, efficacy and long term survival were compared between the three groups.

RESULTS: Of 102 patients, 34 were in group A, 35 in group B, and 33 in group C. Response rates in the three groups were 62%, 60% and 0, respectively. Rates of shrinkage square by endoscopic view were 67.6%, 57.5% and -36.1%, respectively. Median overall survival were 15.6, 12.9 and 4.8 mo ($P < 0.05$). The most common adverse effects related to endoscopic treatment were bleeding and constipation, which were mild to moderate in severity and easily manageable.

CONCLUSION: Endoscopic cytoreductive surgery is effective and safe in patients with advanced gastric cancer. This procedure is well tolerated and can be efficiently combined with other methods.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Gastric cancer; Endoscopic treatment; Inner diathermy

Hu J, Li MF, Zhao JH, Gu JF, Zeng Y, Ding W, Li TT. Locally endoscopic cytoreductive surgery combined with inner diathermy improves survival in patients with advanced gastric cancer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(16): 2294-2299 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2294.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i16.2294

摘要

目的: 本研究初步评价内镜下局部缩瘤术联合深部热疗治疗晚期胃癌的疗效和安全性.

方法: 102例无手术治疗指证的晚期胃癌患者, 按照所接受的治疗手段进行回顾性分析, 分为内镜下缩瘤术联合深部热疗(A组)、内镜下缩瘤术(B组)和最佳支持治疗(C组)3组, 收集3个治疗组患者的临床参数、疗效及生存情况并进行对比分析.

结果: 102例患者中, A组为34例, B组为35例,

■同行评议者
姜春萌, 教授, 大连医科大学附属第二医院消化科

C组为33例. 3组的有效率分别为62%、60%及0, 内镜下肿瘤缩小面积比例分别为67.6%、57.5%和-36.1%, 中位生存时间分别为15.6、12.9和4.8 mo(P<0.05). 和内镜下缩瘤术相关的不良反应主要为出血和便秘, 程度轻微, 给予对症处理后基本都能缓解.

结论: 内镜下缩瘤术在晚期胃癌患者中是一种安全有效的局部治疗方法, 不良反应轻微, 且能和其他的治疗手段有效联合.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 胃癌; 内镜下治疗; 深部热疗

核心提示: 联合采用氩离子凝固术、内镜下局部注射化疗药物以及深部热疗的缩瘤术对晚期不能手术切除的晚期胃癌患者, 是一种行之有效的治疗方法, 该方法将3种局部方法有机结合, 在空间和时间上进行优化组合, 发挥协同效应.

胡健, 李明峰, 赵建华, 顾剑锋, 曾玥, 丁威, 李婷婷. 内镜下晚期胃癌缩瘤术联合深部热疗对患者长期生存状况的改善. 世界华人消化杂志 2014; 22(16): 2294-2299 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2294.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i16.2294

0 引言

胃癌是我国最常见的消化系恶性肿瘤之一, 全球范围内占据恶性肿瘤发病率的第2位, 也是常常导致死亡的恶性肿瘤之一[1]. 在上海地区, 胃癌的发病率虽然已降至第3位[2], 但是死亡率仍然高居于第2位[3], 因为大多数患者在疾病诊断时已处于疾病晚期, 不能手术、放化疗、全身情况差、高龄的晚期胃癌患者仅能采取保守治疗方式, 导致患者的生活质量及预后极差. 肿瘤所致的消化系梗阻、出血是此类患者常见的临床表现之一, 导致患者呕吐、进食困难、乏力以及贫血等非特异性症状, 而解除梗阻和止血是晚期胃癌患者进行后续治疗的前提条件. 为了能够这类患者创造后续治疗的机会, 改善患者生活质量、提高治疗疗效, 我们尝试采用氩离子凝固术联合局部化疗等内镜治疗技术, 简称为缩瘤术, 同时结合深部热疗的综合治疗策略给予这类患者积极处理, 取得了良好的疗效, 少数晚期患者获得了生存期的明显延长. 本文就近年来我院采用此种综合治疗方法, 比较单纯缩瘤术治疗以及最佳支持治疗的患者进行对照性研究, 并报道如下.

1 材料和方法

1.1 材料 自2010-02/2013-11来我院就诊的102例无手术治疗指证的晚期胃癌患者, 按照所接受的治疗手段分为3组, 分别为缩瘤术联合深部热疗组, 简称为综合治疗组, 共34例; 缩瘤术组, 共35例; 如该患者接受了至少2个周期的缩瘤术治疗并有完整的临床信息, 如内镜下肿瘤大小、实验室检验数据包括血常规、血生化和肿瘤标志物以及影像学资料则可进入本回顾性研究的综合治疗组和缩瘤术组, 为真正观察缩瘤术的疗效, 排除同期接受局部放疗、全身化疗的患者. 为配对比较需要, 同时选取因全身情况欠佳、合并疾病或患者拒绝积极处理而未行内镜治疗、热疗及放化疗的患者共33例, 简称为对照组. 综合治疗组: 本组34例患者, 因出现远处转移、肿瘤外侵严重或因全身情况等各种不能原因进行根治性手术, 包括: 贲门、胃底癌24例, 胃体、胃窦、幽门区肿瘤10例, 其中6例为术后复发, 20例为肿瘤外侵严重或病变广泛认为手术价值不大者, 8例为合并疾病无手术指证. 年龄为51-83岁, 中位年龄62.5岁; 男16例, 女18例. 缩瘤术组: 选择本科同时期进行缩瘤术的晚期胃癌患者35例, 即氩离子凝固术治疗联合内镜下局部化疗, 35例患者中, 包括贲门癌15例, 胃体8例、胃窦、幽门癌12例, 其中6例为术后复发, 22例为肿瘤外侵严重或病变广泛认为手术价值不大者, 7例为合并疾病无手术指证. 年龄为48-81岁, 中位年龄61.6岁; 男19例, 女16例. 对照组: 选择本科室同时期未接受积极治疗的晚期胃癌患者33例, 贲门15例, 胃体8例、胃窦、幽门癌10例, 其中5例为术后复发, 19例为肿瘤外侵严重或病变广泛认为手术价值不大者, 9例为合并疾病无手术指证. 年龄为52-79岁, 中位年龄61.7岁; 男18例, 女15例. 本组患者未给予任何内镜治疗、热疗及放化疗, 仅予以静脉营养支持治疗、中医中药治疗等最佳支持治疗. 上述所有病例均经内窥镜病理证实. 各组患者具体情况如表1.

1.2 方法

1.2.1 治疗: (1)综合治疗组: 本组34例患者先给予胃镜下氩离子凝固术以及内镜下化学治疗. 综合治疗的具体实施为第1、15天行内镜下缩瘤术, 第3-12天行深部热疗, 28 d为一疗程. 氩离子凝固术治疗: 应用ERBRAPC-300型等离子凝固器, 打开氩气瓶气阀调节气流速度, 以0.3-2 L/min为宜, 调整输出功率为≥50 W, 每次踩脚踏时

■研发前沿
传统意义上, 手术是解除这类患者的主要姑息治疗方法, 但是往往效果欠佳, 且创伤较大, 胃镜下的局部治疗是近年来对此类临床情况处理的热点研究领域, 但是单一方法虽有近期疗效, 往往疗效不能持久, 因此如何寻找有效的治疗手段, 真正改善晚期胃癌合并梗阻、出血的患者生存和生活质量在临床中显得迫切需要.

■相关报道
近期滕进波等报告采用微波消融联合局部注射化疗药物及支架置入的内镜下治疗措施治疗晚期胃癌合并梗阻的患者, 取得了84%的有效率, 中位生存期可达9.37 mo, 同时也显示采用内镜下治疗措施越多的患者, 生存期越长.

表 1 各组患者的临床特征

临床参数	综合治疗组	内镜治疗组	对照组	*P*值
n	34	35	33	
性别				>0.05
男	16	19	18	
女	18	16	15	
年龄(岁)				>0.05
范围	51–83	48–81	52–79	
中位	62.5	61.6	61.7	
病灶大小(cm)				>0.05
>6	20	22	21	
≤6	14	13	12	
血红蛋白水平(g/L)				>0.05
>90	18	20	19	
≤90	16	15	14	
白细胞计数($\times 10^9$/L)				>0.05
>10.0	11	10	8	
≤10.0	23	25	25	
梗阻症状				>0.05
有	7	7	8	
无	27	28	25	

间≤5 s, 治疗深度约2-3 mm. 橡胶电极板放置于患者手臂下与皮肤直接接触. 治疗顺序为由远及近、逐层烧灼, 尽可能覆盖肿瘤全部; 对隆起病灶可辅以电凝电切; 幽门管狭窄可同期植入支架. 局部化疗应用奥沙利铂50 mg溶于20 mL 5%葡萄糖溶液中及5-氟尿嘧啶(5-fluorouridine, 5-FU)250 mg/10 mL内镜下注射. 采用Olympus GIF-XQ240型内镜及NM-3K型注射针, 经内镜观察病变部位, 根据肿瘤形态及狭窄情况, 对癌灶结节及邻近黏膜的交界处环形注射, 隆起性病灶在中央注射, 恶性溃疡沿基底部边缘注射, 每点2-3 mL, 每2周注射1次, 2次为1疗程. 注射点避免选择溃疡型胃癌凹陷中央以及癌灶坏死组织中, 注射后剩余药物喷洒于溃疡型凹陷中央癌灶中. 深部热疗采用在缩瘤术治疗间隙, 连续10 d一疗程的方法, 在进行局部化疗之后, 予以患者进行深部热疗. 采用长春迈达公司NRL Ⅱ型(功率2000 W, 频率40.68 MHz)热疗机行深部热疗. 患者仰卧于治疗床上, 自动进入治疗舱, 选择大小为20 cm×15 cm电极板, 上、下电极板对置置于中腹部, 左、右电极板对置于左、右两侧, 2组电极板与人体的间隙约为2 cm, 放置厚约2 cm的含0.4%NaCl水袋, 防止皮肤灼伤, 2组电极同时工作, 输出功率采用先高(2000-1700 W)后低(1500-800 W), 直肠、外耳道各两个测温探头, 以直肠温度为准, 有效治疗温度在39.5 ℃-41.0 ℃之间. (2)缩瘤术组: 按照综合治疗组的患者相同方法进行氩离子凝固术治疗以及内镜下化学治疗. 具体实施方法为第1、8、15天行内镜下缩瘤术, 停1 wk, 28 d为一疗程, 在胃原发肿瘤导致的梗阻以及出血症状缓解后, 根据临床治疗实践给予全身治疗. (3)对照组: 在33例对照组患者中, 仅给予静脉营养支持治疗、中医中药治疗等最佳支持治疗.

1.2.2 *疗效评价*: 每2个疗程进行疗效评价, 收集患者的症状变化, 体力状况(Karnofsky评分)、血常规、肝肾功能、电解质等血生化检查、肿瘤标记物等指标, 并同时进行影像学复查, 按实体瘤疗效评价标准(Response Evaluation Criteria in Solid Tumors, RECIST)1.0版进行疗效评价: 分为完全缓解(complete response, CR); 部分缓解(partial response, PR); 疾病稳定(stable disease, SD)及疾病进展(progressive disease, PD). 同时对所有入选患者进行胃镜下瘤体大小评价, 以胃镜下肿瘤长径和垂直径的面积表示.

统计学处理 计数资料比较采用χ^2检验或Fisher精确检验, 生存期的计算为患者开始接受治疗至证实患者死亡的时间距离, 生存曲线采用Kaplan-Meier法进行绘制, Log-rank检验比较生存期之间的差异, $P<0.05$为差异有统计学意义.

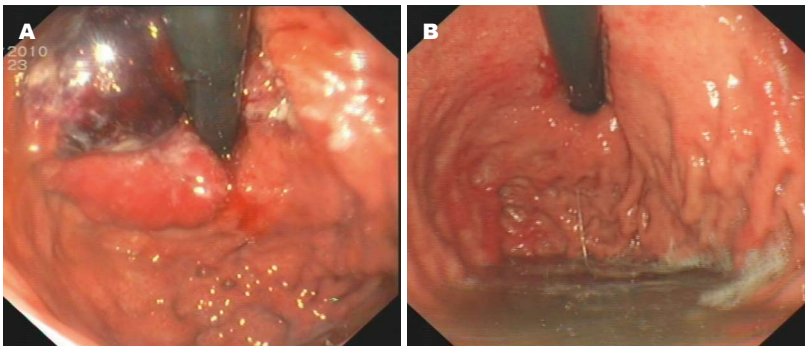


图 1 贲门、贲门下肿块经综合治疗后肿瘤大小变化. A: 治疗前; B: 治疗2 mo后, 肿块基本退缩.

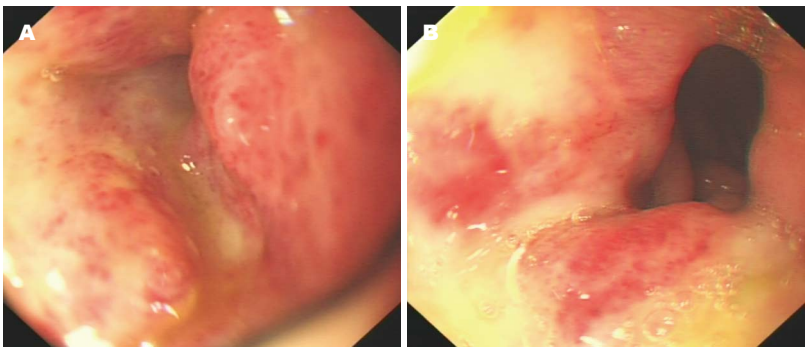


图 2 胃巨大肿块累及幽门经过缩瘤术后肿瘤变化. A: 首次胃镜检查不能进入十二指肠; B: 经氩气刀凝固术及局部化疗治疗1 wk后, 复查胃镜肿块明显减小, 幽门梗阻改善, 胃镜可以进入十二指肠.

■创新盘点

本研究将氩离子凝固术、内镜下局部化疗和深部热疗3种局部方法有机结合, 在空间和时间上进行优化组合, 起到了迅速缓解巨大瘤体所致的局部症状, 同时能够将化疗和热疗结合的方法控制肿瘤的继续生长, 起到协同效应, 这3种方法和全身化疗相比, 不良反应轻微, 对于老年胃部病灶巨大患者, 具有安全性好疗效突出的特点.

表 2 各组中疗效分布情况 (*n*)

分组	*n*	客观缓解(CR+PR)	疾病稳定	疾病进展	*P*值
综合治疗组	34	21(62.0)	7(20.4)	6(17.6)	>0.05
缩瘤术组	35	21(60.0)	8(22.9)	6(17.2)	<0.05[a]
对照组	33	0	9(27.2)	24(72.8)	<0.05[c]

[a]*P*<0.05 *vs* 对照组; [c]*P*<0.05 *vs* 综合治疗组.

2 结果

2.1 近期疗效

2.1.1 梗阻缓解结果: 在综合治疗组, 7例梗阻患者症状都得到了明显的缓解, 缓解率达到100%, 在缩瘤术治疗组, 7例梗阻患者中有6例梗阻症状得到明显缓解, 缓解率达到85.7%, 对照组患者无梗阻缓解. 患者1: 本研究中1例81岁高龄男性患者, 2010-04胃镜检查示贲门、贲门下肿块, 患者出现进食困难, 予以内镜下氩离子凝固术及局部化疗配合深部热疗, 患者无明显不适, 2 mo后, 患者肿块明显退缩, 可正常进食. 该患者先后进行氩离子凝固术、局部化疗及深部热疗共17次, 2013-01-10死亡, 生存期33 mo. 治疗后肿瘤大小变化如图1. 患者2: 本研究中一60岁男性患者, 2010-04胃镜检查示幽门肿块, 患者出现呕吐, 予以内镜下氩离子凝固术及局部化疗配合深部热疗, 患者无明显不适, 1 wk后, 重复内镜治疗发现胃内肿块明显退缩, 患者呕吐症状好转(图2).

2.1.2 疗效评价结果: 在综合治疗组34例患者中, 21例患者获得了客观缓解, 总体缓解率为62.0%, 7例(20.4%)患者SD, 6例(17.6%)患者PD; 在缩瘤术治疗组35例患者中, 有21例患者获得了客观缓解, 总体缓解率为60.0%, 8例(22.9%)患者SD, 6例(17.1%)患者PD; 在对照组, 9例(27.2%)患者SD, 24例(72.8%)患者PD(表2).

2.2 远期疗效 本研究共102例患者, 均通过门诊、电话或通信方式随访, 失访率为10.8%. 在综合治疗组, 中位生存时间为15.6 mo(95%CI: 11.8-19.4); 缩瘤术组, 中位生存时间为12.9 mo(95%CI:8.9-16.8), 对照组中位生存时间为4.8 mo(95%CI: 3.6-6.0), Log-rank检验*P*值<0.001, 生存曲线如图3.

2.3 肿瘤大小变化 本研究对所有患者进行了内镜下肿瘤面积的测量以评估治疗前后肿瘤大小变化, 肿瘤面积以瘤体最长径和垂直径的乘

■应用要点
氩离子凝固术作为一种类似于肿瘤切除的方法, 常用来处理肿瘤导致的梗阻或者狭窄的方法, 较少和其他局部治疗方法相结合, 本研究显示了在解除患者局部病灶的同时, 加用其他方法进一步抑制肿瘤进展, 有利于长期控制肿瘤, 因此三种方法的有机结合是临床应用的关键.

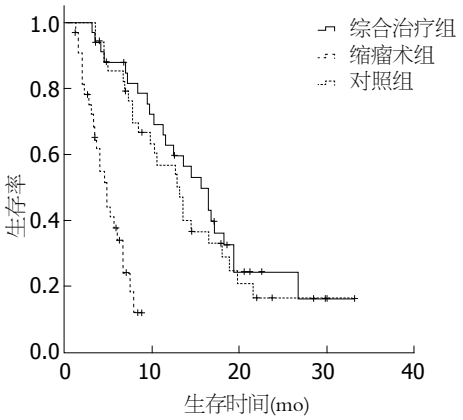


图 3 本研究中3组患者的生存曲线. 中位生存期: 综合治疗组15.6 mo; 缩瘤术12.9 mo; 对照组4.8 mo, P<0.001.

积表示. 在综合治疗组, 治疗前瘤体面积大小平均值为56.4 cm^2, 治疗后为18.3 cm^2, 缩小为38.1 cm^2, 面积缩小比例为67.6%; 缩瘤术组治疗前瘤体面积大小平均值为52.9 cm^2, 治疗后为22.5 cm^2, 缩小为30.4 cm^2, 面积缩小比例为57.5%; 对照组治疗前瘤体面积大小平均值为58.2 cm^2, 治疗后为79.2 cm^2, 增加了21 cm^2, 增加比例为36.1%.

2.4 血红蛋白水平变化 因晚期胃癌常因原发病灶瘤体过大引起慢性失血, 导致大部分患者出现贫血. 本研究中, 综合治疗组患者治疗前平均血红蛋白水平为69 g/L, 3 mo后上升至78 g/L; 缩瘤术组患者治疗前平均血红蛋白水平为71 g/L, 3 mo后上升至79 g/L; 对照组患者治疗前平均血红蛋白水平为67 g/L, 3 mo后下降至50 g/L.

2.5 缩瘤术治疗相关不良反应 临床治疗过程中, 判断和治疗相关的不良反应主要为出血和便秘, 在本研究中有3例患者治疗后出现黑便, 血红蛋白有轻度下降, 未出现呕血, 在给予延长内镜下缩瘤术治疗周期, 延长与深部热疗间隔时间, 补充血小板及凝血因子后出血症状都明显减轻. 11例患者治疗后出现便秘, 考虑和深部热疗有关, 在充分补充液体, 口服缓泻剂后症状基本缓解.

3 讨论

消化系梗阻、出血是晚期胃癌的常见合并症状, 也是导致患者体质迅速恶化、不能进行后续积极有效治疗方法的主要原因. 因此, 目前临床处理这种消化系梗阻的方法包括姑息性手术、支架置入、局部射频治疗、局部化学治疗、小肠造瘘等[4], 尽管单一治疗方法的近期有效率较高, 但是治疗后易复发, 是造成治疗失败的主要原因. 本研究采用局部综合治疗方法, 包括氩离子凝固术治疗、局部化学治疗以及深部热疗, 可以快速缓解局部症状, 改善患者体质, 为后续全身治疗创造机会, 从而达到延长患者生存, 改善生活治疗的目的.

氩离子凝固术(argon plasma coagulation, APC)于20世纪80 年代首先用于开放性外科手术止血, 随着特殊导管的出现, 90年代开始应用于胃肠道介入内镜学[5], 除用于胃肠道息肉外, 还对消化系出血、Barretts食管、疣状胃炎及消化系肿瘤等有很好疗效[6-8]. APC是利用高频电流以单极技术通过电离的有导电性的氩气(氩等离子体)无接触地引导到需要治疗的组织产生凝固效应. 内镜下氩气刀最大的优点是凝固深度的自限性, 一般不超过3 mm, 不会出现穿孔. 其次是氩离子束可以自动导向需治疗的组织表面, 而不一定沿氩气流原来的方向, 也不一定是喷头所指的方向, 他可以进行轴向、侧向和自行逆向凝固, 几乎可到病变的每一个角落, 对息肉等病灶的处理非常自如, 有独特的优势[9]. 因此, APC技术在肿瘤所致的空腔脏器狭窄等特殊情况下, 由于其治疗安全指数高, 出血少, 故具有极高的临床应用价值, 国内有较多研究采用此技术处理消化系及气管狭窄[10,11]. 本研究中, 氩离子凝固术治疗的两组患者中, 均有约25%的患者出现了消化系梗阻症状, 经予以氩离子凝固术治疗后, 患者的梗阻症状迅速得到缓解, 在所有应用氩离子凝固术治疗的患者中, 未发生消化系穿孔的不良反应, 说明这是一种安全有效的局部治疗措施.

内镜下局部注射化学药物治疗进展期胃癌, 近年来在国内得到了广泛地研究[12,13], 显示这也是一种安全且较为有效的局部治疗手段, 对老年耐受性差的患者, 有较为明显的治疗作用[13,14]. 深部热疗是利用各种电磁波(射频、微波)、超声波等对肿瘤加热治疗, 由于肿瘤组织本身的特性, 其血管壁和神经感受器发育不健全, 肿瘤组织与正常组织存在热的吸收差, 肿瘤组织温度可高出正常组织5 ℃-7 ℃, 肿瘤内部温度可高出周边肿瘤组织1 ℃-1.5 ℃. 另外热疗可产生“内生性肿瘤疫苗”; 热疗还能提高机体对肿瘤的细胞免疫力加热可使全身肿瘤组织凋亡, 单纯的全身热疗治疗恶性肿瘤有效率为29%[14].

本研究将3种局部方法有机结合, 在空间和时间上进行优化组合, 起到了迅速缓解巨大瘤体所致的局部症状, 同时能够将化疗和热疗结合的方法控制肿瘤的继续生长, 起到协同效应, 这三

种方法和全身化疗相比, 不良反应轻微, 对于老年胃部病灶巨大患者, 具有安全性好疗效突出的特点. 在本研究中, 综合治疗组及缩瘤术组中, 对高龄患者, 具有症状缓解迅速, 安全性佳的特点.

近期疗效而言, 在综合治疗和缩瘤术组, 客观缓解率可达到62%和60%, 高于对照组, 且具有统计学意义, 在一定的程度上说明这种联合方式能够在一定程度上提高局部有效率, 为快速缓解胃内瘤体较大的患者所致的局部症状, 改善患者体质状况, 提供后续治疗的机会, 起到非常重要的作用. 长期的生存结局随访显示三组患者中, 综合治疗组的患者生存时间为15.6 mo, 缩瘤术组患者为12.9 mo, 对照组患者为4.8 mo, 三组之间的整体差别有统计学意义. 因此, 综合治疗组生存期的延长, 说明积极的局部治疗, 能改善患者的局部及全身症状, 进而改善治疗的耐受性, 提高生活质量, 对于晚期胃癌这种进展较快的恶性肿瘤, 有改善长期生存的可能. 一般而言, 全身治疗的晚期胃癌生存期在10-12 mo左右[15]. 本研究虽然取得了较好的临床效果, 但是作为一项回顾性对照临床研究, 样本量较小, 存在选择偏倚, 是本研究的局限性, 但从另一方面而言, 为临床实践中, 难以处理的胃部巨大占位、初始不能耐受积极全身治疗的患者提供新的治疗策略, 在进一步的研究中, 如果开展设计严谨的对照性临床研究, 或能进一步证实本研究的结果, 即采用氩离子凝固术、内镜下局部化疗及联合热疗等多种措施的综合治疗, 能够得到长期的生存获益.

4 参考文献

1 Bray F, Ren JS, Masuyer E, Ferlay J. Global estimates of cancer prevalence for 27 sites in the adult population in 2008. *Int J Cancer* 2013; 132: 1133-1145 [PMID: 22752881 DOI: 10.1002/IJC.27711]

2 吴春晓, 鲍萍萍, 黄哲宙, 王春芳, 顾凯, 向旷梅, 彭鹏, 龚杨明, 郑莹. 上海市消化系统常见恶性肿瘤发病现况和时间趋势分析. 胃肠病学 2012; 17: 513-520

3 韩雪, 赵佳, 黄辰曦, 谢梦, 丁一波, 马立业, 张宏伟, 曹广文. 2002-2012年上海市杨浦区原发性胃癌发病及生存情况分析. 中华临床医师杂志(电子版) 2012; 7: 8169-8175

4 滕进波, 张宏博. 进展期胃癌合并幽门梗阻内镜治疗103例. 世界华人消化杂志 2006; 14: 1022-1026

5 Grund KE, Storek D, Farin G. Endoscopic argon plasma coagulation (APC) first clinical experiences in flexible endoscopy. *Endosc Surg Allied Technol* 1994; 2: 42-46 [PMID: 8081915]

6 Ginsberg GG, Barkun AN, Bosco JJ, Burdick JS, Isenberg GA, Nakao NL, Petersen BT, Silverman WB, Slivka A, Kelsey PB. The argon plasma coagulator: February 2002. *Gastrointest Endosc* 2002; 55: 807-810 [PMID: 12024132]

7 吴云林, 冯莉. 氩离子凝固术在内镜治疗中的应用. 世界华人消化杂志 2000; 8: 607-6098

8 陈东风, 刘重阳, 周世亮, 彭安国, 闫庆军, 李平, 张晓荣. 内镜下氩离子凝固术治疗消化道息肉的临床价值. 第三军医大学学报 2003; 25: 531-533

9 何晓华, 邢飞, 孙健, 陆敬华. 内镜下射频治疗术联合氩离子凝固术在贲门: 胃底癌治疗中的应用. 医学研究生学报 2010; 23: 1277-1278

10 刘剑波, 齐景宪, 徐照珉, 夏熙郑. 经纤维支气管镜氩离子束凝固术治疗气管狭窄4例. 郑州大学学报 2007; 42: 370-371

11 张集昌, 张力建, 王燕蒙, 张军, 李伟. 内镜介入治疗伴梗阻的晚期胃癌、食管癌161例分析. 肿瘤防治研究 2001; 4: 322-323

12 刘穗媛, 姜相君, 林惠忠. 胃镜下局部注射化疗药物治疗晚期胃癌. 中国现代普通外科进展 2009; 12: 267-268

13 陈小龙, 黄艳兰. 经内镜局部化学治疗晚期食管癌胃癌疗效分析. 现代消化及介入诊疗 2006; 11: 68-70

14 孔忆寒, 赵静, 王婷, 卢宜民, 张涛. 微波区域性热疗联合介入化疗治疗晚期胃癌的尝试(附25例分析). 肿瘤基础与临床 2006; 19: 318-320

15 Cervantes A, Roda D, Tarazona N, Roselló S, Pérez-Fidalgo JA. Current questions for the treatment of advanced gastric cancer. *Cancer Treat Rev* 2013; 39: 60-67 [PMID: 23102520 DOI: 10.1016/j.ctrv.2012.09.007]

■同行评价

本文介绍了新的胃癌姑息治疗方法, 结果有说服力, 具有临床指导意义.

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年6月8日; 22(16): 2300-2305
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

MMP-14和COX-2蛋白在胃癌侵袭转移过程中的表达和关系

谷倬宇, 李思源, 李 军, 肖智伟, 周 婷

■背景资料
大多数胃癌患者死于胃癌的侵袭转移和术后复发, 此过程十分复杂, 而基质金属蛋白酶家族(matrix metalloproteinase, MMPs)中跨膜的MMP-14蛋白是肿瘤细胞入侵的关键酶; 环氧合酶(cyclooxygenase, COX)是花生四烯酸转化为前列腺素过程的关键限速酶, 其最重要的亚型COX-2在多种肿瘤组织中表达, 与肿瘤的侵袭和转移的关系也已受到越来越多的关注.

谷倬宇, 李思源, 肖智伟, 新疆石河子大学医学院 新疆地方与民族高发病教育部重点实验室 新疆维吾尔自治区石河子市 832002
李军, 新疆石河子大学医学院第一附属医院内分泌代谢科 新疆维吾尔自治区石河子市 832002
周婷, 新疆石河子大学医学院第一附属医院中心实验室 新疆维吾尔自治区石河子市 832002
谷倬宇, 在读硕士, 主要从事消化系肿瘤的研究.
作者贡献分布: 谷倬宇与李思源对此文所作贡献均等; 主要实验、数据分析和文章撰写由谷倬宇与李思源完成; 病例选择、样本取材、临床资料整理和免疫组织化学分析由肖智伟及周婷完成; 课题设计、文章审阅和修改由李军完成.
通讯作者: 李军, 副教授, 主任医师, 832002, 新疆维吾尔自治区石河子市北二路32小区, 石河子大学医学院第一附属医院内分泌代谢科. xjlijun@163.com
收稿日期: 2014-03-25 修回日期: 2014-04-09
接受日期: 2014-04-28 在线出版日期: 2014-06-08

Expression of MMP-14 and COX-2 in gastric cancer

Zhuo-Yu Gu, Si-Yuan Li, Jun Li, Zhi-Wei Xiao, Ting Zhou

Zhuo-Yu Gu, Si-Yuan Li, Zhi-Wei Xiao, Medical College of Shihezi University, Key Laboratory of Ministry of Education, Xinjiang Endemic and Ethnic Diseases, Shihezi 832002, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China
Jun Li, Department of Endocrinology, First Affiliated Hospital, Medical College of Shihezi University, Shihezi 832002, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China
Ting Zhou, Key Laboratory, First Affiliated Hospital, Medical College of Shihezi University, Shihezi 832002, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China
Correspondence to: Jun Li, Associate Professor, Chief Physician, Department of Endocrinology, First Affiliated Hospital, Medical College of Shihezi University, 32 Xiaoqu, Beier Road, Shihezi 832002, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. xjlijun@163.com
Received: 2014-03-25 Revised: 2014-04-09
Accepted: 2014-04-28 Published online: 2014-06-08

Abstract

AIM: To investigate the protein expression of MMP-14 and COX-2 in gastric cancer to further reveal the pathogenesis of gastric cancer.

METHODS: The protein expression of MMP-14 and COX-2 was examined by immunohistochemistry in human gastric cancer tissues and normal gastric tissues, and the relationship between the protein expression and clinicopathological features was analyzed. The protein expression of MMP-14 in human gastric cancer tissues at different TNM stages was also explored.

RESULTS: The expression rates of MMP-14 and COX-2 in gastric cancer tissues were significantly higher than those in normal tissues ($P < 0.01$). The expression of MMP-14 was significantly correlated with the degree of differentiation, lymph node metastasis, invasion depth and TNM stage of gastric cancer ($P < 0.01$). The expression of COX-2 was correlated with invasion depth and TNM stage of gastric cancer ($P < 0.05$). MMP-14 expression was positively correlated with COX-2 expression in gastric cancer tissues ($P < 0.01$). MMP-14 expression increased with the elevation of TNM stage and showed a tendency from the cytoplasm to cell membrane.

CONCLUSION: Stimulating overexpression and intracellular translocation of MMP-14 may be one of mechanisms for COX-2 protein to contribute to the invasion and metastasis of human gastric cancer.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Gastric cancer; MMP-14; COX-2; Invasion; Metastasis; Immunohistochemistry

Gu ZY, Li SY, Li J, Xiao ZW, Zhou T. Expression of MMP-14 and COX-2 in gastric cancer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(16): 2300-2305 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2300.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i16.2300

摘要

目的: 探讨基质金属蛋白酶-14(matrix mettalloproteinase 14, MMP-14)和环氧合酶2(cyclooxygenase 2, COX-2)蛋白在胃癌侵袭转移过程中的表达和相互关系, 从而进一步揭示胃癌的发病机制.

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

方法: 采用免疫组织化学法检测人胃癌组织和正常胃组织中MMP-14和COX-2的蛋白表达情况, 进一步分析二者与胃癌临床病理参数的关系, 并探讨MMP-14在胃癌组织不同TNM分期中的表达特点.

结果: 胃癌组织中MMP-14和COX-2的阳性表达率明显高于正常胃组织(P<0.01); MMP-14的表达与胃癌分化程度、区域淋巴结转移程度、浸润深度、TNM分期相关(P<0.01), COX-2的表达与浸润深度、TNM分期相关(P<0.05), 胃癌组织中MMP-14与COX-2蛋白表达呈正相关(P<0.01); 随着TNM分期的增加, MMP-14表达增加且有从胞浆向胞膜转位的趋势.

结论: COX-2蛋白可能通过诱导MMP-14蛋白表达上调及胞内转位, 从而增加胃癌细胞的侵袭及转移能力.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 胃癌; 基质金属蛋白酶-14; 环氧合酶-2; 侵袭; 转移; 免疫组织化学

核心提示: 本研究发现胃癌组织中基质金属蛋白酶家族(matrix metalloproteinase, MMPs)-14和环氧合酶(cyclooxygenase, COX)-2的蛋白表达均明显高于癌旁正常组织且二者的蛋白表达呈正相关, MMP-14和COX-2的蛋白表达均与胃癌浸润深度、TNM分期相关, 随着TNM分期的增加, MMP-14的蛋白表达增加且有从胞浆向胞膜转位的趋势.

谷卓宇, 李思源, 李军, 肖智伟, 周婷. MMP-14和COX-2蛋白在胃癌侵袭转移过程中的表达和关系. 世界华人消化杂志 2014; 22(16): 2300-2305 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2300.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i16.2300

0 引言

胃癌是世界上最常见的恶性肿瘤之一, 其恶性程度在男性和女性中分别排在第2位和第4位[1]. 在中国, 胃癌同样也是最常见的恶性肿瘤之一[2]. 大多数胃癌患者死于胃癌的侵袭转移和术后复发, 且过程十分复杂, 此过程的关键事件是降解周围基质, 而基质金属蛋白酶家族(matrix metalloproteinase, MMPs)是对细胞外基质进行溶解的重要酶类, 他可降解细胞外基质和基底膜, 是恶性肿瘤发生转移与浸润的重要介质, 特别是其中跨膜的MMP-14蛋白, 是肿瘤细胞入侵的关键酶[3,4]. 环氧合酶(cyclooxygenase, COX)是花生四烯酸转化为前列腺素过程的关键限速酶, 其最重要的亚型COX-2在多种肿瘤组织中表达, 与肿瘤的侵袭和转移的关系也已受到越来越多的关注[5]. 本实验通过对胃癌和正常胃黏膜组织的MMP-14和COX-2表达进行免疫组织化学检测, 分析他们与胃癌临床病理特征的关系, 并初步探讨他们之间的相互关系及MMP-14在不同TNM分期中的表达, 旨在为以后研究胃癌浸润转移机制提供新的思路.

■研发前沿
胃癌侵袭转移的发生机制是近几年的研究热点, MMP-14蛋白作为肿瘤细胞入侵的关键酶, 与COX-2蛋白是否共同参与胃癌的侵袭转移过程进而促进胃癌的发生发展亟待研究, 阐明MMP-14蛋白和COX-2蛋白在胃癌侵袭和转移中的作用显得十分重要.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2012-01/2013-05我院病理科经40 g/L甲醛固定和石蜡包埋的胃癌组织标本59例, 对照组为经病理证实距肿块边缘5 cm的正常组织, 具体临床病理资料如表1. 病例纳入标准: 符合WHO分类中胃癌的诊断标准, 由至少两位病理科专业技术人员共同阅片明确诊断. 患者术前均未行放化疗和生物免疫治疗. 临床资料齐全. MMP-14和COX-2兔抗人单克隆抗体购自英国Abcam公司, SP免疫组织化学试剂盒和DAB显色剂购自北京中杉金桥生物技术有限公司.

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学染色: 将4 μm的贴邻切片脱蜡水化后, 用新鲜配制的3%双氧水室温封闭10 min, PBS洗后滴加正常的山羊血清封闭液室温20 min, 甩去多余液体. 4 ℃滴加一抗过夜, 一抗稀释1∶100的比例, 37 ℃复温45 min, 室温下滴加生物素化二抗30 min, 辣根过氧化物酶标记的链酶亲和素工作液在室温下滴加, 20 min后镜下控制DAB显色, 后用自来水清洗, 苏木素染色、脱水、透明树胶封片. 实验以PBS代替一抗作为阴性对照.

1.2.2 结果判定: 染色判定标准采用半定量分析方法, 在高倍镜(×400)下随机挑选5个视野(每个观察视野范围内的细胞数量≥200个), 根据样本阳性细胞百分比和染色强度综合评分. (1)根据细胞染色强度计分: 不着色为0分; 1分为浅棕黄色; 2分为棕黄色; 3分为棕褐色; (2)根据阳性细胞百分比计分: 阳性细胞<5%记为0分; 阳性细胞占6%-25%为1分; 阳性细胞占26%-50%为2分; 阳性细胞占51%-75%为3分; 阳性细胞占76%-100%为4分. 根据阳性细胞百分比和染色强度的乘积评分分为: 0-1分为阴性结果, 2-12为阳性结果, 其中2-4分为弱阳性(+), 5-8分为阳性(++), 9-12分为强阳性(+++). 在未知病理资料情

■相关报道
Hu等在乳腺癌细胞中证实COX-2的过度表达可以上调MMP-14的表达, 而用COX-2抑制剂作用肿瘤细胞后, 细胞的侵袭能力相对于对照组明显降低, Annabi等在恶性胶质瘤细胞中再次证实COX-2和MMP-14之间确实存在着某种关联, NF-κB通路介导的COX-2的表达可能是MMP-14的一个重要调控点, 但是在胃癌中两者的相互关系尚有待于进一步的研究.

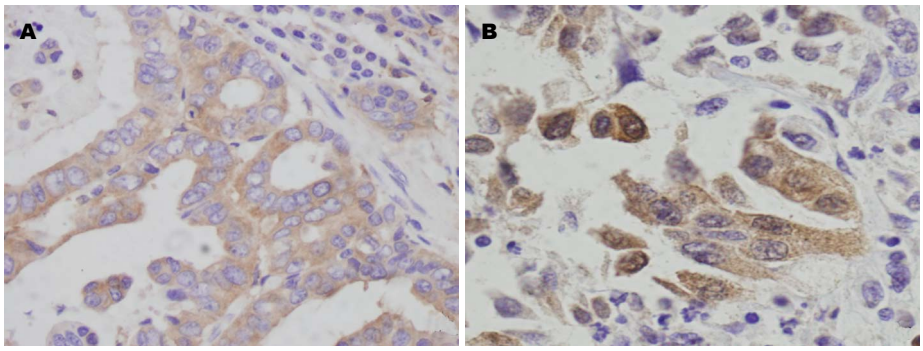


图 1 胃癌组织中MMP-14及COX-2的免疫组织化学染色结果(×400). A: MMP-14阳性表达; B: COX-2阳性表达. MMP-14: 基质金属蛋白酶-14; COX-2: 环氧合酶2.

表 1 59例胃癌患者的临床病理特征

临床病理特征	*n*(%)
年龄(岁)	
<60	26(44.1)
≥60	33(55.9)
性别	
男	44(74.6)
女	15(25.4)
分化程度	
高、中	22(37.3)
低	37(62.7)
浸润深度	
T1-T2	20(33.9)
T3-T4	39(66.1)
区域淋巴结转移	
N0	24(40.7)
N1-N3	35(59.3)
TNM分期	
Ⅰ/Ⅱ	30(50.8)
Ⅲ/Ⅳ	29(49.2)

况下, 由两名病理科医生判定, 结果一致可判断为阳性.

1.2.3 免疫组织化学图像分析: 采用Image Pro Plus 6.0图像分析系统, 对采集细胞图像中细胞的染色结果进行系统性分析, 每个TNM分期随机选取10个不同的视野, 用平均光密度表示细胞中MMP-14染色强度.

统计学处理 资料采用SPSS18.0软件进行数据处理, MMP-14和COX-2与临床病理特征的关系采用χ^2检验. MMP-14和COX-2的相互关系采用Spearman秩相关分析. 不同TNM分期的平均光密度值以mean±SD表示, 数据比较采用方差分析. P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 MMP-14及COX-2在胃癌组织中的表达 MMP-14及COX-2在胃癌组织中的表达主要位于胞浆(图1). MMP-14及COX-2在胃癌组织中的阳性表达显著高于他们在癌旁正常胃组织中的表达(MMP-14: χ^2 = 21.009, P = 0.000; COX-2: χ^2 = 13.510, P = 0.000)(表2).

2.2 MMP-14及COX-2表达与胃癌临床病理特征的关系 肿瘤分化程度越低(χ^2 = 12.966, P = 0.000)、浸润越深(χ^2 = 8.088, P = 0. 004)、区域淋巴结转移越严重(χ^2 = 7.609, P = 0.006)、TNM分期越晚(χ^2 = 7.491, P = 0.006), 则MMP-14表达的阳性率越高; 浸润越深(χ^2 = 6.120, P = 0.013)、TNM分期越晚(χ^2 = 4.883, P = 0.027), 则COX-2表达的阳性率越高(表3).

2.3 MMP-14及COX-2表达的相关性 Spearman秩相关分析表明胃癌组织中MMP-14和COX-2表达具有显著正相关性(r = 0.391, P = 0.002)(表4).

2.4 MMP-14表达在胃癌不同TNM分期中的表达特点 MMP-14在胃癌组织中的表达主要位于胞浆, 但随着TNM分期的增加, 开始出现胞膜表达, 红色箭头为膜阳性, 免疫组织化学切片的平均光密度值统计分析显示, Ⅱ期222.64±6.73, Ⅲ期250.22±11.41, Ⅳ期295.63±6.88, 不同TNM分期的MMP-14表达强度具有显著差异(ANOVA: F = 73.233, P<0.01), 两两比较也具有显著差异(均数差分别为27.58、45.42、72.99, P<0.01)(图2).

3 讨论

COX是催化花生四烯酸转化成前列腺素过程中的一种重要限速酶类, COX-2作为最重要的亚型在大多数组织在生理状态下不表达, 但是在细胞因子、内毒素、肿瘤促进剂、癌基因等一些刺激物的作用下会迅速产生. 大量研究表明COX-2在胃癌组织中存在过度表达, 阳性率很高[6], 本实验胃癌组织中COX-2蛋白表达阳性率

表 2 MMP-14及COX-2在胃癌组织和正常胃组织中的表达 *n*(%)

组织类型	*n*	MMP-14表达			COX-2表达		
		阳性	χ^2值	*P*值	阳性	χ^2值	*P*值
正常组织	45	3(6.7)	21.009	0.000	6(13.3)	13.510	0.000
胃癌组织	59	30(50.8)			28(47.5)		

MMP-14: 基质金属蛋白酶-14; COX-2: 环氧合酶2.

表 3 MMP-14及COX-2表达与胃癌临床病理特征的关系 *n*(%)

临床病理特征	*n*	MMP-14表达			COX-2表达		
		阳性	χ^2值	*P*值	阳性	χ^2值	*P*值
分化程度			12.966	0.000		3.441	0.064
高、中	22	4(18.2)			7(31.8)		
低	37	26(70.3)			21(56.8)		
浸润深度			8.088	0.004		6.120	0.013
T1-T2	20	5(25.0)			5(25.0)		
T3-T4	39	25(64.1)			23(59.0)		
区域淋巴结转移			7.609	0.006		3.237	0.072
N0	24	7(29.2)			8(33.3)		
N1-N3	35	23(65.7)			20(57.1)		
TNM分期			7.491	0.006		4.883	0.027
Ⅰ/Ⅱ	30	10(33.3)			10(33.3)		
Ⅲ/Ⅳ	29	20(68.9)			18(62.1)		

MMP-14: 基质金属蛋白酶-14; COX-2: 环氧合酶2.

表 4 MMP-14及COX-2在胃癌组织中的Spearman秩相关分析

COX-2	MMP-14		合计	*r*值	*P*值
	阳性	阴性			
阳性	20	8	28		
阴性	10	21	31	0.391	0.002
合计	30	29	59		

MMP-14: 基质金属蛋白酶-14; COX-2: 环氧合酶2.

为47.5%, 这一结果与文献报道相近, 同时胃癌原发灶中COX-2的阳性表达与胃癌的浸润深度及TNM分期密切相关. 研究发现, COX-2过度表达可降低介导细胞间黏附的E-钙黏蛋白(E-cadherin)活性, 提高细胞与细胞外基质蛋白黏附能力, 增加肿瘤细胞的侵袭力, 相反使用COX-2抑制剂却能增加钙粘蛋白活性[7]. 与此同时, 在COX-2高表达的肿瘤细胞可伴有MMPs表达的显著增高, 并发现其转移侵袭活性较不伴有MMPs表达者增强[8].

MMPs的高表达也和多种肿瘤的发生发展密切相关[9-11], MMP-14是其重要成员, 又称膜型基质金属蛋白酶-1(MT1-MMP), 他可以通过激活MMP-2来降解细胞外基质的成分, 包括各种胶原、蛋白多糖和糖蛋白等, 参与肿瘤进展过程中的多种生物事件, 比如肿瘤细胞的浸润、侵袭和转移[12]. 国内江州华等[13]报道, MMP-14在胃癌组织中有很高的阳性表达率, 并且MMP-14表达阳性组与阴性组相比具有更高的淋巴结转移率. 国外的研究[14]表明胃癌细胞中MMP-14表达下调后发生转移的概率降低, 侵袭性高、血管生成能力强的胃癌细胞MMP-14的表达明显升高. 我们的实验结果也表明, 胃癌原发灶中MMP-14的阳性表达与胃癌的分化程度、浸润深度、区域淋巴结转移、TNM分期存在着一定关系. MMP-14在肿瘤细胞的侵袭转移过程中, 与细胞外基质相互作用, 会逐渐向侵入性伪足处聚集, 该伪足处富含肌动蛋白调节蛋白、黏附分子和水解酶, 是水解基质的关键部位[15]. 我们的实验结果表明随着TNM分期增加,

■创新盘点

已有研究证实COX-2高表达的肿瘤细胞可伴有MMPs表达的显著增高. 目前关于MMP-14和COX-2在胃癌侵袭转移机制中的研究尚未见报道. 我们的研究证实了胃癌组织中存在COX-2、MMP-14的高表达且呈正相关关系, MMP-14和COX-2的蛋白表达与胃癌浸润深度、TNM分期相关, 并且随着TNM分期的增加, MMP-14表达增加且有从胞浆向胞膜转位的趋势.

■应用要点

COX-2促进胃癌浸润、转移的途径之一可能是通过诱导MMPs的释放, 尤其是MMP-14表达上调而增加胃癌的侵袭力. 依据本实验的研究结果, 对COX-2和MMP-14的深入研究有助于进一步揭示胃癌的发生发展机制, 并对胃癌的诊治提供依据.

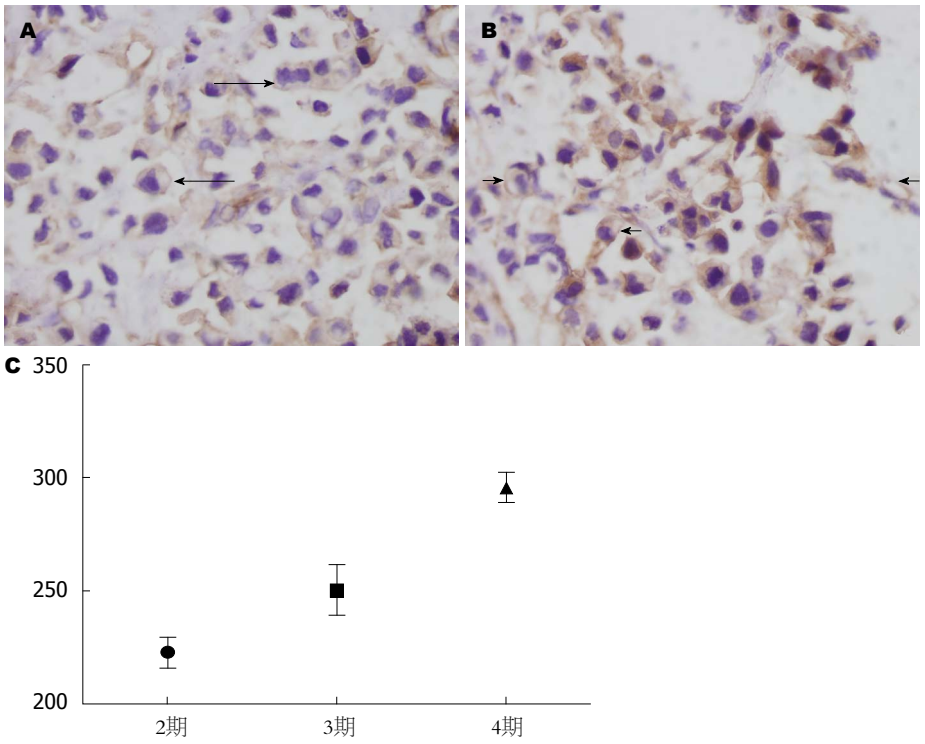


图 2 不同TNM分期中MMP-14的免疫组织化学染色结果及平均光密度值. A: Ⅲ期免疫组织化学染色(×400); B: Ⅳ期免疫组织化学染色(×400); C: 平均光密度值. MMP-14: 基质金属蛋白酶-14; COX-2: 环氧合酶2.

MMP-14表达增加并开始出现膜阳性, 这不仅提示我们侵袭性强的胃癌细胞MMP-14表达水平高于侵袭性弱的胃癌细胞, 而且MMP-14在胞内确实存在某种转运机制, 使MMP-14逐渐向胞膜定向移动, 参与肿瘤入侵.

为了进一步探讨COX-2是通过何种途径促进肿瘤的浸润、转移及其与MMP-14之间的相互关系, 本实验观察了59例胃癌组织中COX-2及MMP-14蛋白的表达, 结果表明胃癌组织中COX-2及MMP-14高表达之间呈正相关关系(r = 0.391, P<0.01), 因此这可能提示COX-2可能通过促进MMPs表达上调, 尤其是MMP-14的表达显著增高可能成为其促进肿瘤细胞的浸润、转移的可能途径之一. Hu等[16]研究发现, 在乳腺癌中COX-2的过度表达可以上调MMP-14的表达, 而用COX-2抑制剂塞来昔布作用肿瘤细胞后, 细胞的侵袭能力相对于对照组明显降低. Annabi等[17]在恶性胶质瘤细胞中发现, NF-κB介导的COX-2的表达可能是MMP-14的一个重要调控点, 两者之间存在着一定的相互作用关系. 而Akla等[18]在间充质干细胞中也同样证实了COX-2可通过调控MMP-14参与细胞内的各种炎症反应的发生. 这也再次证实了COX-2和MMP-14之间确实存在着某种关联, 但是二者之间存在的确切分子机制尚有待于进一步的研究.

总之, 胃癌组织中存在COX-2、MMP-14的高表达, 且两者之间的表达强度呈正相关, COX-2促进胃癌浸润、转移的途径之一可能是通过诱导MMPs的释放, 尤其是MMP-14表达上调而增加胃癌的侵袭力. 因此阐明COX-2和MMP-14在胃癌侵袭和转移中的作用显得十分重要, 对COX-2和MMP-14的深入研究有助于进一步揭示胃癌的发病机制, 并对胃癌的诊治提供依据.

4 参考文献

1 Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 69-90 [PMID: 21296855 DOI: 10.3322/caac.20107]

2 Lin Y, Ueda J, Kikuchi S, Totsuka Y, Wei WQ, Qiao YL, Inoue M. Comparative epidemiology of gastric cancer between Japan and China. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 4421-4428 [PMID: 22110269 DOI: 10.3748/wjg.v17.i39.4421]

3 Shi F, Sottile J. MT1-MMP regulates the turnover and endocytosis of extracellular matrix fibronectin. *J Cell Sci* 2011; 124: 4039-4050 [PMID: 22159414 DOI: 10.1242/jcs.087858]

4 Curran S, Murray GI. Matrix metalloproteinases: molecular aspects of their roles in tumour invasion and metastasis. *Eur J Cancer* 2000; 36: 1621-1630 [PMID: 10959048 DOI: 10.1016/S0959-8049(00)00156-8]

5 Cheng J, Fan XM. Role of cyclooxygenase-2 in gastric cancer development and progression. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 7361-7368 [PMID: 24259966 DOI: 10.3748/wjg.v19.i42.7361]
6 Almeida PR, Ferreira FV, Santos CC, Rocha-Filho FD, Feitosa RR, Falcão EA, Cavada BK, Lima-Júnior RC, Ribeiro RA. Immunoexpression of cyclooxygenase-2 in primary gastric carcinomas and lymph node metastases. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 778-784 [PMID: 22371637 DOI: 10.3748/wjg.v18.i8.778]
7 Rao DS, Gui D, Koski ME, Popoviciu LM, Wang H, Reiter RE, Said JW. An inverse relation between COX-2 and E-cadherin expression correlates with aggressive histologic features in prostate cancer. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2006; 14: 375-383 [PMID: 17122632 DOI: 10.1097/01.pai.0000210417.61117.6c]
8 Dicken BJ, Graham K, Hamilton SM, Andrews S, Lai R, Listgarten J, Jhangri GS, Saunders LD, Damaraju S, Cass C. Lymphovascular invasion is associated with poor survival in gastric cancer: an application of gene-expression and tissue array techniques. *Ann Surg* 2006; 243: 64-73 [PMID: 16371738 DOI: 10.1097/01.sla.0000194087.96582.3e]
9 Aalinkeel R, Nair BB, Reynolds JL, Sykes DE, Mahajan SD, Chadha KC, Schwartz SA. Overexpression of MMP-9 contributes to invasiveness of prostate cancer cell line LNCaP. *Immunol Invest* 2011; 40: 447-464 [PMID: 21391788 DOI: 10.3109/08820139.2011.557795]
10 Kumar B, Koul S, Petersen J, Khandrika L, Hwa JS, Meacham RB, Wilson S, Koul HK. p38 mitogen-activated protein kinase-driven MAPKAPK2 regulates invasion of bladder cancer by modulation of MMP-2 and MMP-9 activity. *Cancer Res* 2010; 70: 832-841 [PMID: 20068172 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-09-2918]
11 Joergensen MT, Brünner N, De Muckadell OB. Comparison of circulating MMP-9, TIMP-1 and CA19-9 in the detection of pancreatic cancer. *Anticancer Res* 2010; 30: 587-592 [PMID: 20332475]
12 Zarrabi K, Dufour A, Li J, Kuscu C, Pulkoski-Gross A, Zhi J, Hu Y, Sampson NS, Zucker S, Cao J. Inhibition of matrix metalloproteinase 14 (MMP-14)-mediated cancer cell migration. *J Biol Chem* 2011; 286: 33167-33177 [PMID: 21795678 DOI: 10.1074/jbc.M111.256644]
13 江州华, 吴生华, 李小强, 俞继卫, 姜波健. Wnt5a、MMP2和MMP14在胃癌中的表达及其对临床病理特征的影响. 中国普外基础与临床杂志 2010; 17: 1077-1082
14 Zheng L, Li D, Xiang X, Tong L, Qi M, Pu J, Huang K, Tong Q. Methyl jasmonate abolishes the migration, invasion and angiogenesis of gastric cancer cells through down-regulation of matrix metalloproteinase 14. *BMC Cancer* 2013; 13: 74 [PMID: 23394613 DOI: 10.1186/1471-2407-13-74]
15 Poincloux R, Lizárraga F, Chavrier P. Matrix invasion by tumour cells: a focus on MT1-MMP trafficking to invadopodia. *J Cell Sci* 2009; 122: 3015-3024 [PMID: 19692588 DOI: 10.1242/jcs.034561]
16 Hu M, Peluffo G, Chen H, Gelman R, Schnitt S, Polyak K. Role of COX-2 in epithelial-stromal cell interactions and progression of ductal carcinoma in situ of the breast. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; 106: 3372-3377 [PMID: 19218449 DOI: 10.1073/pnas.0813306106]
17 Annabi B, Laflamme C, Sina A, Lachambre MP, Béliveau R. A MT1-MMP/NF-kappaB signaling axis as a checkpoint controller of COX-2 expression in CD133+ U87 glioblastoma cells. *J Neuroinflammation* 2009; 6: 8 [PMID: 19272160 DOI: 10.1186/1742-2094-6-8]
18 Akla N, Pratt J, Annabi B. Concanavalin-A triggers inflammatory response through JAK/STAT3 signalling and modulates MT1-MMP regulation of COX-2 in mesenchymal stromal cells. *Exp Cell Res* 2012; 318: 2498-2506 [PMID: 22971618 DOI: 10.1016/j.yexcr.2012.08.003]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

■同行评价
本文选题新颖, 统计合理, 方法科学, 结论可靠, 具有一定指导意义.

世界华人消化杂志 2014年6月8日; 22(16): 2306-2316
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

中国人群乙型肝炎病毒基因分型不同方法和标准的比较

李可可, 刘 莹, 姚品芳, 陈 真, 王 红, 李 劲

■背景资料
依据乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)的全基因组序列或者S区同源性可将HBV分为了A-I九种基因型. 我国的乙型肝炎主要有B、C、D 3种基因型. 并且基因分型还可进一步分到亚型.

李可可, 刘莹, 王红, 李劲, 中南民族大学生命科学学院 湖北省武汉市 430074
姚品芳, 陈真, 湖北省肿瘤医院 湖北省武汉市 430079
李可可, 主要从事分子病毒学的研究.
武汉市科技计划基金资助项目, No. 2013060501010152
作者贡献分布: 李可可与李劲对此文所作贡献均等, 主要负责课题的设计、实验的实施、数据的分析、文献的查找及论文的撰写; 参与研究过程的还有刘莹、姚品芳、陈真及王红.
通讯作者: 李劲, 副教授, 博士, 430074, 湖北省武汉市洪山区民族大道182号, 中南民族大学生命科学学院.
3027007@mail.scuec.edu.cn
电话: 027-67843181
收稿日期: 2014-03-05 修回日期: 2014-04-14
接受日期: 2014-04-24 在线出版日期: 2014-06-08

Comparison of different genotyping methods for hepatitis B virus in a Chinese population

Ke-Ke Li, Ying Liu, Pin-Fang Yao, Zhen Chen, Hong Wang, Jin Li

Ke-Ke Li, Ying Liu, Hong Wang, Jin Li, College of Life Science, South-Central University for Nationalities, Wuhan 430074, Hubei Province, China
Pin-Fang Yao, Zhen Chen, Cancer Institute, Hubei Cancer Hospital, Wuhan 430079, Hubei Province, China
Supported by: the Wuhan Science and Technology Program, No. 2013060501010152
Correspondence to: Jin Li, Associate Professor, College of Life Science, South-Central University for Nationalities, 182 Minzu Avenue, Hongshan District, Wuhan 430074, Hubei Province, China. 3027007@mail.scuec.edu.cn
Received: 2014-03-05 Revised: 2014-04-14
Accepted: 2014-04-24 Published online: 2014-06-08

Abstract

AIM: To genotype hepatitis B virus (HBV) in college students who tested positive HBsAg, HBeAg, and HBcAb using three different methods and compare the advantages and disadvantages of these genotyping methods.

METHODS: According to the specificity of HBV-S, polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) or direct genotyping based on the length of PCR amplified fragment were used for HBV genotyping. By means of homology alignment of 220 items of HBV-S gene sequences with HBV-B/C/D type identified in NCBI database, a molecular evolutionary tree as a genotyping standard has been constructed. The test samples were genotyped by carrying out HBV-S gene PCR amplification, sequencing, alignment and constructing an HBV-S region evolutionary tree together with the standard phylogenic tree.

RESULTS: In a total of 216 HBV positive samples, the genotyping result of PCR-RFLP was: genotype B, 155; genotype C, 41; genotype D, 7; Unknown, 13. Of these unknown cases, 10 were identified as genotype C by the direct genotyping method based on the length of PCR amplified fragment, and 3 were still determined. The genotyping results for 30 selected samples were substantially different between the method of the sequencing-evolutionary tree and PCR-RFLP. Three cases of HBV genotype G, which come from the men of Zhuang and Yao nationalities in Guangxi, were first discovered in China using the sequencing-evolutionary tree method.

CONCLUSION: The three genotyping methods have different advantages and disadvantages: PCR-RFLP can distinguish between sub-genotypes, but can not distinguish C2 and D2; direct genotyping method based on PCR amplified fragment size is simple and direct, but its accuracy and specificity are not high; the sequencing-evolutionary tree method is accurate and specific, representing a "golden" standard for HBV genotyping.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: HBV genotyping; PCR-RFLP; Evolutionary tree

Li KK, Liu Y, Yao PF, Chen Z, Wang H, Li J. Comparison of different genotyping methods for hepatitis B virus in a Chinese population. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(16): 2306-2316 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2306.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i16.2306

摘要

目的: 将来自中国不同地区不同民族乙型肝

■同行评议者
吴君, 主任医师, 贵阳医学院附属医院感染科

炎检测“大三阳”学生的外周血乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)进行基因分型并探讨不同方法对HBV基因分型的效果进行比较, 建立较为客观精确的HBV基因分子分型方法和标准.

方法: 反映HBV-S区的型特异性的聚合酶链式反应-限制性酶切片断长度多态性(polymerase chain reaction- restriction fragment length polymorphism, PCR-RFLP)方法进行基因分型; 依据HBV-S区的型特异性的PCR扩增片段大小直接进行分型; 通过对NCBI数据库中共计220个条目已确认B、C、D型的HBV-S基因DNA序列的同源性比对, 构建一个以HBV的S区DNA序列分子进化树为基础的基因分型标准. 对待检样品S区的PCR产物进行DNA测序并与标准进化树的DNA序列进行比对并重新构建进化树而进行HBV基因分型.

结果: 在共计216例乙型肝炎检测“大三阳”(乙型肝炎两对半检查中, HBsAg、HBeAg和HBcAb均为阳性)样品中, 第1种分型方法鉴定出: B型155例、C型41例、D型7例, 尚有13例不能确定是C型还是D型. 进一步经第2种分型方法确认其中10例未分型的均为C型, 余3例不能确定是C型还是D型. 经测序、比对及构建分子进化树, 测序的30例中与PCR-RFLP分型特别是亚型的结论多不相同. 并且首次在国内发现3例HBV-G型(为广西壮族和瑶族男性).

结论: 3种方法比较各有优劣. PCR-RFLP法较为精细可以分到亚型, 但该法的缺陷是不能区分C2型和D2型. 根据PCR片段直接分型法较为快捷简便, 但引物特异性不高, 分型不准确. 将待检HBV-S基因DNA序列导入标准进化树的分型方法较为准确客观, 是HBV基因分型的“金标准”. 但针对HBV的普遍变异和种群异质性, 需要建立HBV-S的蛋白分型标准.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 乙型肝炎病毒基因分型; PCR-RFLP; 进化树

核心提示: 为选择合适乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)基因分型方法, 分别用针对HBV-S区基因的聚合酶链式反应-限制性酶切片断长度多态性(polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism)法、型特异性PCR片段直接法和DNA测序结合标准进化树法进行基因分型. 因HBV的普遍变异和种群异质性, 需建立HBV-S的蛋白分型标准. 以期确立客观、精确、简便的HBV分型方法.

李可可, 刘莹, 姚品芳, 陈真, 王红, 李劲. 中国人群乙型肝炎病毒基因分型不同方法和标准的比较. 世界华人消化杂志 2014; 22(16): 2306-2316 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2306.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i16.2306

■**研发前沿**
目前的研究显示, 不同基因型HBV在流行病学特征、病毒变异、疾病表现和治疗应答等方面均存在着差异, 故HBV的基因分型有着重要的意义, 探索更为精确的HBV基因分型的方法也就至关重要.

0 引言

病毒性乙型肝炎是由乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)的感染引起的, 是一种流行范围广、危害程度大的世界性传染病. 据WHO报道, 全球60亿人口中, 约20亿人曾感染过HBV, 其中3.5亿例是慢性HBV感染者, 在感染乙型肝炎的患者中约1/4数量的患者将产生慢性肝炎、肝硬化和原发性肝细胞癌, 全球层面上统计, 每年大约有100万例死于感染HBV后继发导致的肝脏衰竭、肝硬化和原发性肝癌及其并发症, 如肝源性糖尿病、心血管病变等[1-5]. 与世界上其他国家相比, 在我国乙型肝炎感染率属全球第1位, 根据1992年乙型肝炎血清流行病调查数据显示, 一般人群乙型肝炎病毒表面抗原携带率曾高达9.75%, 2006年乙型肝炎血清流行病学的数据降为7.18%[6]. 在传统血清免疫学检测中, HBV的分型主要取决于外膜蛋白HBsAg的抗原性不同. 1988年Okamoto等[7]通过对18株不同亚型的HBV DNA全序列比较后发现, 血清亚型的区分并不能真正反映HBV基因组的差异. 随后的研究证明, HBV基因型比血清型更具有更广泛的应用价值. Norder等[8]通过对HBV全序列分析发现, 在不同基因型之间S区段异质性最大, 而相同基因型内S区段的异质性最小, 从而可以用S区代替全序列进行基因分型. 因此依据HBV的全基因组序列或者S区同源性将HBV分为了A-I 9种基因型. HBV的基因型是由漫长持续的病毒突变和宿主的不断筛选累积形成的结果. HBV基因型的分布与地域和种族呈明显的正相关性[9,10]. 我国的乙型肝炎主要有B、C、D 3种型别[11]. 南方地区B型占优势[12], 北方则以C型为主[13], 西藏地区以D型为主[14]. 目前的研究显示, 不同基因型HBV在流行病学特征、病毒变异、疾病表现和治疗应答等方面均存在着差异, HBV的基因分型研究对进一步明确乙型肝炎发病机制、提高检测效率、寻找治疗对策和实现流行病学控制具有非常重要的意义[15,16]. 为

■相关报道
Norder等通过对HBV全序列分析发现, 在不同基因型之间S区段异质性最大, 而相同基因型内S区段的异质性最小, 从而可以用S区代替全序列进行基因分型.

表 1 乙型肝炎病毒分型限制酶的选择

HBV基因型	HBV亚型	酶切片段大小(bp)			
		Bsr Ⅰ	*Sty* Ⅰ	*Dpn* Ⅰ	*Hpa* Ⅱ
B	B1	126, 459	585	289, 296	585
	B2	126, 184, 275	585	289, 296	585
C	C1	585	253, 332	585	585
	C2	585	585	585	585
D	D1	585	585	289, 296	585
	D2	585	585	585	585
	D3	300, 285	585	585	585

HBV: 乙型肝炎病毒.

比较和选择合适的HBV基因分型方法, 我们分别采用了针对HBV-S区基因的聚合酶链式反应-限制性酶切片断长度多态性(polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism, PCR-RFLP)法、型特异性PCR片段直接分型法和DNA测序结合标准进化树法进行基因分型. 由于HBV的普遍变异和种群异质性, 需要建立HBV-S的蛋白分型标准. 通过对上述分型方法的全面比较, 以期确立客观、精确、简便的HBV分型方法.

1 材料和方法

1.1 材料 血样来源: 某高校来自广西、湖南、广东、湖北、云南、福建、山西、山东、重庆、四川、江西、吉林、宁夏、黑龙江、浙江、贵州、江苏17个省市的不同民族大学生检测为乙型肝炎大三阳的血样共216例. 其中汉族107例、壮族36例、瑶族13例、畲族11例、回族10例、土家族8例、苗族8例、黎族4例、蒙古族2例、布依族2例、侗族2例、仫佬族2例、彝族2例、满族2例、仫佬族1例、朝鲜族1例、白族1例、土族2例、东乡族1例、毛南族1例. 男女比例为114∶102(1.117∶1).

1.2 方法

1.2.1 HBV的DNA提取: 直接煮沸法[17], 50 μL血清直接煮沸10 min, 12000 r/min离心5 min, 取上清备用.

1.2.2 PCR-RFLP: 经巢式PCR[18]扩增出585 bp的DNA片段, 然后按照表1中*Bsr* Ⅰ→*Sty* Ⅰ→*Dpn* Ⅰ→*Hpa* Ⅱ的顺序进行酶切. Outer primer: PrsS2(sense, 2820-2837 nt, 5'-GGGACACCATATTCTTGG-3'), S1R(antisense, 842-821 nt, 5'-TTAGGGTTTAAATGTATACCCA-3'); Inner primer: YS1(sense, 203-221 nt, 5'-GCGGGGTTTTTCTTGTTGA-3'), YS2(antisense, 787-767 nt, 5'-GGGACTCAAGATGTTGTACAG-3'). 第1次PCR: PCR反应混合液Ⅰ: 15.5 μL ddH_2O, 2.5 μL 10×Taq buffer, 1.5 μL dNTP(1 mmol/L), 0.5 μL PrsS2-S(1 nmol)和0.5 μL S1R-AS(1 nmol), 1.5 μL Taq酶(0.25 U), 3 μL HBV DNA提取液. 循环参数为: 94 ℃预变性300 s, 94 ℃变性45 s、58 ℃退火60 s、72 ℃延伸45 s, 扩增30个循环, 72 ℃终延伸300 s; 第2次PCR: PCR反应混合液Ⅱ: 15.5 μL ddH_2O, 2.5 μL 10×Taq buffer, 1.5 μL dNTP(1 mmol/L), 0.5 μL YS1-S(1 nmol)和0.5 μL YS2-AS(1 nmol), 1.5 μL Taq酶(0.25 U). DNA: 取第1次PCR产物3 μL加入到上述PCR混合液Ⅱ中, 配成25 μLPCR体系, 混匀, 10000 r/min瞬时离心. PCR循环参数为: 94 ℃预变性300 s, 94 ℃变性45s、58 ℃退火60 s、72 ℃延伸45 s, 扩增30个循环, 72 ℃终延伸300 s.

1.2.3 依据HBV-S区的型特异性PCR片段直接分型法进行分型: 利用3'端的差异来设计相对应的引物利用扩增片段的长度来区分B、C、D型[19]. 其中B型引物为N1(S): 5'-GCCTCCAAGCTGTGCCTTG-3'(1868-1886 nt), N1(A): 5'-GGGGCCCCACAAATTGCTT-3'(2601-2583 nt); C、D型引物: N2(S): 5'-CCTGCTGGTGGCTCCAGT-3'(56-73 nt), C: N2(A): 5'-CGAATTTTGGCCAGGACAAGT-3'(313-293 nt), D: N2(A): 5'-TGTGATCTTGTGGCAATGACCCAT-3'(922-899 nt). B型产物为734 bp, C型产物为258 bp, D型产物为867 bp. PCR反应体系: 17.5 μL ddH_2O, 2.5 μL 10×Taq buffer, 1.5 μL dNTP(1 mmol/L), 0.5 μL正向引物(10 μmol/L)和

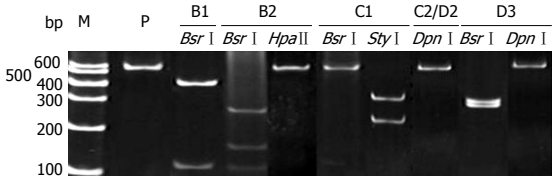


图 1 不同基因型酶切结果. P: PCR产物片段; B1/*Bsr* Ⅰ: B1型样品的*Bsr* Ⅰ酶切结果; B2/*Bsr* Ⅰ, *Hpa* Ⅱ: B2型样品分别用*Bsr* Ⅰ、*Hpa* Ⅱ酶切结果; C1/*Bsr* Ⅰ, *Sty* Ⅰ: C1样品分别用*Bsr* Ⅰ、*Sty* Ⅰ酶切结果; C2(D2)/*Dpn* Ⅰ: C2或D2样品的*Dpn* Ⅰ酶切结果; D3/*Bsr* Ⅰ, *Dpn* Ⅰ: D3样品分别用*Bsr* Ⅰ、*Dpn* Ⅰ酶切结果.

0.5 μL反向引物(10 μmol/L), 1.5 μL Taq酶(0.25 U), 1 μL HBV DNA模板. PCR反应程序: 94 ℃预变性300 s; 94 ℃变性60 s; (B型)68 ℃退火60 s, (C型)68 ℃退火60 s, (D型)55 ℃退火60 s; 72 ℃ 45 s; 扩增30个循环; 72 ℃终延伸300 s.

1.2.4 改良的型特异PCR片段直接分型法: 依据序列比对结果寻找HBV-S基因保守区的B、C、D碱基差异设计区分B、C、D型的引物, 利用嵌套PCR设计的引物: 长片段引物: sense: 5'-ACCGAATTCCCCTATCTTATCAACACTTCC-3' (2302-2331 nt), antisense: (969-998 nt)5'-ATTCGTCGACATACTTTCCAATCAATAGG-3', 全长1912 bp. B引物: sense: (2925-2946 nt)5'-CGATCATCAGTTGGACCCTGCA-3', antisense: (321-345 nt)5'-CAGGTTGGTGAGTGACTGGAGATTT-3', 总长: 635 bp; C引物: sense: (2926-2946 nt)5'-GATCACCAGTTGGACCCTGCG-3', antisense: (321-345 nt)5'-GAGGTTGGTGAGTGATTGGAGGTTG-3', 总长: 635 bp; D引物: sense: (2743-2767 nt)5'-ATTATTTACACACTCTATGGAAGGC-3', antisense: (3054-3071 nt)5'-CTGAGGGCTCCACCCCAA-3', D型总长311 bp, 而B、C型则为344 bp.

1.2.5 DNA测序-构建进化树法: (1)构建进化树标准: 在NCBI数据库中查询和下载已经确定分型及亚型的HBV的B、C、D型DNA全序列, 截取HBV-S区序列(31-1200 nt)利用Clustal-X软件进行序列比对, 再利用MEGA-5软件构建进化树, 并作为HBV基因分型的标准. 本实验室在NCBI数据库中下载已确定分型的HBV-B、C、D型各亚型的共计220条基因序列(表2). 其中B型(B1、B2、B3、B4、B6、B7); C型(C1、C2、C3、C4、C5、C6、C11、C12); D型(D1、D2、D3、D4、D5、D7). 还包括美国国家生物技术信息中心(NCBI)网页提供的HBV基因分型工具(http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/genotyping/formpagex.cgi)中的B、C、D、G四型共12条标准基因序列; (2)测序采用S区的PCR产物, 测序引物为5'-GCAACGGGGTAAAGGTTCA-3'(1136-1154 nt), 其中共测序30例, 将其DNA序列或氨基酸序列和B、C、D、G型标准DNA序列或氨基酸序列分别用Clustal-X软件进行序列比对, 并用MEGA-5软件构建进化树. 检查其分型情况; (3)血清型: 根据S基因编码第122位氨基酸(d/y亚型决定簇): 赖氨酸(AAA, d)或精氨酸(AGA, y); 及第160位氨基酸(w/r亚型决定簇): 赖氨酸(w)或精氨酸(r)[20].

2 结果

2.1 PCR-RFLP结果 按照表1酶切顺序进行酶切: 如图1所示的待分型样品PCR产物首先用*Bsr* Ⅰ酶切, 若可以切成126、459 bp, 则为B1型; 若可以切成300, 285 bp, 且用*Hpa* Ⅱ不能切开则为D3型; 若切成126、184、275 bp; 且用*Hpa* Ⅱ不能切开, 则为B2型. 若不能被*Bsr* Ⅰ酶切开的, 用*Sty* Ⅰ酶进行酶切, 可以切成253、332 bp, 则为C1型. 若用4种酶都不能切开的则认为是C2或D2型. 分型结果: B1型151例(汉族78例、壮族17例、瑶族11例、畲族10例、苗族6例、回族例6、土家族8例、布依族2例、东乡族1例、毛南族1例、仡佬族1例、彝族2例、黎族1例、侗族2例、蒙古族1例、白族1例、满族2例、仫佬族1例); B2型4例(汉族3例、壮族1例); C1型41例(汉族20例、壮族12例、黎族2例、回族2例、蒙古族1例、畲族1例、朝鲜族1例、仡佬族1例、土族1例); D3型7例(汉族4例、壮族2例、黎族1例); C2或D2型13例(汉族2例、壮族4例、瑶族2例、回族2例、土族1例、苗族2例), 其中13例是该方法自身的缺陷即C2和D2酶切结果相同, 故不能区分C2和D2.

2.2 依据HBV-S区的型特异性PCR片段直接分型法进行分型的实验结果 第1种方法未确定C2或是D2基因型的13例, 通过分别用C型和D型引物进行扩增, 用C引物能扩增出258 bp目的片段为C型; 能用D引物扩增出867 bp目的片段的为D型. 如图2所示, 虽然样品3、4、5、6、8、16号可以判断是C型, 样品2、7、10、11、12号按照C引物PCR结果可以判断是C型, 但D引物PCR结果没有其特异带型, 但是有杂带, 也可确定是C型. 样品9、15号不能判断是哪种基因型.

■创新盘点

样品HBV-S基因测序后与一定数量的HBV标准型序列进行序列比对并一同构建进化树的HBV分型方法较为准确和客观, 但在HBV亚型的区分上需要以更精确的HBV蛋白分型方法对其进行校对核准和修改补充. 由于HBV基因组成的不断变异和个体内病毒种群的平衡改变, 还需要不断地完善HBV的分型系统、标准和方法. 首次在国内发现3例HBV-G基因型(来源为广西壮族和瑶族男性).

■应用要点

本研究构建的HBV标准进化树可作为HBV基因分型和亚型的标准. 其分型方法可在正规医院推广临床应用. 依据HBV-S基因测序推定的S-Ag氨基酸序列进行HBV蛋白分型更能反映HBV的特性, 其与HBV的活性和感染力、乙型肝炎病程、预后及治疗应答的关联应该更直接.

表 2 NCBI数据库中HBV-B、C、D各亚型的全基因组ID号

基因型	全基因组ID号
B1(5)	AB602818; AB642091; AB642093; AB642098; AB642101
B2(9)	GQ924653; GQ924610; GQ924608; GQ924603; GQ377569; GQ377558; GQ377547; AB642094; AB555498
B3(10)	GQ358136; GQ924617; GQ924621; GQ924625; GQ924628; GQ924637; GQ924638; GQ924639; GQ924654; GQ924656
B4(7)	AB368295; FJ023632; FJ023633; FJ023634; FJ023635; FJ023636; GQ924626
B6(7)	AB287314; AB287316; AB287318; AB287320; AB287323; DQ463787; DQ463789
B7(13)	AP011088; AP011090; AP011091; AP011092; EF473976; EF473977; GQ358137; GQ358138; GQ358139; GQ358140; GQ358141; GQ358142; GQ358143
C1(15)	GQ377536; GQ924604; GQ924609; GQ924612; GQ924613; GQ924615; GQ924616; GQ924618; GQ924629; GQ924636; GQ924642; GQ924643; GQ924649; GQ924650; GQ924655
C2(42)	EU939538; EU939540; EU939616; EU939652: FJ386575; FJ386576; FJ386587; FJ386588; Fj386609; FJ386639; FJ562218; Fj562232; FJ562233; FJ562244; FJ562282; FJ562318; FJ562332; FJ787464; FJ787465; FJ899761; GQ377514; GQ377517; GQ377523; GQ377527; GQ377528; GQ377531; GQ377533; GQ377535; GQ377540; GQ377551; GQ377553; GQ377554; GQ377559; GQ377563; GQ377572; GQ377576; GQ377598; GQ377600; GQ377611; GQ377616; GQ377617; GQ924633
C3(4)	FJ621762; FJ622627; X75656; X75665
C4(2)	AB048704; AB048705
C5(12)	AB241110; AB241111; AB241113; EU410079; EU410080; EU410081; GQ924620; GQ924622; GQ924657; AP011099; AP011100; AP011101
C6(4)	AB554014; AB554021; AP011102; AP011103
C11(2)	AB554019; AB554020
C12(4)	AB554018; AB554025; AB560661; AB560662
D1(11)	AF280817; EU594396; EU594397; FJ904443; GQ377589; GU456648; JF754591; JF754596; JF754601; JF754624; JF754628
D2(29)	AB330370; EU594399; EU594400; EU594401; EU594402; EU594403; EU594405; EU594406; EU594407; EU594408; EU594409; EU594410; EU594415; EU594416; EU594421; EU594422; EU594423; EU594424; EU594425; EU594426; EU594427; EU594428; EU594430; EU594431; EU594432; EU594433; GU456635; JF754597; JF754621
D3(13)	AB583679; DQ315776; EU594382; EU594434; EU594435; EU594436; FJ692506; FJ692507; GQ922001; GQ922002; HQ236014; HQ236015; HQ236016
D4(6)	FJ692532; FJ692533; FJ692536; GQ922003; GQ922004; GQ922005
D5(9)	GQ205377; GQ205378; GQ205379; GQ205380; GQ205382; GQ205384; GQ205385; GQ205387; GQ205389
D7(16)	FJ904447; FJ904441; FJ904440; FJ904438; FJ904435; FJ904433; FJ904419; FJ904413; FJ904408; FJ904407; FJ904406; FJ904404; FJ904403; FJ904398; FJ904396; FJ904394;
NCBI标准型	B: AF100309; D00329; AB033554 C: AB014381; M12906; X04615 D: X65259; M32138; X85254 G: AF160501; AF405706; AB064310

HBV: 乙型肝炎病毒.

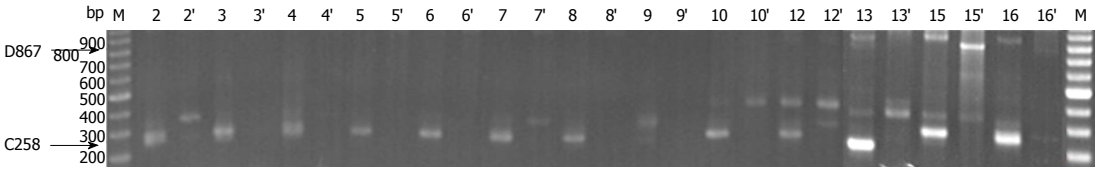


图 2 第1种方法未能分型的13例. 样品2、3、4、5、6、7、8、9、10、12、13、15、16分别在C(样品号)、D引物(样品号')作用下的PCR结果.

2.3 改良的型特异性PCR法 同样的HBV DNA提取液分别用B引物、C引物扩增. 在相对应的引

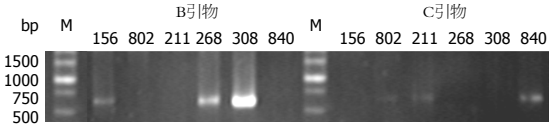


图 3 相同DNA模板样品号为156、802、211、268、308、840的B型和C型引物PCR结果.

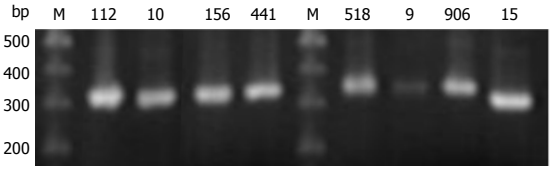


图 4 样品号112、10、156、441、518、9、906、15的DNA模板的D型引物PCR结果.

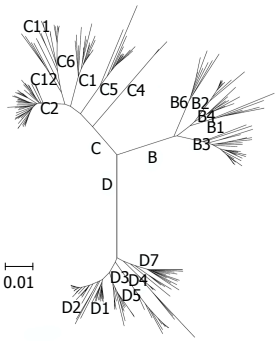


图 5 HBV的B、C、D基因型标准进化树. 详细分布可由表2各基因DNA序列导入Mega5获得.

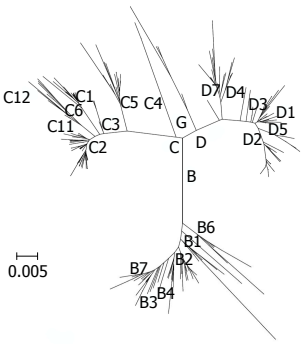


图 6 DNA测序HBV基因分型结果. 详细分布可由表2各基因和待测DNA序列导入Mega5获得.

物下可以扩增出来635 bp, 并且在另一种引物扩增下不能扩增出635 bp的便是相应引物的基因型. 如图3所示, 样品156、268、308号是在B引物的扩增下可以扩增出635 bp, 样品802、211、842号未扩增出目的产物, 故样品156、268、308号是B型; 而在C引物的扩增下样品802、211、842号可以扩增出635 bp, 样品156、268、308号未扩增出目的产物, 故样品802、211、842号是C型. HBV DNA提取液可利用C型和D型引物扩增得到不同大小的片段: C型扩增产物为344 bp, D型扩增产物为311 bp. 如图4所示, 样品号为112、10、156、441、518、9、906的DNA提取液的D引物PCR扩增片段为344 bp, 故他们为C型; 样品号为15 的DNA提取液的D引物PCR扩增片段为311 bp, 样品15号为D型.

2.4 构建进化树的结果(为径向图, 分枝树状图未列出) 标准进化树如图5所示. 测序产物和标准序列进行比对后构建进化树, 测序产物依照碱基序列的相似度进行聚类(图6), 依据归类到相应的标准基因型或亚型判断测序产物的分型. 如图7所示, 样品441、156、918、931、268、308、1229、786号为DNA测序后代入标准进化树, 被分为B2型. 如图8所示, 样品211、10号为C1型; 样品2、5、6、7、12、13、836、840、1129、802号为C2型; 样品8、865、4、1093号为C5型; 样品3号为C型. 如图9所示, 样品15号为D3型, 样品518、9、906号为G型. 由表3和表4可以看出, PCR-RFLP法和型特异PCR片段直接法的HBV分型(特别是亚型分类)的准确性与视为“金标准”的HBV-S测序法基因分型的差异很大; 基于DNA序列比对而构建进化树的HBV-S-Ag的基因分型与依据同样HBV-S基因序列推定的S-Ag氨基酸序列进行比对而构建进化树的HBV-S-Ag蛋白分型(分型进化树未列出)相比较, 两者在大型分类上大体一致, 而在亚型分类上区别明显. 其中, 通过与NCBI提供的网上分型工具中的B、C、G标准DNA序列(B-D00329、C-AB014381和G-AB064310)比对发现: 样品号为802的病例因为S基因编码区第4位的碱基缺失G导致三联密码移框和第9位的氨基酸密码转变为TAG终止码, 引起S-Ag缺失, 其基因分型仍为C1. 样品号为211的病例(基因分型为C1)的S基因编码区的第13位碱基缺失A, 引发移框突变和第9位氨基酸密码变为TAG终止码, 致使S-Ag缺失. 同样, 基因分型为G的样品号为9的病例的S基因编码区第7位的碱基缺失A, 导致移框突变和第22位氨基酸密码改变为TGA终止码, 致S-Ag缺失. 样品号为918的病例基因分型为B1, 但其S基因编码区第23位插入的碱基A导致移框突变和第23位氨基酸密码改变为TGA终止码, 致S-Ag缺失.

3 讨论

HBV基因型不仅有流行病学的意义外, 与乙型肝炎的表现和转归也具有相关性. 相关研究表明HBV中C型和B型相比, 前者引起的炎性坏死和纤维化程度更高, 且C型与肝硬化和肝癌明显相关[21]. 不同的基因型, 甚至是同一基因型的不同亚型在毒力和临床表现上都有明显的区别,

■同行评价

作者提出的DNA测序结合标准进化树的HBV基因分型方法有较好的临床实用价值; HBV蛋白分型方法可发展为更精确的HBV分型方法, 特别是对亚型分类上; 研究结果具一定学术价值.

表 3 HBV分型不同方法的结果比较

病例号	PCR-RFLP	型特异PCR	改良型特异	S-DNA测序	S-Ag氨基酸	血清型	分型结果比较
2	C2或D2	C	B或C	C2	C	adr	酶切不确定, PCR定C型, 测序定C2型, 氨基酸序列定C型; 大型一致
3	C2或D2	C	B或C	C	C	adr	酶切不确定, PCR, S-DNA测序及氨基酸序列均仅定C型; 大型一致
4	C2或D2	C	–	C5	C5[1]	adw	酶切和PCR定C型, S-DNA测序及氨基酸序列均定C5型; 大型一致
5	C2或D2	C	B或C	C2	C	adr	酶切不确定, PCR定C型, 测序定C2型, 氨基酸序列定C型; 大型一致
6	C2或D2	C	–	C2	C	adr	酶切不确定, PCR定C型, 测序定C2型, 氨基酸序列定C型; 大型一致
7	C2或D2	C	B或C	C2	C	adr	酶切不确定, PCR定C型, 测序定C2型, 氨基酸序列定C型; 大型一致
8	C2或D2	C	B或C	C5	C5[1]	adw	酶切不确定, PCR定C型, DNA测序及氨基酸序列均定C5型; 大型一致
9	C2或D2	C2或D2	–	G	突变(缺失)	adN[2]	酶切和PCR不确定, 测序定G型, 氨基酸序列突变, S缺失; 分型错误
10	C2或D2	C	B或C	C1	C	adr	酶切不确定, PCR定C型, 测序定C1型, 氨基酸序列定C型; 大型一致
12	C2或D2	C	–	C2	C	adr	酶切不确定, PCR定C型, 测序定C2型, 氨基酸序列定C型; 大型一致
13	C2或D2	C	B或C	C2	C	adr	酶切不确定, PCR定C型, 测序定C2型, 氨基酸序列定C型; 大型一致
15	C2或D2	C2或D2	D	D3	D	ayw	酶切不确定, PCR定D型, 测序定D3型, 氨基酸序列定D型; 大型一致
16	C2或D2	C	B或C	D	D	adw	酶切不确定, PCR定C型, 测序及氨基酸序列仅定D型; 测序大型一致
156	B1	–	B	B2	B	adw	酶切定B1型, PCR定B型, 测序定B2型, 氨基酸序列定B型; 大型一致
211	C1	–	C	C1	突变(缺失)	ayD[2]	酶切和测序定C1型, PCR定C型, 氨基酸序列突变, S缺失; 分型错误
268	B1	–	B	B2	B	adw	酶切定B1型, PCR定B型, 测序定B2型, 氨基酸序列定B型; 大型一致
308	B1	–	B	B2	B	adw	酶切定B1型, 测序定B2型, 氨基酸序列定B型; 大型一致
441	D3	–	–	B2	B	adw	酶切定D3型, 测序定B2型, 氨基酸序列定B型; 测序大型一致
518	D3	–	–	G	G	adw	酶切定D3型, 测序和氨基酸序列定G型; 测序大型一致
786	B1	–	B	B2	B	adw	酶切定B1型, PCR定B型, 测序定B2型, 氨基酸序列定B型; 大型一致
802	C1	–	C	C2	突变(缺失)	ED[2]	酶切定C1型, PCR定C型, 测序定C2型, 氨基酸序列突变, S缺失; 分型错误
836	D3	–	–	C2	C	adr	酶切定D3型, 测序定C2型, 氨基酸序列定C型; 测序大型一致
840	C1	–	C	C2	C	adr	酶切定C1型, PCR定C型, 测序定C2型, 氨基酸序列定C型; 大型一致
865	C1	–	–	C5	C5[1]	adw	酶切定C1型, S-DNA测序及氨基酸序列均定C5型; 大型一致
906	D3	–	B或C	G	G	adw	酶切定D3型, PCR不确定, 测序和氨基酸序列定G型; 测序大型一致
918	B1	–	B或C	B2	突变(缺失)	AV[2]	酶切定B1型, PCR不确定, 测序定B2型, 氨基酸序列突变, S缺失; 分型错误
931	B1	–	B或C	B2	B	adw	酶切定B1型, PCR不确定, 测序定B2型, 氨基酸序列定B型; 大型一致
1093	C1	–	–	C5	C5[1]	adw	酶切定C1型, S-DNA测序及氨基酸序列均定C5型; 大型一致
1129	C1	–	–	C2	C	ayr	酶切定C1型, 测序定C2型, 氨基酸序列仅定C型; 大型一致
1229	B2	–	–	B2	B	ayr	酶切定B2型, 测序定B2型, 氨基酸序列仅定B型; 大型一致

HBV: 乙型肝炎病毒. – : 未做; [1]按基因分型标示的C5但却分到D大型组中; [2]因S基因的点突变致S-Ag缺失, 无法确定血清型.

表 4 HBV DNA突变序列推测S-Ag氨基酸序列[1]

病例号	性别	籍贯	民族	基因型	S-Ag氨基酸序列	碱基缺失
802	男	吉林	朝鲜族	C1	MRAQHQDS-DPCSCYRRGFSC-	ATG(缺失G)AGAGCACAACATCAGGATTCC TAG
211	女	广西	壮族	C1	MESTHQDS-DPCSCYRRGFSC-	ATGGAGAGCACA(缺失A)CATCAGGATTCC TAG
9	男	广西	瑶族	G	METSHQDSSDPCSCYRRGFSC-	ATGGAG(缺失A) ACATCACATCAGGATTCCTCGGACCCCT GCTCGTGTTACAGGCGGGGTTTTTCTTGT TGA
918	男	广西	汉族	B1	MENLASGTPRTPARVTGGGFSC-	ATGGAGAACCTCGCATCAGGAA(插入A) CTCCTAGAACCCCTGCTCGTGTTACAGGC GGGGGTTTTTCTTGT TGA

[1]仅列出S-Ag基因终止码突变(下划线碱基)样品N端的前22个氨基酸及对因DNA序列. HBV: 乙型肝炎病毒.

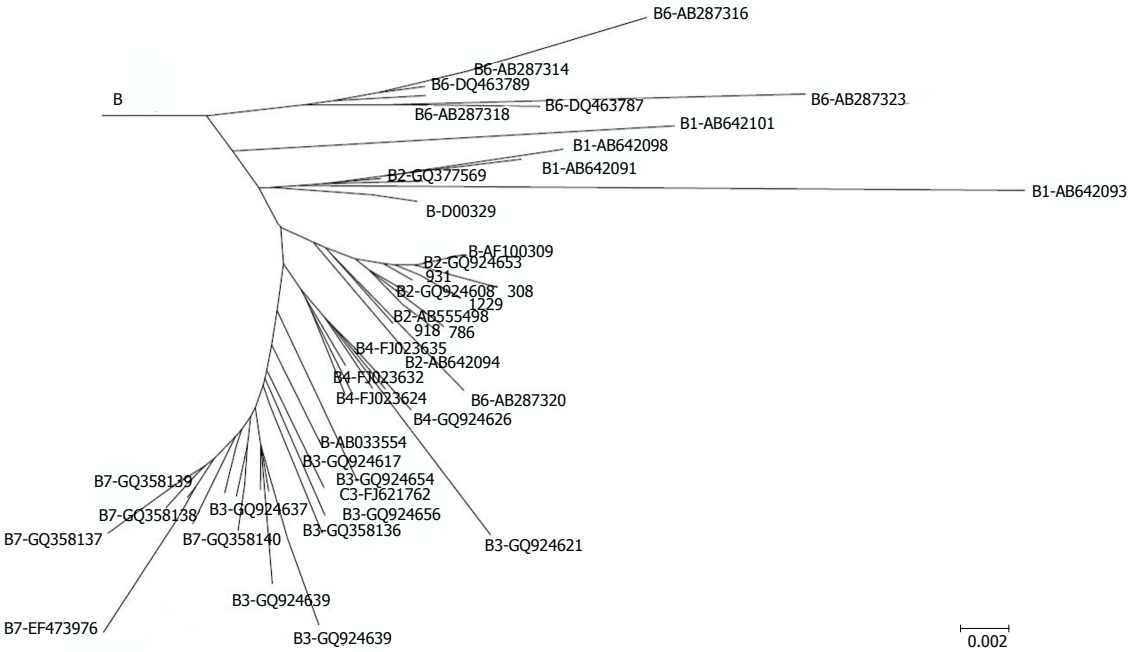


图 7 DNA测序乙型肝炎病毒分型结果的B型分支.

是影响病情的进展、预后及抗病毒治疗应答的重要因素[22].

随着HBV基因分型研究的不断深入, 基因分型的方法也有了很大的发展. 目前的乙型肝炎分型方法有很多. 乙型肝炎分型方法主要发展为以下几种方法: 全基因测序法、表面抗原基因(S基因)序列分析法、PCR-RFLP基因分型法、单克隆抗体酶联免疫吸附试验基因分型法、型特异性引物-PCR法、PCR微板核酸杂交-ELISA法、线性探针分析基因分型法、实时定量PCR-解链曲线分析法(real-time PCR and melting curve analysis)等[23]. 但是这些方法对于医疗系统在医疗实践中都存在不同程度的缺陷, 如有的因HBV基因组的变异而导致分型错误甚至无法确定型别, 有的成本过于昂贵、难以普及, 有的完成所需周期过长等, 尤其是在单核苷酸差异上区分只能依赖于机器, 不能达到定性判断[24].

本实验室对216例乙型肝炎检测为“大三阳”的患者血样以3种方法进行基因分型. 3种方法比较各有优缺点, 在总共216例乙型肝炎检测为“大三阳”的患者中, 第1种PCR-RFLP分型方法鉴定出: B型155例, C型41例, D型7例. 因为针对C2和D2型的酶切结果完全相同, 尚有13

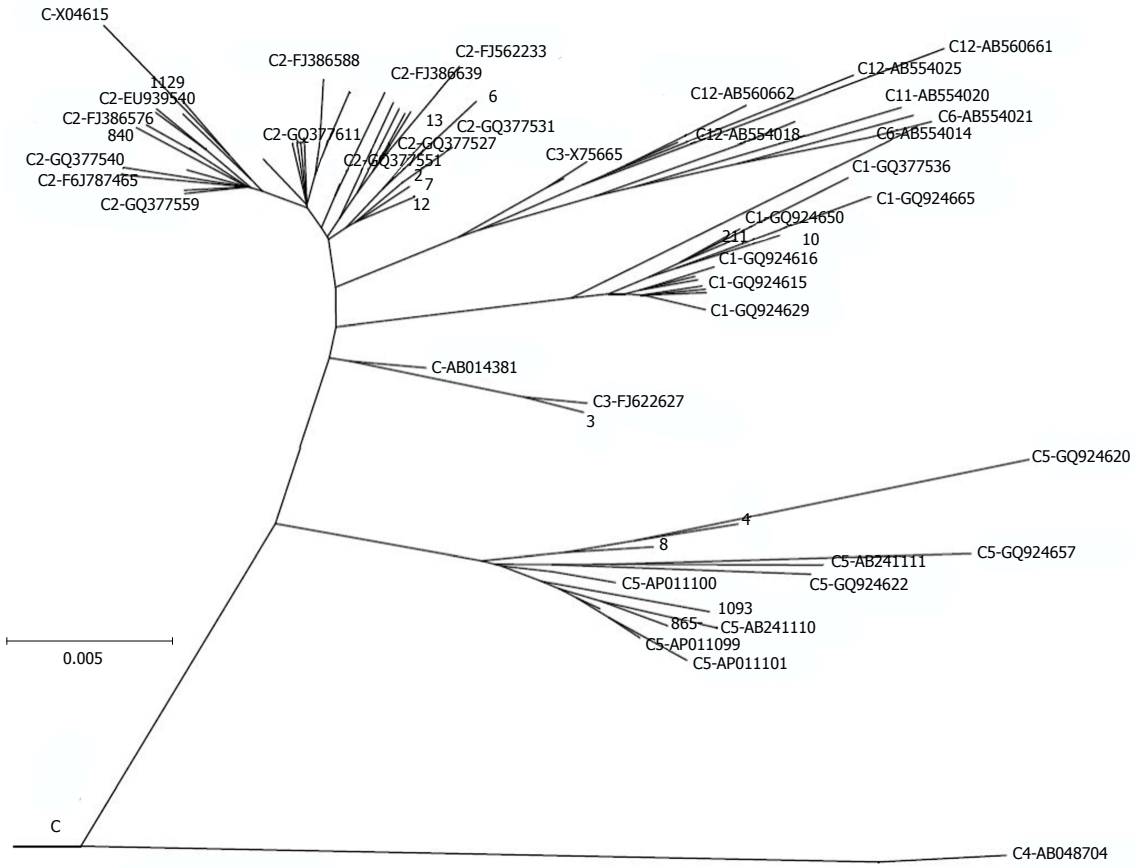


图 8 DNA测序乙型肝炎病毒分型结果的C型分支.

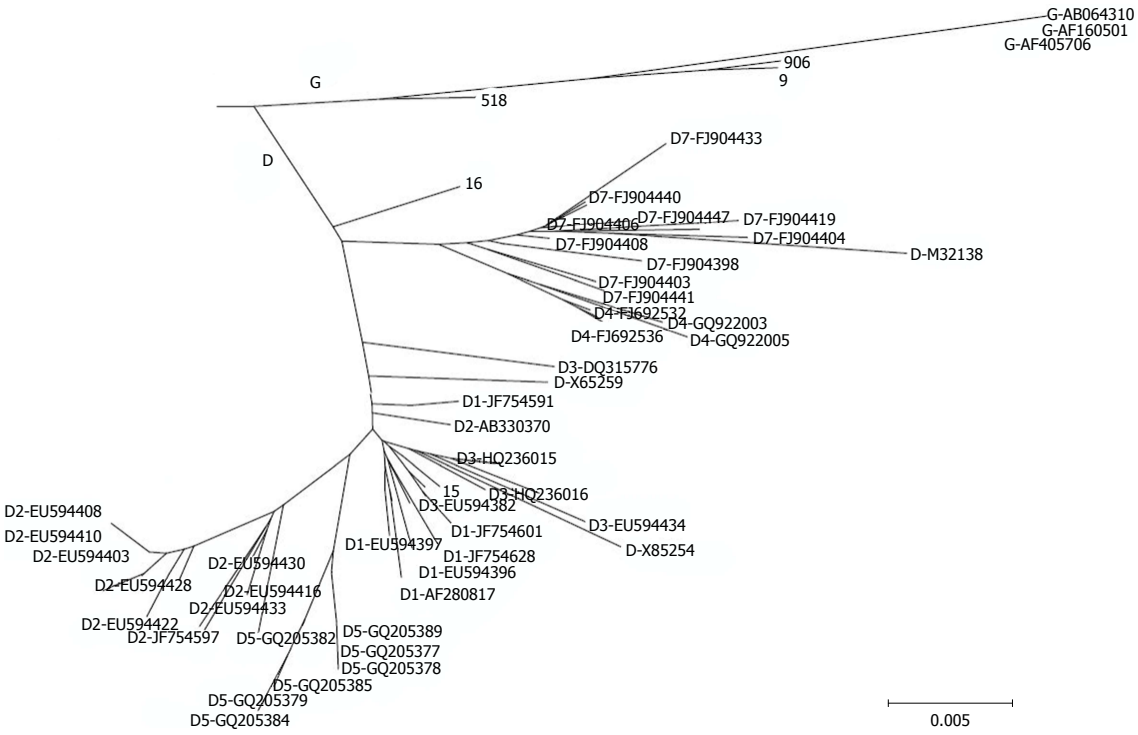


图 9 DNA测序乙型肝炎病毒分型结果的D型和G型分支.

例不能确定是C2型还是D2型. 其方法简单, 易于操作, 但因HBV分子进化速率很快, 其基因组的变异常导致分型错误甚至无法确定型别.

第2种型特异性PCR方法如图2中所示, 13例

中大部分可以被分型, 样品9、15号不能被分型, 本实验室改良的型特异PCR片段法的结果如图3, 图4所示, B、C型引物可以得到分型, 但特异性不高, D型引物中样品15号的分型正确, 但样品518、906号不能正确分型. 方法2和本实验室改良的型特异PCR片段分型方法法虽然特异性较高, 结果较可靠, 但均不能分到亚型. 该法的局限性较大, PCR的非特异性扩增问题和HBV基因的不断变异, 均影响结果判断, 使该法在某些情况下无法准确分型.

基于HBV基因组或其S-Ag基因的DNA序列的基因分型方法[即, 基于序列的系统发生分析(sequence-based phylogenetic analysis)]是HBV基因分型的金标准, 该法获取信息最多, 最为直接、客观、可靠, 是分析和确定新基因型或不同基因型重组的唯一准确的方法, 但其对混合基因型的病例无法快速正确分型或检出. 虽然基于DNA测序的基因分型方法有美国NCBI提供的网上分型工具, 但其仅能分大型, 无法分到亚型. 本研究的第3种基因分型方法通过搜索NCBI数据库, 选择适合系统发生分析的已确定B、C、D亚型的HBV全基因组DNA序列(如表2)作为B、C、D基准亚型构建的HBV标准. 通过对表2中HBV-B、C、D型(共计220条)和NCBI网上HBV分型工具中的A-H型标准基因组的全序列和S基因序列分别进行序列比对和构建进化树发现, 全序列进化树和S基因进化树分布几乎完全一致. 将样品HBV-S区DNA序列测序的结果分别代入全序列标准进化树和S区序列进化树的分型结果一致. 故选用将样品测序结果代入HBV-S区标准进化树进行基因分型, 分型结果准确一致. 我们利用此法在30例的DNA测序分型中发现样品号9、518和906为HBV-G型, 其来源为国内乙型肝炎高发地区广西, 病例为壮族和瑶族男性, 这在国内尚未见报道. 基于DNA测序和系统发生分析软件的基因分型方法, 其临床推广应用就现有正规医院而言已具实际可行性, 即医院检验科室的样品PCR加第三方公司化的DNA测序及简单分析服务, 无论时间(3-7天)还是价格(成本60-100元)及操作的简单快捷(PCR)均具实用性和竞争性, 应大力推广临床应用.

依据HBV-S基因序列推测的S-Ag氨基酸序列进行比对而构建进化树的HBV-S-Ag蛋白分型更能反映HBV的特性, 如在S-Ag基因上因碱基缺失或插入产生的点突变和氨基酸密码移框而提前出现终止码并最终导致的HBV S-Ag缺失(对应的是HBV血清型无法判定); 基于HBV-S DNA序列的基因分型和依据同样序列推定的HBV-S-Ag氨基酸序列的蛋白分型, 两者在HBV大型分类上大体一致, 但在亚型分类上分歧严重. 表现为S-Ag蛋白分型与S-Ag基因分型的亚型分类中型别交错和混乱, 如表3中“C5[1]”型位于HBV-S-Ag蛋白分型进化树的D大型(按基因分型系统标识)的范围内. 总之, 在HBV亚型分类上, 基于DNA测序的HBV-S-Ag的基因分型和基于同样DNA测序的蛋白分型的结果完全不同.

PCR-RFLP法和型特异PCR法的HBV分型(特别是分亚型)的准确性和灵敏性与DNA测序法分型相比是较低的; 而依据HBV-S基因测序推定的S-Ag氨基酸序列进行HBV蛋白分型更能反映HBV的特性, 其与HBV的活性和感染力、乙型肝炎病程、预后及治疗应答的关联应该更直接. 基于对HBV在人体内病毒基因组的广泛变异和病毒种群普遍异质性的认识, 以及众多HBV病毒蛋白和细胞相关蛋白对HBV繁殖和致病性反式调节作用的更多了解[25], 急需重新建立一套既基于HBV基因组构成又反映病毒蛋白(特别是具反式调节作用蛋白)差异的新型HBV分型系统和快速检测方法, 才能进一步明确乙型肝炎发病机制、提高检测效率、寻找治疗对策和实现乙型肝炎流行病学控制.

总之, 酶切方法较为精细可以分到亚型, 但本身缺陷不能区分C2型和D2型. 根据PCR扩增片段大小直接分型方法较为直接简单, 但是引物自身特异性不高, 分型不准确. 本实验室设计的碱基型特异性引物对于区分B、C型有较好的效果, 但对于区分D型效果不佳. 需要进一步完善. HBV-S基因测序后序列比对并构建进化树的方法较为准确客观, 此方法是较为精准的方法, 但需要以蛋白分型方法对其进行补充和校对. 由于HBV基因组成的不断变异和人体内病毒种群的平衡改变, 还需要不断地改进和完善HBV的分型系统、分型标准和分型方法.

4 参考文献

1 La Torre G, Nicolotti N, de Waure C, Chiaradia G, Specchia ML, Mannocci A, Ricciardi W. An assessment of the effect of hepatitis B vaccine in decreasing the amount of hepatitis B disease in Italy. *Virol J* 2008; 5: 84 [PMID: 18652653 DOI: 10.1186/1743-422X-5-84]

2 Ahmad N, Alam S, Mustafa G, Adnan AB, Baig RH, Khan M. e-antigen-negative chronic hepatitis B in

Bangladesh. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2008; 7: 379-382 [PMID: 18693173]
3 Zhou YH, Wu C, Zhuang H. Vaccination against hepatitis B: the Chinese experience. *Chin Med J* (Engl) 2009; 122: 98-102 [PMID: 19187625]
4 Lok AS, McMahon BJ. Chronic hepatitis B: update of recommendations. *Hepatology* 2004; 39: 857-861 [PMID: 14999707 DOI: 10.1002/hep.20110]
5 Van Damme P, Van Herck K. A review of the efficacy, immunogenicity and tolerability of a combined hepatitis A and B vaccine. *Expert Rev Vaccines* 2004; 3: 249-267 [PMID: 15176942 DOI: 10.1586/14760584.3.3.249]
6 Liang X, Bi S, Yang W, Wang L, Cui G, Cui F, Zhang Y, Liu J, Gong X, Chen Y, Wang F, Zheng H, Wang F, Guo J, Jia Z, Ma J, Wang H, Luo H, Li L, Jin S, Hadler SC, Wang Y. Epidemiological serosurvey of hepatitis B in China--declining HBV prevalence due to hepatitis B vaccination. *Vaccine* 2009; 27: 6550-6557 [PMID: 19729084 DOI: 10.1016/j.vaccine.2009.08.048]
7 Okamoto H, Tsuda F, Sakugawa H, Sastrosoewignjo RI, Imai M, Miyakawa Y, Mayumi M. Typing hepatitis B virus by homology in nucleotide sequence: comparison of surface antigen subtypes. *J Gen Virol* 1988; 69 (Pt 10): 2575-2583 [PMID: 3171552 DOI: 10.1099/0022-1317-69-10-2575]
8 Norder H, Couroucé AM, Magnius LO. Complete genomes, phylogenetic relatedness, and structural proteins of six strains of the hepatitis B virus, four of which represent two new genotypes. *Virology* 1994; 198: 489-503 [PMID: 8291231 DOI: 10.1006/viro.1994.1060]
9 陈瑜, 钟步云, 徐根云, 王磊, 刘招娣, 单谷忠, 马锦洪. 低水平血清乙肝病毒表面抗原测定及其临床意义. 中华医学检验杂志 2001; 24: 39- 41
10 胡文娟, 邓志芳, 高雯琪, 王红, 欧阳刚, 李劲. 不同民族大学生乙肝病毒感染状况调查. 中国公共卫生 2010; 26: 102-103
11 范金水, 庄辉, 李远贵, 朱晓洁, 徐德忠, 马为民, 王跃民, 陈雅洁, 娄国强, 马廷贤. 我国8城市HBsAg阳性和阴性乙肝患者的病毒血清型和基因型分析. 中华微生物学和免疫学杂志 1998; 18: 88-92
12 温志立, 谭德明. 多对型特异性引物巢式PCR检测湖南省乙肝病毒基因型. 世界华人消化杂志 2004; 12: 332-335
13 李劲, 刘莹, 邓志芳, 胡文娟, 高奎, 赵瑞杰, 王红, 宋发军. 不同民族大学生乙肝病毒基因型分布状况调查. 中南民族大学学报(自然科学版) 2012; 31: 38-41
14 曹占良, 高英堂, 吉 宗, 刘持佳, 鲍布和, 赵金梅. 西藏拉萨地区乙型肝炎病毒基因型分布及与肝病的关系. 世界华人消化杂志 2009; 17: 49-52
15 Wang Z, Tanaka Y, Huang Y, Kurbanov F, Chen J, Zeng G, Zhou B, Mizokami M, Hou J. Clinical and virological characteristics of hepatitis B virus subgenotypes Ba, C1, and C2 in China. *J Clin Microbiol* 2007; 45: 1491-1496 [PMID: 17376881 DOI: 10.1128/JCM.02157-06]
16 杨艳杰, 成军, 陈东风, 吴煜, 黄燕萍, 钟彦伟, 王春花, 刘敏. 乙型肝炎病毒基因分型的临床意义. 世界华人消化杂志 2004; 12: 1670-1673
17 Wang Z, Hou J, Zeng G, Wen S, Tanaka Y, Cheng J, Kurbanov F, Wang L, Jiang J, Naoumov NV, Mizokami M, Qi Y. Distribution and characteristics of hepatitis B virus genotype C subgenotypes in China. *J Viral Hepat* 2007; 14: 426-434 [PMID: 17501764 DOI: 10.1111/j.1365-2893.2006.00813.x]
18 Zeng GB, Wen SJ, Wang ZH, Yan L, Sun J, Hou JL. A novel hepatitis B virus genotyping system by using restriction fragment length polymorphism patterns of S gene amplicons. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 3132-3136 [PMID: 15457558]
19 Liu WC, Lindh M, Buti M, Phiet PH, Mizokami M, Li HH, Sun KT, Young KC, Cheng PN, Wu IC, Chang TT. Genotyping of hepatitis B virus--genotypes a to g by multiplex polymerase chain reaction. *Intervirology* 2008; 51: 247-252 [PMID: 18812698 DOI: 10.1159/000156484]
20 郭亚兵, 侯金林, 戴炜, 骆抗先. 乙型肝炎病毒中国株全基因参照序列的初步建立. 中华微生物学和免疫学杂志 1999; 19: 197-200
21 Magnius LO, Norder H. Subtypes, genotypes and molecular epidemiology of the hepatitis B virus as reflected by sequence variability of the S-gene. *Intervirology* 1995; 38: 24-34 [PMID: 8666521]
22 Schaefer S, Magnius L, Norder H. Under construction: classification of hepatitis B virus genotypes and subgenotypes. *Intervirology* 2009; 52: 323-325 [PMID: 19786808 DOI: 10.1159/000242353]
23 Gandhe SS, Chadha MS, Arankalle VA. Hepatitis B virus genotypes and serotypes in western India: lack of clinical significance. *J Med Virol* 2003; 69: 324-330 [PMID: 12526041 DOI: 10.1002/jmv.10292]
24 Wei Y, Neuveut C, Tiollais P, Buendia MA. Molecular biology of the hepatitis B virus and role of the X gene. *Pathol Biol* (Paris) 2010; 58: 267-272 [PMID: 20483545]
25 成军, 董菁. 乙型肝炎病毒基因组结构与功能复杂性的新认识. 世界华人消化杂志 2003; 11: 1073-1080

编辑 郭鹏 电编 都珍珍

世界华人消化杂志 2014年6月8日; 22(16): 2317-2322
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

个体化治疗转氨酶正常的慢性丙型肝炎73例

徐成军, 张翠萍, 王晓宏, 刘丽君, 周珊珊, 王久恒, 何秋杰, 王云中, 郭文山, 朱万柏, 江 勇

徐成军, 张翠萍, 王晓宏, 刘丽君, 周珊珊, 王久恒, 何秋杰, 王云中, 郭文山, 朱万柏, 承德市宽城满族自治县医院内二科 河北省承德市 067600
江勇, 天津医科大学第二医院消化内科 天津市 300211
徐成军, 副主任医师, 主要从事肝病领域的研究.
作者贡献分布: 本研究由徐成军设计; 研究过程由徐成军、张翠萍、王晓宏、刘丽君及周珊珊完成; 结果判读由王久恒、何秋杰、王云中、郭文山及朱万柏完成; 数据分析与论文撰写由徐成军与江勇完成.
通讯作者: 江勇, 主治医师, 300211, 天津市河西区平江道23号, 天津医科大学第二医院消化内科. jiangyong-612@163.com
电话: 022-88328825
收稿日期: 2014-01-23 修回日期: 2014-04-08
接受日期: 2014-04-14 在线出版日期: 2014-06-08

An individualized strategy for treatment of hepatitis C virus carriers with normal aminotransferase levels: Analysis of 73 cases

Cheng-Jun Xu, Cui-Ping Zhang, Xiao-Hong Wang, Li-Jun Liu, Shan-Shan Zhou, Jiu-Heng Wang, Qiu-Jie He, Yun-Zhong Wang, Wen-Shan Guo, Wan-Bai Zhu, Yong Jiang

Cheng-Jun Xu, Cui-Ping Zhang, Xiao-Hong Wang, Li-Jun Liu, Shan-Shan Zhou, Jiu-Heng Wang, Qiu-Jie He, Yun-Zhong Wang, Wen-Shan Guo, Wan-Bai Zhu, Second Department of Internal Medicine, Kuancheng Manchu Autonomous County hospital, Chengde 067600, Hebei Province, China
Yong Jiang, Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300211, China
Correspondence to: Yong Jiang, Attending Physician, Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Tianjin Medical University, 23 Pingjiang Road, Hexi District, Tianjin 300211, China. Jiangyong-612@163.com
Received: 2014-01-23 Revised: 2014-04-08
Accepted: 2014-04-14 Published online: 2014-06-08

Abstract

AIM: To evaluate the efficacy and safety of peginterferon alpha-2a (PEG-IFN α-2a) combined with ribavirin (RBV) in the treatment of chronic hepatitis C (CHC) patients with normal aminotransferase levels.

METHODS: Patients with CHC and at least three normal aminotransferase values over an 18-month period or increased aminotransferase were offered a treatment with PEG-IFN α-2a 180 μg/wk and ribavirin (800 mg/d for weight ≤ 65 kg; 1000 mg/d for weight > 65 and < 75 kg; 1200 mg/d for weight ≥ 75 kg). All patients were followed for 24 wk post treatment. Curative effects were evaluated at 4 and 12 wk during the treatment and 24 wk post treatment. The adverse effects were also recorded.

RESULTS: A total of 161 patients completed the therapy. The 73 patients with normal transaminase and the 88 patients with increased transaminase had similar baseline characteristics. Overall, the two groups showed similar rapid virologic response (RVR) rate (78.1% *vs* 75.0%, $P > 0.05$), complete early virologic response (cEVR) rate (93.2% *vs* 92.0%, $P > 0.05$) and sustained virologic response (SVR) rate (92.7% *vs* 91.9%, $P > 0.05$).

CONCLUSION: Combination therapy with PEG-IFN α-2a and RBV is safe and effective in CHC patients with persistently normal aminotransferase levels.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Chronic hepatitis C; PEG-IFN α-2a; Transaminase

Xu CJ, Zhang CP, Wang XH, Liu LJ, Zhou SS, Wang JH, He QJ, Wang YZ, Guo WS, Zhu WB, Jiang Y. An individualized strategy for treatment of hepatitis C virus carriers with normal aminotransferase levels: Analysis of 73 cases. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(16): 2317-2322 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2317.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i16.2317

摘要

目的: 评价聚乙二醇干扰素α-2a(polyethylene glycol interferon alpha-2a, PEG-IFN α-2a)联合利巴韦林(ribavirin, RBV)治疗转氨酶正常的慢性丙型肝炎(chronic hepatitis C, CHC)的临床疗效和安全性.

方法: 对转氨酶正常(18 mo至少有3次以上的

■背景资料
慢性丙型肝炎(chronic hepatitis C, CHC)已经成为我国引发肝硬化、肝细胞癌的常见且最重要的病因之一. 大量研究显示: 转氨酶正常的CHC患者仍存在肝脏病变加重的可能性. 近年来, 对这部分患者进行积极的抗病毒治疗已经达成了共识.

■同行评议者
白岚, 教授, 主任医师, 南方医院患侨科

■研发前沿
本研究同期对比观察了转氨酶正常和异常的两组CHC患者按照应答指导治疗策略接受PEG-IFN α-2a联合利巴韦林治疗，并对比其临床疗效和安全性，为CHC治疗提供循证依据.

化验结果证实转氨酶均在正常范围者)和升高的慢性丙型肝炎患者按照应答指导治疗策略给予PEG-IFN α-2a(180 g/wk)联合RBV(≤65 kg 800 mg/d, >65 kg-<75 kg 1000 mg/d, ≥75 kg 1200 mg/d)治疗, 并随访24 wk. 分别于治疗4、12 wk及治疗结束后24 wk评价疗效, 并观察药物不良反应.

结果: 共有161例患者完成治疗, 其中73例实验组患者和88例对照组患者入组的基本情况相似. 实验组和对照组的快速病毒学应答(78.1% *vs* 75.0%, *P*>0.05)、完全早期病毒学应答(93.2% *vs* 92.0%, *P*>0.05)和持续病毒学应答(92.7% *vs* 91.9%, *P*>0.05)相近, 差异无统计学意义.

结论: PEG-IFN α-2a联合RBV治疗转氨酶正常的CHC是安全有效的.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 慢性丙型肝炎; 聚乙二醇干扰素α-2a; 转氨酶

核心提示: 聚乙二醇干扰素α-2a(polyethylene glycol interferon alpha-2a)联合利巴韦林(ribavirin)治疗转氨酶正常的慢性丙型肝炎(chronic hepatitis C)是安全有效的. 如果患者能够接受, 且无禁忌症, 应该尽早的使用该方案进行治疗, 使患者从治疗中获益.

徐成军, 张翠萍, 王晓宏, 刘丽君, 周珊珊, 王久恒, 何秋杰, 王云中, 郭文山, 朱万柏, 江勇. 个体化治疗转氨酶正常的慢性丙型肝炎73例. 世界华人消化杂志 2014; 22(16): 2317-2322 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2317.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i16.2317

0 引言

慢性丙型肝炎(chronic hepatitis C, CHC)已经成为我国引发肝硬化、肝细胞癌的常见且最重要的病因之一. 卫生部CDC数据显示, 2012年我国报告的新增丙型肝炎发病数量超过20万例, 比2011年增长了15.4%. 在丙型肝炎感染者中, 有20%-30%转氨酶持续正常、症状轻微或缺失. 大量研究显示: 转氨酶正常的CHC患者仍存在肝脏病变加重的可能性. 近年来, 对这部分患者进行积极的抗病毒治疗已经达成了共识. 个体化治疗转氨酶升高的CHC效果佳, 但对于转氨酶持续正常的CHC, 疗效尚需积累进一步的临床研究作为循证依据. 本研究同期对比观察了转氨酶正常和异常的两组CHC患者按照应答指导治疗策略接受聚乙二醇干扰素α-2a(polyethylene glycol interferon alpha-2a, PEG-IFN α-2a)联合利巴韦林(ribavirin, RBV)治疗, 并对比其临床疗效和安全性.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2009-11/2011-12在宽城满族自治县医院门诊及病房诊治的CHC 161例(男性121例, 女性40例), 年龄33-69岁. 其中谷丙转氨酶(alanine transaminase, ALT)正常者73例, ALT升高者88例. 均符合2004年中华医学会发布的《丙型肝炎防治指南》的诊断标准. 所有患者均有公用注射器史(1980-1993年). 入选标准: 年龄≥18岁; 筛选期内抗HCV阳性、HCV RNA定量≥1.0×10^3 IU/mL; 既往未接受过抗病毒治疗; 18 mo内未服保肝降酶药、且至少有3次以上的化验结果证实ALT和谷草转氨酶(aspartate transaminase, AST)均在正常范围者(≤40 U/L)为实验组; 12 mo内至少有2次以上化验结果证实ALT和AST均升高者(>40 U/L)为对照组. 排除标准: 妊娠和哺乳期妇女、6 mo内接受过抗病毒或免疫抑制治疗者、失代偿性肝硬化、合并乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)、丁型肝炎病毒(hepatitis D virus, HDV)、人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)感染者、自身免疫性疾病、严重精神性疾病患者特别是抑郁症、恶性肿瘤、甲状腺疾病、有吸毒或酗酒史等.

1.2 方法

1.2.1 个体化治疗方案: 实验组及对照组均给予PEG-IFN α-2a(购自瑞士罗氏制药公司)联合RBV抗病毒治疗. PEG-IFN α-2a剂量为180 μg/wk(根据患者血象变化, 不良反应大小部分患者调整为135 μg/wk), 皮下注射, 联合RBV 800-1200 mg/d(≤65 kg 800 mg/d, >65 kg-<75 kg 1000 mg/d, ≥75 kg 1200 mg/d), 分次口服. 疗程按照2012年亚太肝脏研究协会年会(Asian Pacific Association for the Study of the Liver, APASL)指南的规定进行个体化治疗(基因1型患者如表1; 非基因1型患者如表2), 随访24 wk.

1.2.2 疗效评估: 所有患者分别于抗病毒治疗前、治疗中4、12、24、48 wk及停药后随访24 wk, 定量检测HCV RNA及肝功能. 上述实验室检测项目均在我院临床检验中心完成, HCV RNA定量检测采用罗氏公司的Cobas Amplicor

■相关报道
大量研究显示: 转氨酶正常的CHC患者仍存在肝脏病变加重的可能性. 近年来, 对这部分患者进行积极的抗病毒治疗已经达成了共识.但对于转氨酶持续正常的CHC, 疗效尚需积累进一步的临床研究作为循证依据.

表 1 HCV RNA定量指导基因1型丙肝患者抗病毒治疗疗程

时间(wk)	HCV RNA定量					
0	Any	Any	Any	LVL	LVL	HVL
4	+	+	+	–	+	Any
12	+或NR	+或pEVR	+或pEVR	–	–	–
24		+	–	–	–	–
疗程	12 wk停药	24 wk停药	延长至72 wk	24 wk	48 wk	48 wk

ANY: HCV RNA定量为任意水平; NR: 无应答; pEVR: 12 wk HCV RNA定量检测较基线下降小于2个log10 IU/mL; LVL: HCV RNA定量<4×10^5 IU/mL; HVL: HCV RNA定量>4×10^5 IU/mL. HCV: 丙型肝炎病毒.

表 2 HCV RNA定量指导非基因1型丙肝患者抗病毒治疗疗程

时间(wk)	HCV RNA定量				
0	Any	Any	Any	Any	Any
4	+	+	–	+	+
12	+或NR	+或 pEVR	–	–	+或 pEVR
24		+	–	–	–
疗程	12 wk停药	24 wk停药	24 wk	48 wk	48 wk

ANY: HCV RNA定量为任意水平; NR: 无应答; pEVR: 12 wk HCV RNA定量检测较基线下降小于2个log10 IU/mL; LVL: HCV RNA定量<4×10^5 IU/mL; HVL: HCV RNA定量>4×10^5 IU/mL. HCV: 丙型肝炎病毒.

表 3 两组患者基线水平比较

分组	*n*	男性[*n*(%)]	年龄(岁)	体质量(kg)	HCV RNA[log10 IU/mL]	基因型1型[*n*(%)]
实验组	73	55(75.3)	45.65±12.11	66.79±10.39	5.5±1.3	50(68.5)
对照组	88	66(75.0)	44.13±10.79	67.21±11.01	6.0±1.1	58(65.9)

年龄、体质量采用*t*检验, 其他统计采用χ^2检验. HCV: 丙型肝炎病毒.

HCV Monitor Test version2.0进行HCV RNA定量方法进行, 检测下限为15 IU/mL. 观察两组治疗4 wk病毒学应答率(virological response rate, RVR)、12 wk完全病毒学应答率(complete virological response rate, cEVR)和随访结束时持续病毒学应答率(sustained virologic response, SVR). RVR、cEVR 、SVR的定义参照2004年《丙型肝炎防治指南》. 治疗和随访过程中, 及时观察并记录与干扰素有关的不良反应.

1.2.3 药物不良反应监测: 治疗第1 mo每周检测血常规, 以后每3 mo检测一次; 每3-6 mo检测血清T3、T4、促甲状腺激素(thyroid stimulating hormone, TSH), 对于治疗前或治疗过程中出现的甲状腺功能异常密切监测; 其他不良反应包括精神抑郁、皮疹、免疫性唇炎、听力障碍等, 治疗随访过程中严密观察, 并及时给予相应处理, 必要时停用抗病毒药物.

统计学处理 计量资料用mean±SD表示, 计数资料用例数和/或百分比表示. 统计分析采用SPSS16.0软件进行单因素方差分析或χ^2检验, P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 入组病例基本情况 实验组73例, 对照组88例, 两组在年龄、性别、用药史、基因型及基线时病毒载量等方面比较, P值均>0.05, 差异均无统计学意义(表3).

2.2 病毒学应答 实验组和对照组接受PEG-IFNα-2a联合利巴韦林治疗后, 均有较高的RVR、cEVR、SVR, 两组间差异无统计学意义(表4).

■创新盘点

本研究选用PEG-IFN α-2a联合利巴韦林的治疗方案. 纵观国外已有的报道, 使用这种方案治疗转氨酶正常的CHC患者, SVR率一般在52%-85.4%. 本研究得出的SVR率为92.7%, 要高于以往的研究.

表 4 两组患者抗病毒治疗疗效(%, *n*1/*n*)

分组	*n*	RVR	cEVR	SVR
实验组	73	78.1(57/73)	93.2(68/73)	92.7(51/55)
对照组	88	75.0(66/88)	92.0(81/88)	91.9(57/62)
χ^2		0.21	0.00	0.04
*P*值		>0.05	>0.05	>0.05

RVR: 快速病毒学应答; cEVR: 完全病毒学应答; SVR: 持续病毒学应答. HCV: 丙型肝炎病毒.

2.3 转氨酶正常丙型肝炎患者抗病毒疗效分析 我们进一步按照实验组患者治疗基线时B超检查情况以及病毒载量进行分析. 随访结束后发现: 基线B超正常CHC患者RVR显著高于B超异常患者(*P*<0.05), 但两组cEVR、SVR率差异无统计学意义. 基线LVL CHC患者对比基线HVL患者RVR、cEVR、SVR率差异无统计学意义(*P*>0.05, 表5).

2.4 不良反应及处理措施 实验组和对照组患者在治疗期间均表现出多种不良反应(90.4%, 66/73 *vs* 89.8%, 79/88), 但多数通过对症治疗可以缓解. 其中5例因不良事件停药(2.7%, 2/73 *vs* 3.4%, 3/88), 但两组差异无统计学意义(*P*>0.05). 多数患者在治疗早期均出现不同程度流感样症状和红、白细胞及血小板降低. 高热或肌肉酸痛明显者酌情给予扑热息痛及其他非甾体抗炎药对症治疗, 一过性骨髓抑制根据白细胞总数、中性粒细胞降低及贫血程度, 适当加用口服升白细胞药物、重组人粒细胞集落刺激因子及叶酸、维生素B12治疗. 其他不良反应包括: 精神抑郁2例(1.2%, 2/161)、听力障碍2例(1.2%, 2/161)、皮疹13例(8.1%, 13/161)、免疫性唇炎2例(1.2%, 2/161)、眼底出血12例(7.5%, 12/161)、甲状腺功能障碍4例(2.5%, 4/161)、关节疼痛4例(2.5%, 4/161). 皮疹给予复方甘草酸苷注射液静点及局部涂用软膏, 加服地氯雷他定等治疗, 其中2例因皮疹严重退出; 甲状腺疾病共4例, 其中甲亢与甲减各2例, 分别给与甲状腺片及抗甲状腺药物治疗; 眼底出血给予观察及口服长春胺治疗, 1例退出治疗; 关节疼痛给予非甾体抗炎药对症治疗, 其中1例因关节疼痛严重, 退出治疗; 实验组1例患者因免疫性唇炎不能耐受终止治疗. 此外, 实验组患者治疗过程中未发现有转氨酶和总胆红素升高的情况.

3 讨论

HCV感染病情隐匿, 如得不到及时和合理的治疗可发展为肝硬化、肝细胞癌. 其中有相当一部分患者转氨酶正常且缺乏相关症状. 国内有研究[1]对118245份无偿献血者的血液标本进行了血清和生化学检验, 结果发现: 在抗HCV阳性者中转氨酶正常者占到88%. 国外调查研究进一步显示: 有20%-30%的CHC患者转氨酶是正常的[2]. 那么, 转氨酶正常的CHC患者到底要不要治疗? 既往认为: 这部分患者是“健康携带者”, 大部分肝脏病变进展缓慢, 炎症坏死和纤维化的程度较轻[3]. 然而, 从21世纪开始, 大量研究显示: 虽然这些转氨酶正常的CHC患者肝脏表现症状轻微, 仍然有20%-30%的患者存在肝脏纤维化进展[4,5], 积极地抗病毒治疗可以有效地降低这类患者的发病率和死亡率[6]. 2004年我国推出的首部《丙型肝炎防治指南》指出, ALT正常或轻度升高的CHC, 只要HCV RNA阳性, 也可进行治疗. 最新《亚太地区丙型肝炎病毒感染的诊断、处理和治疗共识》[7]也提出: ALT正常并不排除显著肝脏损害, 其对干扰素应答率与ALT异常者相似, 可考虑抗病毒治疗.

针对这类患者2011年EASL指南[8]指出: CHC的一线治疗方案是PEG-IFN α-2a联合RBV. 2012年APASL指南[9]更明确指出: Cochrane荟萃分析结果显示PEG-IFN α-2a联合RBV治疗CHC的SVR率是PEG-IFN α-2b联合RBV治疗方案的1.11倍. 因此, 本研究选用是PEG-IFN α-2a联合RBV的治疗方案. 纵观国外已有的报道, 使用这种方案治疗转氨酶正常的CHC患者, SVR率一般在52%-85.4%[10-12]. 本研究得出的SVR率为92.7%, 要高于以往的研究. 究其原因, 可能为: (1)本研究采取的治疗疗程是参照2012年APASL指南[9]完成的, 按照患者的病毒学应答情况指导后续治疗; (2)我国人群感染的HCV基因型虽为IFN应答较差的1b型, 但白介素-28B(interleukin, IL-28B)基因主要为对干扰素应答较好的TT型[13,14]. 日本的一项研究[15]证实: 对转氨酶正常的1型CHC患者, 携带IL-28B TT型是获得更高SVR的预测因素. 因此, 这种抗病毒治疗方案应用于国内患者人群仍可获得较高的SVR率.

本研究中CHC患者从公用注射器(可能感染)到有临床症状或体检被发现并诊断长者达29年(1980-2009年), 此间曾多次体检肝功能均正常. 通过前瞻性对照研究观察了转氨酶正常与异常慢性CHC患者接受PEG-IFN α-2a联合RBV的抗病毒治疗效果, 在年龄、性别、HCV基因分型、基线病毒载量等指标均相近的情况

表 5 转氨酶正常患者抗病毒治疗疗效分析(%)

	基线B超正常	基线B超异常	χ^2	*P*值	基线LVL	基线HVL	χ^2	*P*值
RVR	87.2(34/39)	67.6(23/34)	4.05	<0.05	94.1(16/17)	73.2(41/56)	2.22	>0.05
cEVR	92.3(36/39)	94.1(32/34)	0.03	>0.05	94.1(16/17)	92.9(52/56)	0.14	>0.05
SVR	92.9(26/28)	92.6(25/27)	0.23	>0.05	91.7(11/12)	93.0(40/43)	0.22	>0.05

LVL: HCV RNA定量<4×10^5 IU/mL; HVL: HCV RNA定量>4×10^5 IU/mL; RVR: 快速病毒学应答; cEVR: 完全病毒学应答; SVR: 持续病毒学应答. HCV: 丙型肝炎病毒.

■应用要点

PEG-IFN α-2a联合利巴韦林按照这种个体化原则治疗转氨酶正常CHC患者效果佳, 且与异常CHC患者具有相似的效果. 如果患者能够接受, 且无禁忌症, 应该尽早的使用该方案进行治疗, 使患者从治疗中获益.

下, 两组患者的RVR、cEVR、SVR均无明显差别; 此外, 我们对73例转氨酶正常的CHC患者根据治疗基线时B超检查情况, 以及病毒载量的高低进一步分析发现: 虽然初步统计结果表明治疗基线时B超检查正常的CHC患者虽然可以获得较高的RVR率, 但与治疗基线时B超检查异常的CHC患者cEVR、SVR率均无显著差别; 基线低病毒载量与高病毒载量的CHC患者的RVR、cEVR、SVR率均无显著差别. 提示在这种治疗方案下, 基线B超检查以及病毒载量的高低不是预测转氨酶正常患者抗病毒疗效的因素. 因此, 我们认为PEG-IFN α-2a联合RBV按照这种个体化原则治疗转氨酶正常CHC患者效果佳, 且与异常CHC患者具有相似的效果. 如果患者能够接受, 且无禁忌症, 应该尽早的使用该方案进行治疗, 使患者从治疗中获益.

4 参考文献

1 刘玉振, 邢培清, 李伍升, 方建华, 温涛 . 无偿献血人群中ALT、抗HCV和HBsAg阳性模式分布调查. 解放军预防医学杂志 2004; 8: 278-279

2 Prati D, Shiffman ML, Diago M, Gane E, Rajender Reddy K, Pockros P, Farci P, O'Brien CB, Lardelli P, Blotner S, Zeuzem S. Viral and metabolic factors influencing alanine aminotransferase activity in patients with chronic hepatitis C. *J Hepatol* 2006; 44: 679-685 [PMID: 16487620 DOI: 10.1016/j.jhep.2006.01.004]

3 Persico M, Perrotta S, Persico E, Terracciano L, Folgori A, Ruggeri L, Nicosia A, Vecchione R, Mura VL, Masarone M, Torella R. Hepatitis C virus carriers with persistently normal ALT levels: biological peculiarities and update of the natural history of liver disease at 10 years. *J Viral Hepat* 2006; 13: 290-296 [PMID: 16637858]

4 Puoti C. Antiviral treatment of Hepatitis C Virus Carriers with normal ALT levels actual utility or unnecessary expense? *BJMP* 2011; 4: a436

5 Okanoue T, Minami M, Makiyama A, Sumida Y, Yasui K, Itoh Y. Natural course of asymptomatic hepatitis C virus-infected patients and hepatocellular carcinoma after interferon therapy. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2005; 3: S89-S91 [PMID: 16234069 DOI: 10.1016/S1542-3565(05)00701-9]

6 Deuffic-Burban S, Babany G, Lonjon-Domanec I, Deltenre P, Canva-Delcambre V, Dharancy S, Louvet A, Roudot-Thoraval F, Mathurin P. Impact of pegylated interferon and ribavirin on morbidity and mortality in patients with chronic hepatitis C and normal aminotransferases in France. *Hepatology* 2009; 50: 1351-1359 [PMID: 19676130 DOI: 10.1002/hep.23159]

7 McCaughan GW, Omata M, Amarapurkar D, Bowden S, Chow WC, Chutaputti A, Dore G, Gane E, Guan R, Hamid SS, Hardikar W, Hui CK, Jafri W, Jia JD, Lai MY, Wei L, Leung N, Piratvisuth T, Sarin S, Sollano J, Tateishi R. Asian Pacific Association for the Study of the Liver consensus statements on the diagnosis, management and treatment of hepatitis C virus infection. *J Gastroenterol Hepatol* 2007; 22: 615-633 [PMID: 17444847 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2007.04883.x]

8 European Association for the Study of the Liver. EASL Clinical Practice Guidelines: management of hepatitis C virus infection. *J Hepatol* 2011; 55: 245-264 [PMID: 21371579 DOI: 10.1016/j.jhep.2011.02.023]

9 Masao Omata, Tatsuo Kanda, Ming-Lung Yu, Osamu Yokosuka, Seng-Gee Lim, Wasim Jafri, Ryosuke Tateishi, Saeed S. Hamid, Wan-Long Chuang, Anuchit Chutaputti, Lai Wei, Jose Sollano, Shiv Kumar Sarin, Jia-Horng Kao, Geoffrey W. McCaughan. APASL consensus statements and management algorithms for hepatitis C virus infection. *Hepatol Int* 2012; 6: 409-435 [DOI: 10.1007/s12072-012-9342-y]

10 Zeuzem S, Diago M, Gane E, Reddy KR, Pockros P, Prati D, Shiffman M, Farci P, Gitlin N, O'Brien CB, Lamour F, Lardelli P. Peginterferon alfa-2a (40 kilodaltons) and ribavirin in patients with chronic hepatitis C and normal aminotransferase levels. *Gastroenterology* 2004; 127: 1724-1732 [PMID: 15578510 DOI: 10.1053/j.gastro.2004.09.050]

11 Floreani A, Cazzagon N, Boemo DG, Baldovin T, Baldo V, Egoue J, Antoniazzi S, Minola E. Female patients in fertile age with chronic hepatitis C, easy genotype, and persistently normal transaminases have a 100% chance to reach a sustained virological response. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2011; 23: 997-1003 [PMID: 21915057]

12 Puoti C, Pellicelli AM, Romano M, Mecenate F, Guarisco R, Barbarini G, Mazzoni E, Spilabotti L, Bellis L, Paglia F, Barlattani A, Picardi A, Paffetti A, Bonaventura ME, Nosotti L, Mitidieri O, Dell'Unto O, Villani R, Dell'Unto C, Morrone A, Soccorsi F. Treatment of hepatitis C virus carriers with persistently normal alanine aminotransferase levels with peginterferon alpha-2a and ribavirin: a multicentric study. *Liver Int* 2009; 29: 1479-1484 [PMID: 19422478

■同行评价
目前针对丙型肝炎病毒阳性患者无论其肝功能正常与否均主张积极治疗使患者获益. 该文数据真实可信, 文笔流畅, 结论充分可靠. 对丙型肝炎的治疗有一定实际意义.

DOI: 10.1111/j.1478-3231.2009.02042.x]
13 Liao XW, Ling Y, Li XH, Han Y, Zhang SY, Gu LL, Yu DM, Yao BL, Zhang DH, Jin GD, Lu ZM, Gong QM, Zhang XX. Association of genetic variation in IL28B with hepatitis C treatment-induced viral clearance in the Chinese Han population. *Antivir Ther* 2011; 16: 141-147 [PMID: 21447862 DOI: 10.3851/IMP1703]
14 Shi X, Pan Y, Wang M, Wang D, Li W, Jiang T, Zhang P, Chi X, Jiang Y, Gao Y, Zhong J, Sun B, Xu D, Jiang J, Niu J. IL28B genetic variation is associated with spontaneous clearance of hepatitis C virus, treatment response, serum IL-28B levels in Chinese population. *PLoS One* 2012; 7: e37054 [PMID: 22649509 DOI: 10.1371/journal.pone.0037054]
15 Miyamura T, Kanda T, Nakamura M, Jiang X, Wu S, Nakamoto S, Mikami S, Takada N, Imazeki F, Yokosuka O. IL-28B polymorphisms and treatment response in hepatitis C virus patients with persistently normal alanine aminotransferase. *World J Hepatol* 2013; 5: 635-641 [PMID: 24303092]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费

本刊讯 为了方便作者来稿, 保证稿件尽快公平、公正的处理, 《世界华人消化杂志》编辑部研究决定, 从2011年开始对所有来稿不再收取审稿费. 审稿周期及发表周期不变. (《世界华人消化杂志》编辑部)

世界华人消化杂志 2014年6月8日; 22(16): 2323-2326
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

慢性丙型肝炎合并非酒精性脂肪肝抗病毒疗效及其相关因素

曹文玺, 丁 虹, 王新国, 张 波, 金慧涵

曹文玺, 金慧涵, 无锡市第二人民医院肝胆外科 江苏省无锡市 214002
丁虹, 王新国, 张波, 无锡市第五人民医院肝病科 江苏省无锡市 214005
曹文玺, 住院医师, 主要从事肝胆胰疾病的研究.
作者贡献分布: 主要实验、数据分析及文章起草由曹文玺完成; 病例选择与临床资料整理由王新国、张波及金慧涵完成; 文章设计、修改及审阅由丁虹完成.
通讯作者: 丁虹, 教授, 主任医师, 214005, 江苏省无锡市兴源路88号, 无锡市第五人民医院肝病科. 87975136@qq.com
电话: 0510-66681571
收稿日期: 2014-03-12 修回日期: 2014-04-03
接受日期: 2014-04-20 在线出版日期: 2014-06-08

Antiviral efficacy and related factors in chronic hepatitis C patients with nonalcoholic fatty liver disease

Wen-Xi Cao, Hong Ding, Xin-Guo Wang, Bo Zhang, Hui-Han Jin

Wen-Xi Cao, Hui-Han Jin, Department of Hepatobiliary Surgery, Wuxi No. 2 People's Hospital, Nanjing Medical University, Wuxi 214002, Jiangsu Province, China
Hong Ding, Xin-Guo Wang, Bo Zhang, Department of Liver Diseases, Wuxi No. 5 People's Hospital, Nanjing University of Chinese Medicine, Wuxi 214005, Jiangsu Province, China
Correspondence to: Hong Ding, Professor, Chief Physician, Department of Liver Diseases, Wuxi No. 5 People's Hospital, Nanjing University of Chinese Medicine, 88 Xingyuan Road, Wuxi 214005, Jiangsu Province, China. 87975136@qq.com
Received: 2014-03-12 Revised: 2014-04-03
Accepted: 2014-04-20 Published online: 2014-06-08

Abstract

AIM: To investigate the antiviral efficacy and some related factors in patients with chronic hepatitis C (CHC) and nonalcoholic fatty liver disease.

METHODS: Thirty-three patients with CHC only (group A) and 27 patients with CHC and nonalcoholic fatty liver disease (group B) were included in this study. Blood lipids, homeostasis model of assessment for insulin resistance index (HOMA-IR) and the negative conversion rate of HCV-RNA were compared between the two groups after 4 weeks of therapy with PEG-IFNα and ribavirin.

RESULTS: Before treatment, total cholesterol (CH) (5.12 mmol/L ± 0.93 mmol/L *vs* 3.94 mmol/L ± 0.75 mmol/L), low density lipoprotein (LDL) (3.95 mmol/L ± 0.46 mmol/L *vs* 3.15 mmol/L ± 0.34 mmol/L), triglyceride (TRIG) (3.75 mmol/L ± 2.27 mmol/L *vs* 1.89 mmol/L ± 0.52 mmol/L), alanine transarninase (ALT) (149.30 U/L ± 26.13 U/L *vs* 74.50 U/L ± 25.4 U/L), serum insulin (5.52 mmol/L ± 1.33 mmol/L *vs* 5.43 mmol/L ± 0. 71 mmol/L) and HOMA-IR (1.56 mmol/L ± 0.62 mmol/L *vs* 1.60 mmol/L ± 0.61 mmol/L) in group B were significantly higher than those in group A ($P < 0.01$), while high density lipoprotein (HDL) was slightly lower. After treatment, the negative conversion rate of HCV-RNA (40.74 *vs* 75.75%) was significantly lower in group B ($P < 0.01$).

CONCLUSION: The curative effect of PEG-IFNα therapy in CHC patients with nonalcoholic fatty liver disease is decreased, which may be caused by insulin resistance. Improving the lipid metabolism may enhance the antiviral efficacy in these patients.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Chronic hepatitis C; Fatty liver; Insulin resistance

Cao WX, Ding H, Wang XG, Zhang B, Jin HH. Antiviral efficacy and related factors in chronic hepatitis C patients with nonalcoholic fatty liver disease. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(16): 2323-2326 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2323.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i16.2323

摘要

目的: 探讨慢性丙型肝炎(chronic hepatitis C, CHC)合并非酒精性脂肪肝患者的抗病毒疗效

■背景资料
慢性丙型肝炎(chronic hepatitis C, CHC)合并非酒精性脂肪肝的发生率较单纯CHC的发生率高25%-30%. 而在抗病毒治疗过程中, 前者疗效往往较后者差, 其原因可能与CHC合并非酒精性脂肪肝时存在脂质代谢紊乱及胰岛素抵抗有关, 也是目前国内肝病领域研究的热点之一.

■同行评议者
党双锁, 教授, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科

■研发前沿
对CHC合并非酒精性脂肪肝的治疗, 不仅需要规范的抗病毒治疗, 还需寻找与脂质代谢紊乱、胰岛素抵抗等相关的更好的方法来提高疗效.

及其相关因素.

方法: 聚乙二醇干扰素联合利巴韦林片治疗共48 wk, 观察单纯CHC组患者及CHC合并非酒精性脂肪肝组患者的血脂、胰岛素抵抗指数变化及丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)-RNA阴转情况.

结果: 治疗前CHC合并非酒精性脂肪肝组患者的胆固醇(5.12 mmol/L±0.93 mmol/L *vs* 3.94 mmol/L±0.75 mmol/L)、低密度脂蛋白(3.95 mmol/L±0.46 mmol/L *vs* 3.15 mmol/L±0.34 mmol/L)、甘油三酯(3.75 mmol/L±2.27 mmol/L *vs* 1.89 mmol/L±0.52 mmol/L)、谷丙转氨酶(149.30 U/L±26.13 U/L *vs* 74.50 U/L±25.4 U/L)、血清胰岛素(5.52 mmol/L±1.33 mmol/L *vs* 5.43 mmol/L±0. 71 mmol/L)、胰岛素抵抗指数(1.56 mmol/L±0.62 mmol/L *vs* 1.60 mmol/L±0.61 mmol/L)较单纯CHC组明显升高(P<0.01), 高密度脂蛋白水平略下降, 治疗后HCV-RNA阴转率(40.74% *vs* 75.75%)较单纯CHC组明显下降(P<0.01).

结论: 合并非酒精性脂肪肝的CHC患者干扰素抗病毒疗效下降, 其原因与胰岛素抵抗有关, 通过改善肝脏脂质代谢, 可能提高抗病毒疗效.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 慢性丙型肝炎; 脂肪肝; 胰岛素抵抗

核心提示: 本研究比较了慢性丙型肝炎(chronic hepatitis C, CHC)合并非酒精性脂肪肝患者和单纯CHC患者抗病毒治疗前后胆固醇、低密度脂蛋白、甘油三酯、谷丙转氨酶、谷草转氨酶、血清胰岛素、胰岛素抵抗指数、丙型肝炎病毒-RNA阴转率等的变化, 发现合并非酒精性脂肪肝的CHC患者干扰素抗病毒疗效下降, 其原因与胰岛素抵抗有关, 通过改善肝脏脂质代谢, 可能提高抗病毒疗效.

曹文玺, 丁虹, 王新国, 张波, 金慧涵. 慢性丙型肝炎合并非酒精性脂肪肝抗病毒疗效及其相关因素. 世界华人消化杂志 2014; 22(16): 2323-2326 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2323.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i16.2323

■相关报道
田丽艳等发现肝脏脂肪变性是CHC的基本病理特征之一. D'Souza等报道CHC合并脂肪肝患者存在胰岛素抵抗、脂肪代谢紊乱等代谢综合症相关指标的变化.

0 引言

近年来研究发现, 丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)的慢性感染与非酒精性脂肪肝(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)、糖尿病等代谢性疾病的发生、发展密切相关[1,2]. 肝脏脂肪变性是慢性丙型肝炎(chronic hepatitis C, CHC)的发病机制之一[3,4]. 现将我院2009年以来CHC在使用长效干扰素时发生血脂代谢异常、胰岛素抵抗指数的变化以及对干扰素疗效的影响, 报告如下.

1 材料和方法

1.1 材料 收集2009-01/2012-12在我院门诊接受长效干扰素治疗的CHC患者共60例. 诊断符合2004-04中华医学会颁布的《丙型肝炎防治指南标准》[5]和2006年中华医学会颁布的《非酒精性脂肪性肝病的诊疗指南标准》[6]. 单纯CHC患者33例, 其中男20例, 女13例, 年龄24-60岁(平均39.7岁±11.3岁), CHC合并NAFLD患者27例, 其中男17例, 女10例, 年龄29-58岁(平均35.6岁±10.3岁). 两组患者在性别、年龄等方面相似, 具有可比性.

1.2 方法 全部患者清晨空腹抽取静脉血, OLYMPUS全自动生物化学分析仪检测谷丙转氨酶(alanine transarninase, ALT)、谷草转氨酶(aspartate transaminase, AST)、谷氨酰转肽酶(γ-glutamyl transpeptidase, γ-GT)、总胆固醇(total cholesterol, CH)、甘油三酯(triglyceride, TRIG)、低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein, LDL)、高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein, HDL)、空腹血糖(fasting blood glucose, FBG)等. 采用化学发光微粒子免疫检测法测定空腹胰岛素(fasting insulin, FINS), 试剂盒由雅培贸易(上海)有限公司提供. 胰岛素抵抗指数HOMA-IR = (FINS×FBG)/22.5. HCV-RNA用荧光定量PCR方法(<5×10^2拷贝/mL为阴性), 上海科华有限公司提供试剂. 所有患者在治疗前、后做彩色B超检查, 以观察肝脏脂肪肝的动态变化. 聚乙二醇干扰素α-2a(pegylated interferonα-2a, PEG-IFNα-2a, 商品名: 派罗欣)135或180 μg, 1次/wk, 皮下注射, 或PEG-IFNα-2b, (商品名: 佩乐能)50或80 μg, 1次/wk, 皮下注射. 利巴韦林800-1200 mg/d, 口服治疗48 wk.

统计学方法 采用SAS9.1统计软件进行统计学分析, 计量数据用mean±SD表示. P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 CHC组与合并NAFLD组血脂的变化 CHC合并NAFLD组: 在治疗前胆固醇、TRIG、LDL均

表 1 CHC组与合并非酒精性脂肪肝组治疗前后血脂的变化 (mean ± SD, mmol/L)

分组	n		CH	TRIG	LDL	HDL
单纯CHC组	33	治疗前	3.94 ± 0.75	1.89 ± 0.52	3.15 ± 0.34	1.02 ± 0.04
		治疗后	3.93 ± 0.80	1.85 ± 0.53	3.14 ± 0.35	1.04 ± 0.03
合并非酒精性脂肪肝组	27	治疗前	5.12 ± 0.93[b]	3.75 ± 2.27[b]	3.95 ± 0.46[b]	0.85 ± 0.05[b]
		治疗后	4.52 ± 0.79[c]	2.50 ± 2.07[c]	3.18 ± 0.48[c]	0.88 ± 0.04

[b]*P*<0.01 *vs* 单纯CHC组; [c]*P*<0.05 *vs* 合并脂肪肝组治疗前. CHC: 慢性丙型肝炎; CH: 总胆固醇; TRIG: 甘油三酯; LDL: 低密度脂蛋白胆固醇; HDL: 高密度脂蛋白胆固醇.

表 2 CHC组与合并非酒精性脂肪肝组生化与空腹血糖、胰岛素的变化 (mean ± SD)

分组	n		ALT(U/L)	AST(U/L)	FBG(mmol/L)	FINS(U/L)	HOMA-IR
单纯CHC组	33	治疗前	74.50 ± 25.42	62.79 ± 16.32	5.43 ± 0.71	7.15 ± 1.30	1.60 ± 0.61
		治疗后	34.20 ± 21.30	30.11 ± 18.50	4.91 ± 0.82	7.11 ± 1.25	1.56 ± 0.62
合并非酒精性	27	治疗前	149.30 ± 26.13	95.67 ± 28.52	5.52 ± 1.33	14.81 ± 2.48[b]	3.62 ± 0.85[b]
脂肪肝组		治疗后	41.30 ± 23.10	31.45 ± 17.80	5.01 ± 0.63	9.15 ± 2.31[c]	2.03 ± 0.87[c]

[b]*P*<0.01 *vs* 单纯CHC组; [c]*P*<0.05 *vs* 合并非酒精脂肪肝组治疗前. CHC: 慢性丙型肝炎; ALT: 谷丙转氨酶; AST: 谷草转氨酶; FBG: 空腹血糖.

表 3 CHC组与合并非酒精性脂肪肝组丙型肝炎病毒-RNA阴转情况

分组	n	治疗后阴转时间					阴转率(%)
		4 wk	12 wk	24 wk	36 wk	48 wk	
单纯CHC组	33	8	12	4	1	0	75.75
合并非酒精性脂肪肝组	27	1	5	3	2	0	40.74

CHC: 慢性丙型肝炎.

高于单纯CHC组, HDL低于单纯CHC组(*P*<0.01). 治疗后, 胆固醇、TRIG、LDL较治疗前下降(*P*<0.05). 单纯CHC组: 胆固醇、TRIG、LDL、HDL治疗前后无明显变化(*P*>0.05)(表1).

2.2 单纯CHC组与合并NAFLD组血生化与FBG、胰岛素的变化 两组在抗病毒治疗前ALT、AST均有不同程度的升高, 使用长效干扰素治疗后虽然都有下降, 但合并NAFLD组ALT、AST下降较迟缓(*P*>0.05). CHC合并NAFLD血清胰岛素较单纯CHC组高(*P*<0.01). 部分血清胰岛素升高的患者加用二甲双胍治疗能收到较好的效果(表2).

2.3 HCV-RNA阴转情况 单纯CHC组: 使用长效干扰素治疗至疗程结束时, HCV-RNA阴转率为75.75%, 合并NAFLD组阴转率为40.74%(表3).

3 讨论

近年来越来越多的研究发现, CHC与代谢性疾病, 如糖尿病和脂肪肝等病的发生关系密切, 特别是随着代谢综合症概念的提出, CHC与胰岛素抵抗、代谢综合症研究的关系正逐渐深入[7]. 寻找一个合适的指标来衡量机体代谢与CHC的相互关系, 也逐渐成为研究的热点之一. 慢性HCV感染者容易发生肝细胞脂肪变, 成人慢性HCV感染率55%合并肝细胞脂肪变, 其脂肪变是CHC的基本病理特征之一[8,9]. 肝脂肪变时, CHC者可引起肝组织肥大细胞密度增高, CHC肝细胞脂变可分为两种类型, 一种为病毒性脂肪肝, 由HCV基因三型病毒蛋白, 尤为核心蛋白直接作用引起(CHC-3); 另一种为代谢性脂肪肝, 主要见于感染, HCV基因Ⅰ型和Ⅳ型病毒者(CHC-1、CHC-4)由IR及MS相关因素引起. 本研究结果提示在CHC合并脂肪肝时, CH、TRIG、LDL及ALT、FINS、HOMA-IR水平较单纯性CHC明显升高, HDL水平略下降, 治疗后特别是加用胰岛素增敏剂二甲双胍后上述指标明显改

■创新盘点
本研究通过比较CHC合并非酒精性脂肪肝患者和单纯CHC患者抗病毒治疗前后相关指标的变化, 发现合并非酒精性脂肪肝的CHC患者干扰素抗病毒疗效下降, 其原因与胰岛素抵抗有关, 通过改善肝脏脂质代谢, 可能提高抗病毒疗效.

■同行评价
本文设计合理, 结果可信, 对于临床了解和指导CHC合并非酒精性脂肪肝抗病毒治疗有一定意义.

善, 提示CHC合并脂肪肝者存在胰岛素抵抗现象, 存在脂肪代谢紊乱, 存在代谢综合症相关指标的变化[10,11]. IR与CHC的发生密切相关. CHC合并脂肪肝者抗病毒有效阴转率(40.74%), 较单纯性CHC的阴转率(75.75%)低[12]. 但是随着抗病毒疗效的稳定, 患者逐渐对干扰素的不良反应的适应, 体质量的逐渐下降, B超检查可见肝脏脂肪变有着明显的改善. 这可能与干扰素的不良反应致使体质量下降有关, 亦与Lonardo等[13]和Negro[14]的报道一致.

以上结果表明, 肝脏脂肪变性与胰岛素抵抗关系密切, 合并脂肪肝的CHC患者抗病毒疗效差. Giannini等[15]对无脂肪变性的和伴有脂肪变性的CHC以及NAFLD患者的血清胰岛素、瘦素水平和HOMA-IR的因素分析指出, HOMA-IR是抗病毒有效性的独立预测因子, 同时发现在基因Ⅰ型患者中有、无胰岛素抵抗两者之间持续病毒应答情况存在差异, 说明胰岛素抵抗会降低抗病毒疗效.

抗病毒治疗是目前控制HCV慢性感染患者病情进展的有效方法, 因此合并肝脂肪变成为影响CHC治疗疗效及预后的重要因素. 本研究进一步证实了肝脏脂肪变与病毒、胰岛素抵抗之间存在内在联系, 对于CHC治疗中反复出现ALT、AST、FINS、HOMA-IR升高者, 应警惕合并脂肪肝的发生.

4 参考文献

1 成军, 张锦前. 丙型肝炎病毒感染与脂肪性肝病. 中华肝脏病杂志 2009; 17: 804-806
2 Arao M, Murase K, Kusakabe A, Yoshioka K, Fukuzawa Y, Ishikawa T, Tagaya T, Yamanouchi K, Ichimiya H, Sameshima Y, Kakumu S. Prevalence of diabetes mellitus in Japanese patients infected chronically with hepatitis C virus. *J Gastroenterol* 2003; 38: 355-360 [PMID: 12743775 DOI: 10.1007/s005350300063]
3 张锦前, 范晓玲. 慢性丙型肝炎与代谢综合征. 世界华人消化杂志 2006; 14: 3482-3486
4 成军. 慢性病毒性肝炎发病的分子生物学机制研究进展. 世界华人消化杂志 2002; 10: 125-128
5 中华医学会肝病学分会. 丙型肝炎防治指南. 中华肝脏病杂志 2004; 9: 194-198
6 中华医学会肝病学分会脂肪肝和酒精性肝病学组. 非酒精性脂肪性肝病诊疗指南. 中华肝脏病杂志 2006; 14: 161-163
7 巩雪俐, 张锦前, 凌伟, 陈凤欣, 成军. 慢性丙型肝炎患者伴发代谢综合征的危险因素. 中国肝脏病杂志(电子版) 2010; 2: 10-13
8 田丽艳, 范建高. 慢性丙型肝炎与肝细胞脂肪变. 国外医学: 消化系疾病分册 2004; 24: 38-40
9 凌伟, 温少芳, 高萍, 张海栋, 赵崇山, 王琦, 刘顺爱, 张锦前, 成军. 慢性丙型肝炎合并脂肪肝患者血清网膜素水平与其病毒及代谢因素的相关分析. 中华临床医师杂志(电子版) 2011; 5: 4632-4635
10 黎英荣, 连莲, 苏宏业, 潘海林, 夏宁, 肖常青. 2型糖尿病和肥胖患者血清Apelin与胰岛素抵抗的关系研究. 重庆医学 2010; 39: 1322-1323
11 D'Souza R, Sabin CA, Foster GR. Insulin resistance plays a significant role in liver fibrosis in chronic hepatitis C and in the response to antiviral therapy. *Am J Gastroenterol* 2005; 100: 1509-1515 [PMID: 15984973 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2005.41403.x]
12 Jian Wu Y, Shu Chen L, Gui Qiang W. Effects of fatty liver and related factors on the efficacy of combination antiviral therapy in patients with chronic hepatitis C. *Liver Int* 2006; 26: 166-172 [PMID: 16448454 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2005.01219.x]
13 Lonardo A, Loria P, Adinolfi LE, Carulli N, Ruggiero G. Hepatitis C and steatosis: a reappraisal. *J Viral Hepat* 2006; 13: 73-80 [PMID: 16436124 DOI: 10.1111/j.1365-2893.2005.00669.x]
14 Negro F. Mechanisms and significance of liver steatosis in hepatitis C virus infection. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 6756-6765 [PMID: 17106922]
15 Giannini E, Ceppa P, Botta F, Fasoli A, Romagnoli P, Cresta E, Venturino V, Risso D, Celle G, Testa R. Steatosis and bile duct damage in chronic hepatitis C: distribution and relationships in a group of Northern Italian patients. *Liver* 1999; 19: 432-437 [PMID: 10533803]

编辑 田滢 电编 都珍珍

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2014年6月8日; 22(16): 2327-2337
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

茵陈蒿汤加减治疗非酒精性脂肪肝的随机对照试验系统评价与Meta分析

张良登, 魏 玮, 孙晓红, 姚魁武

张良登, 北京中医药大学东直门医院 北京市 100700
张良登, 魏玮, 孙晓红, 中国中医科学院望京医院脾胃病科 北京市 100102
姚魁武, 中国中医科学院广安门医院 北京市 100053
张良登, 博士研究生, 主要从事中西医结合防治脾胃病的研究.
中国中医科学院中央级公益性科研院所科研基本业务费自主选题基金资助项目, No. ZZ070816
作者贡献分布: 张良登与孙晓红负责文献检索、文献质量评价、提取资料及论文撰写; 张良登与魏玮负责论文的数据分析与审核; 魏玮与姚魁武负责论文的审阅与修改.
通讯作者: 魏玮, 主任医师, 100102, 北京市朝阳区花家地街6号, 中国中医科学院望京医院脾胃病科. sxxtyy@sina.com
收稿日期: 2014-01-08 修回日期: 2014-04-28
接受日期: 2014-05-06 在线出版日期: 2014-06-08

Yinchenhao decoction adjustment for treatment of nonalcoholic fatty liver disease: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials

Liang-Deng Zhang, Wei Wei, Xiao-Hong Sun, Kui-Wu Yao

Liang-Deng Zhang, Dongzhimen Hospital, Beijing University of Chinese University, Beijing 100700, China
Liang-Deng Zhang, Wei Wei, Xiao-Hong Sun, Department of Gastroenterology, Wangjing Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100102, China
Kui-Wu Yao, Guanganmen Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100053, China
Supported by: the Central Public Welfare Research Institutes Basic Research Project Fund for China Academy of Chinese Medical Sciences, No. ZZ070816
Correspondence to: Wei Wei, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Wangjing Hospital, China Academy of Chinses Medical Sciences, 6 Huajiadi Street, Beijing 100102, China. sxxtyy@sina.com
Received: 2014-01-08 Revised: 2014-04-28
Accepted: 2014-05-06 Published online: 2014-06-08

Abstract

AIM: To evaluate the efficacy and safety of Yinchenhao decoction adjustment in the treatment of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD).

METHODS: A search of 11 English and Chinese databases (all from inception to December 2013) was performed to collect randomized controlled trials (RCTs) of Yinchenhao decoction adjustment for NAFLD treatment. Qualitative and quantitative synthetic analyses were used to assess the methodology quality and endpoints of included RCTs.

RESULTS: A total of 14 RCTs with 1214 NAFLD subjects were included. The methodology quality of included RCTs was associated with a high bias risk. The test group was treated with Yinchenhao decoction adjustment or in combination with Western medicine drugs, and the control group was treated with Western medicine or Chinese patent drug or placebo. All included RCTs did not report primary endpoints, but reported secondary endpoints, and only four RCTs reported adverse reactions. Meta-analysis showed that the improvements of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), gamma-glutamyltransferase (GGT), triglyceride (TG), total cholesterol (TC), low density lipoprotein cholesterol (LDL) and syndrome score, as well as total effective rate, syndrome effective rate and B-type ultrasonography effective rate were significantly better in the test group than in the control group ($P < 0.05$ for all).

CONCLUSION: Yinchenhao decoction adjustment is effective and safe in the treatment of NAFLD. However, more rigorous RCTs are needed to warrant clinical application of Yinchenhao decoction adjustment to treat NAFLD because of the low methodology quality of the included RCTs.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Yinchenhao decoction; Nonalcoholic fatty liver disease; Randomized controlled trials; Systematic review and meta-analysis

Zhang LD, Wei W, Sun XH, Yao KW. Yinchenhao decoction adjustment for treatment of nonalcoholic fatty liver disease: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(16): 2327-2337 URL: http://www.

■背景资料
随着人们膳食结构和生活方式改变, 非酒精性脂肪肝(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)发病率逐年增高而成为全球性公共卫生问题. 西医治疗NAFLD尚无特别有效的药物. 茵陈蒿汤出自《伤寒论》, 是清热利湿退黄的经典方药. 临床常应用茵陈蒿汤及其加减治疗NAFLD, 大量研究表明效果显著.

■同行评议者
刘成海, 研究员, 上海中医药大学附属曙光医院(东部)肝病研究所

wjgnet.com/1009-3079/22/2327.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i16.2327

摘要

目的: 评价茵陈蒿汤加减治疗非酒精性脂肪肝(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)的有效性与安全性.

方法: 计算机检索11个中英文数据库(时间均自建库至2013-12), 纳入茵陈蒿汤加减治疗NAFLD随机对照试验(randomized controlled trial, RCT)的文献, 对其方法学质量及终点指标行定性与定量合成分析.

结果: 共纳入14个RCT合计1214例NAFLD受试者, 其方法学质量均属于高偏倚风险. 所有RCT的试验组采用茵陈蒿汤加减或结合西药治疗, 对照组采用西药或中成药或安慰剂治疗, 均未报告主要终点, 而仅报告次要终点指标, 只有4个RCT报告不良反应结局指标. 对报告的次要终点指标行Meta分析结果显示: 含茵陈蒿汤加减组治疗后丙氨酸转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、天冬氨酸转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)、γ-谷氨酰基转移酶(gamma-glutamyl transferase, GGT)、甘油三酯(triglyceride, TG)、总胆固醇(total cholesterol, TC)、低密度脂蛋白(low density lipoprotein cholesterol, LDL)证候积分改善效果显著优于对照组, 以及总有效率、证候有效率、B超有效率显著优于对照组($P<0.05$).

结论: 茵陈蒿汤加减治疗NAFLD有效且安全, 但由于所纳入的RCT方法学质量均较低, 需要开展更为严格的RCT以提供充分证据支持临床应用茵陈蒿汤加减治疗NAFLD.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 茵陈蒿汤; 非酒精性脂肪肝; 随机对照试验; 系统评价与Meta分析

核心提示: 大样本、多中心、随机、双盲的高质量RCT是评价茵陈蒿汤加减治疗NAFLD有效性与安全性的最好方法, 建议今后积极开展. 为提高临床试验的质量, 建议所有参与的研究人员在研究设计前及研究方案注册前开展临床试验方法学相关培训. 临床试验设计与结果报告宜遵循SPIRIT声明(www.spirit-statement.org)及CONSORT声明(www.consort-statement.org)相关要求.

张良登, 魏玮, 孙晓红, 姚魁武. 茵陈蒿汤加减治疗非酒精性脂肪肝的随机对照试验系统评价与Meta分析. 世界华人消化杂志 2014; 22(16): 2327-2337 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2327.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i16.2327

■研发前沿
系统评价与Meta分析是指用定量合成与定性合成的方法对资料进行统计学处理, 是循证决策与实践的重要证据. 茵陈蒿汤及其加减治疗NAFLD具有较好疗效, 但目前尚缺乏系统评价或Meta分析对茵陈蒿汤加减治疗NAFLD的有效性与安全性进行评价.

0 引言

非酒精性脂肪肝(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)包括非酒精性单纯性脂肪肝、非酒精性脂肪性肝炎、非酒精性脂肪性肝硬化及相关肝癌, 以肝细胞脂肪变性和脂肪堆积为共同病理特点. 西医治疗NAFLD主要包括抗炎、保肝、抗氧化及降脂等方面, 尚无特别有效的药物. 茵陈蒿汤出自《伤寒论》, 由茵陈、栀子、大黄三味药组成, 是清热利湿退黄的经典方药, 具有清疏、清利和清泄的功效特点. 临床常应用茵陈蒿汤及其加减论治NAFLD湿热证或兼夹湿热证型, 大量相关报道表明效果显著, 但目前没有相关系统评价或Meta分析对茵陈蒿汤加减治疗NAFLD的有效性与安全性进行评价. 本文在收集茵陈蒿汤加减治疗NAFLD临床随机对照试验(randomized controlled trial, RCT)文献基础上, 严格按照循证医学方法对这些临床研究质量进行评价, 为经方茵陈蒿汤加减治疗NAFLD提供循证证据.

1 材料和方法

1.1 材料 英文检索数据库包括MEDLINE、EMBASE、the Cochrane Central Register of Controlled Trials(CENTRAL)、The Cochrane Hepato-Biliary Group Controlled Trials Register、Science Citation Index Expanded和ClinicalTrials.gov (http://clinicaltrials.gov/), 检索词是“yinchenhao decoction”、“yinchenhao tang”、“herbae artemisiae capillariae decoction”、“eliminating dampness by cooling”、“nonalcoholic fatty liver disease”、“nonalcoholic simple fatty liver”、“nonalcoholic steatohepatitis”、“steatohepatitis”、“fatty liver”、“fibrosis”、“cirrhosis”、“randomized controlled trial”、“randomized trial”、“clinical trial”. 中文文献检索数据库包括中国期刊全文数据库(CNKI)、万方数据库、中文科技期刊全文数据库(VIP)、中国生物医学文献数据库(CMB)、中国临床试验注册中心(http://www.chictr.org/cn/), 检索词是“茵陈蒿汤”、“茵陈蒿颗粒”、“茵陈”、“清热利湿”、“非酒精性脂肪

肝”、“非酒精性脂肪性肝病”、“非酒精性单纯性脂肪肝”、“非酒精性脂肪性肝炎”、“非酒精性肝硬化”、“非酒精性肝炎”、“脂肪性肝炎”、“脂肪肝”、“肝硬化”、“非乙醇性脂肪性肝炎”、“非乙醇性脂肪性肝病”、“非乙醇性脂肪肝”、“肝纤维化”、“中西医结合”、“随机对照试验”、“临床试验”. 各检索词均采用单独或结合的方式进行检索, 所有数据库检索时间均自建库至2013-12. 纳入标准: RCT试验组单用茵陈蒿汤加减或联合其他药物, 对照组为安慰剂或无干预方式或除外茵陈蒿汤加减的其他药物, 无论是否采用盲法, 对发表状态和语言不做限制. 排除半随机对照试验与观察性研究. 结局评价类型是: (1)主要终点指标, 包括任何原因引起的死亡、肝脏相关性死亡率、肝脏相关性疾病发病率(如肝硬化、静脉曲张破裂出血、肝性脑病、肝肾衰竭、癌症)、不良反应事件(如增加死亡率的事件、威胁生命的事件、要求住院治疗的事件、引起明显残疾的事件)、生活质量; (2)次要终点指标, 包括放射学反应(如肝脏B超、CT检查)、生化反应(如血清丙氨酸转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、天冬氨酸转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)、γ-谷氨酰基转移酶(gamma-glutamyl transferase, GGT)、甘油三酯(triglyceride, TG)、总胆固醇(total cholesterol, TC)、低密度脂蛋白(low density lipoprotein cholesterol, LDL)、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)、高密度脂蛋白(high density lipoprotein cholesterol, HDL)、稳态模型胰岛素抵抗指数(HOME insulin resistance, HOME-IR)等)、组织学反应(如脂肪肝浸润、炎症及纤维化)等.

1.2 方法

1.2.1 数据提取与质量评价: 由2位作者(张良登、孙晓红)分别独立开展文献检索、文献纳入及数据提取. 使用标准的资料提取表进行数据提取, 数据提取包括每篇纳入文献的作者、发表时间、样本量大小、受试者年龄和性别、干预方法、治疗过程、结局及不良反应等方面(表1). 如有分歧则通过第三方确定共识意见(魏玮、姚魁武). 临床试验方法学评价由2位作者(张良登、孙晓红)按照the Cochrane Handbook for Systematic Review of Interventions提供的标准[1]进行评价. 方法学评价内容包括随机序列产生(选择偏倚)、分配隐藏(选择偏倚)、盲受试者和试验人员(实施偏倚)、盲结局评价(测量偏倚)、数据结果不全(报告偏倚)、选择发表(发表偏倚)及其他偏倚. 所有纳入RCT的研究质量按照低偏倚风险、高偏倚风险和不明确偏倚风险进行分类. 根据以上标准, 将纳入RCT文献分为2个级别: 低偏倚风险, 即所有偏倚评价内容均为低偏倚风险; 高偏倚风险, 即至少1个偏倚评价内容存在高偏倚风险或不明确偏倚风险.

1.2.2 数据合成: 采用the Cochrane Collaboration提供的RevMan 5.2软件, 按照the Cochrane Handbook for Systematic Review of Interventions指南[1]进行分析. 计量资料采用均数(mean difference, MD)为疗效分析统计量, 计数资料用相对危险度(risk ratio, RR)为疗效分析统计量, 两者均以95%CI表示. 通过分析纳入RCT的受试者、疾病种类、病情轻重、测量方法、用药剂量、干预措施、比较措施、疗程长短、结局等方面, 以判断其是否具有异质性. 并通过分析森林图及标准χ^2检验和P值0.10检测异质性, 同时用I^2来衡量. 当P>0.10时, 可认为无异质性; 当P≤0.10时, 除外导致异质性的原因后, 可认为具有异质性. 只要I^2值不大于50%, 认为可以接受其异质性. 根据异质性结果选择使用随机效应模型或固定效应模型进行Meta分析. 当有明显的异质性存在时, 采用随机效应模型分析; 当无异质性存在时, 采用固定效应模型分析. 对纳入文献进行敏感性分析, 以明确结果的稳定性; 并行漏斗图分析, 以明确纳入研究是否存在发表偏倚.

2 结果

2.1 检索 检索过程与文献选择具体采用PRISMA流程图描述(图1). 初检出文献352篇, 其中中文321篇, 外文31篇. 经阅读文题和摘要多次筛选, 共提取出56篇文献进入全文筛选, 再次排除42篇文献, 排除原因包括受试者不符合纳入标准(n = 28)、对照组不符合纳入标准(n = 7)、重复发表(n = 2)、无对照组(n = 3)及无数据可供提取(n = 2). 最终纳入14个RCT(其中1个RCT以4篇文献按不同指标分别发表)[2-18]进行定性和定量合成分析, 全部为中文文献. 没有检索到未发表的RCT.

2.2 纳入RCT的特点 共有14个RCT合计1214例NAFLD受试者, 其中有3个RCT[7,10-13,18]报告脱落15例, 全部试验均在国内完成. 单个RCT样本量最大124例, 最小51例, 平均为87例. 除3个RCT[8,10-13,15]外其余RCT均报告了NAFLD患者的

■相关报道

临床随机对照试验(randomized controlled trial, RCT)被国内外公认为最佳的治疗性研究设计方案, 系统评价或Meta分析是对多个RCT研究结果进行证据整合, 证据级别更高. 刘鸣教授主编《系统评价、Meta-分析设计与实施方法》, 详细地讲解了系统评价与Meta分析.

■创新盘点

经方茵陈蒿汤及其加减治疗NAFLD临床研究很多，与西药比较，具有明显的中医药疗效优势，但尚缺乏循证医学方法对其研究过程与结果进行评价. 本研究即采用系统评价与Meta分析方法对茵陈蒿汤加减治疗NAFLD的疗效进行评价，为临床应用提供循证证据.

表 1 纳入RCT的特点描述

纳入文献	样本量(男/女)	平均年龄(岁)	诊断标准	试验组治疗方法	对照组治疗方法	疗程	结局评价指标
周自强等[2], 2010	T: 30(19/11) C: 29(19/10)	46 44	中华医学会相关标准	降脂方+常规	强肝胶囊+常规	3 mo	ALT、GGT、HDL、B超
陈兴等[3], 2012	T: 62(37/25) C: 62(42/20)	43 43	中华医学会相关标准	金丹王合剂+常规	熊去氧胆酸片+常规	24 wk	ALT、AST、TG、TC、BMI、B超、CT
周兵等[4], 2009	T: 60(42/18) C: 60(39/21)	45.8 44.2	中华医学会相关标准	利湿活血通络汤+常规	硫普罗宁肠溶片+常规	1 mo	ALT、AST、TG、TC、B超、不良反应
赵智宏等[5], 2010	T: 56(30/26) C: 56(29/27)	41.7 41.2	中华医学会相关标准	芪茵颗粒	多烯磷脂酰胆碱	2 mo	ALT、AST、GGT、ALP、TG、胶囊、TC、BMI、WHR、HOMA-IR、B超
张博等[6], 2011	T: 30(18/12) C: 30(17/13)	59 55	中华医学会相关标准	强肝消脂胶囊+常规	安慰剂胶囊+常规	6 mo	肝/脾CT值、TG、TC、LDL、ALT、AST、GGT、不良反应
郑羽等[7], 2011	T: 26(18/8) C: 25(17/8)	54 55	中华医学会相关标准	强肝消脂胶囊+常规	安慰剂胶囊+常规	24 wk	ALT、AST、GGT、TG、TC、HDL、肝/脾CT值、不良反应
马建等[8], 2010	T: 40 C: 40		中华医学会相关标准	清肝消脂汤+常规	还原型谷胱甘肽+还原型谷胱甘肽+常规	3 mo	肝/脾CT值、TG、TC、HDL、ALT、AST、GGT
刘旭东等[9], 2013	T: 40(28/12) C: 40(29/11)	45 45	中华医学会相关标准	祛湿活血中药方+常规	常规	3 mo	ALT、AST、TG、TC、B超
马建等[10-13], 2009	T: 38(24/14) C: 39(26/13)		中华医学会相关标准	疏肝健脾清热利湿法+常规	复方蛋氨酸胆碱片+常规	8 wk	ALT、AST、GGT、不良反应
林立等[14], 2010	T: 40(22/28) C: 35(19/16)	42.4 43.3	中华医学会相关标准	消脂健脾合剂+常规	多烯磷脂酰胆碱胶囊+常规	2 mo	B超、ALT、AST、TG、TC
刘晓琳等[15], 2011	T: 50 C: 48		中华医学会相关标准	茵陈五苓散加减	脂必妥片	2 mo	
黄志平等[16], 2004	T: 56(50/6) C: 48(45/3)	38.8 39.1	中华医学会相关标准	茵陈蒿汤合越鞠丸加减	复方蛋氨酸胆碱片	3 mo	ALT、AST、GGT、TG、TC、HDL、LDL
黄志平等[17], 2008	T: 60(58/2) C: 57(57/0)	35.5 36.3	中华医学会相关标准	茵陈蒿汤合越鞠丸加减+常规	五酯胶囊+常规	3 mo	ALT、AST、TG、TC、HDL、LDL
谢军等[18], 2011	T: 28(16/14) C: 29(18/12)	42.8 42.6	中华医学会相关标准	玉凤汤+常规+二甲双胍	熊去氧胆酸胶囊+常规	2 mo	ALT、AST、GGT、TG、TC、HDL、LDL

T: 试验组; C: 对照组; 常规指基础治疗, 包括健康教育、禁酒、控制饮食、体育运动、减轻体质量、调畅情志等; 中华医学会相关标准指中华医学会肝脏病学分会脂肪肝和酒精性肝病学组制定的NAFLD诊断标准; TG: 甘油三酯; TC: 总胆固醇; ALT: 丙氨酸转氨酶; AST: 天冬氨酸转氨酶; GGT: γ-谷氨酰基转移酶; ALP: 碱性磷酸酶; BMI: 体质量指数; WHR: 腰臀比; HOME-IR: 稳态模型胰岛素抵抗指数; LDL: 低密度脂蛋白; HDL: 高密度脂蛋白.

平均年龄(±标准差), 但年龄个体差异比较大, 最小18岁, 最大70岁. 全部RCT的NAFLD诊断标准均采用中华医学会肝脏病学分会脂肪肝和酒精性肝病学组制定的NAFLD诊断标准. 除外3个RCT[5,15,16], 其余11个RCT的试验组与对照组均包含常规治疗, 常规治疗主要包括健康教育、禁酒、控制饮食、体育运动、减少体质量、调畅情志等基础治疗. 11个RCT试验组与对照组均在常规治疗基础上, 试验组采用降脂方[2]、金丹王合剂[3]、利湿活血通络汤[4]、强肝消脂胶囊[6,7]、清肝消脂汤联合还原型谷胱甘肽[8]、祛湿活血中药方[9]、疏肝健脾清热利湿法[10-13]、消脂健脾合剂[14]、茵陈蒿汤合越鞠丸加减[17]、玉凤汤[18], 相应对照组采用强肝胶囊[2]、熊去氧胆酸片[3]、硫普罗宁肠溶片[4]、安慰剂胶囊[6,7]、还原型谷胱甘肽[8]、无药物干预[9]、复方蛋氨酸胆碱片

表 2 方药组成

纳入文献	方药	方药组成(含辨证加减)
周自强等[2], 2010	降脂方	茵陈15 g, 大黄5 g, 泽泻10 g, 鳖甲10 g, 丹参10 g, 山楂10 g, 丝瓜络10 g
陈兴等[3], 2012	金丹王合剂	茵陈, 大黄, 金钱草, 海金砂, 车前子, 丹参, 王不留行, 郁金, 蒲公英, 金银花, 厚朴, 黄芩, 山药, 二芽
周兵等[4], 2009	利湿活血通络汤	茵陈15 g, 大黄5 g, 泽泻10 g, 醋鳖甲10 g, 丹参10 g, 山楂10 g, 丝瓜络10 g
赵智宏等[5], 2010	芪茵颗粒	茵陈, 生大黄, 生黄芪, 生山楂, 补骨脂, 泽泻, 决明子, 三七粉, 苦丁茶
张博等[5], 2011	强肝消脂胶囊	茵陈, 大黄, 山楂, 泽泻, 黄芪, 葛根, 丹参, 虎杖, 决明子, 柴胡
郑羽等[7], 2011	强肝消脂胶囊	茵陈, 大黄, 山楂, 泽泻, 黄芪, 葛根, 丹参, 虎杖, 决明子, 柴胡
马建等[8], 2010	清肝消脂汤	茵陈15 g, 大黄10 g, 柴胡20 g, 郁金15 g, 虎杖20 g, 山楂20 g, 泽泻15 g, 茯苓15 g, 决明子10 g, 半夏15 g, 陈皮15 g, 黄芪20 g, 丹参15 g
刘旭东等[9], 2013	祛湿活血中药方	茵陈9 g, 酒大黄6 g, 虎杖15 g, 绞股蓝15 g, 柴胡6 g, 荷叶6 g, 丹参6 g, 党参, 白术, 枸杞子, 山萸肉, 当归, 川芎
马建等[10-13], 2009	疏肝健脾清热利湿法	茵陈, 生大黄, 生黄芪, 柴胡, 生山楂, 丹参, 三七粉, 泽泻, 决明子, 补骨脂, 虎杖, 葛根, 苦丁茶
林立等[14], 2010	消脂健脾合剂	茵陈蒿, 大黄, 三七, 赤芍, 虎杖, 茯苓, 淮山, 柴胡
刘晓琳等[15], 2011	茵陈五苓散加减	茵陈20 g, 泽泻15 g, 茯苓10 g, 白术10 g, 猪苓10 g, 桂枝6 g, 草决明20 g, 山楂20 g, 荷叶10 g, 生地20 g, 天花粉20 g, 沙参20 g, 葛根10 g, 贯众10 g, 重楼10 g, 茵陈10 g, 川楝子10 g
黄志平等[16], 2004	茵陈蒿汤合越鞠丸加减	茵陈30 g, 大黄10 g, 栀子10 g, 苍术10 g, 香附10 g, 神曲10 g, 川芎10 g
黄志平等[17], 2008	茵陈蒿汤合越鞠丸加减	茵陈30 g, 大黄10 g, 栀子10 g, 香附10 g, 神曲10 g, 川芎10 g
谢军等[18], 2011	玉凤汤	茵陈15 g, 山桅6 g, 大黄5 g, 太子参15 g, 白术10 g, 生地10 g, 麦冬10 g, 柴胡10 g, 丹皮10 g,连翘30 g, 赤芍15 g, 王不留行10 g, 生牡蛎20 g, 桃仁10 g, 甘草5 g

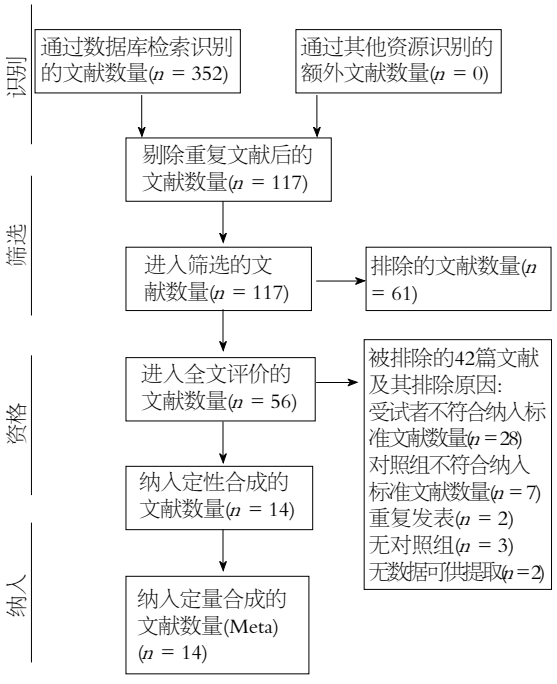


图 1 PRISMA流程图[19].

[10-13]、多烯磷脂酰胆碱胶囊[14]、五酯胶囊[17]、熊去氧胆酸胶囊联合二甲双胍[18]. 不包含常规治疗的3个RCT试验组采用芪茵颗粒[5]、茵陈五苓散加减[15]、茵陈蒿汤合越鞠丸加减[16], 相应对照组采用多烯磷脂酰胆碱胶囊[5]、脂必妥片[15]、复方蛋氨酸胆碱片[16]. 全部RCT试验组均含经方茵陈蒿汤加减, 其方药组成如表2所示. 纳入的RCT干预总疗程最短为1 mo, 最长为6 mo.

所有RCT均未对主要终点指标予以报告. 有4个RCT[4,6,7,10-13]报告不良反应结局指标, 其中1个RCT[4]报告存在比较轻微的不良反应, 包括大便次数增多、轻微腹痛, 其余3个RCT未发现不良反应. 次要终点指标主要包括肝脏B超和CT影像学分析、血清AST、ALT、ALP、GGT、TG、TC、LDL、HDL、HOMA-IR等.

2.3 纳入RCT偏倚风险 全部RCT对研究设计与方法学相关信息提供均非常有限, 方法学质量均比较低(表3), 均属于高偏倚风险RCT. 所有RCT均提及基线资料各组间具有可比性, 均描述了纳入标准, 除5个RCT[2,14-17]外均描述排除标准. 所有RCT均未采用意向性分析对数据进行评价. 全部RCT均提及随机分组, 有5个RCT[3-5,8,10-13,18]报告分配序列产生的相关方法, 均采用随机数字表法, 其余RCT均未报告分配序列产生的方法. 所有RCT均未报告分配隐藏. 仅有1个RCT[7]报告采用双盲法, 使受试者和试验人员盲, 并描述具体实施方法. 有3个RCT[7,10-13,18]报告病例脱落及其原因, 其余RCT均未提及病例的失访或脱落情况. 有2个RCT[16,17]并未按照研究方案完全

■应用要点
茵陈蒿汤加减治疗NAFLD有效且安全, 但由于所纳入的RCT方法学质量均较低, 建议开展更为严格的RCT, 以获取茵陈蒿汤加减治疗NAFLD高水平证据, 为临床实践提供指导.

■同行评价
本文系首次采用随机对照试验系统评价与Meta分析的方法，对茵陈蒿汤加减治疗NAFLD的有效性和安全性做评估，选题新颖，研究思路清晰、设计合理，文献采集与数据处理全面有序，具有一定的指导意义.

表 3 纳入RCT质量评价

纳入文献	随机序列产生(选择偏倚)	分配隐藏(选择偏倚)	盲法(实施和检测偏倚)	盲受试者和试验人员(实施偏倚)	盲结局评价(检测偏倚)	数据结果不全(报告偏倚)	选择发表(发表偏倚)	其他偏倚	偏倚风险级别
周自强等[2], 2010	U	U	U	U	U	L	L	U	H
陈兴等[3], 2012	L	U	U	U	U	L	L	U	H
周兵等[4], 2009	L	U	U	U	U	L	L	U	H
赵智宏等[5], 2010	L	U	U	U	U	L	L	U	H
张博等[5], 2011	U	U	U	U	U	L	L	U	H
郑羽等[7], 2011	U	U	L	L	L	L	L	U	H
马建等[8], 2010	U	U	U	U	U	L	L	U	H
刘旭东等[9], 2013	U	U	U	U	U	L	L	U	H
马建等[10-13], 2009	L	U	U	U	U	L	L	U	H
林立等[14], 2010	U	U	L	L	L	L	L	U	H
刘晓琳等[15], 2011	U	U	U	U	U	U	U	U	H
黄志平等[16], 2004	U	U	U	U	U	H	H	U	H
黄志平等[17], 2008	U	U	U	U	U	H	H	U	H
谢军等[18], 2011	L	U	U	U	U	L	L	U	H

H: 高偏倚风险; L: 低偏倚风险; U: 不明确偏倚风险.

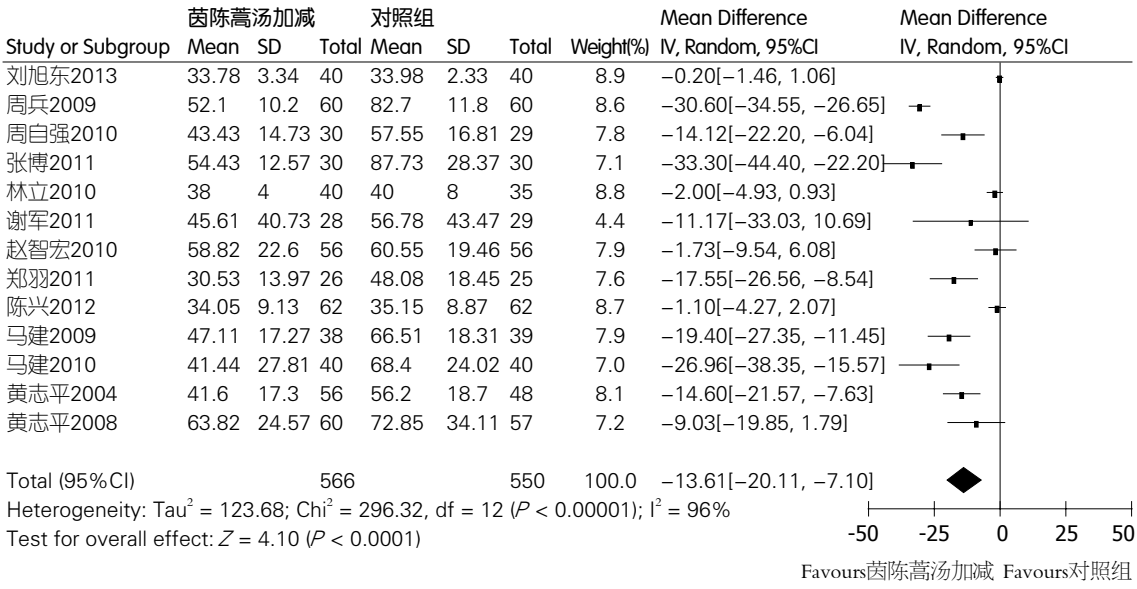


图 2 茵陈蒿汤加减组与对照组治疗后ALT水平比较.

报告所有终点指标，其余RCT均对研究方案确定的观察指标予以充分报告. 仅有1个RCT报告样本量估算及其具体方法，其余RCT均未提及样本量估算方法. 全部RCT可能还存在其他偏倚.

2.4 干预效应 所有RCT均未对主要终点指标予以报告. 有4个RCT[4,6,7,10-13]报告不良反应结局指标. 所有RCT研究结论均证实含茵陈蒿汤加减的试验组治疗NAFLD有较好疗效且安全.

除外1个RCT[15]其余RCT均报告ALT，Meta分析结果，提示含茵陈蒿汤加减组治疗后ALT降低优于对照组[MD: -13.61(-20.11, -7.10), P<0.0001](图2). 除外2个RCT[2,15]其余RCT均报告AST，Meta分析结果提示含茵陈蒿汤加减组治疗后AST降低优于对照组[MD: -8.88(-14.78, -2.97), P = 0.003](图3). 有8个RCT[2,5-8,10-13,16,18]报告了GGT，Meta分析结果提示含茵陈蒿汤加减组治疗后GGT降低优于对照组[MD: -9.78(-15.43, -4.13), P = 0.0007](图4). 除外2个RCT[2,15]

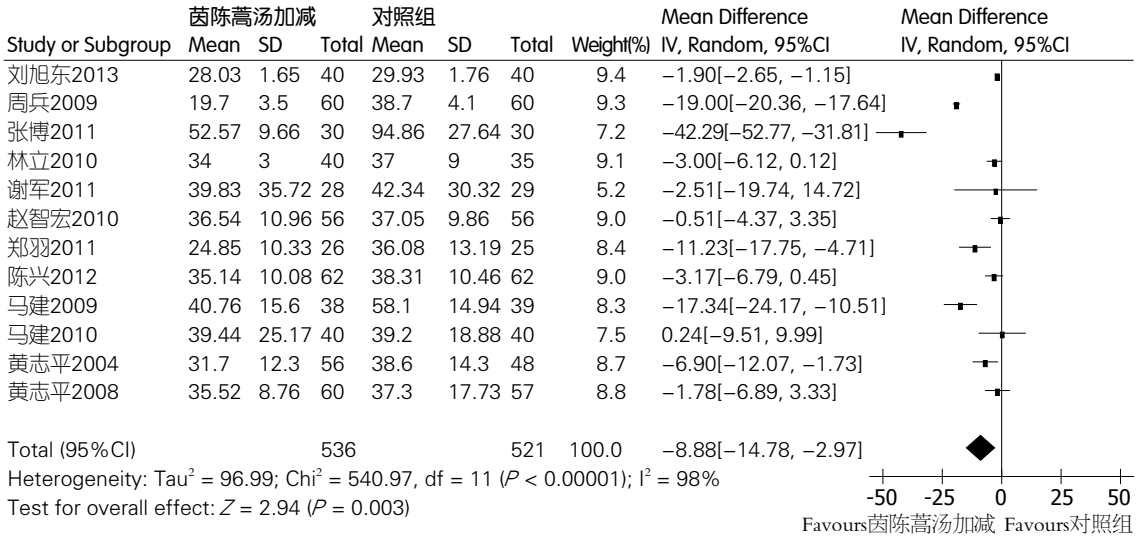


图 3 茵陈蒿汤加减组与对照组治疗后AST水平比较.

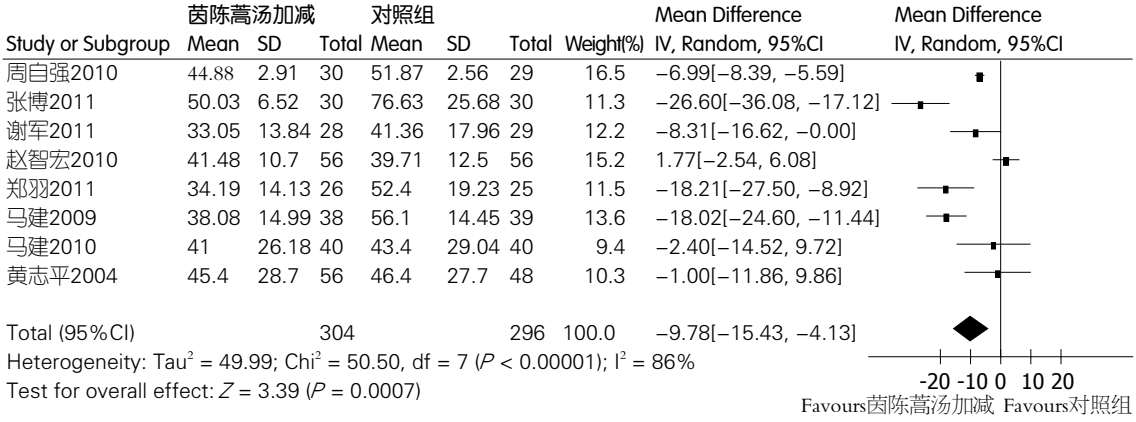


图 4 茵陈蒿汤加减组与对照组治疗后GGT水平比较.

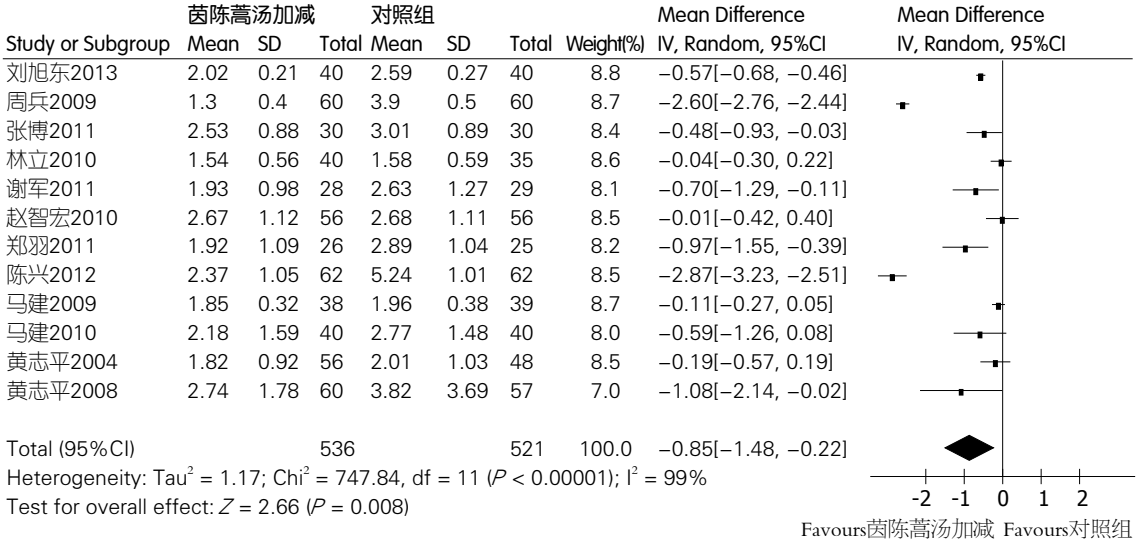


图 5 茵陈蒿汤加减组与对照组治疗后TG水平比较.

其余RCT均报告TG, Meta分析结果提示含茵陈蒿汤加减组治疗后TG降低优于对照组[MD: -0.85(-1.48, -0.22), P = 0.008](图5). 除外2个RCT[2,15]其余RCT均报告TC, Meta分析结果提

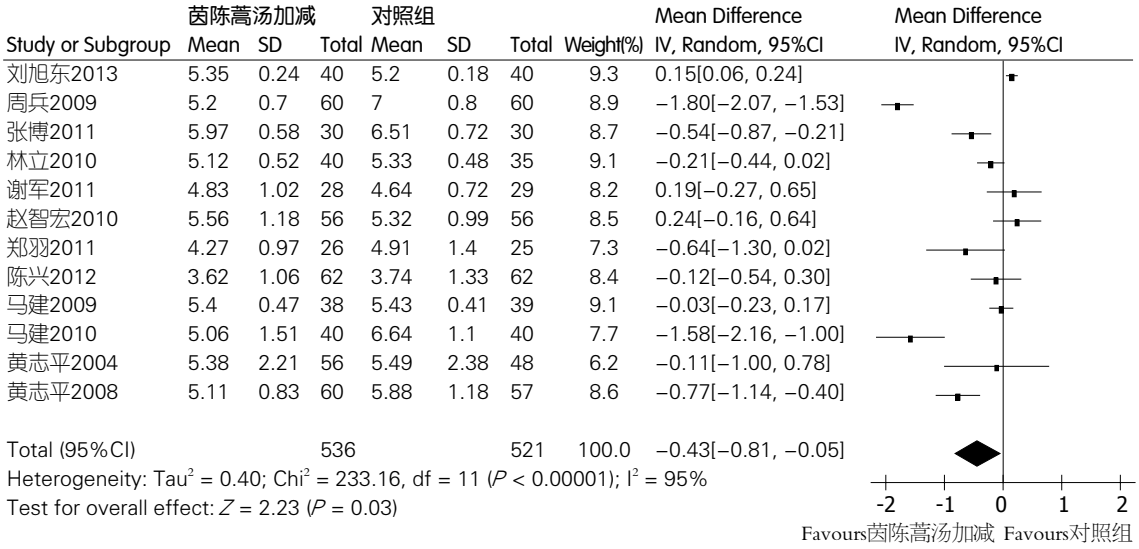


图 6 茵陈蒿汤加减组与对照组治疗后TC水平比较.

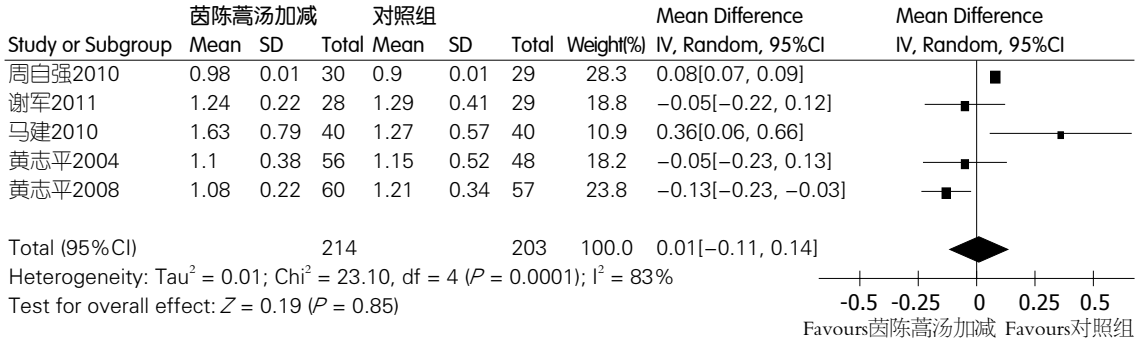


图 7 茵陈蒿汤加减组与对照组治疗后HDL水平比较.

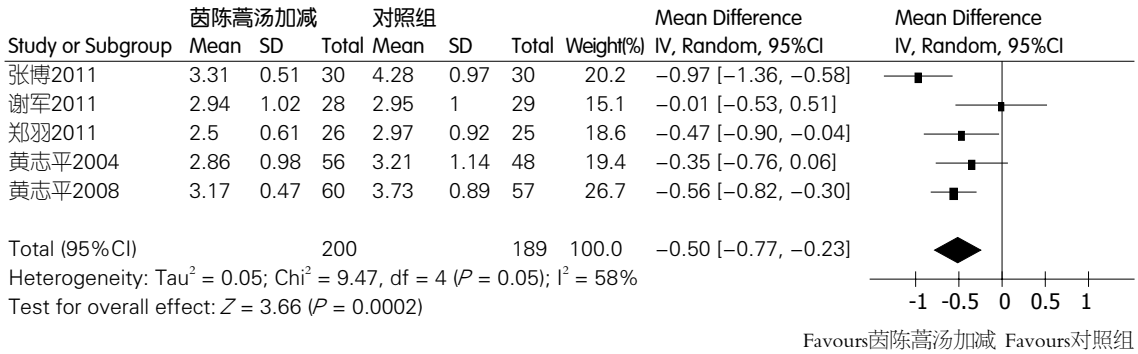


图 8 茵陈蒿汤加减组与对照组治疗后LDL水平比较.

示含茵陈蒿汤加减组治疗后TC降低优于对照组[MD: -0.43(-0.81, -0.05), P = 0.03](图6). 有5个RCT[2,8,16-18]报告了HDL, Meta分析结果提示两组治疗后HDL改善差异无统计学意义[MD: 0.01(-0.11, 0.14), P = 0.85] (图7). 有5个RCT[6,7,16-18]报告了LDL, Meta分析结果提示含茵陈蒿汤加减组治疗后LDL降低优于对照组[MD: -0.50(-0.77, -0.23), P = 0.0002](图8).

有2个RCT[3,5]报告了BMI, Meta分析结果提示两组治疗后BMI改善差异无统计学意义[MD: 0.38(-3.94, 4.69), P = 0.86](图9). 有3个RCT[7,10-13,18]报告了证候积分, Meta分析结果提示含茵陈蒿汤加减组治疗后证候积分改善优于对照组[MD: -3.63(-6.60, -0.65), P = 0.02](图10). 有

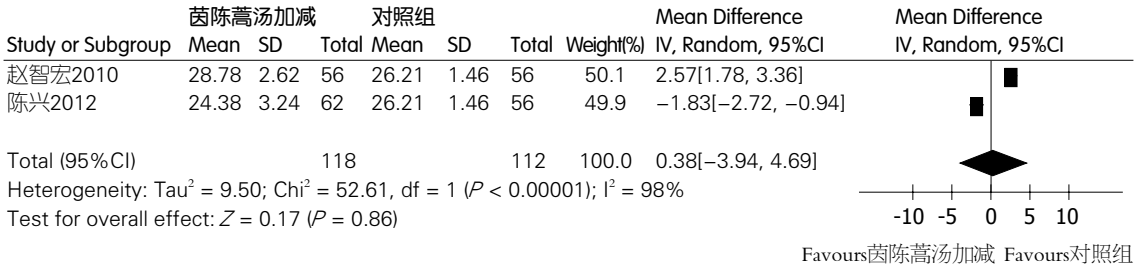


图 9 茵陈蒿汤加减组与对照组治疗后BMI水平比较.

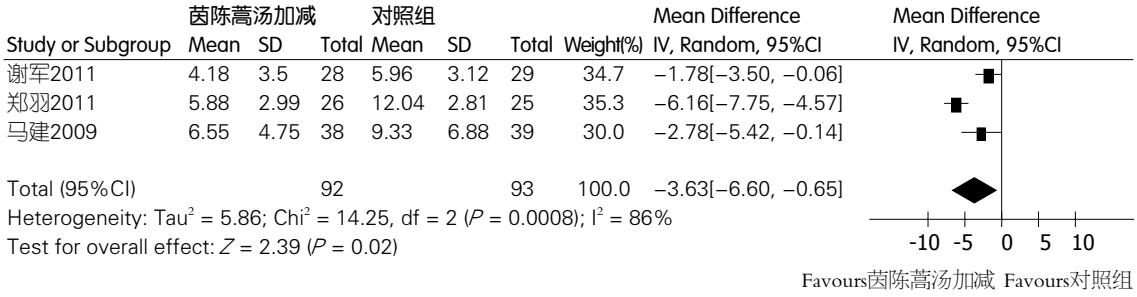


图 10 茵陈蒿汤加减组与对照组治疗后证候积分比较.

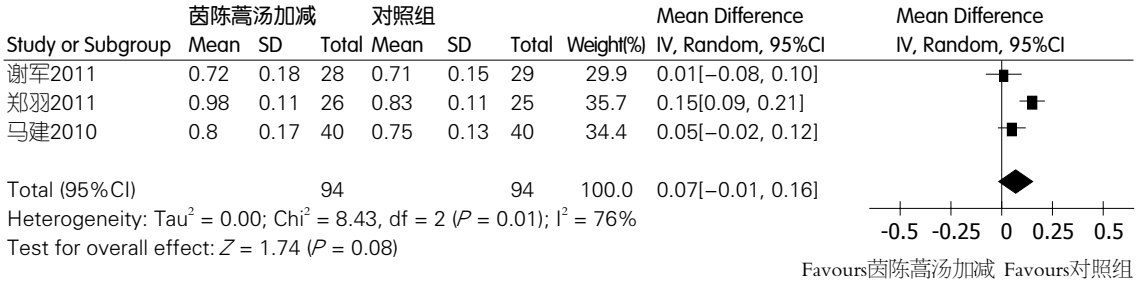


图 11 茵陈蒿汤加减组与对照组治疗后肝/脾CT值比较.

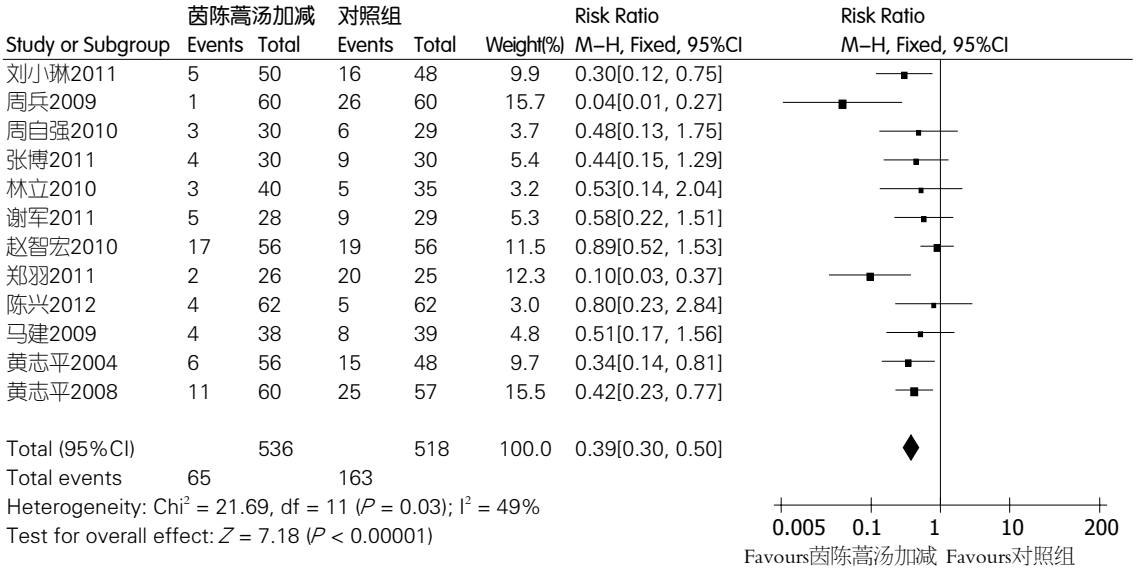


图 12 茵陈蒿汤加减组与对照组治疗后总有效率比较.

3个RCT[7,8,18]报告了肝/脾CT值, Meta分析结果 提示两组治疗后肝/脾CT值改善差异无统计学

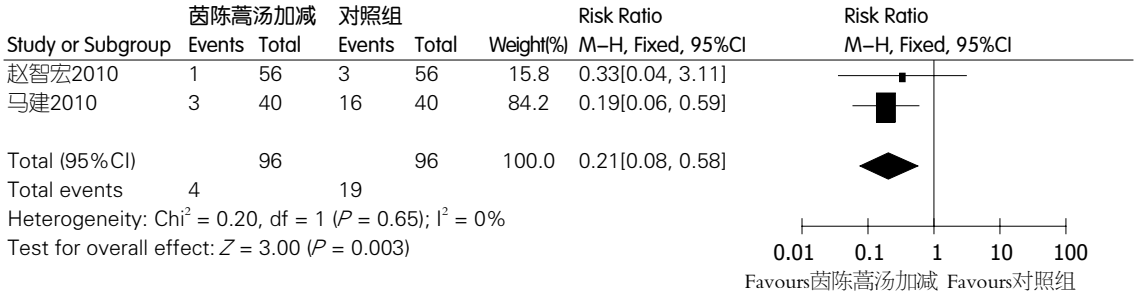


图 13 茵陈蒿汤加减组与对照组治疗后证候有效率比较.

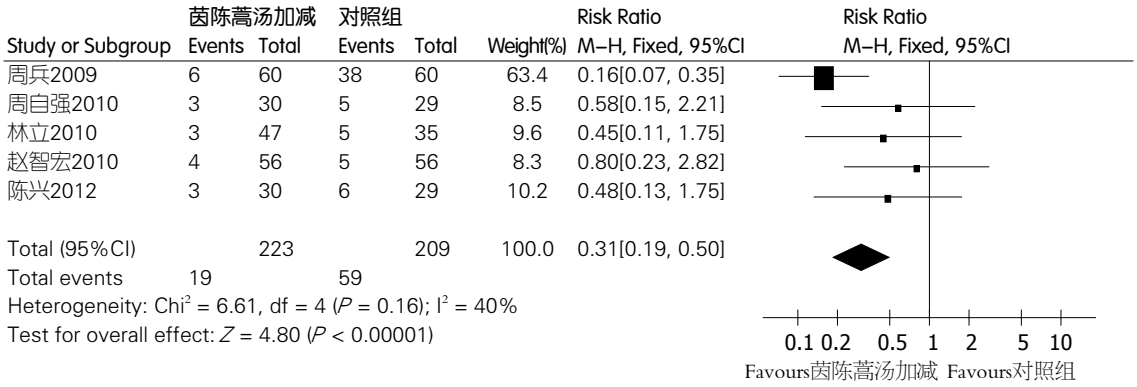


图 14 茵陈蒿汤加减组与对照组治疗后B超有效率比较.

意义[MD: 0.07(-0.01, 0.16), P = 0.08](图11). 除外2个RCT[8,9]其余RCT均报告总有效率, Meta分析结果提示含茵陈蒿汤加减组治疗后总有效率优于对照组[RR: 0.39(0.30, 0.50), P<0.00001](图12). 有2个RCT[5,8]报告了证候有效率, Meta分析结果提示含茵陈蒿汤加减组治疗后证候有效率优于对照组[RR: 0.21(0.08, 0.58), P = 0.003](图13). 有5个RCT[2-5,14]报告了B超有效率, Meta分析结果提示含茵陈蒿汤加减组治疗后B超有效率优于对照组[RR: 0.31(0.19, 0.50), P<0.00001](图14).

对所有次要终点指标行敏感性分析, 结果均提示Meta分析结果比较稳定. 由于纳入的RCT数量较少, 无法对发表偏倚进行充分评价, 但经漏斗图分析显示大部分次要终点指标均存在一定的发表偏倚趋势.

3 讨论

经方茵陈蒿汤药味少而方效精, 全方疏利气机, 通泄壅滞, 能使湿热从二便而出, 目前临床试验均报道茵陈蒿汤及其加减治疗NAFLD有效与安全. 本研究共有14个RCT合计1214例NAFLD受试者, 单个RCT样本量最大124例, 最小51例, 平均为87例. 由于各个RCTs干预措施及干预疗程存在差异, 使次要终点ALT、AST、GGT、TG、TC、HDL、LDL、BMI、证候积分、肝/脾CT值的合成分析出现明显异质性, 故采用随机效应模型进行Meta分析. 有13个RCT报告含茵陈蒿汤加减组治疗后ALT显著降低, 有12个RCT报告含茵陈蒿汤加减组治疗后AST显著降低, 有8个RCT报告含茵陈蒿汤加减组治疗后GGT显著降低, 有12个RCT报告含茵陈蒿汤加减组治疗后TG显著降低, 有12个RCT报告含茵陈蒿汤加减组治疗后TC显著降低, 有5个RCT报告含茵陈蒿汤加减组治疗后LDL显著降低, 有3个RCT报告含茵陈蒿汤加减组治疗后证候积分显著改善, 有12个RCT报告含茵陈蒿汤加减组治疗后总有效率显著提高, 有2个RCT报告含茵陈蒿汤加减组治疗后证候有效率显著提高, 有5个RCT报告含茵陈蒿汤加减组治疗后B超有效率显著提高. 所有RCT均未对任何原因引起的死亡、肝脏相关性死亡率、肝脏相关性疾病(如肝硬化、静脉曲张破裂出血、肝性脑病、肝肾衰竭、癌症)发病率、生活质量及不良反应事件(包括增加死亡率的事件、威胁生命的事件、要求住院治疗的事件、引起明显残疾的事件)等主要终点指标予以报告. 纳入RCT的干预总疗程最短为1 mo, 最长为6 mo, 均无长期随访数据. 因

此对茵陈蒿汤加减治疗NAFLD的远期疗效与安全性尚不明确, 建议今后应重视长期随访并报告主要终点与次要终点指标.

全部RCT在设计、方法学、报告等方面均属于高偏倚风险. 所有RCT对研究设计、分配隐藏等方面的描述相关信息均不足. 各RCT茵陈蒿汤加减方药相关成分、质量控制、剂量、用法等方面未形成统一标准, 影响了各临床试验之间的可比性. 通过方法学评价而知全部RCT均属于高偏倚风险级别, 按照循证医学而言目前还没有足够证据支持推荐茵陈蒿汤加减用于治疗NAFLD. RCT被视为药物临床评价的金标准并位于循证医学证据评价金字塔的顶端, 而大样本、多中心、随机、双盲的高质量RCT是评价茵陈蒿汤加减治疗NAFLD有效性与安全性的最好方法, 建议今后积极开展, 以获取茵陈蒿汤加减治疗NAFLD高水平证据, 并为临床实践提供指导. 此外, 临床试验设计宜遵循SPIRIT声明所规定的要求(www.spirit-statement.org)及按照CONSORT声明报告试验结果(www.consort-statement.org). 为了提高临床试验的质量, 建议所有参与的研究人员在研究设计前及研究方案注册前开展临床试验方法学相关培训[19].

4 参考文献

1 Higgins JPT, Green S. Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions Version 5.1.0. Cited: 2011-03. The Cochrane Collaboration, 2011. Available from: URL: http://www.cochrane-handbook.org

2 周自强, 方妹辉. 降脂方治疗非酒精性脂肪性肝炎临床观察. 新中医 2010; 42: 39-40

3 陈兴, 吴玲, 黄廷荣. 金丹王合剂治疗非酒精性脂肪性肝炎的临床研究. 中西医结合肝病杂志 2012; 22: 94-97

4 周兵, 蔡光先, 柏正平, 曾松林, 付曙华. 利湿活血通络汤治疗非酒精性脂肪性肝炎60例临床观察. 中医药导报 2009; 15: 13-15

5 赵智宏, 曾斌芳. 芪茵颗粒治疗非酒精性脂肪肝肝郁脾虚型的临床研究. 新疆医科大学, 2010: 5-25

6 张博, 李磊. 强肝消脂胶囊治疗非酒精性脂肪肝(瘀血湿热内阻证)临床观察. 长春中医药大学, 2011: 14-36

7 郑羽, 马建. 强肝消脂胶囊治疗瘀血湿热内阻型非酒精性脂肪性肝炎的临床研究. 黑龙江中医药大学, 2011: 26-43

8 马建, 孙阳, 黄荣忠. 清肝消脂汤治疗非酒精性脂肪性肝炎疗效观察. 实用中西医结合临床 2010; 10: 5-6

9 刘旭东, 涂燕云, 张红星. 祛湿活血中药治疗非酒精性脂肪肝40例. 陕西中医 2013; 34: 16-18

10 葛庆红, 马建. 疏肝健脾清热利湿法对非酒精性脂肪性肝炎肝功ALT、AST、GGT的临床研究. 黑龙江中医药大学, 2009: 19-35

11 李勇, 马建. 疏肝健脾清热利湿法对非酒精性脂肪性肝炎血脂TC、TG影响的临床研究. 黑龙江中医药大学, 2009: 30-48

12 刘庆燕, 马建. 疏肝健脾清热利湿法治疗非酒精性脂肪性肝炎对B超影响的临床研究. 黑龙江中医药大学, 2009: 24-44

13 刘月艳, 马建. 疏肝健脾清热利湿法治疗非酒精性脂肪性肝炎中医症候及CT的临床研究. 黑龙江中医药大学, 2009: 27-50

14 林立, 张其清. 消脂健脾合剂防治非酒精性脂肪性肝炎的临床研究. 中医药通报 2010; 9: 44-46

15 刘晓琳, 赵连皓. 茵陈五苓散治疗非酒精性脂肪肝50例. 陕西中医 2011; 32: 520-521

16 黄志平, 李伏娥, 朱清云, 唐晖, 韩素芳. 茵陈越鞠汤治疗非酒精性脂肪性肝炎的临床观察. 中国中医药科技 2004; 11: 371-372

17 黄志平, 林燕萍, 张萍, 李伏娥, 朱清云, 韩素芳. 茵陈越鞠汤治疗非酒精性脂肪性肝炎的临床观察. 中华中医药学刊 2008; 26: 1100-1101

18 谢军, 赵国荣. 玉凤汤治疗肝胃郁热型非酒精性脂肪性肝炎的临床研究. 湖南中医药大学, 2011: 1-18

19 Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. *Ann Intern Med* 2009; 151: 264-269, W64 [PMID: 19622511 DOI: 10.7326/0003-4819-151-4-200908180-00135]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年6月8日; 22(16): 2338-2342
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

肝硬化肝细胞癌术后标准残肝体积与肝功能代偿不全的相关性

李瑞东, 周文斌

■背景资料
原发性肝癌的发病率在全世界逐年上升, 居恶性肿瘤第5位, 死亡率居恶性肿瘤第3位, 其中, 肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)占原发性肝癌的绝大多数, 其余不足5%为胆管细胞癌. 我国是肝癌的高发国家, 肝癌病例约占全球55%, 死亡率仅次于肺癌, 位居第2位. 目前国内外对于肝癌的治疗方式仍以肝切除术为主, 因此, 术前对肝癌切除手术的安全性评估至关重要.

李瑞东, 周文斌, 缙云县人民医院普外科 浙江省丽水市 321400
李瑞东, 主治医师, 主要从事肝胆胃肠疾病的研究.
作者贡献分布: 李瑞东与周文斌对此文所作贡献均等; 此课由李瑞东与周文斌共同设计完成; 研究过程由李瑞东与周文斌操作完成.
通讯作者: 周文斌, 主任医师, 321400, 浙江省丽水市缙云县五云镇溪滨南路33号, 缙云县人民医院普外科. lrd200111@163.com
电话: 0578-3148045
收稿日期: 2014-05-05 修回日期: 2014-05-15
接受日期: 2014-05-20 在线出版日期: 2014-06-08

Correlation between standard remnant liver volume and liver function decompensation in patients after surgery for hepatocellular carcinoma

Rui-Dong Li, Wen-Bin Zhou

Rui-Dong Li, Wen-Bin Zhou, Department of General Surgery, the People's Hospital of Jinyun, Lishui 321400, Zhejiang Province, China
Correspondence to: Wen-Bin Zhou, Chief Physician, Department of General Surgery, the People's Hospital of Jinyun, 33 Xibinnan Road, Lishui 321400, Zhejiang Province, China. lrd200111@163.com
Received: 2014-05-05 Revised: 2014-05-15
Accepted: 2014-05-20 Published online: 2014-06-08

Abstract

AIM: To investigate the correlation between standard remnant liver volume and liver function decompensation in patients after surgery for hepatocellular carcinoma.

METHODS: A total of 80 cases of hepatocellular carcinoma in patients with cirrhosis were retrospectively analyzed. According to the ratio of the size of the remnant liver volume after resection, patients were divided into two groups: a small resection (SR) group and a large resection (LR) group. The liver function, tumor markers and postoperative outcome of these two groups were compared before and after the surgery.

RESULTS: The total bilirubin (TB), international normalized ratio (INR), alanine aminotransferase (ALT), and aspartate aminotransferase (AST) increased significantly after surgery ($P < 0.05$). Postoperative TB, INR, AST in the LR group were higher than those in the SR group, and ALT on days 5 and 7 was significantly higher in the LR group than in the SR group ($P < 0.05$). α-fetoprotein (AFP) and CA19-9 significantly decreased after surgery ($P < 0.05$). Postoperative AFP in the LR group was significantly higher than that in the SR group ($P < 0.05$). The incidence of hepatic decompensation and hepatic failure in the LR group was higher than that in the SR group (25.0% *vs* 3.3%, 12.0% *vs* 0%, $P < 0.05$ for both), although the incidence of wound infection, portal vein thrombosis and intra-abdominal hemorrhage did not differ between the two groups.

CONCLUSION: Standard remnant liver volume is a good indicator of liver reserve function in patients with hepatocellular carcinoma after operation, and patients with greater standard remnant liver volume has a lower incidence of liver function decompensation and hepatic failure.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Cirrhosis; Hepatocellular carcinoma; Standard remnant liver volume; Hepatic decompensation

Li RD, Zhou WB. Correlation between standard remnant liver volume and liver function decompensation in patients after surgery for hepatocellular carcinoma. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(16): 2338-2342 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2338.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i16.2338

摘要

目的: 探讨肝硬化肝细胞癌术后标准残肝体积与肝功能代偿不全的相关性.

方法: 回顾性分析我院2009-08/2012-08收治的80例肝硬化肝细胞癌患者的资料, 根据术后残肝比率的大小分为少量切除组(SR组)与大量

■同行评议者
吕云福, 教授, 海南省人民医院外一科

切除组(LR组), 分析比较两组患者手术前后肝功能指标、肿瘤标志物及术后转归情况.

结果: 两组患者术后总胆红素(total bilirubin, TB)、国际标准化比值(international normalized ratio, INR)、谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)均较术前大幅升高, 并随时间推移而降低, 差异具有统计学意义(P<0.05); LR组TB、INR、AST于术后均高于SR组, 且ALT在术后第5、7天显著高于SR组, 差异具有统计学意义(P<0.05); 两组患者术后甲胎蛋白(α-fetoprotein, AFP)、CA19-9较术前均显著下降, 差异具有统计学意义(P<0.05); LR组AFP于术后均高于SR组, 差异具有统计学意义(P<0.05); LR组术后肝功能失代偿发生率及肝功能衰竭发生率高于SR组, 差异具有统计学意义(25.0% *vs* 3.3%, 12.0% *vs* 0%, 均P<0.05), LR组患者的切口感染、门脉血栓、腹腔内出血的发生率虽与SR组并没有统计学差异, 但仍可见其较SR组高.

结论: 标准残肝体积是反映肝硬化肝细胞癌患者术后肝贮备功能的一项良好的指标, 标准残肝体积高的患者肝功能代偿不全及肝功能衰竭发生率较低.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 肝硬化; 肝细胞癌; 标准残肝体积; 肝功能代偿不全

核心提示: 本文研究的是肝硬化肝细胞癌术后标准残肝体积与肝功能代偿不全的相关性. 发现, 尽管肝切除术后两组肝功能均有所下降, 但可明显见到大量切除组(肝切除约30%-50%, 标准残肝体积<400 mL/m^2)的术后肝功能显著差于少量切除组(肝切除30%以内, 标准残肝体积≥400 mL/m^2), 这可能是因为肝脏功能与有效肝脏体积/重量呈正相关, 大量切除组由于有效肝脏体积/重量骤然减少超过机体调节能力, 残余的肝脏无法负荷而导致肝功能不仅下降显著, 且恢复缓慢.

李瑞东, 周文斌. 肝硬化肝细胞癌术后标准残肝体积与肝功能代偿不全的相关性. 世界华人消化杂志 2014; 22(16): 2338-2342
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2338.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i16.2338

0 引言

肝切除术是国内外治疗肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)的普遍首选方法, 总体上肝癌术后5年生存率为30%-40%, 微小肝癌可高达90%[1]. 肝功能恢复情况是评价肝癌术后患者生存情况的一个重要指标, 肝细胞癌患者术后标准残肝体积与肝功能的代偿情况密切相关[2,3]. 经过学术委员会批准, 现对我院80例肝硬化肝细胞癌术后患者的临床资料进行回顾性分析, 拟为临床应用提供依据, 结果报道如下.

■**研发前沿**
标准残肝体积是国外常用的术前评估与手术制定指标, 但在国内应用尚未普及.

1 材料和方法

1.1 材料 选取我院2009-08/2012-08收治的80例肝硬化肝细胞癌患者, 其中, 男58例, 女22例, 年龄31-52岁, 平均41岁±8岁. 所有患者入院后均行血粪尿三大常规、乙型肝炎三系、肝肾糖脂电解质、凝血功能、肿瘤标志物等检验, 并行肝脏B超、磁共振成像、螺旋CT平扫+增强等影像学检查及肝组织活检. 纳入排除标准: (1)肝功能为Child-Pugh A级, 或经短期治疗后恢复到A级; (2)定量肝功能试验基本在正常范围内; (3)无不可切除的肝外转移; (4)患者一般情况良好, 无明显心、肾等重要器官疾病. 依据术后残肝比率的大小将患者分为少量切除组(SR组: 标准残肝体积≥400 mL/m^2)与大量切除组(LR组: 标准残肝体积<400 mL/m^2), 两组患者间年龄、体质量指数(body mass index, BMI)、手术时间、术中出血量、估计标准肝体积均无显著性差异(P>0.05), 具有可比性; 住院时间、实际切肝量、残余肝体积、标准残肝体积具有显著性差异(P<0.05)(表1).

1.2 方法

1.2.1 手术: 患者术前均测定肝脏总体积, 估计标准肝体积. 患者复合全麻下行肝癌切除术, 测量取下的肝脏组织(包括肿瘤及肿瘤周围的肝脏组织)的质量、计算标准残肝体积后, 行快速冰冻切片再次进行病理学检查. 分别于手术后第1、5、14天复测患者各项指标, 比较两组患者手术前后肝功能: 总胆红素(total bilirubin, TB)、国际标准化比值(international normalized ratio, INR)、谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST); 肿瘤标志物: 甲胎蛋白(α-fetoprotein, AFP)、糖链抗原19-9; 术后转归情况: 切口感染、门脉血栓、腹腔内出血、胆漏及肝功能失代偿发生率.

1.2.2 肝功能损害判定: 术后肝功能恢复判断标准[4,5]: "(1)轻度失代偿: ALT<300 U/L, TB<34 mmol/L, PT延长时间<3 s, 腹水无或少量, 血氨正常; (2)中度失代偿: 1次ALT>300 U/L, 34 mmol/L≤TB≤51 mmol/L, 3 s≤PT延长时间≤5 s, 腹水

■应用要点
标准残肝体积是反映肝硬化肝细胞癌患者术后肝贮备功能的一项良好的指标, 推荐将其应用于临床术前评估及制定手术方案.

表 1 两组患者一般情况比较

分组	*n*	年龄(岁)	体质量指数(kg/m^2)	住院时间(d)	手术时间(min)	术中出血量(mL)	估计标准肝体积(mL)	实际切肝量(mL/m^2)	残余肝体积[1](mL/m^2)	标准残肝体积(mL/m^2)
LR组	50	39±8	25.2±1.8	19±5a	265±38	412±64	1048±101	558±75[a]	489±91[a]	336±49[a]
SR组	30	42±9	24.6±2.3	16±3	276±49	386±57	1005±112	326±44	680±124	467±53
*t*值		−1.549	1.298	2.976	−1.123	1.831	1.769	15.403	−7.915	−11.227
*P*值		0.125	0.197	0.004	0.265	0.070	0.081	0.000	0.000	0.000

[1]残余肝体积 = 估计标准肝体积−实际切肝量. [a]*P*<0.05 *vs* SR组. LR组: 少量切除组; SR组: 大量切除组.

表 2 两组患者手术前后肝功能指标TB与INR的比较

分组	*n*	TB(μmol/L)				INR			
		术前3 d	术后1 d	术后5 d	术后14 d	术前3 d	术后1 d	术后5 d	术后14 d
LR组	50	31±9	67±11[ac]	89±18[ac]	41±6[a]c	1.06±0.07	1.72±0.22[ac]	1.44±0.15[ac]	1.17±0.09[ac]
SR组	30	28±8	52±15[c]	72±14[c]	29±7	1.04±0.05	1.30±0.11[c]	1.19±0.06[c]	1.05±0.03
$t_{组间值}$		1.503	5.140	4.427	8.131	1.368	9.734	8.703	7.056
$P_{组间值}$		0.137	0.000	0.000	0.000	0.175	0.000	0.000	0.000

[a]*P*<0.05 *vs* SR组; [c]*P*<0.05 *vs* 术前3 d. LR组: 少量切除组; SR组: 大量切除组. TB: 总胆红素; INR: 国际标准化比.

表 3 两组患者手术前后肝功能指标ALT与AST的比较 (IU/L)

分组	*n*	ALT(IU/L)				AST(IU/L)			
		术前3 d	术后1 d	术后5 d	术后14 d	术前3 d	术后1 d	术后5 d	术后14 d
LR组	50	47±11	265±121[c]	167±76[ac]	55±14[ac]	43±15	262±116[ac]	161±67[ac]	59±12[ac]
SR组	30	50±13	218±109[c]	113±61[c]	38±11[c]	48±11	209±93[c]	97±38[c]	32±7[c]
$t_{组间}$		−1.102	1.744	3.303	5.677	−1.586	2.214	4.783	11.215
$P_{组间}$		0.274	0.085	0.001	0.000	0.117	0.036	0.000	0.000

[a]*P*<0.05 *vs* SR组; [c]*P*<0.05 *vs* 术前. LR组:少量切除组; SR组: 大量切除组. ALT:谷丙转氨酶;AST:谷草转氨酶.

中度, 血氨1次高于正常; (3)重度失代偿: 连续2次ALT>300 U/L, 连续2次TB>51 mmol/L, PT延长时间>5 s, 腹水大量, 血氨2次高于正常."

统计学处理 所有数据用SPSS17.0软件进行分析, 计量资料以mean±SD表示, 不同两组均数比较采用两独立样本*t*检验; 计数资料以百分比表示, 组间比较采用χ^2检验. *P*<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 两组患者手术前后肝功能指标比较 两组患者术后TB、INR、ALT、AST均较术前大幅升高, 并随时间推移而降低, 差异具有统计学意义(*P*<0.05); LR组TB、INR、AST于术后均高于SR组, 并且其ALT也可见到在术后第5、7天显著高于SR组, 差异具有统计学意义(*P*<0.05)(表2, 3).

2.2 两组患者手术前后肿瘤标志物比较 两组患者术后AFP、CA19-9较术前均显著下降, 且随时间推移而降低更多, 差异具有统计学意义(*P*<0.05); LR组AFP于术后均高于SR组, 差异具有统计学意义(*P*<0.05)(表4).

2.3 两组患者术后转归情况比较 LR组术后肝功能失代偿发生率(25.0% *vs* 3.3%)及肝功能衰竭发生率(12.0% *vs* 0%)高于SR组, 差异具有统计学意义(*P*<0.05), 虽然LR组患者在切口感染、门脉血栓、腹腔内出血的发生率上与SR组并没有统计学差异, 但仍可见其较SR组高(表5).

3 讨论

原发性肝癌的发病率在全世界逐年上升, 居恶性

表 4 两组患者手术前后肿瘤标志物比较

分组	n	AFP(μg/L)				CA19-9(U/mL)			
		术前3 d	术后1 d	术后5 d	术后14 d	术前3 d	术后1 d	术后5 d	术后14 d
LR组	50	397 ± 78	234 ± 38[ac]	127 ± 15[ac]	48 ± 6[ac]	41 ± 25	30 ± 10[c]	10 ± 4[c]	4.3 ± 0.3[c]
SR组	30	413 ± 73	197 ± 34[c]	101 ± 10[c]	37 ± 5[c]	39 ± 19	26 ± 8[c]	11 ± 3[c]	4.2 ± 0.5[c]
$t_{组间}$		−0.909	4.382	8.426	8.432	0.377	1.861	−1.183	1.119
$P_{组间}$		0.366	0.000	0.000	0.000	0.707	0.066	0.240	0.266

[a]*P*<0.05 *vs* SR组; [c]*P*<0.05 *vs* 术前. LR组: 少量切除组; SR组: 大量切除组. AFP: 甲胎蛋白; CA19-9: 糖链抗原19-9.

表 5 两组患者术后转归情况比较 [*n*(%)]

分组	n	切口感染	门脉血栓	腹腔内出血	肝功能失代偿	肝功能衰竭
LR组	50	8(16.0)	2(4.0)	5(10.0)	10(25.0)	6(12.0)
SR组	30	3(10.0)	1(3.3)	2(6.7)	1(3.3)[a]	0(0)[a]
χ^2		0.569	0.023	0.261	4.392	3.892
*P*值		0.451	0.879	0.609	0.036	0.048

[a]*P*<0.05 *vs* LR组. LR组: 少量切除组; SR组: 大量切除组.

肿瘤第5位, 死亡率居恶性肿瘤第3位, 其中HCC占原发性肝癌的绝大多数, 其余不足5%为胆管细胞癌[6]. 我国是肝癌的高发国家, 肝癌病例约占全球55%, 死亡率仅次于肺癌, 位居第2位[7].

目前国内外对于肝癌的治疗方式仍以肝切除术为主, 因此, 术前对肝癌切除手术的安全性的评估至关重要. 标准残肝体积是国外常用的术前评估与手术制定指标, 但在国内应用尚未普及[8-10]. 标准残肝体积是以体表面积(body surface area, BSA)标准化后的指标, 表示的是单位体表面积的残肝体积, 由于BSA包含了身高、体质量的因素, 因此标准残肝体积缩小了不同个体所需最小功能性肝体积的差异[11,12], 从而在研究应用时更为科学.

本文研究的是肝硬化肝细胞癌术后标准残肝体积与肝功能代偿不全的相关性. 我们发现, 尽管肝切除术后两组肝功能均有所下降, 但可明显见到大量切除组(肝切除约30%-50%, 标准残肝体积<400 mL/m^2)的术后肝功能显著差于少量切除组(肝切除30%以内, 标准残肝体积≥400 mL/m^2), 这可能是因为肝脏功能与有效肝脏体积/重量呈正相关, 大量切除组由于有效肝脏体积/重量骤然减少超过机体调节能力, 残余的肝脏无法负荷而导致肝功能不仅下降显著, 且恢复缓慢[13]. 此外, 肝硬化患者由于自身肝脏修复功能不佳, 肝功能恢复也较正常肝组织较慢. 这也与本文显示的两组患者术后转归情况相一致, 即大量切除组患者术后肝功能失代偿及肝功能衰竭的发生率较少量切除组高. 两组CA19-9在术后均显著下降, 肿瘤灶切除后第1天即降为正常, 并且逐渐减少, 这符合文献所述[14,15]; 而两组AFP虽较术前显著降低, 但变化并不像CA19-9一般典型, 且大量切除组患者术后AFP高于少量切除组, 这是因为AFP反映的是肝脏再生活动, 即AFP升高表明肝脏细胞再生活跃, 这与肝脏切除术后肝脏细胞再生活动加强相符.

总之, 标准残肝体积是反映肝硬化肝细胞癌患者术后肝贮备功能的一项良好的指标, 推荐将其应用于临床术前评估及制定手术方案.

4 参考文献

1 Choi GH, Park JY, Hwang HK, Kim DH, Kang CM, Choi JS, Park YN, Kim do Y, Ahn SH, Han KH, Chon CY, Lee WJ. Predictive factors for long-term survival in patients with clinically significant portal hypertension following resection of hepatocellular carcinoma. *Liver Int* 2011; 31: 485-493 [PMID: 21382158 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2010.02436.x]

2 Muir AJ. Surgical clearance for the patient with chronic liver disease. *Clin Liver Dis* 2012; 16: 421-433 [PMID: 22541707 DOI: 10.1016/j.cld.2012.03.008]

3 Vouche M, Lewandowski RJ, Atassi R, Memon K, Gates VL, Ryu RK, Gaba RC, Mulcahy MF, Baker T, Sato K, Hickey R, Ganger D, Riaz A, Fryer J, Caicedo JC, Abecassis M, Kulik L, Salem R. Radiation lobectomy: time-dependent analysis of future liver remnant volume in unresectable liver cancer as a

■同行评价
本研究选题虽然不是很新, 但方法合理, 结论客观, 作为基层医院医师值得鼓励研究.

bridge to resection. *J Hepatol* 2013; 59: 1029-1036 [PMID: 23811303 DOI: 10.1016/j.jhep.2013.06.015]
4 陈熙, 杜正贵, 李波, 魏永刚, 严律南, 文天夫. 标准残肝体积对肝脏储备功能的评价. 世界华人消化杂志 2010; 18: 1829-1833
5 王桂林. 标准残肝体积在肝硬化肝脏功能储备评估的应用. 桂林医学院, 2013
6 Said Y, Debbeche R, Ben Ali Z, Bouzid K, Trabelsi S, Bouzaidi S, Salem M, Rajhi H, Kouni Chahed M, Najjar T. [Epidemiological, clinical and therapeutic features of hepatocellular carcinoma in cirrhotic patients]. *Tunis Med* 2012; 90: 468-472 [PMID: 22693088]
7 马学斌, 马骢. 肝癌的CIK细胞免疫治疗研究进展. 临床肝胆病杂志 2010; 26: 658-662
8 Du ZG, Li B, Wei YG, Yin J, Feng X, Chen X. A new scoring system for assessment of liver function after successful hepatectomy in patients with hepatocellular carcinoma. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2011; 10: 265-269 [PMID: 21669569]
9 罗凤球, 何剪太, 彭健, 陈虎, 张阳德. 腹腔镜与开腹肝癌切除手术疗效的Meta分析. 重庆医学 2012; 41: 2477-2480
10 王桂林, 梅铭惠, 席江伟. 标准残肝体积在肝硬化肝脏功能储备评估的应用. 中华肝胆外科杂志 2013; 19: 15-18
11 Santambrogio R, Kluger MD, Costa M, Belli A, Barabino M, Laurent A, Opocher E, Azoulay D, Cherqui D. Hepatic resection for hepatocellular carcinoma in patients with Child-Pugh's A cirrhosis: is clinical evidence of portal hypertension a contraindication? *HPB* (Oxford) 2013; 15: 78-84 [PMID: 23216782 DOI: 10.1111/j.1477-2574.2012.00594]
12 Chon YE, Jung ES, Park JY, Kim do Y, Ahn SH, Han KH, Chon CY, Jung KS, Kim SU. The accuracy of noninvasive methods in predicting the development of hepatocellular carcinoma and hepatic decompensation in patients with chronic hepatitis B. *J Clin Gastroenterol* 2012; 46: 518-525 [PMID: 22688146 DOI: 10.1097/MCG.0b013e31825079f1]
13 Torres DM, Williams CD, Harrison SA. Features, diagnosis, and treatment of nonalcoholic fatty liver disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2012; 10: 837-858 [PMID: 22446927 DOI: 10.1016/j.cgh.2012.03.011]
14 申红玉, 王永忠, 杭双熊, 陈敏, 濮翔科. 肝细胞癌与肝炎后肝硬化中多种肿瘤标志物的比较. 实用癌症杂志 2010; 25: 369-370, 383
15 李文伟, 马骢, 王珍光, 靳冰, 张海超, 冯洁. 肝癌与肝炎标志物及相关肿瘤标志物的相关性分析. 实用癌症杂志 2010; 125: 495-496

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



世界华人消化杂志 2014年6月8日; 22(16): 2343-2346
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

血清IL-6、IL-8和PCT对急性重症胰腺炎继发感染的诊断价值

高 科, 张龙久, 王广益, 李 军, 张 辉

高科, 张龙久, 王广益, 李军, 张辉, 贵州省六盘水市人民医院重症医学科 贵州省六盘水市 553001
高科, 副主任医师, 主要从事各种危急重症的治疗.
作者贡献分布: 此课题由高科设计; 研究过程由高科与张龙久完成; 数据分析由王广益、李军及张辉完成; 写作由于高科、张龙久、王广益、李军及张辉共同完成.
通讯作者: 高科, 副主任医师, 553001, 贵州省六盘水市钟山西路56号, 六盘水市人民医院重症医学科. gaokeguizhou@163.com
收稿日期: 2014-03-04 修回日期: 2014-04-01
接受日期: 2014-04-09 在线出版日期: 2014-06-08

Role of serum IL-6, IL-8 and procalcitonin in diagnosis of secondary infection in severe acute pancreatitis

Ke Gao, Long-Jiu Zhang, Guang-Yi Wang, Jun Li, Hui Zhang

Ke Gao, Long-Jiu Zhang, Guang-Yi Wang, Jun Li, Hui Zhang, Department of ICU, People's Hospital of Liupanshui City, Liupanshui 553001, Guizhou Province, China
Correspondence to: Ke Gao, Associate Chief Physician, Department of ICU, People's Hospital of Liupanshui City, 56 Zhongshan West Road, Liupanshui 553001, Guizhou Province, China. gaokeguizhou@163.com
Received: 2014-03-04 Revised: 2014-04-01
Accepted: 2014-04-09 Published online: 2014-06-08

Abstract

AIM: To explore the value of serum interleukin-6 (IL-6), IL-8 and procalcitonin in the diagnosis of secondary infection in severe acute pancreatitis (SAP).

METHODS: Eighty-five patients with SAP were divided into either an experimental group (n = 45) or a control group (n = 40) based on the presence of secondary infection or not. Serum levels of IL-6, IL-8 and PCT were measured, and their sensitivity, specificity, positive predictive value, negative predictive value and accuracy for diagnosis of secondary infection in SAP were determined.

RESULTS: Serum levels of IL-6, IL-8 and PCT were significantly higher in the experimental group than in the control group (135.02 pg/mL ± 99.11 pg/mL *vs* 60.06 pg/mL ± 40.19 pg/mL, 107.19 pg/mL ± 35.26 pg/mL *vs* 88.05 pg/mL ± 18.50 pg/mL, 2.58 μg/L ± 1.35 μg/L *vs* 1.48 μg/L ± 0.65 μg/L; $P < 0.01$ or < 0.05). The sensitivity, specificity, positive predictive value, negative predictive value and accuracy of serum PCT for diagnosis of secondary infection in SAP were higher (55.62%, 93.36%, 88.29%, 70.02%, and 75.41%, respectively) than those of serum IL-6 or IL-8. The specificity, positive predictive value, and accuracy of IL-6 in combination with IL-8 and PCT were the highest (96.71%, 94.42%, and 80.68%, respectively).

CONCLUSION: Serum levels of IL-6, IL-8 and PCT are important indexes for diagnosis of secondary infection in SAP. Combined detection of serum IL-6, IL-8 and PCT has the highest diagnostic accuracy.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Severe acute pancreatitis; Secondary infection; Diagnosis

Gao K, Zhang LJ, Wang GY, Li J, Zhang H. Role of serum IL-6, IL-8 and procalcitonin in diagnosis of secondary infection in severe acute pancreatitis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(16): 2343-2346 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2343.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i16.2343

摘要

目的: 探讨血清白介素(interleukin, IL)-6、IL-8和降钙素原(procalcitonin, PCT)对急性重症胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)继发感染的诊断价值.

方法: 按照是否继发感染将我院收治的85例SAP患者分为观察组(细菌感染)45例和对照组(非感染性SIRS)40例, 观察两组患者血清IL-6、IL-8及PCT水平差异并比较IL-6、IL-8和PCT指标单独及联合诊断SAP继发感染的敏感性、特异性、阳性预测值、阴性预测值和准确性.

■背景资料
急性重症胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)患者易继发坏死感染, 死亡率大大增加, 因此早期预测和诊断SAP继发感染至关重要. SAP发病机制较为复杂, 最初人们认为胰酶自身消化为SAP致病原因, 后来研究表明胰酶异常激活是导致其自身消化的原因, 全身炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome, SIRS)的激发是SAP发病的重要机制. 目前, 大量临床研究已经证实, 人体损伤(严重创伤、大手术、重症感染等)达到一定程度后均可刺激大量炎性介质及细胞因子的产生和释放, 引发机体全身炎症瀑布反应, 患者无论是否发生细菌感染, 临床均可表现出SIRS.

■同行评议者
王刚, 副研究员, 哈尔滨医科大学附属第一医院胰胆外科(普外二科)

■研发前沿
目前CT或超声引导下应用细针穿刺抽吸活检进行细菌培养是诊断坏死感染的“金标准”，灵敏度和特异性均接近90%. 但其在SAP患者感染症状较为明显时较为适用，而且细针穿刺抽吸活检对操作者技术要求较高，同时也伴有出血和医源性感染等风险，花费也较高，不宜大规模推广.

结果: 观察组患者血清IL-6、IL-8及PCT水平均显著高于对照组(135.02 pg/mL±99.11 pg/mL *vs* 60.06 pg/mL±40.19 pg/mL)、(107.19 pg/mL±35.26 pg/mL *vs* 88.05 pg/mL±18.50 pg/mL)、(2.58 μg/L±1.35 μg/L *vs* 1.48 μg/L±0.65 μg/L), 差异具有统计学意义(P<0.01或P<0.05); 单独诊断SAP继发感染PCT敏感性、特异性、阳性预测值、阴性预测值及准确性均最高(55.62%, 93.36%, 88.29%, 70.02%, 75.41%), 联合诊断SAP继发感染IL-6、IL-8和PCT联合特异性、阳性预测值及准确性最高(96.71%, 94.42%, 80.68%).

结论: IL-6、IL-8和PCT均为诊断SAP继发感染的重要指标, 其中单独诊断PCT鉴别能力最强, 3项指标联合诊断特异性和准确率最高.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 急性重症胰腺炎; 继发感染; 诊断

核心提示: 本研究中以血清降钙素原(procalcitonin, PCT)作为诊断坏死感染的指标, 研究结果显示观察组患者血清PCT水平明显高于对照组. 同时在单独诊断急性重症胰腺炎(severe acute pancreatitis)继发感染时PCT敏感性、特异性、阳性预测值、阴性预测值及准确性均高于白介素(interleukin, IL)-6和IL-8.

高科, 张龙久, 王广益, 李军, 张辉. 血清IL-6、IL-8和PCT对急性重症胰腺炎继发感染的诊断价值. 世界华人消化杂志 2014; 22(16): 2343-2346 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2343.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i16.2343

0 引言

急性重症胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)临床发病率约为0.03%, 死亡率约为10%-15%[1]. SAP患者易继发坏死感染, 死亡率大大增加, 因此早期预测和诊断SAP继发感染至关重要. 由于SAP患者存在全身性炎症反应, 因此体温、白细胞计数等常规指标在鉴别患者是否继发感染上并不可靠[2]. 我院采用血清白介素(interleukin, IL)-6、IL-8和降钙素原(procalcitonin, PCT)诊断SAP继发感染, 准确性较高, 现报道如下.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2013-01/2014-01我院收治的SAP患者85例作为研究对象. 所有患者均符合《中国急性胰腺炎诊治指南》[3]中急性重症胰腺炎相关诊断标准. 所有患者根据SAP临床感染征象及《2001年危重病医学会/欧洲危重病医学会/美国胸科医师协会/美国胸科学会/外科感染学会关于全身性感染定义国际会议纪要》[4]中由胰腺坏死引起全身炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome, SIRS)鉴别方法对细菌感染进行诊断. 临床诊断标准: 患者上腹部两个以上象限出现腹膜刺激征, 体温超过38 ℃, 白细胞计数超过12×10^9/L; CT诊断标准: 增强扫描可见胰腺及周围坏死组织内存在不规则小气泡[5]; 胰腺坏死组织细菌培养结果为阳性; 胸片检查发现肺部存在感染. 按照患者是否继发感染将85例患者分为观察组(细菌感染)45例和对照组(非感染性SIRS)40例, 其中观察组男性患者28例, 女性患者17例, 平均年龄为51.82岁±8.13岁; 对照组男性患者22例, 女性患者18例, 平均年龄为51.57岁±8.76岁. 两组患者在性别、年龄上差异无统计学意义(P>0.05), 具有可比性.

1.2 方法

1.2.1 血液标本收集: 所有患者均于发病24 h内抽取10 mL静脉血, 于室温下凝固30 min, 在1000 r/min下离心15 min, 收集血清, 立即分析或分装后于-20 ℃冷冻保存, 避免反复冻融.

1.2.2 指标检测: 血清IL-6、IL-8检测使用双抗体夹心ABC-ELISA法检测[6], 试剂盒购自上海博古生物科技有限公司, 操作步骤按照试剂盒说明进行. 血清PCT检测使用酶联免疫吸附法[7], 试剂盒购自上海酶联生物科技有限公司, 操作步骤按照试剂盒说明进行.

1.2.3 观察指标: 观察两组患者血清IL-6、IL-8及PCT水平差异并比较IL-6、IL-8和PCT指标单独及联合诊断SAP继发感染的敏感性、特异性、阳性预测值、阴性预测值和准确性.

统计学处理 本研究数据均采用SPSS18.0进行统计学处理, 计量资料采用mean±SD表示, 差异性比较使用t检验. P<0.05为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 两组患者血清IL-6、IL-8及PCT水平比较 观察组患者血清IL-6、IL-8及PCT水平均显著高于对照组, 差异具有统计学意义(P<0.01或P<0.05)(表1).

2.2 IL-6、IL-8及PCT指标诊断急性重症胰腺炎继发感染的准确性比较 单独诊断SAP继发感染PCT敏感性、特异性、阳性预测值、阴性预

表 1 两组患者血清IL-6、IL-8及PCT水平比较

分组	*n*	IL-6(pg/mL)	IL-8(pg/mL)	PCT(μg/L)
观察组	45	135.02 ± 99.11[b]	107.19 ± 35.26[a]	2.58 ± 1.35[b]
对照组	40	60.06 ± 40.19	88.05 ± 18.50	1.48 ± 0.65

[a]*P*<0.05; [b]*P*<0.01 *vs* 对照组. IL: 白介素.

表 2 IL-6、IL-8及PCT指标诊断急性重症胰腺炎继发感染的准确性比较 (%)

分组	敏感性	特异性	阳性预测值	阴性预测值	准确性
IL-6	51.89	93.33	87.48	68.29	73.71
IL-8	48.08	93.29	86.66	56.02	71.90
PCT	55.62	93.36	88.29	70.02	75.41
IL-6+IL-8	63.02	89.97	81.00	72.26	75.43
IL-6+PCT	55.62	96.71	93.79	70.68	77.19
IL-8+PCT	74.08	80.01	77.82	80.00	78.89
IL-6+IL-8+PCT	63.02	96.71	94.42	74.39	80.68

IL: 白介素.

测值及准确性均最高, 联合诊断SAP继发感染IL-6、IL-8和PCT联合特异性、阳性预测值及准确性最高(表2).

3 讨论

SAP在临床上较为常见, 患者并发症较多、死亡率较高. SAP发病机制较为复杂, 最初人们认为胰酶自身消化为SAP致病原因, 后来研究表明胰酶异常激活是导致其自身消化的原因, SIRS的激发是SAP发病的重要机制[8]. 目前, 大量临床研究已经证实, 人体损伤(严重创伤、大手术、重症感染等)达到一定程度后均可刺激大量炎性介质及细胞因子的产生和释放, 引发机体全身炎症瀑布反应, 患者无论是否发生细菌感染, 临床均可表现出SIRS[9]. 因此, 在SAP患者继发感染的诊断中传统感染指标(包括体温、白细胞计数等非特异性指标)可靠性不高.

目前CT或超声引导下应用细针穿刺抽吸活检(fine needle aspiration, FNA)进行细菌培养是诊断坏死感染的“金标准”, 灵敏度和特异性均接近90%[10]. 但其在SAP患者感染症状较为明显时较为适用, 对于可疑感染往往需数日细菌培养方可得出结果, 当结果为阳性时患者已经错过最佳治疗时机, 患者确诊后多需手术治疗[11]. 而且FNA对操作者技术要求较高, 同时也伴有出血和医源性感染等风险, 花费也较高, 不宜大规模推广.

本研究采用IL-6、IL-8和PCT指示SAP是否发生感染. 其中IL-6为促炎性细胞因子, 炎症细胞因子、细菌产物或病毒感染均可诱导IL-6产生, IL-6水平与持续时间与SAP严重程度呈正比[12]. IL-8为多源细胞因子, 属于炎症介质, 参与机体免疫、代谢及炎症急性期反应的调节, 能够增强机体的抗感染能力[13]. 患者发生SAP时, 胰腺及周围组织坏死导致血清IL-8水平迅速升高. SAP患者无论是否继发感染, IL-6和IL-8水平均较高, 但细菌感染者在发病最初3 d内升高速度明显高于非感染者, 能够准确鉴别细菌感染[14]. 本研究中观察组患者发病24 h内IL-6和IL-8水平均明显高于对照组, 与上述研究报道结果相似.

而PCT为降钙素的前肽物质, 在正常生理状态下不会释放如人体血液中, 正常人血清PCT含量不超过0.5 ng/mL. 其在细菌内毒素、外毒素及某些细胞因子(如TNF-α、IL-6等)诱导下迅速产生, 2-6 h内即有显著升高[15]. 临床研究表明, PCT可作为早期鉴别细菌和病毒感染的重要指标, 能够提示早期发生重症感染和器官衰竭, 也是提示SIRS和判断危重症预后效果的重要指标[16]. 本研究中以血清PCT作为诊断坏死感染的指标, 研究结果显示观察组患者血清PCT水平明显高于对照组. 同时在单独诊断SAP继发感染时PCT敏感

■相关报道
临床研究表明, 降钙素原(procalcitonin, PCT)可作为早期鉴别细菌和病毒感染的重要指标, 能够提示早期发生重症感染和器官衰竭, 也是提示SIRS和判断危重症预后效果的重要指标.

■同行评价
本研究提示血清白介素(interleukin, IL)-6、IL-8和PCT均可作为鉴别SAP继发感染的指标, 相对于IL-6和IL-8, PCT鉴别能力更强, 联合检测结果显示3项联合准确性最高, 具有临床应用和推广价值.

性、特异性、阳性预测值、阴性预测值及准确性均高于IL-6和IL-8.

总之, 本研究提示血清IL-6、IL-8和PCT均可作为鉴别SAP继发感染的指标, 相对于IL-6和IL-8, PCT鉴别能力更强, 联合检测结果显示3项联合准确性最高, 具有临床应用和推广价值.

4 参考文献

1 周娟, 潘景业. 急性重症胰腺炎继发感染的研究进展. 临床荟萃 2012; 27: 1746-1748
2 马国华, 贺小迪, 吴家钰. 重症急性胰腺炎继发感染的早期诊断与治疗(附16例报告). 泰山医学院学报 2009; 30: 629
3 王兴鹏, 李兆申, 袁耀宗, 杜奕奇, 曾悦. 中国急性胰腺炎诊治指南(2013, 上海). 中国实用内科杂志 2013; 33: 530-535
4 柴文昭, 刘大为. 2001年危重病医学会/欧洲危重病医学会/美国胸科医师协会/美国胸科学会/外科感染学会关于全身性感染定义国际会议纪要. 世界医学杂志 2004; 8: 4-8
5 陆忠才. 螺旋CT扫描检出重症胰腺炎合并感染的效果观察. 实用心脑肺血管病杂志 2013; 21: 115-116
6 庄智伟, 鲍逸民, 杨永青. AP患者的炎性介体(IL-6和IL-8)和血脂水平的临床分析. 放射免疫学杂志 2010; 23: 425-427
7 金建云, 常晓. 降钙素原及白细胞介素-6在急性胰腺炎患者早期感染诊断及预后的意义. 中华医院感染学杂志 2012; 22: 4258-4260
8 Dhaliwal R, Madden SM, Cahill N, Jeejeebhoy K, Kutsogiannis J, Muscedere J, McClave S, Heyland DK. Guidelines, guidelines, guidelines: what are we to do with all of these North American guidelines? *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 2010; 34: 625-643 [PMID: 21097763 DOI: 10.1177/0148607110378104]
9 卢世云, 潘秀珍. 重症急性胰腺炎发病机制研究现状. 世界华人消化杂志 2011; 19: 2421-2425
10 杨晓楠, 赵龙, 金涛, 张肇达, 薛平, 夏庆. 重症急性胰腺炎继发感染的临床研究. 华西医学 2009; 24: 1137-1139
11 Li L, Zhu Z, Chen J, Ouyang B, Chen M, Guan X. Diagnostic value of soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1 in critically-ill, postoperative patients with suspected sepsis. *Am J Med Sci* 2013; 345: 178-184 [PMID: 22739556 DOI: 10.1097/MAJ.0b013e318253a1a6.]
12 曲鹏飞, 崔乃强, 王红. 重症急性胰腺炎继发感染易感因素临床分析42例. 世界华人消化杂志 2011; 19: 3452-3457
13 Shimosegawa T, Chari ST, Frulloni L, Kamisawa T, Kawa S, Mino-Kenudson M, Kim MH, Klöppel G, Lerch MM, Löhr M, Notohara K, Okazaki K, Schneider A, Zhang L. International consensus diagnostic criteria for autoimmune pancreatitis: guidelines of the International Association of Pancreatology. *Pancreas* 2011; 40: 352-358 [PMID: 21412117 DOI: 10.1097/MPA.0b013e3182142fd2]
14 文礼, 赵龙, 金涛, 张海燕, 黄蕾, 杨晓楠, 薛平, 夏庆, 刘续宝, 程征宇. 重症急性胰腺炎继发感染的临床特点. 中国中西医结合外科杂志 2010; 16: 148-151
15 Bezmarevic M, Mirkovic D, Soldatovic I, Stamenkovic D, Mitrovic N, Perisic N, Marjanovic I, Mickovic S, Karanikolas M. Correlation between procalcitonin and intra-abdominal pressure and their role in prediction of the severity of acute pancreatitis. *Pancreatology* 2012; 12: 337-343 [PMID: 22898635 DOI: 10.1016/j.pan.2012.05.007]
16 Kiriyama S, Gabata T, Takada T, Hirata K, Yoshida M, Mayumi T, Hirota M, Kadoya M, Yamanouchi E, Hattori T, Takeda K, Kimura Y, Amano H, Wada K, Sekimoto M, Arata S, Yokoe M, Hirota M. New diagnostic criteria of acute pancreatitis. *J Hepatobiliary Pancreat Sci* 2010; 17: 24-36 [PMID: 20012328 DOI: 10.1007/s00534-009-0214-3]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



世界华人消化杂志 2014年6月8日; 22(16): 2347-2350
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

外源性白蛋白在胃肠内科急危重患者治疗中的应用评价

耿雪荞

耿雪荞, 天津工业大学校医院 天津市 300387
耿雪荞, 主治医师, 主要从事内科常见病, 心血管内科尤其冠心病高脂血症, 现场救护的研究.
作者贡献分布: 耿雪荞独立完成论文设计、资料收集及撰写等工作.
通讯作者: 耿雪荞, 主治医师, 300387, 天津市西青区宾水道399号, 天津工业大学校医院. jiaxin8765@126.com
电话: 022-83955029
收稿日期: 2014-02-27 修回日期: 2014-03-20
接受日期: 2014-04-14 在线出版日期: 2014-06-08

Clinical effects of exogenous albumin in critically ill patients with gastrointestinal diseases

Xue-Qiao Geng

Xue-Qiao Geng, Tianjin Polytechnic University School Hospital, Tianjin 300387, China
Correspondence to: Xue-Qiao Geng, Attending Physician, Tianjin Polytechnic University School Hospital, 399 Binshui Avenue, Xiqing District, Tianjin 300387, China. jiaxin8765@126.com
Received: 2014-02-27 Revised: 2014-03-20
Accepted: 2014-04-14 Published online: 2014-06-08

Abstract

AIM: To investigate the clinical effects of exogenous albumin in acute and critically ill patients with gastrointestinal diseases.

METHODS: Eighty-eight critically ill patients with gastrointestinal diseases treated in our hospital ICU from April 2010 to February 2013 were randomly divided into either a study group or a control group, with 44 patients in each group. Both groups underwent conventional symptomatic treatment and nutritional support therapy, and the study group was additionally given exogenous albumin. The times to recovery of bowel sounds and flatus were compared between the two groups.

RESULTS: The study group had significantly shorter times to recovery of bowel sounds and flatus compared with the control group (58.0 h ± 7.7 h *vs* 69.6 h ± 11.5 h, 76.8 h ± 9.4 h *vs* 95.6 h ± 13.5 h, $P < 0.05$ for both). Before treatment, the two groups showed no significant difference in serum albumin ($P > 0.05$); after treatment, the study group had significantly higher serum albumin (34.8 g/L ± 4.0 g/L *vs* 28.5 g/L ± 3.1 g/L, $P < 0.05$).

CONCLUSION: Exogenous albumin can improve the nutritional status of critically ill patients with gastrointestinal diseases and promote the recovery of gastrointestinal function.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Exogenous albumin; Gastrointestinal diseases; Critical illness; Serum albumin; Mortality

Geng XQ. Clinical effects of exogenous albumin in critically ill patients with gastrointestinal diseases. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(16): 2347-2350 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2347.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i16.2347

摘要

目的: 探究胃肠内科急危重症患者实施外源性白蛋白治疗的临床效果, 并为临床治疗积累经验.

方法: 选取天津市第三中心医院ICU病房于2010-04/2013-02收治的88例胃肠内科急危重症患者, 利用随机数字表法进行分组, 分别设为研究组和对照组, 每组各44例. 两组均给予常规对症治疗和营养支持疗法, 而研究组在此基础上给予外源性白蛋白治疗. 比较两组患者肠鸣音恢复时间、肛门排气时间及治疗前、治疗后第7 d末血清白蛋白含量.

结果: 研究组肠鸣音恢复时间为58.0 h±7.7 h、肛门排气时间为76.8 h±9.4 h, 对照组分别为69.6 h±11.5 h、95.6 h±13.5 h, 差异均有统计学意义($P<0.05$). 治疗前, 两组血清白蛋白差异无统计学意义($P>0.05$); 治疗后, 研究组血清白蛋白为34.8 g/L±4.0 g/L, 对照组为28.5 g/L±3.1 g/L, 差异有统计学意义($P<0.05$).

结论: 外源性白蛋白的摄入能够提高胃肠内

■背景资料
临床应用白蛋白已有50多年历史. 白蛋白可扩充血容量, 提高胶体渗透压及稀释血液. 用于低血容量、休克、烧伤、手术、外伤、心肺旁路术, 急性呼吸窘迫综合征、血液透析、急性肝衰竭及腹水等多种疾病的治疗. 迄今为止, 关于白蛋白临床应用合理性以及安全性问题的纷争从未间断, 临床医生们面临着两难的选择. 随着临床研究的不断深入, 胃肠内科危重患者的人血白蛋白丢失较多, 针对此类特殊人群, 及时补充外源性白蛋白具有重要的临床意义.

■同行评议者
阴赪宏, 研究员, 首都医科大学附属北京友谊医院感染与急救医学

■研发前沿
通过对照分析外源白蛋白对胃肠内科危重患者治疗的临床价值，为胃肠内科危重患者的临床治疗以及临床营养了经验. 寻求高效、安全的辅助治疗方法，促进患者胃肠道功能的恢复，同时还能改善患者的低白蛋白血症.

科急危重症患者的营养状况, 并促进胃肠道功能恢复, 效果可观, 值得进一步推广.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 外源性白蛋白; 胃肠内科; 急危重症; 血清白蛋白; 病死率

核心提示: 外源白蛋白具有扩充血容量、维持血浆胶体渗透压和营养作用等功能, 对于肠胃内科危重患者体内蛋白质分解速度增快、合成速度减慢, 负氮平衡, 人血白蛋白丢失加多等状况有较为优越的治疗效果, 具有较高的临床应用价值.

耿雪荞. 外源性白蛋白在胃肠内科急危重患者治疗中的应用评价. 世界华人消化杂志 2014; 22(16): 2347-2350 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2347.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i16.2347

0 引言

胃肠内科急危重症患者, 由于胃肠道功能受到损害, 导致无法进食或消化功能骤减, 导致机体免疫功能下降[1,2], 再加上急危重症属于应激性事件, 会引起患者出现神经-内分泌异常, 使体内去甲肾分泌增高, 引起能量消耗增多, 导致人体处于负氮平衡[3]. 机体若长期受到上述不良途径的双重夹击, 会严重破坏机体自我修复功能, 导致病情出现不良转归, 甚至会诱发院内感染的出现[4]. 白蛋白是一种极好的血容量扩充剂, 对低血容量患者可迅速扩容及维持心搏量, 在抢救急性创伤性、出血性休克等危重患者时效果显著[5]. 所以, 近年来越来越多的专家学者倡导对急危重症患者给予外源性白蛋白进行蛋白质的补充, 且取得了可观的成效. 我们设计本次研究, 旨在进一步探究该治疗方案所带来的临床效益, 现报道如下.

■相关报道
目前, 国内外关于外源白蛋白在胃肠内科的应用已有大量报道, 均充分肯定了外源白蛋白的安全性和有效性. 2003年, Vincent对291433例低蛋白血症患者进行分析, 结论是可获白蛋白水平越高, 越能减少并发症的发生几率、改善营养状态和对肠内喂养的耐受性、越快恢复.

1 材料和方法

1.1 材料 选取天津市第三中心医院ICU病房于2010-04/2013-02收治的88例胃肠内科急危重症患者, 包括肝衰竭30例[6]、急性低血容量18例、肝肾综合征12例、肝硬化后自发性细菌性腹膜炎28例. 其中男性46例, 女性42例, 年龄为21-57岁, 平均年龄为38.6岁±7.3岁. 所有患者均接受急诊胃肠道内科治疗, 治疗后出现急危重症送入ICU. 纳入标准: 患者不存在其他心、肝、肾等重要脏器疾患; 不存在对人血蛋白质过敏者; 对本次研究知悉并签署知情同意书. 利用随机数字表法进行分组, 分别设为研究组和对照组, 每组各44例. 两组在性别、年龄、病情方面差异无统计学意义(P>0.05)(表1).

1.2 方法

1.2.1 治疗: 两组患者均给予常规对症治疗和营养支持疗法, 其中包括胃肠道减压、禁食、抗生素抗炎治疗及全肠外营养治疗等方法. 全肠外营养支持疗法的配方包括如下: 氮含量为0.2 g/(kg·d), 非蛋白热卡为25 kcal/(kg·d), 糖脂比 = 1∶1-1∶3. 而研究组在此基础上给予外源性蛋白质治疗, 其具体用法为: 采取静脉滴注的方式给予人血白蛋白, 20 g/次, 1次/d, 持续应用1 wk. 对照组则给予0.9%生理盐水100 mL作为安慰剂进行静脉滴注.

1.2.2 观察项目: 记录两组患者死亡率、肠鸣音恢复时间、肛门排气时间及治疗前、治疗后第7 d末血清白蛋白含量.

统计学处理 由专人收集数据并录入SPSS19.0软件进行统计处理, 其中计量资料以mean±SD作为统计学描述, 组间比较采取t检验; 计数资料以率作为统计描述. P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 两组患者死亡率 研究组术后2例患者死亡, 死亡率为4.5%; 对照组术后4例患者死亡, 死亡率为9.1%; 研究组与对照组的死亡率差异无统计学意义(P>0.05).

2.2 两组患者胃肠功能恢复情况 研究组肠鸣音恢复时间为58.0 h±7.7 h、肛门排气时间为76.8 h±9.4 h, 对照组分别为69.6 h±11.5 h、95.6 h±13.5 h, 差异均有统计学意义(P<0.05)(表2).

2.3 两组患者治疗前后血清白蛋白水平 治疗前, 两组血清白蛋白差异无统计学意义(P>0.05); 治疗后, 研究组血清白蛋白为34.8 g/L±4.0 g/L, 对照组为28.5 g/L±3.1 g/L, 差异有统计学意义(P<0.05)(表3).

3 讨论

白蛋白的主要生理功能为扩充血容量、维持血浆胶体渗透压和营养作用[7,8]. 在维持(扩充)血容量方面, 循环内的每克白蛋白可结合18 mL水, 5 g白蛋白保留循环内水分的能力相当于100 mL血浆或200 mL全血的功能. 来自小样本的有关脓毒症的研究表明, 5%的白蛋白和19%的生理盐水对增加组织间隙液体功能相等, 但对提高血

表 1 两组基本情况对比

分组	性别(n)		年龄(岁)	病情(n)			
	男	女		肝衰竭	急性低血容量	肝肾综合征	腹膜炎
研究组	24	20	37.4 ± 10.2	17	10	4	13
对照组	22	22	39.7 ± 8.3	13	8	8	15

表 2 大鼠胰腺组织光镜下病理学评分(mean ± SD, h)

分组	肠鸣音恢复时间	肛门排气时间
研究组	58.0 ± 7.7	76.8 ± 9.4
对照组	69.6 ± 11.5	95.6 ± 13.5
*t*值	5.972	6.188
*P*值	<0.05	<0.05

表 3 两组患者治疗前后血清白蛋白水平 (*n* = 44, mean ± SD, g/L)

分组	治疗前	治疗后
研究组	26.2 ± 3.2	34.8 ± 4.0
对照组	25.7 ± 3.1	28.5 ± 3.1
*t*值	1.232	5.182
*P*值	>0.05	<0.05

管内容量则以白蛋白有效[1]. 因此, 白蛋白在胶体渗透压的维持中约起到80%的作用. 在各种原因所致的低白蛋白血症时, 血浆胶体渗透压下降, 液体向组织间隙扩散, 形成组织水肿和胸、腹水. 作为一类免疫球蛋白, 人血白蛋白具有增强人体免疫力、杀菌抗毒的临床功效. 鉴于这个生理学特点, 白蛋白逐渐被制作成各类制剂应用于临床治疗[9].

胃肠内科治疗属于应激性事件, 会导致机体处于应激状态[10], 导致体内蛋白质分解速度增快、合成速度减慢, 间接引起白蛋白在体内的半衰期缩短. 而长期低白蛋白血症会降低患者免疫功能, 同时还会使机体缺少组织修复所需的营养物质, 最终引发负氮平衡, 不利于患者病情预后康复[11]. 而胃肠内科疾病治疗后常伴有明显的胃肠道黏膜肿胀降低机体对营养物质摄取和吸收功能, 再加上治疗中出血量较多导致机体低血容量休克, 使人血白蛋白丢失加多[12]. 所以, 针对此类特殊人群, 及时补充外源性白蛋白具有重要的临床意义[13].

本次研究结果显示, 研究组患者肠鸣音恢复时间和肛门排气时间均早于对照组, 差异有统计学意义(P<0.05). 这说明随着外源性蛋白质的补充, 能够稳定血管内外的渗透压, 促进水肿的胃肠道黏膜组织恢复正常细胞形态, 并恢复正常的生理功能, 对促进肠道蠕动功能的改善具有积极作用[14,15]. 另外, 两组在治疗前血清白蛋白差异无统计学意义(P>0.05), 这说明两组患者具有可比性; 同时我们也发现, 两组治疗前的白蛋白水平均低于正常水平, 这说明手治疗、出血、应激反应等诸多因素均会引起白蛋白水平降低, 临床医生对这些因素要引起足够重视. 在治疗后第7天末, 研究组血清白蛋白水平高于对照组, 差异有统计学意义(P<0.05). 这说明借助外源性蛋白质的摄入, 能够补充机体缺乏的蛋白质, 改善患者的营养状况. 研究组与对照组死亡率差异不明显, 说明白蛋白在改善胃肠内科疾病中不具有决定性作用, 但其辅助治疗的作用仍非常明显.

总之, 对于胃肠内科急危重症患者而言, 给予外源性白蛋白治疗能够促进患者胃肠道功能的恢复, 同时还能改善患者的低白蛋白血症, 临床效果较佳, 值得进一步推广.

4 参考文献

1 江志远, 陈华锋, 吴登东. 输注外源性白蛋白在胃肠内科急危重患者的应用体会. 国际医药卫生导报 2011; 17: 299-301
2 陆华, 蓝琼妮. 人血白蛋白临床应用进展. 中国医院用药评价与分析 2008; 8: 18-20
3 范海鹰, 陈德明, 梁健雄. 外源性白蛋白在胃肠内科急危重患者治疗中的应用分析与评价. 中国药物评价 2012; 29: 137-139
4 何超, 王虑, 李文放. 大剂量人血白蛋白快速滴注治疗重度ARDS的临床观察. 中国急救医学 2011; 31: 475-477
5 Deabes A , Kirby D. Low albumin level significantly increases the risk of venting percutaneous endoscopic gastrostomy complications. *Am J Gastroenterol* 2013; 108: S51-S51
6 Garcia-Martinez R, Caraceni P, Bernardi M, Gines P, Arroyo V, Jalan R. Albumin: pathophysiologic basis of its role in the treatment of cirrhosis and its complications. *Hepatology* 2013; 58: 1836-1846 [PMID: 23423799 DOI: 10.1002/hep.26338]
7 张敏. 人血浆白蛋白的生理功能及临床应用. 四川生理科学杂志 2011; 33: 36-38
8 黄明. 人体白蛋白联合利尿药辅治肝硬化腹水35例临床观察. 临床合理用药杂志 2011; 4: 61-62

■创新盘点
使用外源白蛋白对肠胃内科的危重患者进行扩充血容、提供营养支持, 同时和基础对症治疗及营养支持作对照. 从更加科学、合理的角度评价外源白蛋白临床应用的优势, 对危重的肠胃内科患者临床治疗以及预后均有较高临床意义.

■应用要点
以开展提供外源白蛋白为辅助的治疗手段, 对危重的肠胃内科患者进行补充血容以及提供营养支持治疗. 着重分析临床应用效果, 将其和基础治疗以及营养支持对比.

■同行评价
本文观察了外源性白蛋白治疗88例的胃肠内科急危重症患者的临床效果，发现治疗组、对照组患者肠鸣音恢复时间、肛门排气时间及治疗前、治疗后第7天末血清白蛋白含量具有显著性差异，具有一定的临床参考价值.

9 马海英, 申丽旻, 王志刚. 白蛋白在ICU低白蛋白血症患者中的应用评估. 河北医药 2012; 34: 186-187
10 Nagumo K, Tanaka M, Chuang VT, Setoyama H, Watanabe H, Yamada N, Kubota K, Tanaka M, Matsushita K, Yoshida A, Jinnouchi H, Anraku M, Kadowaki D, Ishima Y, Sasaki Y, Otagiri M, Maruyama T. Cys34-cysteinylated human serum albumin is a sensitive plasma marker in oxidative stress-related chronic diseases. *PLoS One* 2014; 9: e85216 [PMID: 24416365 DOI: 10.1371/journal.pone.0085216]
11 马海英, 申丽旻, 赵鹤龄. 老年低白蛋白血症危重患者28例输入白蛋白衰减. 中国老年学杂志 2011; 31: 856-857
12 Simón-Talero M, García-Martínez R, Torrens M, Augustin S, Gómez S, Pereira G, Guevara M, Ginés P, Soriano G, Román E, Sánchez-Delgado J, Ferrer R, Nieto JC, Sunyé P, Fuentes I, Esteban R, Córdoba J. Effects of intravenous albumin in patients with cirrhosis and episodic hepatic encephalopathy: a randomized double-blind study. *J Hepatol* 2013; 59: 1184-1192 [PMID: 23872605 DOI: 10.1016/j.jhep.2013.07.020]
13 彭良旭. 外源性补充白蛋白恢复胃肠治疗后胃肠功能的疗效分析. 国际医药卫生导报 2012; 18: 645-647
14 刘春安, 徐飞鹏, 林琳. 人血白蛋白在胃肠外科急危重患者的运用. 广东医学 2009; 30: 10-11
15 马晓春, 孙旖旎. 危重症患者输注白蛋白的利与弊. 中华内科杂志 2012; 51: 845-947

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com
世界华人消化杂志 2014年6月8日; 22(16): 2351-2356
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

伊马替尼辅助治疗时间对中高度复发风险胃肠间质瘤患者无复发生存的影响

王晓媚

王晓媚, 常州市中医医院药剂科 江苏省常州市 213003
王晓媚, 主任中药师, 主要从事中药提取新工艺新方法的研究.
作者贡献分布: 本文由王晓媚独立完成.
通讯作者: 王晓媚, 213003, 江苏省常州市和平北路25号, 常州市中医医院药剂科. 2651466239@qq.com
收稿日期: 2014-03-17 修回日期: 2014-04-05
接受日期: 2014-05-19 在线出版日期: 2014-06-08

Influence of imatinib as adjuvant therapy on relapse-free survival in patients with gastrointestinal stromal tumors at moderate to high risk of recurrence

Xiao-Mei Wang

Xiao-Mei Wang, Department of Pharmacy, Changzhou Hospital of Traditional Chinese Medicine, Changzhou 213003, Jiangsu Province, China
Correspondence to: Xiao-Mei Wang, Department of Pharmacy, Changzhou Hospital of Traditional Chinese Medicine, 25 Heping North Road, Changzhou 213003, Jiangsu Province, China. 2651466239@qq.com
Received: 2014-03-17 Revised: 2014-04-05
Accepted: 2014-05-19 Published online: 2014-06-08

Abstract

AIM: To explore the influence of imatinib as adjuvant therapy on relapse-free survival in patients with gastrointestinal stromal tumors (GISTs) at moderate to high risk of recurrence.

METHODS: Sixty-five patients with GISTs at moderate to high risk of recurrence who were treated at our hospital from March 2006 to January 2009 were retrospectively analyzed. The short term curative effect and relapse were evaluated. The patients were divided into different groups according to imatinib treatment time, and the differences in relapse, relapse-free survival and adverse reactions were compared between different groups.

RESULTS: Complete remission was achieved in 5 (7.69%) cases, partial remission in 44 (67.69%) cases, stable disease in 13 (20.0%) cases, and progressive disease in 3 (4.62%) cases. The overall response rate was 75.38% (49/65), and disease control rate was 95.38% (62/65). Twelve (18.46%) patients developed tumor recurrence. With the increase in imatinib treatment time, the relapse-free survival rates of patients at 1, 2, 3, 4 and 5 years showed a rising trend. The relapse-free survival rates at 1, 2, 3 and 4 years were all 100%, and it was 95.24% at 5 years. The 5-year relapse-free survival rate (92.11%) in the treatment ≥ 3 years group was significantly higher than that in the < 3 years group (59.26%)(P = 0.026); the 5-year relapse-free survival rate (95.65%) in the ≥ 3 years group was higher than that in the 3 years group (92.59%), but there was no significant difference (P = 0.168). Imatinib toxicities mainly included blood toxicity, digestive tract toxicity, skin and mucosal edema, and debilitation, and most of these toxicities were mild (grades 0-2) and improved after symptomatic treatment. The incidence of debilitation in the ≥ 3 years group was significantly higher than that in the < 3 years group (P < 0.05).

CONCLUSION: For patients with GISTs at moderate to high risk of recurrence, prolonged postoperative imatinib adjuvant treatment to more than 3 years can improve relapse-free survival time to some extent. Except for the significantly increased incidence of debilitation, the incidence of other adverse reactions showed no significant rise.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Imatinib; Adjuvant therapy; Recurrence; Gastrointestinal stromal tumors; Relapse-free survival

Wang XM. Influence of imatinib as adjuvant therapy on relapse-free survival in patients with gastrointestinal stromal tumors at moderate to high risk of recurrence. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(16): 2351-2356
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2351.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i16.2351

■背景资料
目前, 外科手术切除仍是早期局限性胃肠间质瘤(gastrointestinal stromal tumor, GIST)的最佳方法, 但是术后复发率高达80%-85%. 一些研究已证实, 伊马替尼对术后复发患者的疗效较好, 口服伊马替尼400 mg/d成为GIST的标准一线治疗方案. NCCN指南推荐其辅助治疗时间为3年, 但是近年来有研究发现在完成3年治疗后, GIST复发率又呈现升高趋势, 导致国内外对于伊马替尼辅助治疗GIST的时间仍未达成共识.

■同行评议者
刘占举, 教授, 同济大学附属上海市第十人民医院

■研发前沿
目前，国内外研究针对伊马替尼辅助治疗GIST的重点集中于：3年时间是否不足以真正控制复发？延长治疗时间是否可以有效降低复发率，延长生存期？延长治疗时间的安全性如何？不同基因突变类型的GIST患者接受伊马替尼辅助治疗的个体差异如何.

摘要

目的: 探讨伊马替尼辅助治疗时间对中高度复发风险胃肠间质瘤(gastrointestinal stromal tumor, GIST)患者无复发生存的影响以及不良反应.

方法: 回顾性分析2003-03/2009-01我院收治的中高度复发风险GIST患者65例的临床资料. 评价近期疗效、复发情况, 并依据伊马替尼辅助治疗的时间进行分组, 比较各组间复发情况、无复发生存以及不良反应之间的差异.

结果: 完全缓解(complete remission, CR)5例(7.69%), 部分缓解(partial remission, PR)44例(67.69%), 疾病稳定(stable disease, SD)13例(20.0%), 疾病进展(progressive disease, PD)3例(4.62%), 客观有效率(overall response rate, ORR)为75.38%(49/65), 疾病控制率(disease control rates, DCR)为95.38%(62/65). 65例患者中共有12例患者(18.46%)出现肿瘤复发; 随着伊马替尼治疗时间的延长, 患者1、2、3、4、5年无复发生存率均呈逐渐升高的趋势, 治疗时间≥4年的1、2、3、4年无复发生存率均为100%, 5年可达95.24%. 治疗时间≥3年组5年无复发生存率(92.11%)显著高于<3年组(59.26%), 差异有统计学意义(P = 0.026); 治疗>3年组5年无复发生存率(95.65%)有高于治疗3年组(92.59%)的趋势, 但差异无统计学意义(P = 0.168). 伊马替尼治疗期间不良发硬以血液毒性、消化系反应、皮肤黏膜水肿、乏力等为主, 多为0-2级, 经相关对症治疗后好转. 治疗时间≥3年组乏力的发生率显著高于<3年组, 差异有统计学意义(P<0.05).

结论: 对于中高度复发风险的GIST患者, 延长术后伊马替尼辅助治疗的时间至3年以上可以在一定程度上提高无复发生存时间, 不良反应除乏力发生率明显升高外, 其余均未发现明显升高的现象.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 伊马替尼; 辅助治疗; 复发; 胃肠间质瘤; 无复发生存

核心提示: 对于中高度复发风险的胃肠间质瘤(gastrointestinal stromal tumor)患者, 将术后伊马替尼辅助治疗延长至3年可以在一定程度上提高无复发生存时间, 其不良反应除乏力发生率明显升高外, 其余均未发现明显升高的现象, 说明延长疗程的安全性有保障.

王晓媚. 伊马替尼辅助治疗时间对中高度复发风险胃肠间质瘤患者无复发生存的影响. 世界华人消化杂志 2014; 22(16): 2351-2356 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2351.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i16.2351

0 引言

胃肠间质瘤(gastrointestinal stromal tumor, GIST)起源于胃肠道间质的Cajal细胞, 是胃肠道最为常见的间叶源性肿瘤. 外科手术切除是早期局限性GIST的最佳方法, 但是术后复发率较高, 可达80%-85%[1,2]. 在分子靶向药物应用于临床之前, 复发转移的GIST主要采用阿霉素类药物为基础的化疗方案, 但有效率较低, 而且该病对放疗、介入栓塞等的敏感性均不高, 即使这些方法联合应用也无法获得满意疗效. 伊马替尼为小分子络氨酸激酶受体抑制剂, 是首个被临床应用于恶性肿瘤治疗的细胞信号传导抑制剂, 标志着人类对肿瘤的治疗已进入分子靶向时代. 国内外研究证实[3,4], 伊马替尼对手术后复发的GIST疗效较好, 口服伊马替尼400 mg/d已成为该病的标准一线治疗方案; 美国国立综合癌症网络(National Comprehensive Cancer Network, NCCN)发布的指南中推荐伊马替尼辅助治疗的时间为3年. 但是, Dematteo等[5]和Joensuu等[6]的研究结果均发现, 在完成伊马替尼辅助治疗3年后, GIST的复发率又出现升高趋势, 说明3年的疗程可能无法真正控制复发. 目前国内外对伊马替尼辅助治疗GIST的时间仍未达到共识, 因此, 本研究分别采用不同疗程治疗GIST患者, 以探讨伊马替尼术后辅助治疗时间对肿瘤复发的影响.

1 材料和方法

1.1 材料 纳入2006-03/2009-01我院收治的GIST患者65例. 纳入标准: 经病史询问、临床症状、辅助检查以及手术完整切除后病理组织学检查证实为原发性GIST; 依据国立卫生研究所(National Institute of Health, NIH)修订的GIST复发风险分级标准(2008版)[7]诊断为中、高度复发风险的GIST; 既往未接受过化疗、放疗及其他治疗, 或接受过这些治疗但已终止4 wk以上, 东部临床肿瘤协作组(Eastern Cooperative Oncology Group, ECOG)体力状况评分不限. 排除标准: 伴有严重心、肺、肝、肾等脏器功能障碍, 活动性出血, 以及其他未能控制的疾病; 有其他恶性肿瘤病史; 妊娠期及哺乳期妇女; 依从性较差. 65例患者中, 男41例, 女24例, 年龄25-78岁, 平均

52.35岁±6.54岁; ECOG评分<2分43例, ≥2分22例; 中度复发风险者19例, 高度复发风险者46例; 原发部位: 胃14例, 十二指肠5例, 小肠25例, 结直肠6例, 其他15例; 既往有化疗史15例, 无化疗史50例; *c-kit*及和*PDGFRA*基因突变检测结果: *c-kit*外显子11突变55例, *c-kit*外显子9突变7例, 无*PDGFRA*突变型, *c-kit/PDGFRA*野生型3例.

1.2 方法

1.2.1 治疗: 所有患者术后均取原发肿瘤组织进行病理分析, 并于术后2 mo内实施伊马替尼化疗方案: 给予甲磺酸伊马替尼片(瑞士诺华制药有限公司生产, 商品名: 格列卫, 规格: 0.4 g/片), 起始剂量为400 mg/d, 清晨顿服, 持续用药期间, 可依据药物不良反应以及病情变化适当调整剂量和治疗时间, 但不得<300 mg/d, 亦不得>800 mg/d.

1.2.2 观察指标: (1)统计65例患者采用伊马替尼辅助治疗的时间; (2)治疗3 mo后依据实体瘤疗效评价标准(Response Evaluation Criteria in Solid Tumors, RECIST)评价近期疗效, 分为完全缓解(complete remission, CR)、部分缓解(partial remission, PR)、疾病稳定(stable disease, SD)和疾病进展(progressive disease, PD), 计算客观有效率(overall response rate, ORR)以及疾病控制率(disease control rates, DCR), DCR = (CR+PR+SD)例数/总例数×100%; (3)随访至患者死亡或至随访截止日期2014-01, 统计复发率及复发时间, 并依据复发风险分级、基因突变类型等对复发率进行比较; (4)无复发生存率: 比较伊马替尼不同治疗时间的患者1、2、3、4、5年无复发生存率的差异; 再比较治疗时间<3年组与≥3年组无复发生存率的差异, 以及治疗3年者与>3年者PFS的差异; (5)不良反应: 比较<3年组与≥3年组治疗期间不良反应的差异, 依据美国国立癌症研究院通用毒性标准(National Cancer Institute Common Toxicity Criteria, NCI-CTC)3.0进行评价, 分为0-4级.

统计学处理 采用SPSS13.0 for windows统计学软件对本组数据进行分析, 计量资料的比较采用独立样本*t*检验, 计数资料的比较采用卡方检验; 无复发生存曲线的绘制应用Kaplan-Meier法, 生存率的比较采用Log-rank检验. $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 伊马替尼辅助治疗的时间 65例患者中, 治疗时间<1年者2例(3.08%), 系因药物不良反应较大而停药; 治疗时间≥1年且<2年者13例(20.0%); 治疗时间≥2年且<3年者12例(18.46%), 治疗时间≥3年且<4年者17例(26.15%), 治疗时间≥4年者21例(32.31%).

2.2 近期疗效和复发情况 65例患者中CR 5例(7.69%), PR 44例(67.69%), SD 13例(20.0%), PD 3例(4.62%), ORR为75.38%(49/65), DCR为95.38%(62/65). 本组65例患者均获得随访, 随访时间为7-74 mo, 中位随访时间为62 mo, 共有12例患者(18.46%)出现肿瘤复发, 其中单纯腹盆腔转移8例, 单纯肝转移5例, 肝和腹盆腔转移6例, 残胃局部复发1例. 中度复发风险的19例患者均未发现肿瘤复发, 高度复发风险的46例患者中有12例(26.09%)出现肿瘤复发, 两组差异有统计学意义($\chi^2 = 4.4693$, $P<0.05$). *c-kit*外显子11突变的55例患者中有10例(18.18%)复发, 外显子9突变的7例患者中有1例复发(14.29%), *c-kit/PDGFRA*野生型的3例患者中有1例复发(33.33%), 三者之间比较, 差异无统计学意义($P>0.05$). 伊马替尼治疗过程中有2例患者复发, 1例于治疗24个月时复发, 将伊马替尼剂量调整至600 mg/d后评价疗效为SD, 1例于治疗64 mo时复发, 终止伊马替尼, 改用舒尼替尼37.5 mg/d连续口服, 3 mo后评价疗效为SD; 伊马替尼治疗终止后有10例患者复发, 其中治疗时间<2年者5例, ≥2年且<3年者3例, 3年者1例, 5年者1例, 均再次进行伊马替尼400 mg/d的治疗方案, 3 mo后评价疗效, PR 4例, SD 6例, 但是在治疗12、18 mo时分别有1例患者出现肿瘤进展, 改用舒尼替尼37.5 mg/d连续口服, 3 mo后评价疗效为SD.

2.3 无复发生存情况 如表1所示, 随着伊马替尼治疗时间的延长, 患者1、2、3、4、5年无复发生存率均呈逐渐升高的趋势, 治疗时间≥4年的1、2、3、4年无复发生存率均为100%, 5年无复发生存率可达95.24%.

如图1所示, 治疗时间≥3年组5年无复发生存率(92.11%)显著高于<3年组(59.26%), 差异有统计学意义($P = 0.026$); 如图2所示, 治疗>3年组5年无复发生存率(95.65%)有高于治疗3年组(92.59%)的趋势, 但差异无统计学意义($P = 0.168$).

2.4 不良反应 如表2所示, 伊马替尼治疗期间不良反应以血液毒性、消化系反应、皮肤黏膜水肿、乏力等为主, 多为0-2级, 经止吐、静脉滴注粒细胞集落刺激因子等相关对症治疗后好转,

■创新盘点

首先, 本研究将伊马替尼辅助治疗时间细分为<1年、≥1年且<2年、≥2年且<3年、≥3年且<4年以及≥4年, 而不仅以3年为限; 其次, 本研究分别比较了中度复发风险和高度复发风险患者的肿瘤复发率, 并按照基因突变类型进行分类, 比较, c-kit外显子11、9突变以及c-kit/PDGFRA野生型患者肿瘤复发率的差异; 另外, 本研究对≥3年和<3年组的药物相关性不良反应进行完整统计.

■应用要点

对于中高度复发风险的GIST患者，术后伊马替尼辅助治疗的时间≤3年可能无法良好控制肿瘤复发，临床上可延长疗程至3年以上，并在治疗过程中严密观察患者出现的不良反应，及时给予相关处理，以延长无复发生存时间. 今后可以进一步开展个体化治疗的研究，如患者的体力状况评估、耐药瘤组织的突变检测、肿瘤局部浸润或核分裂象的检测等，探讨更适合中国患者体质特点的给药剂量和给药途径，以保证安全性的情况下最大限度地提高辅助治疗效果.

表 1 伊马替尼不同治疗时间的患者无复发生存率的差异 *n*(%)

伊马替尼治疗时间	*n*	无复发生存率				
		1年	2年	3年	4年	5年
<1年	2	1(50.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)
≥1年且<2年	13	13(100.0)	12(92.31)	10(76.92)	10(76.92)	8(61.53)
≥2年且<3年	12	12(100.0)	12(100.0)	11(91.67)	9(75.0)	8(66.67)
≥3年且<4年	17	17(100.0)	17(100.0)	17(100.0)	15(88.24)	15(88.24)
≥4年	21	21(100.0)	21(100.0)	21(100.0)	21(100.0)	20(95.24)

表 2 <3年组与≥3年组不良反应比较

不良反应	<3年组(*n* = 27)					≥3年组(*n* = 38)				
	0–1级	2级	3级	4级	合计*n*(%)	0–1级	2级	3级	4级	合计*n*(%)
白细胞减少	15	7	1	0	23(85.19)	20	12	2	0	34(89.47)
血小板减少	2	2	0	0	4(14.81)	4	1	1	0	6(15.79)
血红蛋白减少	2	0	0	0	2(7.41)	2	1	0	0	3(7.89)
肝功能损害	1	1	0	0	2(7.41)	2	2	0	0	4(10.53)
肾功能损害	1	0	0	0	1(3.70)	1	1	0	0	2(5.26)
腹泻	10	3	1	0	14(51.85)	12	6	2	0	20(52.63)
恶心呕吐	7	1	2	0	10(37.04)	7	6	1	0	14(36.84)
食欲减退	13	2	0	0	15(55.56)	12	6	2	0	20(52.63)
乏力	15	3	0	0	18(66.67)[a]	24	8	2	0	34(89.47)
脱发	2	2	1	0	5(18.52)	3	3	1	0	7(18.42)
皮肤黏膜水肿	20	2	0	0	22(81.48)	25	5	2	0	32(84.21)
心脏毒性	0	0	0	0	0(0.00)	1	0	0	0	1(2.63)

[a]*P*<0.05 *vs* ≥3年组.

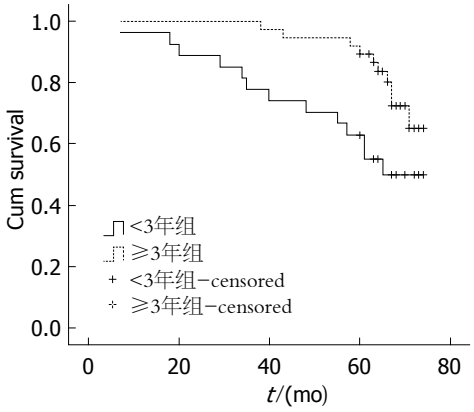


图 1 <3年组(*n* = 27)与≥3年组(*n* = 38)无复发生存曲线.

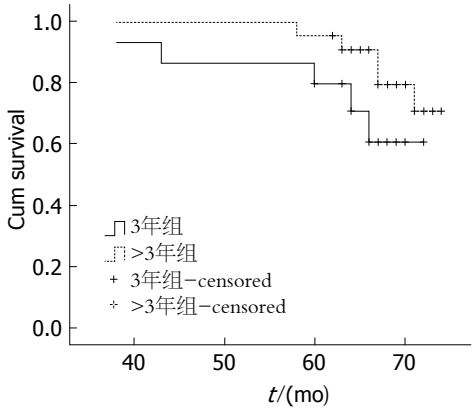


图 2 3年组(*n* = 15)与>3年组(*n* = 23)无复发生存曲线.

药物不良反应均可耐受，无1例终止治疗. 治疗时间≥3年组仅有乏力的发生率显著高于<3年组，差异有统计学意义(*P*<0.05).

3 讨论

伊马替尼应用于胃肠间质瘤术后的辅助治疗已获得了国内广泛的认可. ACOSIG-Z9001研究[5]中，713例GIST患者被随机分为伊马替尼400 mg/d的治疗组以及安慰剂治疗组，结果显示，伊马替尼治疗组1年无复发生存率为98%，显著高于对照组的83%. 但是，该研究的后续报道显示，在伊马替尼停药6 mo后，治疗组复发率较前明显升高，而且治疗组与安慰剂之间总生存率比较，差异无统计学意义. 以上结果提示我们，GIST患者

术后应有伊马替尼进行辅助治疗可获得肯定疗效, 但可能需要进一步延长服药时间, 以降低肿瘤复发率, 提高生存率. 之后的SSG ⅩⅧ/AIO研究[6]则对高复发风险c-kit阳性GIST患者采用不同疗程伊马替尼的疗效进行了对比, 结果显示, 治疗3年组的5年无复发生存率(66%)显著高于1年组(48%), 但是3年伊马替尼治疗结束后, GIST的复发率也同样呈现升高的趋势, 说明即使是3年的治疗时间仍可能无法有效控制复发.

本研究对伊马替尼不同治疗时间对GIST患者的无复发生存率进行了分析, 结果提示, 随着伊马替尼治疗时间的延长, 患者的无复发生存率逐渐升高, 治疗时间≥3年的患者5年无复发生存率为92.11%, 显著高于<3年的患者(59.26%), 差异有统计学意义(P = 0.026); 与治疗3年的患者相比, >3年者5年无复发生存率也呈升高趋势(95.65% *vs* 92.59%), 但差异无统计学意义(P = 0.168), 说明延长术后伊马替尼辅助治疗的时间对改善无复发生存情况是有利的, 但获益的程度有限, 还需扩大样本量、延长随访时间进行深入分析.

ACOSIG-Z9001[5]以及SSG ⅩⅧ/AIO研究[6]中, 伊马替尼对*c-kit*外显子11突变的患者具有显著疗效, 而对*c-kit*外显子9突变以及*c-kit*/*PDGFRA*野生型的患者疗效不佳. 本研究中, *c-kit*外显子11突变的55例患者中18.18%复发, 外显子9突变的7例患者中14.29%复发, *c-kit*/*PDGFRA*野生型的3例患者中有33.33%复发, 三者之间比较, 差异无统计学意义(P>0.05), 但是, 外显子9突变以及*c-kit*/*PDGFRA*野生型患者例数尚不足, 无法进行亚组分析. 另外, 本组中中度复发风险的19例患者均未发现肿瘤复发, 高度复发风险的46例患者中26.09%出现肿瘤复发, 两组差异显著, 但是, 有3例患者接受了不足3年的伊马替尼辅助治疗, 但5年随访期间仍未出现肿瘤复发, 这一结果又与肿瘤复发风险评估的标准相互矛盾. 在分析相关报道后[8,9], 我们认为, GIST患者基因突变的类型可能会影响伊马替尼辅助治疗的效果, 将这一预测因子融合入其他风险预测因子中是否会对肿瘤复发的风险评估标准产生影响, 本次研究未按照基因突变类型进行分类治疗, 今后可针对该方面进行深入研究.

另外, 本组中伊马替尼治疗过程中以及停药后均有肿瘤复发患者, 前者仅有2例, 在增加伊马替尼剂量或改用舒尼替尼后疗效评价达SD; 后者有10例, 虽然再次进行伊马替尼400 mg/d治疗, 且3 mo后疗效评价均在SD以上, 但是在12、18 mo后又分别出现1例进展患者, 遂改用舒尼替尼治疗, 3 mo后评价疗效为SD, 其余患者由于随访时间限制, 复发情况还未得到完全统计. 以上结果说明, 虽然肿瘤复发的患者在二次接受伊马替尼治疗后病情有所控制, 但是在2年的随访期间内已有20%的患者出现复发, 可能预示着伊马替尼二次治疗所带来的生存获益不如一线治疗. 分析原因, 我们认为这可能与伊马替尼首次治疗时, GIST亚临床病灶对其的耐药机制已不同程度地启动有关, 而首次伊马替尼使用时间的长短可能对其二次治疗的疗效产生影响.

ACOSIG-Z9001[5]以及SSG ⅩⅧ/AIO研究[6]中, 有20%左右的患者在伊马替尼400 mg/d的剂量下连续口服12 mo, 出现了较为严重的不良反应, 服药36 mo时, 其不良反应发生率高达30%左右. 伊马替尼对机体产生的不良反应主要与用药剂量、疗程以及患者自身耐受情况有关, 用药前详细评估患者一般状况, 用药期间加强对药物相关性不良反应的观察, 并及时给予正确处理, 可有效减轻不良反应给患者身体状况和治疗情况带来的影响. 本研究中, 伊马替尼治疗期间不良反应以血液毒性、消化系反应、皮肤黏膜水肿、乏力等为主, 多为0-2级, 经相关对症治疗后好转, 基本未影响患者的生活质量, 但其中治疗时间<1年的2例患者系因药物不良反应较大而停药, 在停药后4及15 mo死亡. 治疗时间≥3年的患者在乏力的发生率上显著高于<3年组, 但其他不良反应均未发现明显的增加, 尽管如此, 延长伊马替尼治疗时间后, 可能还会出现预期之外的不良反应, 因此在治疗期间应尤其注意对相关不良反应的监测, 及时发现并进行正确的处理, 以降低不良事件的发生率.

总之, 对于中高度复发风险的GIST患者, 延长术后伊马替尼辅助治疗的时间至3年以上可以在一定程度上提高无复发生存时间, 不良反应除乏力发生率明显升高外, 其余均未发现明显升高的现象. 今后的研究中, 我们将对GIST患者基因突变的类型与肿瘤复发风险的关系、延长伊马替尼治疗的远期疗效以及可预期的不良反应、伊马替尼耐药后治疗方案的选择等进行更深层次的探索.

■同行评价
本文为临床用药提供了依据, 具有一定指导意义.

4 参考文献

1 Neuhaus SJ, Clark MA, Hayes AJ, Thomas JM, Judson I. Surgery for gastrointestinal stromal tu-

mour in the post-imatinib era. *ANZ J Surg* 2005; 75: 165-172 [PMID: 15777399]
2 何裕隆. 如何更好地联合外科手术与靶向药物治疗胃肠间质瘤. 中华胃肠外科杂志 2012; 15: 201-203
3 徐佳, 庄淳, 赵文毅, 汪明, 张子臻, 赵刚, 曹晖. 中高度复发风险胃肠间质瘤术后伊马替尼辅助治疗的疗效观察. 腹部外科 2013; 26: 374-379
4 Blanke CD, Demetri GD, von Mehren M, Heinrich MC, Eisenberg B, Fletcher JA, Corless CL, Fletcher CD, Roberts PJ, Heinz D, Wehre E, Nikolova Z, Joensuu H. Long-term results from a randomized phase II trial of standard- versus higher-dose imatinib mesylate for patients with unresectable or metastatic gastrointestinal stromal tumors expressing KIT. *J Clin Oncol* 2008; 26: 620-625 [PMID: 18235121 DOI: 10.1200/JCO.2007.13.4403]
5 Dematteo RP, Ballman KV, Antonescu CR, Maki RG, Pisters PW, Demetri GD, Blackstein ME, Blanke CD, von Mehren M, Brennan MF, Patel S, McCarter MD, Polikoff JA, Tan BR, Owzar K. Adjuvant imatinib mesylate after resection of localised, primary gastrointestinal stromal tumour: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet* 2009; 373: 1097-1104 [PMID: 19303137 DOI: 10.1016/S0140-6736(09)60500-6]
6 Joensuu H, Eriksson M, Sundby Hall K, Hartmann JT, Pink D, Schütte J, Ramadori G, Hohenberger P, Duyster J, Al-Batran SE, Schlemmer M, Bauer S, Wardelmann E, Sarlomo-Rikala M, Nilsson B, Sihto H, Monge OR, Bono P, Kallio R, Vehtari A, Leinonen M, Alvegård T, Reichardt P. One vs three years of adjuvant imatinib for operable gastrointestinal stromal tumor: a randomized trial. *JAMA* 2012; 307: 1265-1272 [PMID: 22453568 DOI: 10.1001/jama.2012.347]
7 Joensuu H. Risk stratification of patients diagnosed with gastrointestinal stromal tumor. *Hum Pathol* 2008; 39: 1411-1419 [PMID: 18774375 DOI: 10.1016/j.humpath.2008.06.025]
8 Paul PC, Chakraborty J, Kundu D, Sarkar R. Gastrointestinal stromal tumour--role of CD117 in diagnosis and management. *Indian J Pathol Microbiol* 2007; 50: 279-283 [PMID: 17883045]
9 Bachet JB, Tabone-Eglinger S, Dessaux S, Besse A, Brahimi-Adouane S, Emile JF, Blay JY, Alberti L. Gene expression patterns of hemizygous and heterozygous KIT mutations suggest distinct oncogenic pathways: a study in NIH3T3 cell lines and GIST samples. *PLoS One* 2013; 8: e61103 [PMID: 23593401 DOI: 10.1371/journal.pone.0061103]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



世界华人消化杂志 2014年6月8日; 22(16): 2357-2360
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

胃肠肿瘤术后消化系出血的原因及治疗

陶应田, 何 磊, 余 超, 朱广玉, 涂从银, 文 刚

陶应田, 何磊, 余超, 朱广玉, 涂从银, 文刚, 安徽医科大学第三附属医院胃肠外科 安徽省合肥市 230061
陶应田, 副主任医师, 主要从事胃肠肿瘤的研究.
作者贡献分布: 此研究由陶应田与涂从银设计; 文中病例由陶应田、何磊、余超、朱广玉、文刚及涂从银提供; 朱广玉与余超负责调阅病案; 本论文由陶应田与何磊完成.
通讯作者: 涂从银, 主任医师, 230061, 安徽省合肥市淮海路390号, 安徽医科大学第三附属医院胃肠外科.
1026014294@qq.com
电话: 0551-62183646
收稿日期: 2014-03-20 修回日期: 2014-04-05
接受日期: 2014-04-09 在线出版日期: 2014-06-08

Gastrointestinal bleeding in patients with gastrointestinal tumors after surgery: Causes and treatments

Ying-Tian Tao, Lei He, Chao Yu, Guang-Yu Zhu, Cong-Yin Tu, Gang Wen

Ying-Tian Tao, Lei He, Chao Yu, Guang-Yu Zhu, Cong-Yin Tu, Gang Wen, Department of Gastrointestinal Surgery, the Third Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230061, Anhui Province, China
Correspondence to: Cong-Yin Tu, Chief Physician, Department of Gastrointestinal Surgery, the Third Affiliated Hospital of Anhui Medical University, 390 Huaihe Road, Hefei 230061, China. 1026014294@qq.com
Received: 2014-03-20 Revised: 2014-04-05
Accepted: 2014-04-09 Published online: 2014-06-08

Abstract

AIM: To investigate the causes and treatments of postoperative gastrointestinal bleeding in patients with gastrointestinal tumors.

METHODS: A retrospective study was performed on 21 patients with gastrointestinal tumors who developed gastrointestinal bleeding after surgery for gastrointestinal tumors between January 2009 and January 2014 at the Third Affiliated Hospital of Anhui Medical University. Among them, 19 patients had early and 2 patients had late gastrointestinal hemorrhage.

RESULTS: Eighteen patients recovered after appropriate treatments such as conservative therapy, endoscopic treatment, digital subtraction angiography and reoperation. One patient abandoned treatment and 2 patients died after the reoperation.

CONCLUSION: There are many reasons for postoperative hemorrhage in patients with gastrointestinal tumors. Effective treatments and standard surgery technique are key solutions for gastrointestinal bleeding after surgery for gastrointestinal tumors.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Gastric cancer; Colon cancer; Gastrointestinal tumor; Gastrointestinal bleeding; Digital subtraction angiography

Tao YT, He L, Yu C, Zhu GY, Tu CY, Wen G. Gastrointestinal bleeding in patients with gastrointestinal tumors after surgery: Causes and treatments. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(16): 2357-2360 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2357.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i16.2357

摘要

目的: 探讨胃肠道肿瘤术后发生消化系出血的原因与治疗.

方法: 选择2009-01/2014-01安徽医科大学第三附属医院胃肠肿瘤术后发生消化系出血的临床资料进行回顾性研究, 其中近期出现消化系出血的19例, 远期发生消化系出血的2例.

结果: 18例患者经保守治疗、内镜下止血夹治疗止血、数字减影血管造影(digital subtraction angiography, DSA)止血、二次手术止血, 恢复顺利; 1例患者放弃治疗, 2例患者手术止血失败.

结论: 胃肠肿瘤患者术后发生出血原因是多方面的, 应引起足够重视, 要主动采取积极的应对措施和规范的手术术式, 预防与治疗胃肠肿瘤术后并发消化系出血.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 胃癌; 结肠癌; 胃肠肿瘤; 消化系出血; 数字

■背景资料
胃肠肿瘤是常见病, 外科手术目前仍然是最主要的治疗手段之一, 约有0.5%左右的胃肠肿瘤术后患者会发生消化系大出血, 尤其近期吻合口出血者病情十分凶险, 严重危及患者生命安全, 本文作者回顾性分析了5年来在安徽医科大学第三附属医院发生的胃肠肿瘤术后并发消化系出血病例, 阐述发生出血部位、时间, 处理措施, 与广大临床医生分享经验, 具有很好借鉴意义.

■同行评议者
许玲, 教授, 主任医师,上海中医药大学附属龙华医院肿瘤科

■研发前沿
胃肠肿瘤术后消化系出血原因很多，有的互为因果；消化系出血后处理手段随着内镜技术、血管造影与介入技术在消化内、外科的引入而更加多元化，一部分非常棘手的消化系出血可以借助这些微创的方法获得痊愈.

减影血管造影

核心提示: 本文对胃肠肿瘤术后发生消化系出血的临床资料进行回顾性研究，探讨出血的原因与治疗，总结得出胃肠肿瘤患者术后发生出血原因是多方面，应引起足够重视，同时主动采取积极的措施和规范的手术术式，预防与治疗胃肠肿瘤术后消化系出血.

陶应田, 何磊, 余超, 朱广玉, 涂从银, 文刚. 胃肠肿瘤术后消化系出血的原因及治疗. 世界华人消化杂志 2014; 22(16): 2357-2360
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2357.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i16.2357

0 引言

在我国胃肠肿瘤发病率一直居高不下，外科手术目前仍然是最重要的治疗手段之一. 而手术后近远期发生的消化系出血病例不在少数，多见于胃肠吻合口或肠肠吻合口周围，以及胃肠残端闭合处出血. 如今胃肠外科中各种吻合、闭合的手工操作有被手术器械如吻合器、闭合器等替代趋势，总体来说手术区域的并发症在逐步减少[1]，但吻合口出血、吻合口漏/瘘、残端漏/瘘等严重并发症并未根本上消除，并发症长期不愈不但影响胃肠道的正常功能，还可增加肿瘤局部复发及肿瘤相关病死率[2]. 选择2009-01/2014-01胃肠肿瘤术后并发消化系出血共21例患者，其中非手术治疗成功的14例，非手术治疗止血无效7例，行外科手术止血的6例，另1例放弃治疗，现结合以上病例做一分析：反省处理得失，提高认识，积累经验，为以后处理类似病例提供借鉴.

1 材料和方法

1.1 材料 选择2009-01/2014-01胃肠肿瘤术后并发消化系出血患者共21例，男9例，女12例；年龄46-75岁，平均63岁. 其中胃癌16例，结肠癌3例，直肠癌2例，术前均行内镜检查，且病理证实为胃肠道恶性肿瘤，术前检查未提示有远处转移灶，临床分期为Ⅱ期或Ⅲ期，均未行新辅助化疗.

1.2 方法 手术全部采用开腹的胃肠肿瘤标准根治术式，其中根治性全胃切除+结肠前食道空肠Roux-en-Y吻合术9例，根治性远端胃大部切除+结肠前残胃空肠Roux-en-Y吻合术7例，根治性右半结肠切除+回肠横结肠端侧吻合术2例，根治性左半结肠切除+结肠结肠端端吻合术1例，直肠癌根治术2例. 出血发生在术后1 wk的11例，出血发生在术后1-2 wk的7例，术后2 wk发生出血的3例. 除在麻醉恢复室等待苏醒期间即发生出血的1例外，所有发生术后出血的患者均先行输血、输液、局部或全身应用止血药物治疗，部分患者联合采取内镜下止血、动脉栓塞止血等治疗，内镜下止血的患者可见其吻合口出血处黏膜水肿、吻合不严密，部分吻合钉外露接近脱落等；其中7例患者发生血压进行性下降、或合并无法控制的感染需积极采取手术止血、腹腔冲洗引流等处理，1例患者家属放弃积极治疗，6例患者采取外科手术止血.

2 结果

本组患者中14例非手术止血获得成功，手术止血的6例患者中，1例(例5)术中止血失败死亡，1例(例6)术中见十二指肠残端区域堆积多量中人氟安植入剂颗粒，术后24 h再次出血死亡. 止血成功的4例患者，1例术后并发肺部感染，经加强抗感染治疗后痊愈，其余患者均顺利康复出院. 手术治疗患者与非手术处理患者情况如表1, 2.

3 讨论

3.1 出血原因 胃肠肿瘤根治术后出血是常见的症状之一[3]，但消化系大出血发生率较低，在0.5%左右[4]，吻合口瘘或残端瘘是导致术后消化系大出血的常见原因[5,6]. 胃肠道肿瘤术后近期出血一般指4 wk内发生的出血，常见临床表现有胃管、鼻肠管、空肠营养管引流出鲜红色血性液体，甚至有小的血凝块，短期内出血量大者可发生血压、脉搏增速、便血；远期出血一般指术后超过4 wk者，表现为呕血、黑便或是血便，常用的检查手段有胃镜，DSA下选择性血管造影[7]、腹部B超等. 出血原因因手工缝合与器械操作而不同，与手工缝合有关的常见原因如下：(1)针距大小不适中，线结过紧过松，以至发生吻合口漏，引起局部污染，炎症波及吻合口周围血管引起继发出血，手术中通过可利用管腔对吻合口检查，如夹闭近远端肠管查看有无吻合口漏气，如有漏气，可加缝几针，直至再次检查无漏气为止；(2)吻合时止血不可靠，处理则是在吻合口周围的系膜血管间断缝合一针以防止出血，边缝合边检查缝合过的部分是否有出血，可通过未封闭的肠管管腔以白色棉球擦拭吻合口周围查看有否出血. 器械吻合或闭合者，引起出血可能的原因有[8]：(1)闭合、吻合器械本身存在一定的缺陷，常见的是闭合切割完成后残端仍有

表 1 6例手术治疗患者出血位置及处理措施

病例	疾病	手术方式	出血时间	诊断依据	出血部位	处理措施
1	胃癌	全胃切除术	术后1 h, 未离开麻醉恢复室	鼻肠管引出大量鲜红色血液	食道空肠吻合口及闭合的空肠残端	沿吻合口一周间断缝合, 拆开残端检查吻合口无出血, 再重新缝合残端
2	胃癌	远端胃大部切除术	术后24 h	鼻胃管、胃镜、血管造影	胃肠吻合口出血	局部加缝数针, 至胃管冲洗液颜色变清为止
3	结肠癌	右半结肠切除术	术后96 h	持续鲜血便	小肠结肠吻合口出血	吻合口周围肠系膜加缝数针
4	胃癌	全胃切除术	术后10 d	鼻肠管、腹腔引流管引出红色液体	食道空肠吻合口漏、空肠空肠吻合口漏及出血	腹腔冲洗, 植入空肠营养管、多根腹腔引流管, 缝扎空肠吻合口旁少许肠系膜
5	胃癌	全胃切除术	术后29 d	腹部B超、腹腔穿刺	十二指肠残端瘘伴周围出血、感染	局部炎性水肿、组织脆, 广泛出血, 术中未能有效止血
6	胃癌	全胃切除术	术后43 d	血管造影、腹部B超	十二指肠残端附近出血	离断胃十二指肠动脉, 残端周围血管缝合结扎

表 2 15例非手术治疗患者出血部位及处理措施

病例	疾病	手术方式	出血时间	诊断依据	出血部位	处理措施
7–10	胃癌	远端胃大部切除	术后7 d内	鼻胃管、B超、造影	胃肠吻合口	输血、输液、内镜下止血、局部全身、应用止血药物
11	胃癌	远端胃大部切除	术后2 wk	血色素下降、造影、胃镜	十二指肠肠残端	DSA下栓塞胃十二指肠动脉、输血、输液、全身应用止血药物
12	胃癌	远端胃大部切除	术后1–2 wk	胃镜、鼻胃管	胃肠吻合口	输液、局部、全身应用止血药物
13–15	胃癌	全胃切除	术后1–2 wk	胃镜、呕血	食道空肠吻合口	全身、局部应用止血药物
16–17	胃癌	全胃切除	术后7 d	鼻肠管	食道胃吻合口	全身、局部应用止血药物
18	结肠癌	右半结肠切除	术后7 d	血便、血管造影	结肠回肠吻合口	DSA下注入血管加压素、垂体后叶素
19	结肠癌	左半结肠切除	术后7 d	血便、血管造影	结肠结肠吻合口	全身应用止血药物
20–21	直肠癌	直肠癌根治术	术后2 wk	血便、短肠镜	结肠、直肠	全身、局部应用止血药物

■创新盘点

在本篇中作者对21例胃肠肿瘤术后并发消化系出血的原因、出血时间、发生部位、处理方法等进行总结: 胃肠肿瘤术后出血多发生在近期, 大多在吻合口附近, 处理方法以非手术方法为主, 如局部或全身应用止血药物、选择性使用内镜止血、DSA下止血等多种手段并用.

活动性出血或闭合器与组织不能直接脱离, 需借助外力才能挣脱, 此种情况止血常不可靠, 应间断缝合止血、并残端包埋; (2)肠壁处于炎症水肿或梗阻期, 肠壁增厚, 吻合钉长度不够不能将黏膜血管钉合; (3)手术医生选择的吻合器大小不恰当, 会导致肠黏膜撕裂、术后胃肠道出血; (4)手术医生操作不当, 经验欠缺等.

3.2 如何减少出血发生尤为重要 出血发生在局部, 但预防应从全局考虑[9,10]: (1)手术前全面检查, 详细询问病史, 多学科会诊, 病情评估, 反复告知手术风险, 围手术期酌情采用全肠外营养、肠内营养及肠外肠内联合的营养支持治疗; (2)术前周密计划, 做好备案, 手术操作精细, 一丝不苟, 术中爱护组织、做到确切止血; 术中处理要满意, 不留遗憾, 不存侥幸心理; 熟练掌握本学科常用器械的性能, 即所谓“工欲善其事必先利其器”, 术中情况瞬息万变, 遇不能控制的困难当机立断求助上级医生; (3)根据肠管直径、胃腔宽度选择合适的吻合器、闭合器, 减少胃肠黏膜撕裂几率及出血情况发生, 建议应用可吸收的胃肠缝合线. 吻合器使用过程中避免粗暴用力, 以防用力过大造成胃肠黏膜层、肌层断裂出血; 吻合器激发后应保持挤压状态10-15 s, 残端闭合时如遇出血应间断结节缝合并荷包包埋[11]; (4)我们还有几点体会可减少术后出血, 如靠近吻合口周围的较大血管应紧贴肠壁缝合一针减少出血的机会, 如胃肠水肿明显可考虑手工缝合; 吻合口两端组织不能有张力, 吻合前确信肠管无扭转、也无张力; 可通过棉球自可利用管腔擦拭吻合口周围检查有无出血, 或自胃管、营养管、肛管注水后检查有无活动性出血; 手术过程中尽可能减少在大血管壁上做电凝止血, 因为一旦术后发生吻合口瘘、腹腔内感染, 就可能腐蚀裸露的血管断端, 致使结扎线或止血夹脱落, 或直接腐蚀动脉壁, 即可引起腹腔内动脉性大出血[12]; 吻合完成后检查有

■同行评价
本文结合胃肠肿瘤术后消化系出血临床问题进行独立思考和分析, 得出的经验和总结, 具有一定临床参考价值.

无吻合口漏气, 尤其在吻合过程中感觉吻合质量不高时, 如发生在低位肠吻合建议做预防性造口, 根据患者情况决定造口立即开放或暂不开放; (5)中人氟安等缓释化疗药物植入剂避免放在吻合口周围及裸露的血管旁, 局部过高浓度的氟尿嘧啶有可能抑制受损伤的组织愈合.

3.3 治疗 总的原则是先在全身、局部应用止血药物[13,14], 如静脉推注和肌肉注射立止血, 静脉滴注凝血酶原复合物, 将含有4-8 mg去甲肾上腺素的100-150 mL生理盐水溶液自胃管注入出血周围, 也可将凝血酶冻干粉溶解于0.9%氯化钠溶液后自胃管注入以及输血、补液等治疗. 注意检查患者有无凝血功能障碍, 在输血、输液同时请相关科室会诊酌情采用胃镜、肠镜检查出血部位, 内镜下止血[15,16], DSA下选择性血管造影明确出血部位, 栓塞出血血管, 如出血仍不能控制, 血流动力学不稳, 果断决定是否手术止血. 手术则力求简单、有效、微创, 对于术后2-4 wk出血的患者手术探查常常较为困难, 注意勿造成医源性肠管损伤, 增加患者肠瘘风险; 胃肠肿瘤术后发生吻合口瘘继发出现消化系出血的病例应进行有效措施控制感染, 如行腹腔持续冲洗、引流, 应用强有力的抗生素等. 胃大部切除术后并发的胃肠吻合口溃疡、出血等发生的时间较晚, 一般与胃切除不充分存在高胃酸分泌等情况有关, 可选择内镜下止血, 如有可疑癌变则考虑再次手术治疗, 切除余胃.

4 参考文献

1 Sozutek A, Colak T, Dag A, Olmez T. Comparison of standard 4-row versus 6-row3-D linear cutter stapler in creation of gastrointestinal system anastomoses: a prospective randomized trial. *Clinics* (Sao Paulo) 2012; 67: 1035-1038 [PMID: 23018300 DOI: 10.6061/clinics/2012(09)09]

2 Mirnezami A, Mirnezami R, Chandrakumaran K, Sasapu K, Sagar P, Finan P. Increased local recurrence and reduced survival from colorectal cancer following anastomotic leak: systematic review and meta-analysis. *Ann Surg* 2011; 253: 890-899 [PMID: 21394013 DOI: 10.1097/SLA]

3 Murakami N, Nakagawa K, Yamashita H, Nagawa H. Palliative radiation therapy for advanced gastrointestinal cancer. *Digestion* 2008; 77 Suppl 1: 29-35 [PMID: 18204259 DOI: 10.1159/000111485.Epub]

4 Tanizawa Y, Bando E, Kawamura T, Tokunaga M, Ono H, Terashima M. Early postoperative anastomotic hemorrhage after gastrectomy for gastric cancer. *Gastric Cancer* 2010; 13: 50-57 [PMID: 20373076 DOI: 10.1007/s10120-009-0535-6]

5 徐泽宽, 徐皓. 胃癌根治术后消化道出血原因及处理. 中国实用外科杂志 2013; 33: 306-308

6 胡家平, 余永欢. 胃肠吻合器行消化道重建术的并发症分析. 实用临床医学杂志 2006; 7: 93-94

7 程洁敏, 王建华. 血管造影和介入治疗在消化道出血诊治中的应用. 中国实用外科杂志 2010; 30: 435-439

8 顾军. 使用吻合器行消化道重建的并发症及其预防. 中国实用外科杂志 2004; 24: 528-530

9 梁涛, 印义琼, 钟静, 覃清梅. 胃肠道肿瘤病人营养风险的筛查. 肠外与肠内营养 2012; 19: 218-219, 222

10 季加孚. 吻合器在胃癌手术中的应用. 中国实用外科杂志 2005; 25: 435-437

11 陈凛, 边识博. 胃肠外科吻合器应用相关并发症及其处理. 中国实用外科杂志 2013; 33: 278-281

12 Deguchi Y, Fukagawa T, Morita S, Ohashi M, Saka M, Katai H. Identification of risk factors for esophagojejunal anastomotic leakage after gastric surgery. *World J Surg* 2012; 36: 1617-1622 [PMID: 22415758 DOI: 10.1007/s00268-012-1559-3]

13 曹海波, 胡平. 胃癌机械吻合术后早期吻合口出血的治疗和预防. 温州医学院学报 2011; 41: 368-369

14 赵毅, 邓鑫, 王强. 胃切除术后消化道出血9例分析. 中国实用外科杂志 2010; 30: 474-476

15 Chung IK, Lee DH, Kim HU, Sung IK, Kim JH. [Guidelines of treatment for bleeding peptic ulcer disease]. *Korean J Gastroenterol* 2009; 54: 298-308 [PMID: 19934611]

16 Pasha SF, Leighton JA, Das A, Harrison ME, Decker GA, Fleischer DE, Sharma VK. Double-balloon enteroscopy and capsule endoscopy have comparable diagnostic yield in small-bowel disease: a meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2008; 6: 671-676 [PMID: 18356113 DOI: 10.1016/j.cgh.2008.01.005]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com
世界华人消化杂志 2014年6月8日; 22(16): 2361-2364
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

美沙拉嗪对溃疡性结肠炎主要不良反应及最佳给药方式

韩 柯, 王永生, 向 前

韩柯, 王永生, 向前, 南阳市中心医院肛肠科 河南省南阳市 473009
韩柯, 副主任医师, 主要从事中西医结合肛肠科、中医外科、溃疡性结肠炎、便秘的研究.
作者贡献分布: 本研究设计由韩柯完成; 研究过程王永生与向前参与; 文章撰写由韩柯完成.
通讯作者: 韩柯, 副主任医师, 473009, 河南省南阳市工农路312号, 南阳市中心医院肛肠科. 13938963062@139.com
收稿日期: 2014-05-05 修回日期: 2014-05-18
接受日期: 2014-05-20 在线出版日期: 2014-06-08

Adverse reactions and optimal administration of mesalazine in patients with ulcerative colitis

Ke Han, Yong-Sheng Wang, Qian Xiang

Ke Han, Yong-Sheng Wang, Qian Xiang, Department of Anorectal Medicine, Nanyang Central Hospital, Nanyang 473000, Henan Province, China
Correspondence to: Ke Han, Associate Chief Physician, Department of Anorectal Medicine, Nanyang Central Hospital, 312 Gongnong Road, Nanyang 473000, Henan Province, China. 13938963062@139.com
Received: 2014-05-05 Revised: 2014-05-18
Accepted: 2014-05-20 Published online: 2014-06-08

Abstract

AIM: To explore the adverse reactions and optimal administration of mesalazine in patients with ulcerative colitis.

METHODS: Ninety-nine patients with ulcerative colitis treated at our hospital were equally divided into three groups: two observation groups and one control group. The first observation group was given oral mesalazine, 0.5 g each time, 4 times a day; the second observation group were given mesalazine 2 g each day (oral dose was 1 g, 0.5 g each time, 2 times a day after meals, and another 1.0 g was crushed into powder and added to warm water for retention enema, once a day). The control group was given oral sulfasalazine. All treatments lasted 8 weeks. After treatment, adverse reactions and clinical efficacy were compared among the three groups. Serum cell factors and coagulation indexes were also compared.

RESULTS: In the first observation group, 1 patient developed nausea and gastrointestinal discomfort. In the second observation group, two patients had nausea. In the control group, 3 patients had allergies, 2 had leukopenia, and 3 had edema. The rates of adverse reactions in the observation groups were significantly lower than that in the control group (χ^2 = 19.101, 12.856, P < 0.05 for both), although there was no significant difference between the two observation groups (χ^2 = 4.358, P = 0.303). After 8 weeks of treatment, the total effective rate in the second observation group was significantly higher than those in the first observation group and the control group (χ^2 = 4.358, 9.746, P < 0.05 for both). After treatment, serum interferon-γ (IFN-γ), IL-1, IL-6, IL-8, and fibrillation (Fib) were significantly decreased, and MPV was increased significantly in all three groups compared with before treatment (t = 10.099, 19.158, 11.818, P < 0.05 for all); the improvement was more significant in the second observation group than in the first observation group and control group (t = 9.689, 8.896, P < 0.05 for both), and no significant difference was observed between the first observation group and the control group (t = 0.962, P > 0.05).

CONCLUSION: Mesalazine at a conventional dose can significantly improve the clinical efficacy and inflammatory state in patients with ulcerative colitis, with less adverse reactions.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Sulfasalazine; Mesalazine; Ulcerative colitis; Adverse reactions

Han K, Wang YS, Xiang Q. Adverse reactions and optimal administration of mesalazine in patients with ulcerative colitis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(16): 2361-2364 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2361.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i16.2361

摘要

目的: 探讨美沙拉嗪的不良反应及最佳给药方式.

■背景资料
目前研究证实, 溃疡性结肠炎是多种因素共同作用所致, 如自身免疫低下、肠道菌群失调、遗传因素以及环境因素等. 柳氮磺吡啶是临床上常用的溃疡性结肠炎治疗药物, 对中轻度溃疡性结肠炎有显效果. 但是仍有15%-45%的患者服用柳氮磺吡啶会出现明显的不良反应, 甚至因不能耐受而中断治疗, 因此不宜长期使用. 近年来大量报道对溃疡性结肠炎采用美沙拉嗪治疗, 取得了满意的效果.

■同行评议者
缪应雷, 主任医师, 昆明医科大学第一附属医院消化内科

■研发前沿
溃疡性结肠炎是以非特异性结肠炎为临床表现的慢性炎性疾病，其发病机制尚不清楚.

方法: 将我院治疗的99例溃疡性结肠炎患者分为观察1组、观察2组和对照组各33例. 观察1组口服美沙拉嗪每次0.5 g, 每日4次; 观察2组口服美沙拉嗪1 g, 每日2次, 每次0.5 g, 同时将美沙拉嗪1.0 g研成粉末并加入温开水保留灌肠, 1次/d; 对照组餐后口服柳氮磺吡啶, 连续治疗8 wk, 对比三组患者不良反应发生情况、临床疗效, 并对治疗前后血清细胞因子及凝血指标水平进行检测, 综合评价三组疗效.

结果: 观察1组1例(3.03%)用药后出现恶心、胃肠道不适等不良反应; 观察2组2例(6.06%)出现恶心, 但均为一过性, 继续治疗3 d后反应消失. 对照组3例(9.09%)出现过敏, 2例(6.06%)白细胞明显减少; 3例(9.09%)出现水肿, 观察1组、观察2组不良反应发生率显著低于对照组(χ^2 = 19.101, 12.856, P<0.05), 而观察1组和观察2组不良反应发生率相比差异无统计学意义(χ^2 = 4.358, P = 0.303). 治疗8 wk后, 观察2组总有效率显著高于观察1组和对照组(χ^2 = 4.358, 9.746, P<0.05). 三组患者治疗后干扰素-γ(interferon-γ, IFN-γ)、白介素-1(interleukin-1, IL-1)、IL-6、IL-8、纤维蛋白原(fibrillation, Fib)均显著降低, 血小板容积(mean platelet volume, MPV)明显升高(t = 10.099, 19.158, 11.818, P<0.05); 其中观察2组各指标改善情况显著优于观察1组及对照组(t = 9.689, 8.896, P<0.05). 而观察2组与对照组之间无统计学意义(t = 0.962, P>0.05).

结论: 常规治疗剂量的美沙拉嗪可以显著提高患者临床疗效, 改善患者炎症状态, 且不良反应较轻, 值得临床推广.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 柳氮磺吡啶; 美沙拉嗪; 溃疡性结肠炎; 不良反应

核心提示: 本研究在总给药量不变的情况下, 联合口服和灌肠给药, 结果显示观察2组总有效显著高于观察1组, 且不良反应未见增加. 为了更好的评价给药剂量, 我们进一步对患者细胞因子水平进行检测分析, 结果发现观察2组各指标改善情况显著优于观察1组及对照组, 说明口服联合灌肠给予美沙拉嗪可以改善患者血液的高凝状态, 减轻炎症反应, 降低肠黏膜的损伤.

韩柯, 王永生, 向前. 美沙拉嗪对溃疡性结肠炎主要不良反应及最佳给药方式. 世界华人消化杂志 2014; 22(16): 2361-2364
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2361.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i16.2361

■相关报道
伍运生对柳氮磺吡啶的不良反应进行分析后发现, 该药磺胺吡啶会引起过敏反应, 包括发热、皮疹、慢性肾炎、肝炎等.

0 引言

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是以非特异性结肠炎为临床表现的慢性炎性疾病, 其发病机制尚不清楚. 目前研究证实[1,2], 该病是多种因素共同作用所致, 如自身免疫低下、肠道菌群失调、遗传因素以及环境因素等. 柳氮磺吡啶是临床上常用的UC治疗药物, 对中轻度UC有显效果. 但是仍有15%-45%的患者服用柳氮磺吡啶会出现明显的不良反应[3], 甚至因不能耐受而中断治疗, 因此不宜长期使用. 近年来大量报道对UC采用美沙拉嗪治疗, 取得了满意的效果. 本研究进一步对美沙拉嗪的治疗剂量及不良反应进行分析, 以期为临床治疗提供理论依据, 现将研究成果总结如下.

1 材料和方法

1.1 材料 选择2010-04/2013-04来我院门诊和住院UC患者99例作为研究对象, 其中男54例, 女45例, 年龄19-63岁, 平均年龄41.3岁±11.8岁. 将99例患者按照随机数表法分为观察1组、观察2组、对照组各33例, 其中观察组和对照组患者在年龄、性别构成、病情等一般资料差异无统计学意义(P>0.05), 具有可比性, 如表1. 纳入标准[4,5]: (1)伴有腹泻、腹痛及血便等症状, 或经病理、肠镜检查确诊为UC; (2)常规粪便及霉菌培养无致病菌; (3)所有患者均为轻、中型急性期溃疡性结肠炎; (4)取得患者或家属同意, 并签署知情同意书; (5)经医院伦理委员会同意. 排除标准: (1)对柳氮磺吡啶或5-氨基水杨酸无效或过敏者; (2)暴发型溃疡性胃肠炎患者; (3)单纯性直肠炎、缺血性直肠炎或细菌学腹泻者; (4)有严重出血性倾向的患者.

1.2 方法

1.2.1 治疗: 对照组餐后口服柳氮磺吡啶1.0 g, 每日4次; 服用4 wk为一个疗程. 观察1组给予美沙拉嗪缓释片2 g, 4次/d, 0.5 g/次; 观察2组口服美沙拉嗪1 g, 2次/d, 0.5 g/次; 同时将美沙拉嗪1.0 g研成粉末并加入温开水保留灌肠, 1次/日. 持续治疗8 wk为一个疗程, 一个疗程后进行疗效评价.

1.2.2 观察指标[6]: (1)记录和分析治疗后两组不良反应发生情况; (2)对患者治疗前后血清干扰素-γ(interferon-γ, IFN-γ)、白介素-1(interleukin-1, IL-1)、IL-6、IL-8、纤维蛋白原(fibrillation, Fib)、血小板容积(mean platelet volume, MPV)水平进行检测; 其中细胞因子采用酶联免疫吸附法

表 1 两组患者一般资料对比

分组	n	性别(n)		平均年龄(岁)	病情(n)		
		男	女		轻	中	重
观察组	66	35	31	43.7 ± 10.8	39	21	6
对照组	33	19	14	42.4 ± 13.1	18	13	2
t(或χ^2)值		0.973		0.533	1.074		
P值		0.324		0.298	0.300		

表 2 治疗后3组临床疗效对比 [n = 33, mean ± SD, n(%)]

分组	痊愈	好转	无效	总有效率
观察1组	13(39.39)	15(45.45)	5(15.15)	84.85
观察2组	17(51.52)	14(42.42)	2(6.06)	93.94[ac]
对照组	11(33.33)	15(45.45)	7(21.22)	78.79

[a]P<0.05 *vs* 对照组; [c]P<0.05 *vs* 观察1组.

表 3 3组间细胞因子、凝血指标变化对比 (n = 33, mean ± SD)

分组	时段	IFN-γ(ng/mL)	IL-1(ng/mL)	IL-6(ng/mL)	IL-8(ng/mL)	Fib(g/L)	MPV(fl)
观察1组	治疗前	284.8 ± 38.1	1.40 ± 0.33	181.4 ± 17.2	0.98 ± 0.29	3.69 ± 0.18	7.78 ± 0.40
	治疗后	187.9 ± 27.6[a]	0.84 ± 0.19[a]	119.5 ± 10.7[a]	0.68 ± 0.17[a]	3.01 ± 0.31[a]	8.75 ± 0.38[a]
观察2组	治疗前	287.6 ± 36.2	1.39 ± 0.41	183.4 ± 10.4	1.01 ± 0.41	3.78 ± 0.21	7.75 ± 0.34
	治疗后	131.7 ± 21.5[ac]	0.57 ± 0.21[ac]	75.4 ± 7.8[ac]	0.45 ± 0.08[ac]	2.59 ± 0.15[ac]	9.85 ± 0.53[ac]
对照组	治疗前	285.4 ± 34.7	1.41 ± 0.43	184.2 ± 11.1	0.97 ± 0.31	3.81 ± 0.18	7.69 ± 0.41
	治疗后	190.3 ± 23.7[ac]	0.83 ± 0.28[ac]	117.4 ± 8.4[ac]	0.70 ± 0.14[ac]	2.98 ± 0.28[ac]	8.84 ± 0.38[ac]

[a]P<0.05 *vs* 治疗前; [c]P<0.05 *vs* 观察1组. IFN-γ: 干扰素-γ; IL: 白介素; Fib: 纤维蛋白原; MPV: 血小板容积.

(ELISA)检测; 相关试剂盒购自上海酶联生物耗材有限公司; Fib、MPV采用全自动生化仪和血凝分析仪进行检测.

1.2.3 *疗效评价*[7]: 痊愈: 临床症状完全消失, 结肠镜检测黏膜基本恢复正常; 好转: 临床症状明显好转, 结肠镜检查黏膜有轻度炎症; 无效: 临床症状及结肠镜检查无明显变化; 其中总有效率 = 痊愈率+好转率.

统计学处理 采用SPSS19.0统计学软件进行检验, 患者资料均用mean±SD表示, 采用组间资料采用方差分析, 两两组内比较采用LSD-t, 率的比较采用χ^2检验, α = 0.05, P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 *各组不良反应发生情况对比* 观察1组1例(3.03%)用药后出现恶心、胃肠道不适等不良反应, 继续服药后上述反应消失; 观察2组2例(6.06%)出现恶心, 但均为一过性, 继续治疗3 d后反应消失. 对照组3例(9.09%)出现过敏, 2例(6.06%)白细胞明显减少, 给予对症治疗后缓解; 3例(9.09%)出现水肿, 给予强的松后消失. 观察1组、观察2组不良反应发生率显著低于对照组(χ^2 = 19.101, 12.856, P<0.05), 而观察1组和观察2组不良反应发生率相比差异无统计学意义(χ^2 = 4.358, P = 0.303).

2.2 *治疗后三组临床疗效对比* 治疗8 wk后, 观察2组总有效率显著高于观察1组和对照组(χ^2 = 4.358, 9.746, P<0.05), 观察1组与对照组相比差异无统计学意义(χ^2 = 1.234, P = 0.267)(表2).

2.3 *三组间细胞因子、凝血指标变化对比* 三组患者治疗后IFN-γ、IL-1、IL-6、IL-8、Fib均显著降低, MPV明显升高(t = 10.099, 19.158, 11.818, P<0.05); 其中观察2组显著优于观察1组及对照组(t = 9.689, 8.896, P<0.05), 而观察2组与对照组之间无统计学意义(t = 0.962, P>0.05)(表3).

3 讨论

柳氮磺吡啶是临床上治疗UC的常用药物, 通过抑制各种炎症物质如白三烯、前列腺素等释放而起到抗炎作用, 但不良反应较多[8], 常见有恶心、呕吐等胃肠道反应, 有些患者会出现头痛、食欲减退等; 伍运生[9]对柳氮磺吡啶的不良反应进行分析后发现, 该药磺胺吡啶会引起过敏反应, 包括发热、皮疹、慢性肾炎、肝炎等. 美沙拉嗪主要成分为5-氨基水杨酸(5-amino-2-hydroxybenzoic acid, 5-ASA)该药物不含磺胺吡啶; 当药物进入结肠部时会裂解成2分子5-ASA, 从而避免了柳氮磺吡啶的不良反应[10,11]. 在本研究中, 观察组主要不良反应有恶心、呕吐、食欲不振等胃肠道不良反应, 且症状轻微, 简单处理后自行消失. 而对照组不良反应有过

■应用要点
小剂量多次并联合灌肠给予美沙拉嗪可显著提高患者临床疗效, 改善患者炎症状态, 且不良反应较轻, 值得临床推广.

■同行评价
本研究选题尚可, 设计合理, 结果可靠, 反映了胃肠病学临床和基础研究的一部分水平.

敏、水肿、白细胞计数降低等, 经过对症治疗也可消失, 但是症状较重, 持续时间也较长. 因此我们认为相比较于柳氮磺吡啶, 美沙拉嗪不良反应少且轻微; 但美沙拉嗪的价格较高, 应该根据患者病情并结合经济情况选择更合适的药物.

美沙拉嗪治疗UC的剂量目前临床争议较大, 由于本品为缓释剂型, 可以有效避免消化系对药物的吸收, 是药物能够达到结成部位发挥治疗作用. 但是王小琴[12]研究显示单纯口服给药溃疡周围的药物浓度仍难以达到治疗效果. 越来越多的研究显示[13,14]口服联合直肠给药可以显著提高治疗效果. 本研究在总给药量不变的情况下, 联合口服和灌肠给药, 结果显示观察2组总有效显著高于观察1组, 且不良反应未见增加. 为了更好的评价给药剂量, 我们进一步对患者细胞因子水平进行检测分析, 结果发现观察2组各指标改善情况显著优于观察1组及对照组, 说明口服联合灌肠给予美沙拉嗪可以改善患者血液的高凝状态, 减轻炎症反应, 降低肠黏膜的损伤. 我们推测其原因可能是[15]: (1)总剂量不变的情况下多次给药可以有效维持病变部位的药物浓度, 有效促进溃疡黏膜的愈合; (2)灌肠给药虽然只能到达脾曲, 但是药物被稀释后可以作用于整个结肠.

总之, 小剂量多次并联合灌肠给予美沙拉嗪可以显著提高患者临床疗效, 改善患者炎症状态, 且不良反应较轻, 值得临床推广.

4 参考文献

1 刘维新, 张绅, 任益, 桑立轩, 顾寿智. 溃疡性结肠炎及溃疡性结肠炎相关性结直肠癌小鼠模型中血管生成因子的表达及其与血管新生的关系. 中国医科大学学报 2013; 42: 231-234, 266

2 Ramadass SK, Perumal S, Jabaris SL, Madhan B. Preparation and evaluation of mesalamine collagen in situ rectal gel: a novel therapeutic approach for treating ulcerative colitis. *Eur J Pharm Sci* 2013; 48: 104-110 [PMID: 23137838 DOI: 10.1016/j.ejps.2012.10.015]

3 柳汝明, 吴斌, 赵雨晋, 唐尧. 美沙拉嗪与柳氮磺吡啶比较治疗溃疡性结肠炎疗效与安全性的系统评价. 中国循证医学杂志 2011; 11: 181-186

4 Turner D, Levine A, Escher JC, Griffiths AM, Russell RK, Dignass A, Dias JA, Bronsky J, Braegger CP, Cucchiara S, de Ridder L, Fagerberg UL, Hussey S, Hugot JP, Kolacek S, Kolho KL, Lionetti P, Paerregaard A, Potapov A, Rintala R, Serban DE, Staiano A, Sweeny B, Veerman G, Veres G, Wilson DC, Ruemmele FM. Management of pediatric ulcerative colitis: joint ECCO and ESPGHAN evidence-based consensus guidelines. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2012; 55: 340-361 [PMID: 22773060]

5 刘元艳, 刘学文, 谭勇, 赵思宇, 郭洪涛, 郑光, 姜淼, 吕爱平. 基于文本挖掘探索溃疡性结肠炎药物的治疗规律. 中国实验方剂学杂志 2013; 19: 329-332

6 江学良, 崔慧斐, 任晶. 思密达治疗溃疡性结肠炎腹泻的机制和疗效. 中国全科医学 2011; 14: 2031-2033

7 Kleiveland CR, Hult LT, Spetalen S, Kaldhusdal M, Christofferesen TE, Bengtsson O, Romarheim OH, Jacobsen M, Lea T. The noncommensal bacterium Methylococcus capsulatus (Bath) ameliorates dextran sulfate (Sodium Salt)-Induced Ulcerative Colitis by influencing mechanisms essential for maintenance of the colonic barrier function. *Appl Environ Microbiol* 2013; 79: 48-56 [PMID: 23064342 DOI: 10.1128/AEM.02464-12]

8 刘沐苍, 王长淼. 5-氨基水杨酸锌胶囊治疗溃疡性结肠炎的疗效和安全性. 中国医院药学杂志 2013; 33: 719-722

9 伍运生, 熊国强, 陈出新. 柳氮磺吡啶联合中药保留灌肠治疗溃疡性结肠炎的疗效观察. 新医学 2010; 41: 538-540

10 耿焱, 王伟, 马强, 彭莉琼, 梁仲惠. 三氧疗法配合柳氮磺吡啶经结肠途径治疗溃疡性结肠炎. 南方医科大学学报 2010; 30: 2683-2685

11 Meucci G, Fasoli R, Saibeni S, Valpiani D, Gullotta R, Colombo E, D'Incà R, Terpin M, Lombardi G. Prognostic significance of endoscopic remission in patients with active ulcerative colitis treated with oral and topical mesalazine: a prospective, multicenter study. *Inflamm Bowel Dis* 2012; 18: 1006-1010 [PMID: 21830282 DOI: 10.1002/ibd.21838]

12 王小琴, 孔超美, 张予蜀. 美沙拉嗪缓释颗粒(艾迪莎)对溃疡性结肠炎患者肠黏膜组织病理学改变及血清ICAM-1水平的影响. 实用临床医药杂志 2010; 14: 66-67, 70

13 王宇, 许贤姬, 王福成. 美沙拉嗪灌肠剂治疗溃疡性结肠炎疗效观察. 临床消化病杂志 2011; 23: 183-184

14 谭悦, 杨俊, 郑长青. 美沙拉嗪口服联合灌肠治疗溃疡性结肠炎的疗效评价. 实用药物与临床 2012; 15: 344-346

15 Hanai H, Iida T, Ikeya K, Abe J, Maruyama Y, Shimura T, Sugimoto K, Watanabe F. A new paradigm in ulcerative colitis: regulatory T cells are key factor which induces/exacerbates UC through an immune imbalance. *Mol Immunol* 2013; 54: 173-180 [PMID: 23280396 DOI: 10.1016/j.molimm.2012.11.015]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年6月8日; 22(16): 2365-2369
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

补充营养并预防院内感染对新生儿窒息后血糖异常的改善作用

郑燕珠, 彭雪东

郑燕珠, 浙江省衢州市衢江区计划生育宣传技术指导站 浙江省衢州市 324000
彭雪东, 浙江省衢州市衢江区人民医院消化内科 浙江省衢州市 324000
郑燕珠, 主管护师, 主要从事新生儿的护理.
作者贡献分布: 此课题由郑燕珠设计; 研究过程由彭雪东与郑燕珠完成; 数据分析由郑燕珠完成; 写作由郑燕珠与彭雪东完成.
通讯作者: 郑燕珠, 主管护师, 324000, 浙江省衢州市柯城区浮石路106号, 衢州市衢江区计划生育宣传技术指导站.
864428276@qq.com
电话: 0570-8016961
收稿日期: 2014-05-05 修回日期: 2014-05-14
接受日期: 2014-05-20 在线出版日期: 2014-06-08

Nutritional supplement and nosocomial infection prevention for improvement of abnormal blood glucose after neonatal asphyxia

Yan-Zhu Zheng, Xue-Dong Peng

Yan-Zhu Zheng, Department of Obstetrics and Gynecology, Family Planning Publicity Technical Guidance Station, Quzhou City, Quzhou 324000, Zhejiang Province, China
Xue-Dong Peng, Department of Gastroenterology, Qujiang People's Hospital, Quzhou City, Quzhou 324000, Zhejiang Province, China
Correspondence to: Yan-Zhu Zheng, Charge Nurse, Department of Obstetrics and Gynecology, Family Planning Publicity Technical Guidance Station, Quzhou City, 106 Fushi Road, Kecheng District, Quzhou 324000, Zhejiang Province, China. 864428276@qq.com
Received: 2014-05-05 Revised: 2014-05-14
Accepted: 2014-05-20 Published online: 2014-06-08

Abstract

AIM: To investigate the clinical manifestations of neonatal asphyxia, the characteristics of abnormal blood sugar, as well as the clinical effect of high quality nursing on abnormal blood sugar after neonatal asphyxia.

METHODS: Fifty neonates who were born at our hospital with neonatal asphyxia from March 2011 to October 2013 were randomly divided into either an observation group or a control group, with 25 children in each group. The observation group was given high quality nursing, including fully considering the characteristics of children, keeping the respiratory tract unobstructed, oxygen supply, nutritional supplement, close monitoring of the illness and preventing nosocomial infection. The control group was given routine care. The clinical effects were compared between the two groups.

RESULTS: The majority of children (64.0%) had mild asphyxia. Average blood glucose value was 3.64 mmol/L ± 1.01 mmol/L in the mild asphyxia group, significantly lower than that in the severe asphyxia group (7.31 mmol/L ± 2.15 mmol/L, t = 8.22, P < 0.01). The percentage of children with abnormal blood sugar in the mild asphyxia group was 43.8% (14/32), significantly lower than that in the severe asphyxia group [77.8% (14/18), χ^2 = 5.41, P < 0.05). The severe asphyxia group mainly had high blood sugar, and high blood glucose accounted for 72.2% of all cases of abnormal blood sugar. Twenty-four hours after treatment, the incidence of hypoglycemia in the observation group significantly dropped from 32.0% to 4.0%, and the incidence of high blood sugar dropped from 24.0% to 0.0% (χ^2 = 4.88, 4.73, P < 0.05 for both). There was a significant reduction only in the incidence of high blood sugar in the control group (χ^2 = 3.95, P < 0.05), and there was no statistical difference in the changes of the incidence of hypoglycemia. There was no blood sampling site infection in the observation group after 72 h, and the infection rate in the control group was 24.0%, significantly higher than that in the observation group (χ^2 = 4.73, P < 0.05).

CONCLUSION: Neonatal asphyxia requires careful identification according to the degree of asphyxia, preterm birth or not, low weight or not, and other characteristics to make active treatment, high quality nursing and health education.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Neonatal asphyxia; Abnormal blood glucose; Nursing

■背景资料
新生儿窒息是可由多种因素造成, 其中出生后新生儿自身的原因, 如低体质量早产、呼吸道阻塞, 心肺发育不全等是造成窒息的重要原因之一. 新生儿发生窒息后, 血糖值变化较为明显. 某些研究为了保障血糖值的准确性, 采用的是全血检测方式. 而本研究为了快速检测血糖, 及时调整吸氧、营养补给等护理措施, 采用的是试纸条法, 这种方法简单易行.

■同行评议者
徐健, 副主任医师, 深圳市慢性病防治中心

■研发前沿
无论是轻度还是重度窒息，均会对患儿的各系统、器官造成不同程度的损伤，尤其是神经系统的损伤更为显著，因此，务必要引起足够重视.

Zheng YZ, Peng XD. Nutritional supplement and nosocomial infection prevention for improvement of abnormal blood glucose after neonatal asphyxia. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(16): 2365-2369 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2365.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i16.2365

摘要

目的: 了解新生儿窒息后的临床表现、血糖异常的特征, 在给予优质护理(保持呼吸道通畅、吸氧、补充营养、密切监测病情并预防院内感染)后观察临床效果, 从而指导今后临床实践.

方法: 选择2011-03/2013-10我院出生的新生儿窒息患儿50例, 按照随机数字表以及知情同意的原则, 将患儿随机分为观察组和对照组, 每组25例. 观察组给予优质护理, 包括充分考虑患儿特点, 及时通畅呼吸道、吸氧、补充营养、密切监测病情并预防院内感染, 对照组给予常规护理. 治疗后比较临床效果.

结果: 患儿以轻度窒息为主, 占64.0%. 轻度窒息组平均血糖值显著低于重度窒息组的血糖值(3.64 mmol/L±1.01 mmol/L *vs* 7.31 mmol/L±2.15mmol/L, t = 8.22, P<0.01). 轻度窒息组的血糖异常主要为低血糖, 显著低于重度窒息组血糖异常率[43.8%(14/32) *vs* 77.8%(14/18), χ^2 = 5.41, P<0.05]. 而重度窒息组的血糖异常主要为高血糖, 占72.2%. 治疗24 h后, 观察组患儿的低血糖发生率由32.0%下降至4.0%, 高血糖发生率由24.0%下降至0.0%, 比入院时有显著下降(χ^2 = 4.88, 4.73, P<0.05), 差异有显著性. 对照组患儿仅是高血糖发生率比入院时有显著下降(χ^2 = 3.95, P<0.05). 低血糖发生率的变化无统计差异. 观察组患儿治疗72 h未发生足跟采血部位感染, 对照组感染率为24.0%, 显著高于观察组(χ^2 = 4.73, P<0.05), 差异均有统计学意义.

结论: 新生儿窒息需要仔细识别, 根据窒息程度、是否早产、是否低体质量等特点作出积极的治疗、优质护理和健康教育, 可以收到较为理想的临床效果, 具有临床推广价值.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 新生儿窒息; 血糖异常; 护理

核心提示: 本研究的观察组在此基础上充分考虑了患儿的窒息特点、血糖水平、病情, 并比较治疗6 h后观察组的临床效果. 研究发现观察组患儿血糖异常现象得到了有效纠正, 明显好于对照组.

郑燕珠, 彭雪东. 补充营养并预防院内感染对新生儿窒息后血糖异常的改善作用. 世界华人消化杂志 2014; 22(16): 2365-2369 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2365.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i16.2365

0 引言

新生儿窒息是指由于产前, 产时或产后的各种病因, 使胎儿缺氧而发生宫内窘迫或娩出过程中引起的呼吸、循环障碍, 导致生后1 min内无自主呼吸或未能建立规律呼吸, 以低氧血症、高碳酸血症和酸中毒为主要病理生理改变的疾病[1]. 新生儿窒息是新生儿的常见疾病. 轻度窒息的患儿临床症状并不明显, 多不易分辨. 重症窒息的患儿呼吸、吸允能力下降, 皮肤颜色改变, 临床上较易识别. 无论是轻度还是重度窒息, 均会对患儿的各系统、器官造成不同程度的损伤, 尤其是神经系统的损伤更为显著[2,3]. 因此, 务必要引起足够重视. 为了解新生儿窒息后血糖值水平, 血糖异常发生情况, 特收集我院两年余出生的50例新生儿窒息病例, 并开展针对性的优质护理措施, 现将结果报道如下.

1 材料和方法

1.1 材料 选择2011-03/2013-10我院出生的新生儿窒息患儿50例, 其中男婴29例, 女婴21例. 日龄0-2 d, 窒息时间 50-119 min, 平均95.3 min±10.9 min. 早产儿15例, 足月儿35例. 顺产26例, 剖宫产18例, 阴道助产6例. 低体质量(低于2500 g)16例, 正常体质量儿34例. 轻度窒息32例, 重度窒息18例. 临床表现为: 轻度窒息患儿表现不明显, 可表现出哭声轻微、皮肤青紫, 刺激反应差. 重度窒息患儿皮肤灰白, 呼吸和刺激反应均较弱, 肌肉松弛, 心率下降等. 按照随机数字表以及知情同意的原则, 将患儿随机分为观察组和对照组, 每组25例. 观察组给予优质护理, 对照组给予常规护理. 两组患儿的性别、出生方式、窒息程度、出生体质量上均无差异, 具有可比性(P>0.05). 诊断标准参考儿科学第七版教材[4]. 美国强生稳豪倍易型血糖仪和配套试纸用于测定血糖.

1.2 方法

1.2.1 血糖检测: 采用试纸条法测量新生儿血糖值. 入院后0.5 h内对患儿足跟部进行消毒, 取1滴血液进行血糖测量. 血糖如果正常, 间隔6 h再测. 如果异常, 间隔30 min再次测量, 对症治疗后若血糖值恢复正常, 调整为6 h测量1次. 24 h内均血糖正常, 调整为8 h测量1次. 依次推算, 调整到每

天测量1次, 连续3 d血糖均正常停止测量. 出生后24 h以内血糖值<2.2 mmol/L或者出生后超过24 h为2.2-2.8 mmol/L低血糖; 若任何时点测量血糖值>7.0 mmol/L为高血糖.

1.2.2 护理: 对照组: 给予常规临床护理措施, 如吸氧、保温、开奶、补充营养等. 观察组: 根据患儿的窒息程度、是否早产、是否为低体质量儿等临床特征从以下几个方面给予优质护理: (1)呼吸道保持通畅: 患儿取侧卧位, 用吸管快速将患儿口腔、咽喉、鼻腔等部位的粘液吸干净, 必要时用喉镜进行检查, 防治发生吸入性的肺炎. 对于轻度窒息的患儿, 可以通过按压胸廓等方式刺激婴儿的自主呼吸, 建立静脉通道, 尽量留置针, 便于后期临床药物的应用; (2)吸氧: 低流量(轻度窒息1.5 L/min, 重度窒息3 L/min)吸氧, 氧浓度控制在40%左右. 根据患儿病情变化, 更换导管. 待患儿能够自主正常呼吸, 面部青紫现象消退, 氧分压在78 mmHg以上时考虑停止吸氧; (3)根据情况及时营养补充: 发生低血糖但是症状不明显时, 采用10%葡萄糖水静滴, 速度控制在6-8 mg/(kg·min), 如果症状明显, 采用25%葡萄糖水静滴, 速度控制在1 mL/min. 不能采用25%葡萄糖水静推的方式, 防止出现反应性的高血糖. 对于重度窒息患儿且出现高血糖现象时, 可以遵照医嘱停止静滴葡糖糖或应用胰岛素, 对于低血糖患儿也要补充营养, 也要注意静滴速度. 无论是轻度还是重度窒息的患儿, 静滴葡萄糖水时务必注意防止发生注射部位的渗漏, 有效预防皮下组织的损伤. 为了减少医源性的高血糖发生, 葡萄糖水中可增加氨基酸, 并且尽早用喂养的方式. 对于轻度窒息患儿, 先用5%的葡萄糖水试喂1-2 h, 无呕吐现象时即可用母乳开奶. 不能经口喂养时改用鼻饲法. 新生儿的消化吸收能力较弱, 加之窒息下吸允能力下降, 要根据患儿的病情调整喂奶量, 奶从稀到浓, 从小到多的方式进行. 密切观察患儿是否有溢奶、胃内存奶、腹胀等现象. 若患儿入院时属于早产儿, 尽量在24 h内就要开奶; (4)保暖: 根据患儿日龄、体质量等及时调整暖箱温度, 保证患儿肛温度维持在36.5 ℃-37.0 ℃之间. 患儿采用“鸟巢式”的体位以减少患儿的能量消耗; (5)密切观察病情: 密切观察患儿各项血气指标、呼吸、呕吐、哭啼、肌张力、神志、抽搐、发绀、惊厥等表现, 发现异常及时通知值班医生进行处理. 对于症状较轻的患儿, 密切观察眨眼及呼吸动作, 有异常打开襁褓仔细观察; (6)采血部位的护理以及感染的预防: 由于需要经常足跟采血, 每次采血时都要严格无菌操作, 采血后进行无菌包扎. 另外加强病房探视管理, 保持安静, 较少噪音. 接触患儿前后洗手, 特别注意对眼睛、外阴部、脐部的护理, 务必无菌操作, 足部采血是做好消毒处理. 各种护理动作轻柔, 减少患儿皮肤的破损.

统计学处理 采用SPSS17.0软件进行数据的描述、统计和分析. 对于正态计量资料用mean±SD描述, 两组比较用t检验. 对于计数资料采用频数和发生率描述, 两组比较用χ^2检验. P<0.05为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 不同窒息程度时血糖异常的临床特征 入院时, 患儿的窒息以轻度窒息为主, 占64.0%. 轻度窒息组平均血糖值偏低, 为3.64 mmol/L±1.01 mmol/L, 显著低于重度窒息组的血糖值(7.31 mmol/L±2.15 mmol/L, t = 8.22, P<0.01). 两组患儿均有14例发生血糖异常, 其中轻度窒息组的血糖异常率显著低于重度窒息组[43.8%(14/32) *vs* 77.8%(14/18), χ^2 = 5.41, P<0.05]. 可见重度窒息的新生儿更容易发生血糖异常. 不同窒息程度血糖变化有所差别, 轻度窒息组的血糖异常主要为低血糖, 占37.5%; 重度窒息组的血糖异常主要为高血糖, 占72.2%, 且差异有统计学意义(P<0.01)(表1).

2.2 治疗护理72 h后情况 经过不同护理方式后, 观察两组患儿72 h的血糖变化发现, 观察组患儿的低血糖发生率由32.0%下降至4.0%, 高血糖发生率由24.0%下降至0.0%, 比入院时有显著下降(χ^2 = 4.88, 4.73, P<0.05), 差异有显著性. 对照组患儿的血糖异常情况也所改善, 但仅是高血糖发生率比入院时有显著下降(χ^2 = 3.95, P<0.05). 低血糖发生率的变化无统计差异(表2).

2.3 采血部位感染情况 治疗72 h后, 观察组未发生足跟采血部位感染, 对照组有6例发生感染, 感染率为24.0%, 显著高于观察组(χ^2 = 4.73, P<0.05), 差异均有统计学意义.

3 讨论

3.1 新生儿窒息后血糖异常临床特征 新生儿窒息是可由多种因素造成[5-7], 其中出生后新生儿自身的原因, 如低体质量早产、呼吸道阻塞, 心肺发育不全等是造成窒息的重要原因之一. 新生儿发生窒息后, 血糖值变化较为明显. 某些研

■相关报道
以往的研究更关注低血糖的危害, 护理措施上也没有区分轻重度窒息以及早产儿的特点.

■同行评价
本研究方法简单易行, 虽然创新性一般, 但是值得医务工作者参考.

表 1 轻度、重度窒息组血糖异常情况

分组	*n*	血糖值(mmol/L)	低血糖*n*(%)	高血糖*n*(%)	血糖异常率*n*(%)
轻度窒息组	32	3.64 ± 1.01	12(37.5)	2(6.3)	14(43.8)
重度窒息组	18	7.31 ± 2.15	1(5.6)	13(72.2)	14(77.8)
χ^2/*t*值		8.22	4.56	20.86	5.41
*P*值		<0.01	<0.05	<0.01	<0.05

表 2 两组患儿经治疗后72 h的血糖变化情况 *n*(%)

项目	观察组				对照组			
	入院	治疗后	χ^2	*P*值	入院	治疗后	χ^2	*P*值
低血糖	8(32.0)	1(4.0)	4.88	<0.05	5(20.0)	4(16.0)	0.00	>0.05
高血糖	6(24.0)	0(0.0)	4.73	<0.05	9(36.0)	3(12.0)	3.95	<0.05

究[8,9]为了保障血糖值的准确性, 采用的是全血检测方式. 而本研究为了快速检测血糖, 及时调整吸氧、营养补给等护理措施, 采用的是试纸条法, 这种方法简单易行, 结果可信. 经研究发现新生儿窒息后血糖异常有如下特征: (1)无论何种程度的窒息, 均可发生低血糖或者高血糖; (2)轻度窒息时以发生低血糖为主, 占37.5%, 高血糖仅占6.3%. 这与姚秋漩等[10]的研究结果相近. 这是因为轻度窒息时, 在无氧酵解的作用下, 葡萄糖的消耗显著增加, 从而导致血糖水平的下降. 加上窒息下新生儿的进食偏少, 进一步导致血糖下降; (3)重度窒息组血糖异常率77.8%高于轻度窒息组. 其中以高血糖为主, 占72.2%. 通过测量两组患儿血糖平均值也发现, 重度窒息组患儿的平均血糖值7.31 mmol/L±2.15 mmol/L明显高于轻度窒息组, 这也是新生儿窒息血糖异常的主要特征.

3.2 新生儿窒息后的临床护理要点 以往的研究[11-13]更加关注低血糖的危害, 护理措施上也没有区分轻重度窒息以及早产儿的特点, 本研究的观察组在此基础上充分考虑了患儿的窒息特点、血糖水平、病情, 并比较治疗6 h后观察组的临床效果. 研究发现观察组患儿血糖异常现象得到了有效纠正, 明显好于对照组(*P*<0.05). 以下几个方面是临床护理的重点: (1)对于足月轻度窒息患儿, 呼吸道的管理很关键. 某些患儿就是由于呼吸道不畅造成的窒息. 用吸管快速将患儿口腔、咽喉、鼻腔等部位的粘液吸干净, 通过按压胸廓等方式刺激婴儿尽早自主呼吸, 这个过程要注意防止发生吸入性肺炎. 呼吸道通畅后, 可以考虑吸氧. 但是吸氧的时间、浓度和流量也要根据患儿体征的变化及时调整, 及时暂停, 防止肺损伤. 及时补充营养是另一关键点. 开始采用葡萄糖水静滴, 但要严格控制静滴速度, 切忌一步到位的静推方式, 否则会出现反应性的高血糖, 造成颅脑损伤. 另外需要尽早开奶, 及时调整奶量; (2)对于足月重度窒息患儿, 吸氧的流量可以适当增加, 甚至辅助使用呼吸机. 除去上述护理要点外, 要特别注意葡糖糖水的静滴速度和浓度[14,15], 密切监测血糖值. 如果血糖依然较高, 可以考虑应用胰岛素或者停止静滴. 在葡萄糖水中添加氨基酸等也是有效补充营养, 防止高血糖发生的有效措施; (3)对于早产、低体质量儿窒息后, 营养的补充以及开奶时间更要尽早, 最好在24 h内完成; (4)新生儿的皮肤薄、嫩, 在各种护理中动作轻柔, 防止破损皮肤. 特别是要加强足跟采血部位的护理与观察, 防治感染. 同时加强病房管理, 营造良好、安静的环境, 较少院内感染的发生.

总之, 新生儿窒息需要仔细识别, 根据窒息程度、是否早产、是否低体质量等特点作出积极的治疗、优质护理和健康教育, 可以收到较为理想的临床效果, 具有临床推广价值.

4 参考文献

1 刘志伟, 陈惠金. 新生儿低血糖的诊断与治疗. 临床儿科杂志 2010; 28: 212-214
2 刘惠珠, 林青. 新生儿窒息糖代谢紊乱的观察. 中国当代医药 2010; 17: 114-117
3 Alkalay AL, Flores-Sarnat L, Sarnat HB, Farber SJ, Simmons CF. Plasma glucose concentrations in profound neonatal hypoglycemia. *Clin Pediatr* (Phila) 2006; 45: 550-558 [PMID: 16893861 DOI: 10.1177/00099922806290610]
4 沈晓明, 王卫平, 常立文, 李廷玉, 申昆玲. 儿科学. 第7版. 北京: 人民卫生出版社, 2010: 78

5 洪虹, 李立新. 新生儿糖代谢紊乱的相关因素分析. 中国妇幼保健 2008; 23: 2695-2696
6 王菊萍. 窒息新生儿血糖异常的原因分析及护理对策. 护理与康复 2011: 10: 403-404
7 余瑞生, 刘志清, 刘钦福, 邓丽堂. 浅谈新生儿窒息血糖监测的临床意义. 吉林医学 2010; 31: 6700
8 裘银妙. 新生儿窒息后低血糖症的临床分析及护理对策. 实用医学杂志 2008; 24: 2715-2716
9 余湛然, 林玉环. 窒息新生儿的血糖监测及分析. 现代医院 2008; 8: 59-60
10 姚秋漩, 林碧芬. 新生儿窒息后血糖异常的特征分析及护理. 护理学报 2011; 18: 51-52
11 Boluyt N, van Kempen A, Offringa M. Neurodevelopment after neonatal hypoglycemia: a systematic review and design of an optimal future study. *Pediatrics* 2006; 117: 2231-2243 [PMID: 16740869 DOI: 10.1542/peds.2005-1919]
12 Jain A, Aggarwal R, Jeeva Sankar M, Agarwal R, Deorari AK, Paul VK. Hypoglycemia in the newborn. *Indian J Pediatr* 2010; 77: 1137-1142 [PMID: 20821280 DOI: 10.1007/s12098-010-0175-1]
13 Drenckpohl D, McConnell C, Gaffney S, Niehaus M, Macwan KS. Randomized trial of very low birth weight infants receiving higher rates of infusion of intravenous fat emulsions during the first week of life. *Pediatrics* 2008; 122: 743-751 [PMID: 18829797 DOI: 10.1542/peds.2007-2282]
14 孙丽娟, 张立军, 高汝梅, 金仲品. 窒息新生儿血糖异常分析及其护理干预. 中国医疗前沿 2010; 5: 78-79
15 Burns CM, Rutherford MA, Boardman JP, Cowan FM. Patterns of cerebral injury and neurodevelopmental outcomes after symptomatic neonatal hypoglycemia. *Pediatrics* 2008; 122: 65-74 [PMID: 18595988 DOI: 10.1542/peds.2007-2822]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

• 消息 •

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

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

世界华人消化杂志 2014年6月8日; 22(16): 2370-2374
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

Wnt-1与Snail在结肠癌组织中的表达及其临床意义

郭云霞, 王郁杰, 王瑞勤, 郭 娜

■背景资料
结肠癌发病率和死亡率较高. Wnt-1、Snail是调控干细胞增殖、分化的重要分子, 其不恰当激活对肿瘤的发生发展起着重要作用, 并在多种肿瘤细胞中异常表达.

郭云霞, 王郁杰, 王瑞勤, 郭娜, 郑州人民医院颐和医院消化内科 河南省郑州市 450003
郭云霞, 主治医师, 主要从事消化系统疾病的研究.
河南省卫生厅基金资助项目, No. 2010004023
作者贡献分布: 此课题由郭云霞设计; 研究过程由郭云霞、王郁杰及王瑞勤操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由王瑞勤提供; 数据分析由郭云霞与郭娜完成; 本论文写作由郭云霞与王郁杰完成.
通讯作者: 郭云霞, 主治医师, 450003, 河南省郑州市农业东路69号, 郑州人民医院颐和医院消化内科. gyxia77@163.com
电话: 0371-56570175
收稿日期: 2014-03-05 修回日期: 2014-04-17
接受日期: 2014-04-24 在线出版日期: 2014-06-08

Clinical significance of expression of Wnt-1/Snail in colon cancer

Yun-Xia Guo, Yu-Jie Wang, Rui-Qin Wang, Na Guo

Yun-Xia Guo,Yu-Jie Wang, Rui-Qin Wang, Na Guo, Department of Internal Medicine, Yihe Hospital of Zhengzhou People's Hospital, Zhengzhou 450003, He'nan Province, China
Supported by: the Foundation of Henan Provincial Department of Health, No. 2010004023
Correspondence to: Yun-Xia Guo, Attending Physician, Department of Internal Medicine, Yihe Hospital of Zhengzhou People's Hospital, 69 Nongye East Road, Zhengzhou 450003, Henan Province, China. gyxia77@163.com
Received: 2014-03-05 **Revised:** 2014-04-17
Accepted: 2014-04-24 **Published online:** 2014-06-08

Abstract

AIM: To investigate the expression of Wnt-1 and Snail in colon cancer, and to analyze their clinical significance.

METHODS: The expression of Wnt-1 and Snail in 79 colon cancer tissues was detected by immunohistochemistry. The relationships of Wnt-1 and Snail expression with clinicopathologic factors and survival were evaluated.

RESULTS: The positive rates of Wnt-1 and Snail in 79 colon cancer tissues were 46.8% and 57%, respectively. Wnt-1 and Snail expression was significantly correlated with tumor differentiation, lymph node metastasis, and TNM stage ($P < 0.05$). There was a positive correlation between Wnt-1 and Snail expression ($r = 0.418$, $P < 0.01$). Survival analysis by the Kaplan-Meier method showed that the median survival times of Wnt-1 and Snail positive patients were significantly lower than those of Wnt-1 and Snail negative patients, respectively (30.00 mo ± 1.25 mo *vs* 44.00 mo ± 4.25 mo, 30.00 mo ± 1.68 mo *vs* 57.00 mo ± 6.36 mo, $P < 0.01$). The Cox regression analysis showed that the depth of tumor invasion, clinical stage, lymph node metastasis and abnormal expression of Wnt-1 and Snail were risk factors for the prognosis of patients with colon cancer.

CONCLUSION: Patients with colon cancer may have abnormal expression of Wnt-1 and Snail, which can be used as prognostic indicators of colon cancer.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Wnt-1; Snail; Colon cancer; Prognosis

Guo YX, Wang YJ, Wang RQ, Guo N. Clinical significance of expression of Wnt-1/Snail in colon cancer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(16): 2370-2374 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2370.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i16.2370

摘要

目的: 探讨Wnt-1、Snail在结肠癌组织中的差异表达及其意义, 并探讨两者与预后的影响关系.

方法: 选取79例结肠癌组织, 应用免疫组织化学法检测Wnt-1、Snail蛋白的表达, 分析其与临床病理分期之间的关系, 并进行预后的关系分析.

结果: 79例结肠癌组织中Wnt-1与Snail的阳性率分别为46.8%、57.0%, Wnt-1、Snail的表达与结肠癌的分化程度、分期、淋巴转移有关($P<0.05$), 并呈现明显的正相关性($r = 0.418$, $P<0.01$). Kaplan-Meier法生存分析显示Wnt-1与Snail阳性组中位生存期明显低于阴性组中位生存期(30.00 mo±1.25 mo *vs* 44.00 mo±4.25 mo; 30.00 mo±1.68 mo *vs* 57.00 mo±6.36

■同行评议者
刘宝林, 教授, 中国医科大学附属盛京医院

mo, P<0.01). Cox回归表明肿瘤浸润深度、临床分期、淋巴结转移以及Wnt-1及Snail的异常表达是影响结肠癌患者预后的危险因素.

结论: 结肠癌患者可能存在Wnt-1、Snail异常表达, Wnt-1、Snail可作为结肠癌的一个预后指标.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: Wnt-1; Snail; **结肠癌; 免疫组织化学; 预后**

核心提示: 结肠癌中存在Wnt-1与Snail的异常活化, 可能存在某些交叉点, 对结肠癌的转移风险评估、药物靶点设计具有重要的指导意义.

郭云霞, 王郁杰, 王瑞勤, 郭娜. Wnt-1与Snail在结肠癌组织中的表达及其临床意义. 世界华人消化杂志 2014; 22(16): 2370-2374
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2370.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i16.2370

0 引言

结肠癌是消化系常见的恶性肿瘤之一, 并在早期即可发生淋巴道转移, 发病率和死亡率较高. 临床分期是目前判断结肠癌预后的重要指标, 但即使是同一分期的患者也可能具有不同的预后. 因此, 有效的预后分子指标有助于尽早诊治并进行个体化治疗[1]. Wnt-1、Snail是调控干细胞增殖、分化的重要分子, 其不恰当激活对肿瘤的发生发展起着重要作用, 并在多种肿瘤细胞中异常表达[2,3]. 本实验通过79例人结肠癌组织的免疫组织化学染色, 探讨Wnt-1、Snail二者在结肠癌组织中的表达情况, 分析两者与结肠癌生长、浸润和转移能力的关系, 并探讨Wnt-1与Snail两者是否存在一定的关联性.

1 材料和方法

1.1 材料 79例标本选自郑州人民医院2006-01/2011-01收治的结肠癌患者术后石蜡标本, 均经病理检查证实为结肠癌. 其中男33例, 女46例, 年龄42-79岁, 中位年龄64岁. 高分化37例, 中分化24例, 低分化18例; 淋巴结转移37例, 无淋巴结转移42例. 病例术前均未行放疗、化疗. 选择70例相应癌旁正常结肠组织作为正常对照. Wnt-1与Snail山羊抗人多克隆抗体购自美国Santa Cruz公司产品, 免疫组织化学SP试剂盒购自福州迈新生物技术公司.

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学染色: 标本均采用4%多聚甲醛固定, 常规石蜡包埋, 4 μm连续切片, 水化后免疫组织化学染色行链霉素亲和素-过氧化酶复合物法(S-P)法, 所有切片均行微波抗原修复, 试验步骤严格按照试剂盒说明进行. 对照染色采用PBS代替一抗作为阴性对照.

1.2.2 结果判定: Wnt-1阳性判断以肿瘤细胞膜、胞浆中出现棕黄色染色为阳性, Snail阳性判断以细胞核内出现黄色染色为阳性. 阳性判定标准按瘤细胞着色的深度计分, 染色强度浅黄色1分, 棕黄色2分, 棕褐色3分. 按照阳性细胞数记分, 阳性细胞数<10% 0分; 11%-25% 1分, 26%-50% 2分; 51%-75% 3分, 75%以上4分. 两个分值相乘, 0分为阴性, 记为(-); 1-4分为弱阳性, 记为(+); 5-8分为中度阳性(++), ≥8分为强阳性(+++).

1.2.3 随访: 本组删失数据共8例, 死于非结肠癌相关原因的患者排除在本研究外. 随访时间为4-100 mo, 中位随访时间35 mo.

统计学处理 用SPSS16.0软件进行统计学处理, 两样本间采用卡方检验, Wnt-1与Snail的相关性采用Spearman相关性分析. 生存分析采用Kaplan-Meier法, 并用Log-rank法进行组间比较; 以Cox回归模型进行多因素分析. P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 Wnt-1的表达 Wnt-1在正常结肠癌组织中几乎不表达, 其阳性表达定位于细胞浆, Wnt-1在结肠癌组织细胞胞浆染色为黄色到棕色, 呈散在和片状表达(图1B). Wnt-1在正常组织和结肠癌组组织中的阳性表达率8.6%和46.8%, 两组比较差异有显著差异(P<0.01). 结肠癌组高分化组、中分化组、低分化组阳性率分别为29.7%、58.3%、66.7%, 三组比较差异有显著差异(P<0.01). 肿瘤分期Ⅰ-Ⅱ期和Ⅲ-Ⅳ期阳性率分别为42.9%和69.6%, 两组比较差异有显著差异(P<0.01). 淋巴转移有和无阳性率分别为62.2%和57.1%, 两组比较差异有显著差异(P<0.01). 在年龄、性别方面差异无统计学差异(表1).

2.2 Snail的表达 Snail在正常结肠癌组织中几乎不表达, 其阳性表达定位于细胞核, Snail在结肠癌组织细胞胞浆染色为棕黄色(图1C). Snail在正常组织和结肠癌组组织中的阳性表达率7.1%和57.0%, 两组比较有显著差异(P<0.01). 结肠癌组高分化组、中分化组、低分化组阳性率分别为45.9%、62.5%、72.2%, 三组比较差异有显著

■研发前沿
探讨Wnt-1、Snail二者在结肠癌组织中的表达情况, 分析两者与结肠癌生长、浸润和转移能力的关系, 并分析Wnt-1与Snail两者是否存在一定的关联性.

■相关报道
结肠癌中存在Wnt-1与Snail的异常活化, 与肿瘤复发、转移的预后转归相关.

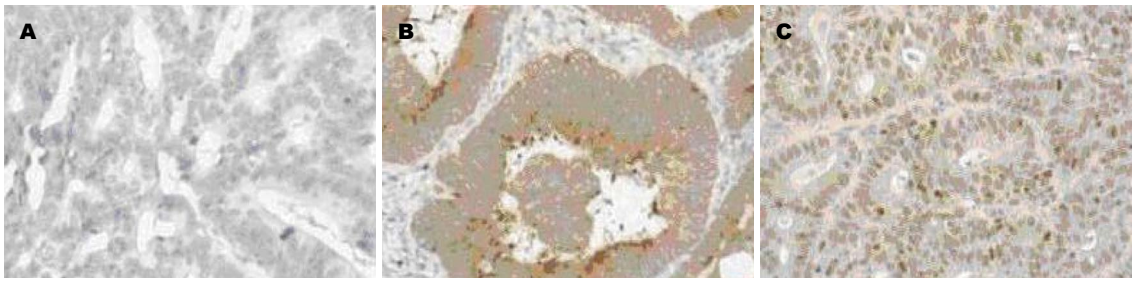


图 1 Wnt-1与Snail在结肠癌中的表达(×400). A: 正常结肠组织; B: Wnt-1; C: Snail.

表 1 Wnt-1及Snail表达与临床病理特征的关系

临床病理参数	*n*	Wnt-1			Snail		
		+	−	*P*值	+	−	*P*值
分组				0.000			0.000
正常组	70	6	64		5	65	
结肠癌组	79	37	42		45	34	
性别				0.602			0.544
男	33	15	18		21	12	
女	46	22	24		24	22	
年龄(岁)				0.434			0.547
<60	33	12	21		19	14	
≥60	46	25	21		22	24	
组织学分型				0.005			0.006
高分化	37	11	26		17	20	
中分化	24	14	9		15	9	
低分化	18	12	7		13	5	
肿瘤分期				0.009			0.006
Ⅰ-Ⅱ	49	21	28		29	20	
Ⅲ-Ⅳ	23	16	7		16	7	
淋巴转移				0.023			0.025
有	37	23	15		25	12	
无	42	24	18		22	20	

表 2 Wnt-1与Snail蛋白在结肠癌组织中表达的相关性

Wnt-1	Snail		总计	*r*值	*P*值
	阳性	阴性			
阳性	22	15	37	0.418	0.0042
阴性	23	19	42		
总计	45	34	79		

差异(P<0.01). 肿瘤分期Ⅰ-Ⅱ期和Ⅲ-Ⅳ期阳性率分别为59.2%和70.0%, 两组比较有显著差异(P<0.01). 淋巴转移有和无阳性率分别为67.6%和52.4%, 两组比较有显著差异(P<0.01). 在年龄、性别方面无统计学差异(表1).

2.3 结肠癌Wnt-1-1与Snail表达的相关性分析 以Wnt-1及Snail高中低分化组各自的阳性率进行Spearman相关性分析, 结果显示, 79例结肠癌组织中, Snail阳性45例, Snail阴性34例; Snail阳性和阴性患者Wnt-1蛋白阳性率分别为48.9%(22/45)、55.9%(19/34), Wnt-1和Snail蛋白表达呈明显相关性(r = 0.418, P<0.01)(表2).

2.4 Wnt-1与Snail表达与结肠癌预后的相关性 Kaplan-Meier法行生存分析, Wnt-1阳性表达组中位生存期为30.00 mo±1.25 mo, 阴性组为44.00 mo±4.25 mo, Wnt-1阳性组生存期明显低于阴性组, 组间比较差异具有统计学意义(χ^2 = 22.142, P<0.01). Snail阳性表达组中位生存期为30.00 mo±1.68 mo, 阴性组为57.00 mo±6.36 mo, Snail阳性组生存期明显低于阴性组, 组间比较差异具有统计学意义(χ^2 = 20.386, P<0.01)(图2).

2.5 Cox比例风险回归模型多因素分析 经χ^2检验筛选影响结肠癌患者生存时间的因素为肿瘤分化程度、临床分期、淋巴结转移、Wnt-1与Snail的异常表达, Cox多因素分析结果表明临床分期、淋巴结转移、Wnt-1与Snail的异常表达为结肠癌预后的独立风险因素(表3).

3 讨论

结肠癌的发生发展与多基因参与有关, 是多阶段、多因素参与的复杂过程. Wnt-1蛋白是Wnt-1基因编码的分泌糖蛋白, 是信号转导的始动因子[4], 通过β-catenin、结肠腺瘤样息肉(adenomatous polyposis coli, APC)等磷酸化和去磷酸化完成Wnt-1信号传递, 与生物发育、细胞转移及细胞凋亡关系密切[5]. 正常细胞中胞质内游离的β-catenin水平极低, 一般没有Wnt-1信号, 当Wnt-1信号激活时, 抑制β-catenin磷酸化, 与转录因子结合而激活下游靶基因, 引起细胞增殖加快和凋亡抵抗, 进而导致细胞增生和肿瘤形成[6]. 本实验采用免疫组织化学检测Wnt-1在结肠癌组织中的表达情况, 发现Wnt-1在结肠癌

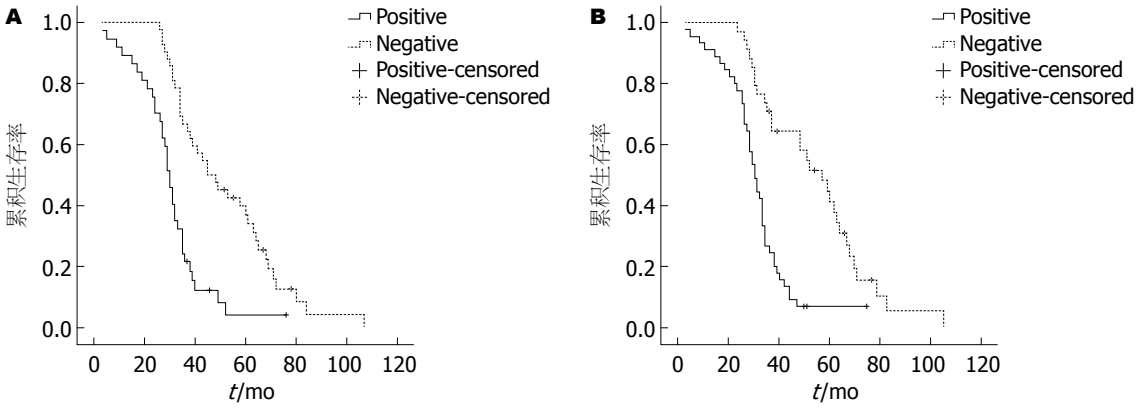


图 2 Wnt-1与Snail表达与预后关系生存曲线. A: Wnt-1; B: Snail.

■创新盘点
实验探讨Wnt-1、Snail二者在结肠癌组织中的表达情况, 分析两者与结肠癌生长、浸润和转移能力的关系, 并分析Wnt-1与Snail两者之间的关联性以及预后.

表 3 Cox比例风险回归模型分析影响结肠癌患者预后的因素

因素	回归系数估计值	标准误	Wald	*P*值	Exp(B)	95%CI	
						下限	上限
分化程度	−0.521	0.324	3.624	0.053	0.525	0.123	1.049
临床分期	1.018	0.316	8.776	0.003	2.635	1.267	5.098
淋巴结转移	1.361	0.223	17.338	0.000	3.485	1.387	6.375
Wnt−1	0.698	0.252	8.125	0.004	2.135	1.115	3.895
Snail	0.711	0.249	8.431	0.001	2.139	1.317	3.798

组组织中的阳性表达37例, 而在正常对照结肠黏膜仅有6例, 证明了Wnt-1在结肠癌组织中阳性表达明显高于正常组织, 这与Davies等[7]对大肠癌的Wnt-1的研究结果相符. 并且随着肿瘤分期和淋巴结转移的发生, Wnt-1的表达逐渐增高, 提示Wnt-1与结肠癌的浸润转移呈正相关. 而且Wnt-1阳性表达组中位生存期明显低于阴性组, 提示Wnt-1可能与结肠癌的预后转归存在直接关系, 并参与结肠组织的癌变过程.

Snail是一种含有锌指结构的转录抑制因子, 可以被重新激活, 抑制细胞之间E-钙黏蛋白的表达引起表达的减少[8], 与E-钙黏蛋白表达成负相关, 而与肿瘤的侵袭性及肿瘤细胞转移性成正相关[9], 是E-钙黏蛋白转录的直接抑制子, 这一现象在结肠癌等肿瘤中已经获得证实[10]. 本研究旨在探讨Snail在结肠癌发生发展中的作用, 结果显示Snail定位在结肠癌细胞的细胞核, 提示Snail结肠癌中的作用与基因的转录调节关系密切, 其阳性表达率达57.0%. 在45例Snail阳性表达的结肠癌组织中有25例发生了淋巴结转移, 提示Snail的表达和淋巴结浸润和转移存在着明显的相关性, 与组织学类型、分化程度、浸润深度、有无淋巴结转移、Dukes分期均有关[11].

对结肠癌癌预后影响因素的分析中, 肿瘤浸润深度、临床分期、淋巴结转移也是影响结肠癌预后的重要因素. 目前结肠癌治疗及判断预后仍是以分期作为依据, 结合分子预后指标将有助于更好的诊治. 本研究发现, Wnt-1与Snail蛋白在结肠癌组织中的阳性表达较高, 提示部分结肠癌中存在存在Wnt-1与Snail的异常活化, 与肿瘤复发、转移的预后转归相关, 在结肠癌的发生发展中起重要作用, 鉴于Wnt-1与Snail蛋白在细胞增殖、周期调控、细胞凋亡及血管生成等生物过程中的作用, 本实验将Wnt-1与Snail与结肠癌癌共同进行研究, 以探索两种蛋白表达之间有无相关性, 探讨二者与结肠癌生物学行为间的关系. 本研究显示, 在Wnt-1阳性表达的结肠癌细胞中Snail表达量明显升高, 呈现正相关, 这与Yook等[12]的研究一致, Snail与β-catenin都有含有糖原合成酶激酶-3β(glycogen synthase kinase-3β, GSK-3β)识别位点, 由此进入降解途径, Wnt-1激活后形成的复合物可抑制GSK-3β的活性[13,14], 故可同时减少Snail与β-catenin的分解而引起积聚. 同样, 由于Snail蛋白N-端有一个可以直接与β-catenin作用的区域, 通过此区域与β-catenin结合后增强β-catenin的

■同行评价
本文研究结肠癌组织中Wnt-1与Snail的异常活化以及彼此的相关性和预后, 立题新颖, 设计合理, 结论可信, 有一定科学性和参考价值.

活性, 因此Snail阳性表达虽不能直接影响Wnt-1的表达量, 但可明显提高Wnt-1/β-catenin通路中β-catenin的量, 进而扩大Wnt-1的作用效果, 这在结肠癌体外细胞实验中也已证实: 过表达Snail可增加Wnt-1靶基因的表达, 而使用RNA干扰技术抑制Snail则Wnt-1的靶基因表达水平也下降[15], 提示两者在调节结肠癌细胞分化与转移的信号途径中可能存在某些交叉点, 为进一步研究结肠癌的发生、发展拓展了新的研究方向. 而这些信号途径一旦被研究清楚, 可能对结肠癌的转移风险评估、药物靶点设计具有重要的指导意义.

总之, 本研究通过检测结肠癌组织中Wnt-1、Snai分子的异常表达情况, 证实了两者彼此之间的相互联系, 为研究肿瘤发生、转移及预后提供了参考, 也为后续的信号异常途径研究提供依据.

4 参考文献

1 张晓君, 李建生, 李珍杰, 张瑜. Cyr61、VEGF在结肠癌中的表达及临床意义. 临床消化病杂志 2008; 20: 227-229, 244

2 Wieczorek M, Paczkowska A, Guzenda P, Majorek M, Bednarek AK, Lamparska-Przybysz M. Silencing of Wnt-1 by siRNA induces apoptosis of MCF-7 human breast cancer cells. *Cancer Biol Ther* 2008; 7: 268-274 [PMID: 18059186 DOI: 10.4161/cbt.7.2.5300]

3 殷涛, 王春友, 刘涛, 赵刚, 查运红. 胰腺癌组织中Snail与E-钙黏素蛋白的表达及临床意义. 中华医学杂志 2006; 86: 2821-2825

4 Watanabe O, Imamura H, Shimizu T, Kinoshita J, Okabe T, Hirano A, Yoshimatsu K, Konno S, Aiba M, Ogawa K. Expression of twist and wnt in human breast cancer. *Anticancer Res* 2004; 24: 3851-3856 [PMID: 15736421]

5 张英, 林洪生. Wnt-1信号转导通路与肿瘤干细胞. 现代肿瘤医学 2009; 17: 347-349

6 王震凯, 朱人敏. Wnt-1信号转导通路在肿瘤中的研究进展. 医学研究生学报 2007; 20: 1294-1297, 1301

7 Davies SR, Davies ML, Sanders A, Parr C, Torkington J, Jiang WG. Differential expression of the CCN family member WISP-1, WISP-2 and WISP-3 in human colorectal cancer and the prognostic implications. *Int J Oncol* 2010; 36: 1129-1136 [PMID: 20372786 DOI: 10.3892/ijo_00000595]

8 胡士军, 马兴红, 杨增明. 转录因子Snail的作用机制及其生理功能. 细胞生物学杂志 2006; 28: 160-164

9 Poser I, Domínguez D, de Herreros AG, Varnai A, Buettner R, Bosserhoff AK. Loss of E-cadherin expression in melanoma cells involves up-regulation of the transcriptional repressor Snail. *J Biol Chem* 2001; 276: 24661-24666 [PMID: 11323412 DOI: 10.1074/jbc.M011224200]

10 Liu YN, Lee WW, Wang CY, Chao TH, Chen Y, Chen JH. Regulatory mechanisms controlling human E-cadherin gene expression. *Oncogene* 2005; 24: 8277-8290 [PMID: 16116478 DOI: 10.1038/sj.onc.1208991]

11 陆洪军, 王淑秋, 刘振平, 任翊华. 结肠癌患者转录因子Snail mRNA和蛋白的表达及临床意义. 中国老年学杂志 2010; 30: 1640-1642

12 Yook JI, Li XY, Ota I, Fearon ER, Weiss SJ. Wnt-dependent regulation of the E-cadherin repressor snail. *J Biol Chem* 2005; 280: 11740-11748 [PMID: 15647282 DOI: 10.1074/jbc.M413878200]

13 杨勇, 朱明才, 段亮, 周兰. 结肠癌中S100A2的表达及其与Wnt-1/β-catenin通路的相关性. 第三军医大学学报 2012; 24: 1576-1579

14 肖忠盛, 王松, 梁庆模, 建武, 李卫. 奥曲肽对结肠癌SW480细胞Wnt-1通路β-catenin/TCF及下游靶基因表达的影响. 中国肿瘤外科杂志 2013; 5: 366-370

15 Stemmer V, de Craene B, Berx G, Behrens J. Snail promotes Wnt target gene expression and interacts with beta-catenin. *Oncogene* 2008; 27: 5075-5080 [PMID: 18469861 DOI: 10.1038/onc.2008.140]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年6月8日; 22(16): 2375-2378
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

双歧杆菌四联活菌片与荆花胃康胶丸根除幽门螺杆菌的临床疗效

张廷锐, 连瑞军, 高鹏飞

张廷锐, 连瑞军, 高鹏飞, 固原市原州区三营中心卫生院 宁夏回族自治区固原市 756000
张廷锐, 副主任医师, 主要从事内科呼吸和消化疾病的研究.
作者贡献分布: 数据分析、研究过程、论文写作由张廷锐完成; 课题设计由连瑞军完成; 试剂由高鹏飞提供.
通讯作者: 张廷锐, 副主任医师, 756000, 宁夏回族自治区固原市原州区, 固原市原州区三营中心卫生院. mzdztr@163.com
电话: 0954-2680892
收稿日期: 2014-02-14 修回日期: 2014-04-01
接受日期: 2014-04-03 在线出版日期: 2014-06-08

Efficacy of Bifidobacterium tetravaccine tablets and Jinghua Weikang capsules in eradication of *Helicobacter pylori*

Ting-Rui Zhang, Rui-Jun Lian, Peng-Fei Gao

Ting-Rui Zhang, Rui-Jun Lian, Peng-Fei Gao, Sanying Central Hospital of Yuanzhou District of Guyuan City, Guyuan 756003, Ningxia Hui Autonomous Region, China
Correspondence to: Ting-Rui Zhang, Associate Chief Physician, Sanying Central Hospital of Yuanzhou District of Guyuan City, Yuanzhou District, Guyuan 756003, Ningxia Hui Autonomous Region, China. mzdztr@163.com
Received: 2014-02-14 Revised: 2014-04-01
Accepted: 2014-04-03 Published online: 2014-06-08

Abstract

AIM: To investigate the clinical efficacy of Bifidobacterium tetravaccine tablets and Jinghua Weikang capsules in the eradication of *Helicobacter pylori* (*H. pylori*).

METHODS: One hundred and twenty patients with *H. pylori* infection who were treated from January 2011 to December 2013 at our hospital were randomly and equally divided into three groups: A, B and C. Group A was treated with standard triple therapy, groups B and C were given Bifidobacterium tetravaccine tablets and Jinghua Weikang capsules on the basis of standard triple therapy, respectively. The clinical effects were compared between the three groups.

RESULTS: The rates of *H. pylori* eradication in groups B and C were higher than that in group A (82.5%, 80.0% *vs* 72.5%, $P > 0.05$), but the difference was not significant. There was also no significant difference between groups B and C ($P > 0.05$). The incidence of adverse reactions was significantly higher in group A than in groups B and C (37.5% *vs* 12.5%, 10.0%, $P < 0.05$), although there was no significant difference between groups B and C ($P > 0.05$).

CONCLUSION: Bifidobacterium tetravaccine tablets and Jinghua Weikang capsules show good clinical effects in *H. pylori* eradication therapy in terms of improved *H. pylori* eradication rate and fewer adverse reactions.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: *Helicobacter pylori*; Bifidobacterium tetravaccine tablets; Jinghua Weikang capsules; Eradication rate; Clinical efficacy

Zhang TR, Lian RJ, Gao PF. Efficacy of Bifidobacterium tetravaccine tablets and Jinghua Weikang capsules in eradication of *Helicobacter pylori*. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(16): 2375-2378 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2375.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i16.2375

摘要

目的: 探讨临床中双歧杆菌四联活菌片与荆花胃康胶丸在根除幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)治疗中的应用疗效.

方法: 选取2011-01/2013-12我院*H. pylori*感染患者120例为研究对象, 将其按照随机数字法分为3组, A组40例患者给予标准的三联法治疗, B组40例患者在A组基础上给予双歧杆菌四联活菌片治疗, C组40例患者在A组基础上给予荆花胃康胶丸治疗, 观察3组的临床治疗效果.

结果: B组和C组患者*H. pylori*根除率高于A组(82.5%, 80.0% *vs* 72.5%), 差异无统计学意义

■背景资料
幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori, H. pylori*)感染疾病在临床中比较常见, 传统的三联法治疗效果并不是很理想, 并发症也比较多, 如何有效的提高*H. pylori*根除率, 降低不良反应是医师们关注重点. 本文重点阐述四联法在该病的应用, 并且具有较高的应用价值.

■同行评议者
田文静, 副教授, 哈尔滨医科大学

(*P*>0.05); B组*H. pylori*根除率高于C组(82.5% *vs* 80.0%), 差异无统计学意义(*P*>0.05). A组术后不良反应发生率高于B组和C组(37.5% *vs* 10.0%, 12.5%), 差异有统计学意义(*P*<0.05); B组不良反应发生率低于C组(10.0% *vs* 12.5%), 差异无统计学意义(*P*>0.05).

结论: 临床中应用双歧杆菌四联活菌片与荆花胃康胶丸在根除*H. pylori*治疗中均具有较好的应用效果, 尤其的提高*H. pylori*根除率, 不良反应少, 治疗安全性高, 值得临床中应用.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 幽门螺杆菌; 双歧杆菌四联活菌片; 荆花胃康胶丸; 根除率; 临床疗效

核心提示: 双歧杆菌四联活菌片与荆花胃康胶丸在根除幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)治疗中均具有较好的应用效果, 尤其的提高*H. pylori*根除率, 不良反应少. 这种方法采取的是中西结合治疗的原则, 从而直达病灶, 并且其治疗安全性高, 值得临床中应用.

张廷锐, 连瑞军, 高鹏飞. 双歧杆菌四联活菌片与荆花胃康胶丸根除幽门螺杆菌的临床疗效. 世界华人消化杂志 2014; 22(16): 2375-2378 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2375.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i16.2375

0 引言

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染疾病在临床中比较常见, 临床中常常采取根除*H. pylori*而提高整体治疗效果, 进一步的改善患者生活质量[1]. 传统的三联法(埃索买拉唑镁肠溶片+阿莫西林胶囊+克拉霉素缓释片)治疗效果并不是很理想, 并发症也比较多, 如何有效的提高*H. pylori*根除率, 降低不良反应是医师们关注重点[2]. 有学者提高四联法(埃索买拉唑镁肠溶片+阿莫西林胶囊+克拉霉素缓释片+双歧杆菌四联活菌片)治疗, 进一步改善治疗效果. 因此, 本文重点分析临床中双歧杆菌四联活菌片与荆花胃康胶丸在根除*H. pylori*治疗中的应用, 为临床治疗该病提供参考.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2011-01/2013-12我院*H. pylori*感染患者120例为研究对象, 且均符合中华医学会消化病学分会制定的《第四次全国幽门螺杆菌感染处理共识报告》中的诊断标准[3], 将其按照随机数字法分为3组, 各40例. 三组患者的基本资料比较无明显的差异(*P*>0.05), 统计学无意义, 具有可比性(表1). 埃索买拉唑镁肠溶片(国药准字: H20046379, 阿斯利康制药有限公司生产, 规格: 20 mg); 阿莫西林胶囊(国药准字: H20067450, 广州白云山制药股份有限公司广州白云山制药总厂生产, 规格: 0.125 g); 克拉霉素缓释片(国药准字: H20051296, 海南普利制药有限公司生产, 规格: 0.5 g); 双歧杆菌四联活菌片(国药准字: S20060010, 杭州龙达新科生物制药有限公司生产, 规格: 0.5 g); 荆花胃康胶丸(国药准字: Z10970067, 天士力制药集团股份有限公司生产, 规格: 每粒装80 mg).

1.2 方法

1.2.1 治疗: A组患者给予标准的三联法治疗, 口服20.0 mg埃索买拉唑镁肠溶片+1.0 g阿莫西林胶囊+0.5 g克拉霉素缓释片, 2次/d, 10 d为一个治疗疗程; B组患者在A组基础上给予口服1.5 g双歧杆菌四联活菌片, 3次/d, 10 d为一个治疗疗程; C组患者在A组基础上给予口服160.0 mg荆花胃康胶丸, 3次/d, 10 d为一个治疗疗程, 三组患者连续治疗1个疗程[4].

1.2.2 观察指标: (1)*H. pylori*根除状况: 此次研究对于*H. pylori*根除状况主要依据^{14}C-UBT试验进行判断, 待测患者应在空腹或者进食2 h之后进行测定, 采取口服1粒^{14}C-尿素胶囊, 并且静坐25 min. 同时, 被测患者应通过洁净吹气管向CO_2吸收剂进行吹气3 min, 且力度控制适中, 严禁倒吸. 待CO_2吸收剂的颜色从红色逐渐变为无色时应停止吹气, 5 min之后颜色不变, 应停止吹气. 气体在收集完成之后应标记编号, 并在样品瓶子中加入4.5 mL的稀释闪烁液, 加盖密封处理, 并摇匀之后加入*H. pylori*测试仪进行判断, 患者在停药4 wk以后进行复查^{14}C-UBT. 判断标准: *H. pylori*根除成功: ^{14}C-UBT＜100.0 dpm/mmol CO_2判断*H. pylori*阴性[5]; (2)不良反应: 上腹部不适、恶心、腹泻及失眠.

统计学处理 采取SPSS19.0的统计学软件进行数据分析与处理, 组间资料采取χ^2进行检验, *P*<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 三组*H. pylori*根除状况比较 B组和C组患者*H. pylori*根除率高于A组患者*H. pylori*根除率, 但是数据的比较无明显的差异(*P*>0.05); B组和C组的

■研发前沿
由于*H. pylori*感染是临床中常见的疾病, 且发病率比较高. 临床中常常采取的三联法治疗后的并发症相对比较多, 且对*H. pylori*的清除效果并不是很理想. 本研究对目前临床中比较常见的四联法进行分析, 并结合中医治疗的思想, 达到中西结合治疗的目的, 为临床中治疗该病提供新思路.

■相关报道
随着临床中医疗水平的不断发展, 有学者采取埃索买拉唑镁肠溶片+阿莫西林胶囊+克拉霉素缓释片+双歧杆菌四联活菌片的四联法进行治疗*H. pylori*感染并且取得了较好的应用效果. 本研究中在四联法的基础上采取中成药联合治疗, 达到标本兼治的效果.

表 1 三组患者基本资料比较

基本资料	A组	B组	C组	*P*值
性别(男/女)	20/20	21/19	19/21	>0.05
慢性胃炎	14	15	15	>0.05
胃溃疡	8	7	8	>0.05
十二指肠溃疡	18	18	17	>0.05
年龄(岁)	48.2±3.6	49.7±3.0	48.2±3.9	>0.05

A组: 埃索买拉唑镁肠溶片+阿莫西林胶囊+克拉霉素缓释片; B组: 埃索买拉唑镁肠溶片+阿莫西林胶囊+克拉霉素缓释片+双歧杆菌四联活菌片; C组: 埃索买拉唑镁肠溶片+阿莫西林胶囊+克拉霉素缓释片+荆花胃康胶丸.

表 2 三组患者*H. pylori*根除率比较

分组	*H. pylori*根除成功(*n*)	*H. pylori*根除失败(*n*)	*H. pylori*根除率(%)
A组	29	11	72.5
B组	33	7	82.5[a]
C组	32	6	80.0[a]

χ^2 = 6.23, [a]*P*<0.05 *vs* A组. A组: 埃索买拉唑镁肠溶片+阿莫西林胶囊+克拉霉素缓释片; B组: 埃索买拉唑镁肠溶片+阿莫西林胶囊+克拉霉素缓释片+双歧杆菌四联活菌片; C组: 埃索买拉唑镁肠溶片+阿莫西林胶囊+克拉霉素缓释片+荆花胃康胶丸. *H. pylori*: 幽门螺杆菌.

表 3 三组患者不良反应发生率比较 (*n* = 40)

分组	上腹部不适	恶心	腹泻	失眠	不良反应发生率[(%)]
A组	4	5	3	3	37.5
B组	1	2	1	0	10.0[a]
C组	2	1	1	1	12.5[a]

χ^2 = 7.26, [a]*P*<0.05 *vs* A组. A组: 埃索买拉唑镁肠溶片+阿莫西林胶囊+克拉霉素缓释片; B组: 埃索买拉唑镁肠溶片+阿莫西林胶囊+克拉霉素缓释片+双歧杆菌四联活菌片; C组: 埃索买拉唑镁肠溶片+阿莫西林胶囊+克拉霉素缓释片+荆花胃康胶丸.

*H. pylori*根除率比较也明显的差异(*P*>0.05)(表2).

2.2 不良反应观察 A组术后不良反应发生率37.5%, B组术后不良反应发生率10.0%, C组术后不良反应发生率12.5%, A组术后不良反应发生率明显的高于B组和C组(*P*<0.05); B组和C组不良反应发生率比较无明显的差异(*P*>0.05)(表3).

3 讨论

*H. pylori*是临床中常见的病原体, *H. pylori*感染疾病是临床中常见疾病, 在临床中具有较高的发病率[6]. 临床资料显示, *H. pylori*感染与慢性胃炎和消化性溃疡以及胃癌等疾病具有密切的联系[7]. 临床中对于*H. pylori*感染常常采取三联法进行治疗, 但是其治疗效果并不是很理想. 如何有效地提高该病的临床治疗效果是医师们关注的重点[8].

双歧杆菌四联活菌片主要是由厌氧菌和需养菌共同结合研制的微生态制剂, 其主要成分包括婴儿双歧杆菌和粪肠球菌以及嗜酸乳杆菌与蜡样芽胞杆菌, 能够在胃肠道形成一种生物屏障, 更好地抑制某些病菌的生长, 且有效地减少细菌毒素的干扰[9]. 同时, 双歧杆菌四联活菌片还能够直接或者间接地抑制胃内*H. pylori*感染[10]. 另外, 还能够有效地抑制*H. pylori*尿素酶的活性, 更好地阻止*H. pylori*的黏附和定植与入侵, 减少胃黏膜炎症反应[11]. 荆花胃康胶丸属于一种中医制药, 主要是从土荆芥与水团花中提取而制成的复发制剂[12]. 其中, 土荆芥具有祛风除湿和散寒理气以及健胃止痛的效果, 而水团花具有较好的清热利湿和消瘀定痛以及止血生肌的效果[13]. 临床研究显示, 该药物能够较快地降低胃和十二指肠内酸度, 达到缓解平滑肌, 更好的抑制*H. pylori*生长. 同时, 能够有效地降低胃蛋白酶的活性, 达到促进溃疡愈合[14]. 临床研究分析, 对于双歧杆菌四联活菌片与荆花胃康胶丸在根除*H. pylori*治疗中均具有较好的应用

■创新盘点

本次研究重点分析双歧杆菌四联活菌片与荆花胃康胶丸在根除*H. pylori*的安全性和临床治疗效果, 且通过临床实验的分析, 得出这种治疗方法的优越性, 并且与同行的医师得到相似的结果, 均可以提高*H. pylori*根除率, 降低药物治疗中的不良反应.

■应用要点

本研究中从临床实际的角度出发, 就目前临床中比较常见的疾病进行入手分析, 整个治疗的过程中引入了中西结合治疗的思想, 改变传统的治疗思路, 这种治疗方法在未来的临床治疗中具有广泛的应用前景, 且临床治疗效果也具有明显的优越性.

■同行评价
本研究作者为基层医院医师, 虽然内容新颖性一般, 但是值得鼓励更多的基层医院医师参与临床研究, 提高基层医疗服务.

效果, 尤其提高*H. pylori*根除率, 不良反应少, 治疗安全性高. 数据显示, B组和C组患者*H. pylori*根除率高于A组患者*H. pylori*根除率, 差异有统计学意义. 进一步提示, 临床中应用双歧杆菌四联活菌片与荆花胃康胶丸均可有效的根除*H. pylori*, 达到临床治愈的效果. 数据还显示, A组术后不良反应发生率明显的高于B组和C组. 由此分析, 临床中应用双歧杆菌四联活菌片与荆花胃康胶丸在根除*H. pylori*感染的不良反应少, 其临床治疗安全性高. 进一步分析, 双歧杆菌四联不仅可以提高*H. pylori*根除率, 并且对患者治疗过程中不良反应也比较小. 这一结果与韦晓静等研究的结果一致[15].

总之, 双歧杆菌四联活菌片与荆花胃康胶丸在根除*H. pylori*治疗中均是可行的, 能够达到根除*H. pylori*的效果. 同时, 临床中应用该药物治疗安全性高, 不良反应少, 值得临床中应用与推广.

4 参考文献

1 吴立新, 张声生. 双歧杆菌四联活菌片联合用药对小儿非感染性腹泻的疗效及血清中IL-6、IL-17表达影响研究. 重庆医学 2013; 42: 1703-1705
2 郑闽, 詹丽英, 李志晋, 朱光彩. 荆花胃康胶丸治疗消化性溃疡疗效观察. 世界中医药 2013; 8: 412-413
3 汪官富, 徐颖鹤, 苏杭, 罗波, 韩子华, 朱汝健, 章灵芝, 詹石斐, 徐伟铭. 双歧杆菌四联活菌片联合三联疗法治疗幽门螺杆菌阳性消化性溃疡的疗效. 中华医院感染学杂志 2013; 23: 2074-2076
4 刘军浩, 陈建永, 刘敏. 荆花胃康胶丸联合三联疗法根除Hp疗效观察. 浙江中西医结合杂志 2013; 11: 456-457
5 黎莉, 杨卫文, 杨景林, 何天兰, 汪琪. 含益生菌四联疗法根治顽固性幽门螺杆菌感染的疗效观察. 中国微生态学杂志 2013; 25: 673-675
6 刘网儿, 状平, 魏金文, 王晓燕. 荆花胃康胶丸联合三联疗法根除幽门螺杆菌疗效评估. 齐齐哈尔医学院学报 2013; 34: 3185-3186
7 龙海华, 梁秀兰, 刘振鹏, 贾安平. 新四联疗法治疗幽门螺杆菌相关性胃炎疗效分析. 海南医学 2013; 24: 2207-2208
8 Chason RD, Reisch JS, Rockey DC. More favorable outcomes with peptic ulcer bleeding due to Helicobacter pylori. *Am J Med* 2013; 126: 811-818.e1 [PMID: 23830535 DOI: 10.1016/j.amjmed.2013.02.025]
9 黄勇. 双歧杆菌四联活菌素片治疗维持性血液透析伴胃肠功能障碍疗效观察. 浙江临床医学 2012; 14: 569-570
10 孙丽群. 双歧杆菌四联活菌片联合埃索镁拉唑、阿莫西林、克拉霉素治疗幽门螺杆菌感染的临床研究. 临床消化病杂志 2012; 24: 101-102
11 Vitali B, Perna F, Lammers K, Turroni S, Gionchetti P, Brigidi P. Immunoregulatory activity of rifaximin associated with a resistant mutant of Bifidobacterium infantis. *Int J Antimicrob Agents* 2009; 33: 387-389 [PMID: 19097762 DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2008.10.007]
12 张月苗, 王婷婷, 叶晖, 张学智, 成虹, 李军祥, 韩海啸, 陈晓伟, 杨晋翔. 荆花胃康胶丸联合三联疗法治疗幽门螺杆菌感染慢性胃炎疗效观察. 中国中西医结合消化杂志 2013; 21: 587-590
13 张莲莲. 荆花胃康胶丸四联疗法治疗消化性溃疡疗效观察. 中国民康医学 2013; 25: 11-12
14 Peralta CM, Fernández LP, Masi AN. Precision improvement for omeprazole determination through stability evaluation. *Drug Test Anal* 2012; 4: 48-52 [PMID: 21287694 DOI: 10.1002/dta.243]
15 韦晓静, 钱韶红, 王丽. 改良序贯疗法联合荆花胃康丸根除幽门螺杆菌的临床观察. 中国中西医结合消化杂志 2013; 21: 191-194

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年6月8日; 22(16): Ⅰ-Ⅴ
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

《世界华人消化杂志》投稿须知

《世界华人消化杂志》为保证期刊的学术质量, 对所有来稿均进行同行评议, 是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊2012年版)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》收录的学术期刊.

1 投稿总则

1.1 性质 《世界华人消化杂志(*World Chinese Journal of Digestology*, *WCJD*, ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569)》是一份同行评议和开放获取期刊(Open Access Journal, OAJ), 创始于1993-01-15, 旬刊, 每月8、18和28号出版. 《世界华人消化杂志》编辑委员会成员, 由483位专家组成, 分布在30个省市、自治区和特别行政区.

《世界华人消化杂志》的首要任务是出版胃肠病学, 肝病学, 消化系内镜学, 消化系外科学, 消化系肿瘤学, 消化系影像学, 消化系介入治疗, 消化系病理学, 消化系感染学, 消化系药理学, 消化系病理生理学, 消化系病理学, 消化系循证医学, 消化系管理学, 胰腺病学, 消化系检验医学, 消化系分子生物学, 消化系免疫学, 消化系微生物学, 消化系遗传学, 消化系转化医学, 消化系诊断学, 消化系治疗学和糖尿病等领域的原始创新性文章, 综述文章和评论性的文章. 最终目的是出版高质量的文章, 提高期刊的学术质量, 使之成为指导本领域胃肠病学和肝病学实践的重要学术性期刊, 提高消化系疾病的诊断和治疗水平.

《世界华人消化杂志》由百世登出版集团有限公司(Baishideng Publishing Group, BPG)主办和出版的一份印刷版, 电子版和网络版三种版本的学术类核心期刊, 由北京百世登生物医学科技有限公司生产制作, 所刊载的全部文章存储在《世界华人消化杂志》网站上. OAJ最大的优点是出版快捷, 一次性缴纳出版费, 不受版面和彩色图片限制, 作者文章在更大的空间内得到传播, 全球读者免费获取全文PDF版本, 网络版本和电子期刊. 论文出版后, 作者可获得高质量PDF, 包括封面、编委会成员名单、目次、正文和封底, 作为稿酬, 样刊两本. BPG拥有专业的编辑团队, 涵盖科学编辑、语言编辑和电子编辑.目前编辑和出版42种临床医学OAJ期刊, 其中英文版41种, 具备国际一流的编辑与出版水平.

《世界华人消化杂志》被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊 2012年版)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》, 《Chemical Abstracts》, 《EMBASE/Excerpta Medica》, 《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录. 《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号.《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学研究领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊.

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

2 撰稿要求

2.1 总体标准 文稿撰写应遵照国家标准GB7713科学技术报告、学位论文和学术论文的编写格式, GB6447文摘编写规则, GB7714文后参考文献著录规则, GB/T 3179科学技术期刊编排格式等要求; 同时遵照国际医学期刊编辑委员会(International Committee of Medical Journal Editors)制定的《生物医学期刊投稿的统一要求(第5版)》(Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals). 见: *Ann Intern Med* 1997; 126: 36-47.

2.2 名词术语 应标准化, 前后统一, 如原词过长且多次出现者, 可于首次出现时写出全称加括号内注简称, 以后直接用简称. 医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准, 药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准, 国家食品药品监督管理局批准的新药, 采用批准的药名; 创新性新药, 请参照我国药典委员会的“命名原则”, 新译名词应附外文. 公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称), 如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD50, HBsAg, HCV

《世界华人消化杂志》英文摘要被《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录.

RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等. 为减少排印错误, 外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上. 中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者, 直接采用原有英语词, 如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词, 如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者, 宜用汉语拼音, 如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤). 通常应小写.

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

2.4 计量单位 采用国际单位制并遵照有关国家标准, GB3100-3102-93量和单位. 原来的“分子量”应改为物质的相对分子质量. 如 30 kD改为M_r 30 000或30 kDa(M大写斜体, r小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即A_r(A大写斜体, r小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u(小写正体). 计量单位在+、－及-后列出. 在±前后均要列出, 如37.6 ℃±1.2 ℃, 45.6岁±24岁, 56.4 d±0.5 d. 3.56±0.27 pg/ml应为3.56 ng/L±0.27 ng/L. BP用kPa(mmHg), RBC数用1×10^{12}/L, WBC数用1×10^{9}/L, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L. M_r明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示. 1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸. 长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm×6 cm×4 cm. 生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO_2结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L. 年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁. 例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把1×10^{-3} g与5×10^{-7} g之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm. 国际代号不用于无数字的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d. 在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg•d), 且在整篇文章内应统一. 单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs. 半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L乙醇; 5% CO_2, 50 mL/L CO_2; 1∶1 000肾上腺素, 1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg, 改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm = 45×10^{-6}; 离心的旋转频率(原称转速)用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示.

2.5 统计学符号 (1)*t*检验用小写*t*; (2)*F*检验用英文大写*F*; (3)卡方检验用希文小写χ^2; (4)样本的

相关系数用英文小写r; (5)自由度用希文小写υ; (6)样本数用英文小写n; (7)概率用英文斜体大写P. 在统计学处理中在文字叙述时平均数±标准差表示为mean±SD, 平均数±标准误为mean±SE. 统计学显著性用$^{a}P<0.05$, $^{b}P<0.01$($P>0.05$不注). 如同一表中另有一套P值, 则$^{c}P<0.05$, $^{d}P<0.01$; 第三套为$^{e}P<0.05$, $^{f}P<0.01$等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字, 如1 000-1 500 kg, 3.5 mmol/L±0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6 347意指6 000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的mean±SD应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3 614.5 g±420.8 g, SD的1/3达一百多g, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6 kg±0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm±0.27 cm, 其SD/3 = 0.09 cm, 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位. 有效位数以后的数字是无效的, 应该舍. 末尾数字, 小于5则舍, 大于5则进, 如恰等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 末尾时只可1次完成, 不得多次完成. 例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该23.48→23.5→24. 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写. 如1985年4月12日, 可写作1985-04-12; 1985年4月, 写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止, 写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止, 写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30. 百分数的有效位数根据分母来定:分母≤100, 百分数到个位; 101≤分母≤1 000, 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1 486 800.475 65. 完整的阿拉伯数字不移行!

2.7 标点符号 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律用逗号分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末. 标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU. 外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体.

3 稿件格式

3.1 题名 简明确切地反映论文的特定内容, 鲜明而有特色, 阿拉伯数字不宜开头, 不用副题名, 一般20个字. 避免用“的研究”或“的观察”等非特定词.

3.2 作者 论文作者的署名，按照国际医学杂志编辑委员会(ICMJE, International Committee of Medical Journal Editors)作者资格标准执行. 作者标准为: (1)对研究的理念和设计、数据的获得、分析和解读做出重大贡献; (2)起草文章, 并对文章的重要的知识内容进行批评性修改; (3)接受对准备发表文章的最后一稿. 作者应符合条件1, 2, 3, 对研究工作有贡献的其他人可放入志谢中. 作者署名的次序按贡献大小排列, 多作者时姓名间用逗号, 如是单名, 则在姓与名之间空1格(正文和参考文献中不空格). 《世界华人消化杂志》要求所有署名人写清楚自己对文章的贡献. 世界华人消化杂志不设置共同第一作者和共同通信作者.

3.3 单位 作者后写单位的全称空1格后再写省市及邮政编码. 格式如: 张旭晨, 梅立新, 承德医学院病理教研室 河北省承德市 067000

3.4 第一作者简介 格式如: 张旭晨, 1994年北京中医药大学硕士, 讲师. 主要从事消化系统疾病的病理研究.

3.5 作者贡献分布 格式如: 陈湘川与庞丽娟对此文所作贡献两均等; 此课题由陈湘川、庞丽娟、陈玲、杨兰、张金芳、齐妍及李洪安设计; 研究过程由陈玲、杨兰、张金芳、蒋金芳、杨磊、李锋及曹秀峰操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由曹秀峰提供; 数据分析由陈湘川、杨兰及庞丽娟完成; 本论文写作由陈湘川、庞丽娟及李洪安完成.

3.6 同行评议者 为了确保刊出文章的质量, 本刊即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名, 职称, 机构的名称与文章一同在脚注出版. 格式如: 房静远, 教授, 上海交通大学医学院附属医院仁济医院, 上海市消化疾病研究所.

《世界华人消化杂志》编辑部, 100025, 北京市朝阳区, 东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893, Email: wcjd@wjgnet.com; http://www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》自2006-01-01起改为旬刊发行, 每月8、18、28日出版.

3.7 基金资助项目 格式如: 国家自然科学基金资助项目, No. 30224801

3.8 通讯作者 格式如: 通讯作者: 黄缘, 教授, 330006, 江西省南昌市民德路1号, 南昌大学第二附属医院消化内科, 江西省分子医学重点实验室. huang9815@yahoo.com

电话: 0351-4078656 传真: 0351-4086337

收稿日期: 修回日期:

3.9 英文摘要

题名 文章的题名应言简意赅, 方便检索, 英文题名以不超过10个实词为宜, 应与中文题名一致.

作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名, 后姓; 首字母大写, 双名之间用半字线“-”分开, 多作者时姓名间加逗号. 格式如: “潘伯荣”的汉语拼写法为“Bo-Rong Pan”.

单位 先写作者, 后写单位的全称及省市邮政编码. 例如: Xu-Chen Zhang, Li-Xin Mei, Department of Pathology, Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China

基金资助项目 格式如: Supported by National Natural Science Foundation of China, No.30224801

通讯作者 格式如: Correspondence to: Dr. Lian-Sheng Ma, Taiyuan Research and Treatment Center for Digestive Diseases, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China. wcjd@wjgnet.com

收稿及修回日期 格式如: Received: Revised:

摘要 包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致.

3.10 中文摘要 必须在300字左右, 内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的), 方法(必须包括材料或对象. 应描述课题的基本设计, 双盲、单盲还是开放性, 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度. 研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征. 如研究对象是患者, 应阐明其临床表现, 诊断标准. 如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不良反应而中途停止研究), 结果(应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确、具体, 所列数据经用何种统计学方法处理; 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值; 概率写*P*, 后应写出相应显著性检验值), 结论(全文总结, 准确无误的观点及价值).

3.11 正文标题层次 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献. 序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文. 正文内序号连排用(1), (2), (3). 以下逐条陈述.

0 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系.

1 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验. 对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可.

2 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论.

3 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾.

图表的数量要精选. 表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容. 表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出. 图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出. 同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述. 如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化. A: …; B: …; C: …; D: …; E: …; F: …; G: …. 曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号. 统计学显著性用: $^{a}P<0.05$, $^{b}P<0.01$($P>0.05$不注). 如同一表中另有一套*P*值, 则$^{c}P<0.05$, $^{d}P<0.01$; 第3套为$^{e}P<0.05$, $^{f}P<0.01$. *P*值后注明何种检验及其具体数字, 如$P<0.01$, $t = 4.56$ *vs* 对照组等, 注在表的左下方. 表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐. “空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等. 表图勿与正文内容重复. 表图的标目尽量用*t*/min, *c*/(mol/L), *p*/kPa, *V*/mL, *t*/℃表达.

志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐.

4 参考文献 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序. 提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码. 文中如列作者姓名, 则需在“Pang等”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在该论述的句末右上角注码号. 如马连生[1]报告……, 潘伯荣等[2-5]认为……;

PCR方法敏感性高[6-7]. 文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]. 所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed, 《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献. 期刊: 序号, 作者(列出全体作者). 文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID和DOI编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部),书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页.

5 网络版的发表前链接 本刊即将开始实行网络版的每篇文章上都有该文发表前纪录的链接, 包括首次提交的稿件, 同行评议人报告, 作者给审稿人回信和作者修回稿, 以PDF格式上传. 读者可以针对论文、审稿意见和作者的修改情况发表意见, 指出问题与不足; 作者也可以随时修改完善自己发表的论文, 使文章的发表成为一个编者、同行评议者、读者、作者互动的动态过程.

4 写作格式实例

4.1 述评写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/sp.asp

4.2 研究原著写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjyz.asp

4.3 焦点论坛写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/jdlt.asp

4.4 文献综述写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/wxzs.asp

4.5 研究快报写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjkb.asp

4.6 临床经验写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/lcjy.asp

4.7 病例报告写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/blbg.asp

5 投稿方式

接受在线投稿, 不接受其他方式的投稿, 如E-mail、打印稿. 在线投稿网址: http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx. 无法在线提交的通过submission@wjgnet.com, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893寻求帮助. 投稿须知下载网址http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.pdf. 审稿过程平均时间需要14-28天. 所有的来稿均经2-3位同行专家严格评审, 2位或以上通过为录用, 否则将退稿或修改后再审.

6 修回稿须知

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

6.2 稿件修改 来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删节时, 本刊编辑部将把退修稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改, 而作者必须于15天内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期寄回, 所造成的问题由作者承担责任.

6.3 版权 本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负. 作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期): 起止页码. 如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有.

《世界华人消化杂志》编辑部
北京百世登生物医学科技有限公司
100025, 北京市朝阳区东四环中路62号
远洋国际中心D座903室
电话: 010-5908-0035
传真: 010-8538-1893
E-mail: wcjd@wjgnet.com
http: //www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》坚持开放获取(open access, OA)的出版模式, 编辑出版高质量文章, 努力实现编委、作者和读者利益的最大化, 努力推进本学科的繁荣和发展, 向专业化、特色化和品牌化方向迈进.

世界华人消化杂志 2014年6月8日; 22(16): I
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

2014年国内国际会议预告

2014-03-12/15
2014年亚太肝病研究协会肝病周(APASL)
会议地点: 澳大利亚
联系方式: http://apasl2014.com/

2014-04-05/09
2014年美国癌症研究协会大会(AACR)
会议地点: 美国
联系方式: http://www.aacr.org/home/scientists/meetings--workshops/meetings--workshops-calendar.aspx

2014-04-09/13
2014年第49届欧洲肝病研究协年会(EASL)
会议地点: 英国
联系方式: http://www.easl.eu/_the-international-liver-congress/general-information

2014-04-18/05-20
2014中国超声医学学术大会
会议地点: 北京市
联系方式: http://www.cuda.org.cn/new/meeting

2014-04-26/27
中华医学会临床药学分会2014年全国学术会议
会议地点: 成都市
联系方式: http://www.cncscp.org/

2014-05-04/06
2014年美国消化疾病周(DDW)
会议地点: 美国
联系方式: http://www.ddw.org/attendees/faqs

2014-05-16/18
2014第七届世界癌症大会
会议地点: 南京市
联系方式: http://www.bitlifesciences.com/cancer2014/cn/meeting.asp

2014-05-23/24
第六届药源性疾病与安全用药中国论坛-消化系统与肝病药物专题研讨会
会议地点: 北京市
联系方式: adrhuiyi@126.com

2014-05-30/06-03
2014年美国临床肿瘤协会年会(ASCO)
会议地点: 美国
联系方式: http://www.asco.org/meetings/calendar-events

2014-06-04/07
2014年第20届国际肝移植协会年会(ILTS)
会议地点: 英国
联系方式: http://www.ilts.org/meetings/

2014-06-09/12
2014年第47届欧洲儿科胃肠病, 肝病和营养学协会大会(ESPGHAN)
会议地点: 以色列
联系方式: http://www.espghan2014.org/

2014-06-18/21
2014年欧洲胃肠与腹部放射学协会肝部成像研讨会(ESGAR)
会议地点: 奥地利
联系方式: http://www.esgar.org/files/File/ESGAR14

2014-06-25/28
2014年世界胃肠癌大会(WGIC)
会议地点: 西班牙
联系方式: http://worldgicancer.com/WCGI

2014-06-25/28
2014年第14届欧洲内窥镜手术协会国际大会(EAES)
会议地点: 法国
联系方式: hdimcs@163.com

2014-06-27/28
2014中华医学会肝病与代谢学术研讨会
会议地点: 上海市
联系方式: lilyjia@163.com

2014-07-26/31
2014年世界移植大会
会议地点: 美国
联系方式: http://www.wtc2014.org/

2014-07-28/30
第3届国际肠胃病学与泌尿学大会
会议地点: 美国
联系方式: http://www.omicsgroup.com/gastroenterology-urology-conference-2014/registration.php

2014-09-05/07
2014年第8届国际肝癌协会大会(ILCA)
会议地点: 日本
联系方式: http://www.ilca2014.org/

2014-09-26/30
2014年欧洲临床肿瘤协会年会(ESMO)
会议地点: 西班牙
联系方式: http://www.esmo.org/

2014-10-18/22
2014年第22届欧洲联合胃肠病学周(UEG)
会议地点: 奥地利
联系方式: http://www.ueg.eu/week/past-future/future-ueg-week/

世界华人消化杂志 2014年6月8日; 22(16): I
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

志谢世界华人消化杂志编委

本期文章审稿中(包括退稿), 我刊编委付出了宝贵的时间和大量的精力, 提高了《世界华人消化杂志》的学术质量, 在此表示衷心感谢!

白爱平 副教授
江西省南昌大学第一附属医院消化病研究所

崔清波 副主任医师
哈尔滨医科大学附属第二医院儿外科

戴朝六 教授
中国医科大学第二临床学院(盛京医院)肝胆外科

段义农 教授
南通大学医学院病原生物学系

樊晓明 教授
复旦大学附属金山医院消化科

葛海燕 教授
同济大学附属第十人民医院普通外科

郭永红 副主任医师
西安交通大学医学院第二附属医院感染科

何敏 教授
广西医科大学医学科学实验中心

侯风刚 副主任医师
上海中医药大学附属市中医医院肿瘤科

金瑞 教授
首都医科大学附属北京佑安医院消化科

李孟森 教授
海南医学院/海南省肿瘤发生和干预重点实验室

李苏宜 教授
东南大学附属中大医院肿瘤科

李瑜元 教授
广州市第一人民医院内科

吕云福 教授
海南省人民医院外一科

麻勇 副研究员
哈尔滨医科大学附属第一医院肝脏外科

马大烈 教授
长海医院病理科

宋振顺 教授
西京医院肝胆外科

谭学瑞 教授
汕头大学医学院第一附属医院内科

汤华 研究员
重庆医科大学感染性疾病分子生物学重点实验室

王道荣 主任医师
江苏省苏北人民医院胃肠外科

吴军 研究员
军事医学科学院生物工程研究所

肖恩华 教授
中南大学湘雅二医院放射教研室

许剑民 教授
上海市复旦大学附属中山医院普外科

许玲 主任医师
上海中医药大学附属龙华医院肿瘤科

宣世英 教授
市立医院肝病内科

杨柏霖 副主任医师
南京中医药大学附属医院

袁红霞 研究员
天津中医药大学

袁建业 副研究员
上海中医药大学附属龙华医院/脾胃病研究所

张凤春 教授
上海交通大学医学院附属仁济医院

张小晋 主任医师
北京积水潭医院

赵春玲 副教授
潍坊医学院细胞生物学教研室

郑培永 副教授
上海中医药大学附属龙华医院消化内科

世界华人消化杂志
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

《中文核心期刊要目总览》收录证书

《中文核心期刊要目总览》入编通知

尊敬的主编先生/女士：

我们谨此郑重通知：依据文献计量学的原理和方法，经研究人员对相关文献的检索、统计和分析，以及学科专家评审，贵刊《**世界华人消化杂志**》入编《中文核心期刊要目总览》2011 年版（即第六版）之 **临床医学/特种医学类** 的核心期刊。该书由北京大学出版社出版。书中按《中国图书馆分类法》的学科体系，列出了 73 个学科的核心期刊表，并逐一对核心期刊进行了著录。著录项目包括：题名、并列题名、主办单位、创刊时间、出版周期、学科分类号、ISSN 号、CN 号、邮发代号、编辑部地址、邮政编码、电话、网址、电子邮箱、内容简介等。

评选核心期刊的工作，是运用科学方法对各种刊物在一定时期内所刊载论文的学术水平和学术影响力进行综合评价的一种科研活动，研究工作量浩大。北京地区十几所高校图书馆、中国科学院国家科学图书馆、中国社会科学院文献信息中心、中国人民大学书报资料中心、中国学术期刊（光盘版）电子杂志社、中国科学技术信息研究所、北京万方数据股份有限公司、国家图书馆等相关单位的百余名专家和期刊工作者参加了研究。

课题组对核心期刊的评价理论、评价方法等问题进行了深入研究，进一步改进了核心期刊评价方法，使之更趋科学合理，力求使评价结果符合客观实际。对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被索量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web 下载量等 9 个评价指标，选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到 60 余种，统计到的文献数量共计 221177 余万篇次，涉及期刊 14400 余种。参加核心期刊评审的学科专家达 8200 多位。经过定量筛选和专家定性评审，从我国正在出版的中文期刊中评选出 1982 种核心期刊。

需要特别指出的是，该研究成果只是一种参考工具书，主要是为图书情报界、出版界等需要对期刊进行评价的用户提供参考，例如为各图书情报部门的中文期刊采购和读者导读服务提供参考帮助等，不应作为评价标准。谨此说明。

顺颂

撰安

《中文核心期刊要目总览》2011 年版编委会

代章：

2012 年 1 月



Published by **Baishideng Publishing Group Inc**
8226 Regency Drive, Pleasanton,
CA 94588, USA
Fax: +1-925-223-8242
Telephone: +1-925-223-8243
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com



ISSN 1009-3079



百世登出版集团有限公司

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

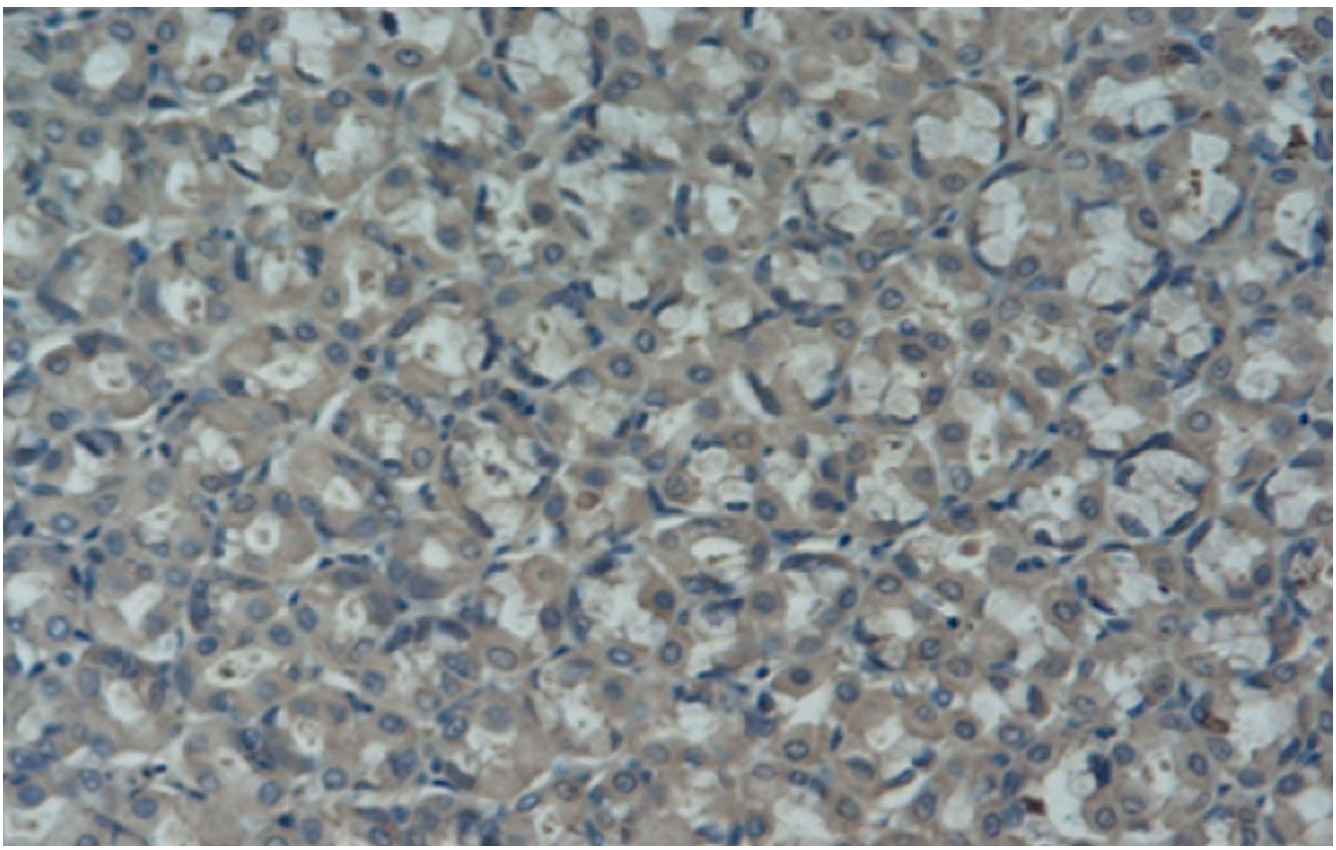
ISSN 1009-3079 (print)
ISSN 2219-2859 (online)

世界华人消化杂志®

WORLD CHINESE JOURNAL OF DIGESTOLOGY

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2014 年 6 月 18 日　第 22 卷　第 17 期　(Volume 22 Number 17)



17/2014

ISSN 1009-3079
17>

《世界华人消化杂志》是一份同行评议性的旬刊，是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊 2012年版)》和《中文核心期刊要目总览(2011年版)》收录的学术类期刊.《世界华人消化杂志》的英文摘要被《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录.

世界华人消化杂志 www.wjgnet.com 二零一四年六月十八日 第二十二卷 第十七期

世界华人消化杂志®

编辑委员会

2012-01-01/2014-12-31

wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

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

总顾问

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

名誉主编

潘伯荣教授

主编

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

编委

消化内科学

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

消化外科学

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

世界华人消化杂志®

编辑委员会

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

消化感染病学

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

消化中医药学

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

消化肿瘤学

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

消化影像学

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

消化内镜及介入治疗学

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

消化中西医结合学

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

消化基础研究

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

消化病理学

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

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目　次 ●　2014 年 6 月 18 日　第 22 卷　第 17 期　(总第457期)

述　评

2379 腺苷的免疫调节功能
万萍, 陈昊, 白爱平

基础研究

2385 榄香烯乳对人胰腺癌移植瘤组织中凋亡相关蛋白表达的影响
张莉娜, 陈恳, 钱俐, 胡迎青, 许丽娜, 周国雄, 张弘

临床研究

2393 广西隆安县农村壮族人群功能性消化不良的流行病学调查
姚萍, 梁列新, 董卫国, 张法灿, 农兵, 周庆南, 陆海英, 黄平君

文献综述

2399 ERCP术后胰腺炎防治的进展
王静, 吕瑛, 邹晓平

2406 胰腺癌早期诊断的研究进展
纪道林, 李春龙, 崔云甫

研究快报

2414 双联抗血小板药物对大鼠胃黏膜损伤的机制
季英兰, 陆伟, 张志广, 李熳, 张雪莲, 刘霞

2421 六棱菊提取物体外抗乙型肝炎的作用
沈钰明, 戴灵豪, 伍义行, 俞晓平, 张永勇, 赵昱

2427 糖基化终末产物影响结肠平滑肌肌球蛋白轻链激酶表达在糖尿病大鼠结肠动力障碍中的作用
王庆娥, 王云, 朱滢, 孙晓萌, 林琳

2434 草酸铂腹腔化疗时机的选择
刘勇, 杨阳, 刘辉, 宋云骏

2439 MicroRNA570通过Wnt/β-catenin通路抑制人结肠癌HT-29细胞的增殖及调控机制
叶玉兰, 周春立, 庞智, 郑家驹

2445 黄连素等中草药提取物对多重耐药性大肠杆菌*gyrA*基因的作用
黄衍强, 刘坤友, 莫小强, 黄小凤, 韦连登, 韦红玉, 陈源红, 唐华英

临床经验

2449 组织胶联合聚桂醇治疗胃底静脉曲张的疗效
侯运萌, 向慧玲, 王凤梅, 吕洪敏, 李庭红, 李岩, 李隽, 高艳颖, 王芳, 田念念

2456 紫杉醇联合卡培他滨一线治疗晚期胃癌后卡培他滨维持治疗的疗效和安全性
周然, 王峰, 曹蕾, 庞丽娜, 樊青霞

2463 2009-2013年浙江省常山地区新生儿接种乙型肝炎疫苗的流行病学效果评价
徐祥梅, 毛水仙

2467 胆囊结石患者结石成分及微生物群落结构的多样性
黄洁, 丁绍晖, 孙敏, 许丁伟, 张捷

2473 常规胆道探查术与纤维胆道镜治疗胆道结石的临床效果比较
孙冰强, 沈继荣

2477 CT引导下的经皮穿刺引流术治疗内镜后胰腺炎继发胰周脓肿16例
王帅, 秦鸣放, 郝文立

2481 新生儿胃肠穿孔的主要死亡原因
张艳丽, 汪天英, 胡安丽

2486 Nucleobindin-2/nesfatin-1在人胃肠道组织中的表达
杨博瑜, 田宇彬, 单信芝, 李晓宇, 魏良洲, 赵清喜, 孙桂荣

2493 序贯肠内营养对高血压脑室出血患者营养指标和预后的影响
刘晓峰, 周子伟, 张建宁

2498 香砂六君子汤对多器官功能障碍综合征之胃肠功能障碍的疗效
祝未名, 祝建斌

2503 *HTR3E*基因多态性与中国女性IBS-D的发生及肠道症状的关联
张瑜, 廖月霞, 陶文华, 李瑶瑶, 郝臻凤, 卜平

2508 广西籍炎症性肠病的临床流行病学特点分析325例
周晓雪, 农辉, 黄婧渝, 黄雪, 梁志海, 覃蒙斌

2513 结直肠癌肺转移患者的临床特点、转移灶表现、治疗方式及预后情况
王振贤, 郑友峰, 梁勇, 许俊旭

	2518 不同护理方式对经腹会阴直肠切除术患者术后恢复的影响 俞冬丽, 叶建虹, 胡芝萍
病例报告	2522 超声造影诊断“团块型”肝内胆管局限性发育异常1例 张明智, 凌文武, 罗燕
附　　录	I－V 《世界华人消化杂志》投稿须知 I 2014年国内国际会议预告
志　　谢	I 志谢世界华人消化杂志编委
消　　息	2433 中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》影响因子0.873 2455《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版) 2466《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号 2472《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费
封面故事	季英兰, 陆伟, 张志广, 李熳, 张雪莲, 刘霞. 双联抗血小板药物对大鼠胃黏膜损伤的机制. 世界华人消化杂志 2014; 22(17): 2414-2420 http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2414.asp http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i17.2414
本期责任人	编务 李香; 送审编辑 鲁亚静, 郭鹏; 组版编辑 鲁亚静; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 郭鹏; 形式规范审核编辑部主任 田滢; 最终清样审核总编 马连生

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平　题写封面刊名
陈可冀　题写版权刊名
(旬刊)

创　刊 1993-01-15
改　刊 1998-01-25
出　版 2014-06-18
原刊名 新消化病学杂志

期刊名称
世界华人消化杂志

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

主编
程英升, 教授, 200233, 上海市, 上海交通大学附属第六人民医院放射科
党双锁, 教授, 710004, 陕西省西安市, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科
江学良, 教授, 250031, 山东省济南市, 中国人民解放军济南军区总医院消化科
刘连新, 教授, 150001, 黑龙江省哈尔滨市, 哈尔滨医科大学第一临床医学院普外科
刘占举, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院消化内科
吕宾, 教授, 310006, 浙江省杭州市, 浙江中医药大学附属医院(浙江省中医院)消化科
马大烈, 教授, 200433, 上海市, 中国人民解放军第二军医大学附属长海医院病理科
王俊平, 教授, 030001, 山西省太原市, 山西省人民医院消化科
王小众, 教授, 350001, 福建省福州市, 福建医科大学附属协和医院消化内科
姚登福, 教授, 226001, 江苏省南通市, 南通大学附属医院临床医学研究中心
张宗明, 教授, 100016, 北京市, 清华大学第一附属医院消化医学中心

编辑部
田滢, 主任
《世界华人消化杂志》编辑部
100025, 北京市朝阳区东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室
电话: 010-59080035　手机: 13901166126
传真: 010-85381893
E-mail: wcjd@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com

出版
百世登出版集团有限公司
Baishideng Publishing Group Inc
8226 Regency Drive, Pleasanton, CA 94588, USA
Fax: +1-925-223-8242
Telephone: +1-925-223-8243
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com

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

《世界华人消化杂志》被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊 2012年版)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》, 《Chemical Abstracts》, 《EMBASE/Excerpta Medica》, 《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录.

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

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

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

定价
每期90.67元 全年36期3264.00元

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

World Chinese Journal of Digestology

June 2014 Contents in Brief Volume 22 Number 17

EDITORIAL

2379 Immunoregulatory effects of adenosine
Wan P, Chen H, Bai AP

BASIC RESEARCH

2385 Effect of treatment with elemene on expression of apoptosis-related proteins in pancreatic carcinoma xenografts in nude mice
Zhang LN, Chen K, Qian L, Hu YQ, Xu LN, Zhou GX, Zhang H

CLINICAL RESEARCH

2393 An epidemiologic survey of functional dyspepsia in Zhuang people in Longan rural area of Guangxi Zhuang Autonomous Region
Yao P, Liang LX, Dong WG, Zhang FC, Nong B, Zhou QN, Lu HY, Huang PJ

REVIEW

2399 Prevention and treatment of post-ERCP pancreatitis
Wang J, Lv Y, Zou XP

2406 Early diagnosis of pancreatic cancer
Ji DL, Li CL, Cui YF

RAPID COMMUNICATION

2414 Gastric mucosal injury induced by dual antiplatelet drugs in rats
Ji YL, Lu W, Zhang ZG, Li M, Zhang XL, Liu X

2421 Effect of *Laggera alata* extract against hepatitis B virus infection *in vitro*
Shen YM, Dai LH, Wu YH, Yu XP, Zhang YY, Zhao Y

2427 Effect of advanced glycation end products on myosin light chain kinase expression in smooth muscle cells and colonic motility dysfunction in diabetic rats
Wang QE, Wang Y, Zhu Y, Sun XM, Lin L

2434 Optimal timing of intraperitoneal chemotherapy with oxaliplatin in rats after colonic anastomosis
Liu Y, Yang Y, Liu H, Song YJ

2439 MicroRNA570 inhibits human colon cancer HT-29 cell proliferation *via* Wnt/β-catenin pathway
Ye YL, Zhou CL, Pang Z, Zheng JJ

2445 Effect of berberine and other herbal extracts on *gyrA* gene mutations in multidrug resistant *Escherichia coli*
Huang YQ, Liu KY, Mo XQ, Huang XF, Wei LD, Wei HY, Chen YH, Tang HY

CLINICAL PRACTICE

2449 Efficacy of tissue adhesive combined with lauromacrogol in treatment of gastric varices
Hou YM, Xiang HL, Wang FM, Lv HM, Li TH, Li Y, Li J, Gao YY, Wang F, Tian NN

2456 Efficacy and safety of capecitabine maintenance therapy after first-line paclitaxel/capecitabine chemotherapy in patients with advanced gastric cancer
Zhou R, Wang F, Cao L, Pang LN, Fan QX

2463 Epidemiological impact of vaccination against hepatitis B in neonates in Changshan, Zhejiang between 2009 and 2013
Xu XM, Mao SX

2467 Gallstone composition and microbial community structure in gallstones
Huang J, Ding SH, Sun M, Xu DW, Zhang J

2473 Clinical effect of conventional choledochotomy *vs* fiber choledochoscopy in treatment of biliary calculi
Sun BQ, Shen JR

2477 CT-guided percutaneous catheter drainage for treatment of pancreatic abscess after post-ERCP pancreatitis
Wang S, Qin MF, Hao WL

2481 Neonatal gastric perforation: Etiology and causes of death
Zhang YL, Wang TY, Hu AL

2486 Expression of nucleobindin-2/nesfatin-1 in gastrointestinal tissues of people
Yang BY, Tian ZB, Shan XZ, Li XY, Wei LZ, Zhao QX, Sun GR

2493 Effect of sequential enteral nutrition on nutritional status and prognosis in patients with hypertensive intraventricular hemorrhage
Liu XF, Zhou ZW, Zhang JN

2498 Effect of Xiangsha Liujunzi decoction on gastrointestinal dysfunction in patients with multiple organ dysfunction syndrome
Zhu WM, Zhu JB

2503 Association between *HTR3E* gene polymorphism and intestinal symptoms of diarrhea-predominant irritable bowel syndrome in Chinese women
Zhang Y, Liao YX, Tao WH, Li YY, Hao ZF, Bo P

2508 Clinical and epidemiological characteristics of inflammatory bowel disease in Guangxi: Analysis of 325 cases
Zhou XX, Nong H, Huang JY, Huang X, Liang ZH, Qin MB

2513 Pulmonary metastases of colorectal carcinoma: Clinical characteristics, metastatic features, therapeutic methods and prognosis
Wang ZX, Zheng YF, Liang Y, Xu JX

2518 Comprehensive nursing intervention in patients with rectal cancer after colostomy
Yu DL, Ye JH, Hu ZP

CASE REPORT	2522 Focal dysplasia of intrahepatic bile ducts diagnosed by contrast-enhanced ultrasound: A case report *Zhang MZ, Ling WW, Luo Y*
APPENDIX	I – V Instructions to authors of *World Chinese Journal of Digestology* I Meeting events calendar in 2014
ACKNOWLEDGMENT	I Acknowledgments to reviewers of *World Chinese Journal of Digestology*
COVER	*Ji YL, Lu W, Zhang ZG, Li M, Zhang XL, Liu X.* Gastric mucosal injury induced by dual antiplatelet drugs in rats. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(17): 2414-2420 http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2414.asp http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i17.2414
RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE	Assistant Editor: *Xiang Li* Review Editor: *Ya-Jing Lu, Peng Guo* Electronic Page Editor: *Ya-Jing Lu* English Language Editor: *Tian-Qi Wang* Editor-in-Charge: *Peng Guo* Proof Editor: *Ying Tian* Layout Editor: *Lian-Sheng Ma*
Indexed/Abstracted by	Chemical Abstracts, EMBASE/ Excerpta Medica, Abstract Journals and Digital Object Identifier

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993
Renamed on January 25, 1998
Publication date June 18, 2014

NAME OF JOURNAL
World Chinese Journal of Digestology

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

EDITOR-IN-CHIEF
Ying-Sheng Cheng, Professor, Department of Radiology, Sixth People's Hospital of Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200233, China
Shuang-Suo Dang, Professor, Department of Infectious Diseases, the Second Affiliated Hospital of Medical School of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, Shaanxi Province, China
Xue-Liang Jiang, Professor, Department of Gastroenterology, General Hospital of Jinan Military Command of Chinese PLA, Jinan 250031, Shandong Province, China
Lian-Xin Liu, Professor, Department of General Surgery, the First Clinical Medical College of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China
Zhan-Ju Liu, Professor, Department of Gastroenterology, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China
Bin Lv, Professor, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hang-zhou 310006, Zhejiang Province, China
Da-Lie Ma, Professor, Department of Pathology, Changhai Hospital, the Second Military Medical University of Chinese PLA, Shanghai 200433, China
Jun-Ping Wang, Professor, Department of Gastroenterology, People's Hospital of Shanxi, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China
Xiao-Zhong Wang, Professor, Department of Gastroenterology, Union Hospital, Fujian Medical University, Fuzhou 350001, Fujian Province, China
Deng-Fu Yao, Professor, Clinical Research Center, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China
Zong-Ming Zhang, Professor, Department of General Surgery, Digestive Medical Center, the First Affiliated Hospital, School of Medicine, Tsinghua University, Beijing 100016, China

EDITORIAL OFFICE
Ying Tian, Director
World Chinese Journal of Digestology
Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China
Telephone: +86-10-59080035 13901166126
Fax: +86-10-85381893
E-mail: wcjd@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com

PUBLISHER
Baishideng Publishing Group Inc
8226 Regency Drive, Pleasanton, CA 94588, USA
Fax: +1-925-223-8242
Telephone: +1-925-223-8243
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com

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

PRINT SUBSCRIPTION
RMB 90.67 Yuan for each issue
RMB 3264 Yuan for one year

COPYRIGHT
© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. Articles published by this Open Access journal are distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-commercial License, which permits use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited, the use is non commercial and is otherwise in compliance with the license.

SPECIAL STATEMENT
All articles published in journals owned by the Baishideng Publishing Group (BPG) represent the views and opinions of their authors, and not the views, opinions or policies of the BPG, except where otherwise explicitly indicated.

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

世界华人消化杂志 2014年6月18日; 22(17): 2379-2384
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

述评 EDITORIAL

腺苷的免疫调节功能

万 萍, 陈 昊, 白爱平

万萍, 陈昊, 白爱平, 南昌大学第一附属医院消化内科 江西省南昌市 330006
白爱平, 副教授, 主要从事炎症性肠病的研究.
国家自然科学基金资助项目, Nos. 81270472, 81070310
江西省青年科学家培养对象计划基金资助项目
作者贡献分布: 本文综述由万萍与陈昊完成; 白爱平审校.
通讯作者: 白爱平, 副教授, 330006, 江西省南昌市东湖区永外正街17号, 南昌大学第一附属医院消化内科. baiap@163.com
收稿日期: 2014-03-06 修回日期: 2014-04-18
接受日期: 2014-04-28 在线出版日期: 2014-06-18

Immunoregulatory effects of adenosine

Ping Wan, Hao Chen, Ai-Ping Bai

Ping Wan, Hao Chen, Ai-Ping Bai, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, Nos. 81270472 and 81070310; Young Scientist Training Program Foundation of Jiangxi Province
Correspondence to: Ai-Ping Bai, Associate Professor, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital, Nanchang University, 17 Yongwaizheng Street, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China. baiap@163.com
Received: 2014-03-06 Revised: 2014-04-18
Accepted: 2014-04-28 Published online: 2014-06-18

Abstract

Adenosine, a purine nucleoside, is involved in local and systemic inflammatory responses. Adenosine plays a pivotal role in the modulation of differentiation, maturation and migration of immune cells (neutrophils, macrophages, dendritic cells, lymphocytes, *etc.*), as well as in the secretion of cytokines and chemokines by activating four G protein-coupled receptors (A1, A2A, A2B, and A3) which are expressed by a variety of immune cells. The development of selective agonists and antagonists of adenosine receptors has advanced the current understanding on the multiple functions of adenosine in immunologic responses and related diseases. This article reviews the metabolism of adenosine and its effects on immune cells and inflammatory diseases via adenosine receptors.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Adenosine; Immune cells; Immune regulation

Wan P, Chen H, Bai AP. Immunoregulatory effects of adenosine. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(17): 2379-2384 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2379.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i17.2379

摘要

腺苷是一种嘌呤核苷, 通过与细胞膜上相应的G蛋白耦联受体(A1、A2A、A2B和A3)结合, 调节免疫细胞(中性粒细胞、巨噬细胞与树突细胞及淋巴细胞等)的分化成熟与迁移及细胞因子、趋化因子的释放, 从而调节局部与全身炎症反应. 选择性腺苷受体激动剂与拮抗剂的出现, 加深了人类对腺苷的免疫调节功能及腺苷与疾病关系的认识. 本文介绍了腺苷在体内的代谢过程及其通过与相应受体结合调节各种免疫细胞的功能及疾病的发病.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 腺苷; 免疫细胞; 免疫调节

核心提示: 腺苷是一种嘌呤核苷, 通过与细胞膜上相应的G蛋白耦联受体(A1、A2A、A2B和A3)结合, 调节固有免疫及适应性免疫反应. 调节免疫细胞的分化成熟及细胞因子、趋化因子的释放, 从而抑制炎症、保护受损组织周围正常细胞的作用.

万萍, 陈昊, 白爱平. 腺苷的免疫调节功能. 世界华人消化杂志 2014; 22(17): 2379-2384 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2379.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i17.2379

0 引言

腺苷作为一种靶向分子, 通过与细胞膜上特定的G蛋白耦联受体家族(即: 腺苷A1、A2A、A2B和A3受体)结合调节免疫反应[1]. 在正常生理过程中, 腺苷是以极低浓度(30-300 nmol/L)存在于细胞外. 然而, 当机体受到损伤或其他不利因素(如: 炎症、缺血等)影响时细胞内与细胞外

■背景资料
腺苷通过作用于其相应的受体发挥免疫调节作用. 腺苷所作用的受体不同, 对机体的具体调节作用就不同. 腺苷对机体的整体免疫调节作用是抗炎作用, 且主要是通过与腺苷A2A受体结合介导的. 目前, 大量疾病的治疗效果不尽如人意, 疾病反复发作, 药物不良反应大, 医疗费用高昂, 生活质量差, 这些都困扰着人们. 新的治疗方法将给患者带来福音.

■同行评议者
刘占举, 教授, 同济大学附属上海市第十人民医院

■研发前沿
腺苷作用于4种腺苷受体发挥免疫调节功能, 其免疫调节作用机制及可能的临床用途成为研究热点, 腺苷能否安全可靠的用于疾病的治疗为目前研究的重点.

的腺苷浓度迅速升高(从纳摩尔水平升高到微摩尔水平), 与固有免疫细胞和适应性免疫细胞表面的特异受体结合, 下调免疫反应[2]. 大量的研究证实, 腺苷具有抑制炎症、保护受损组织周围正常细胞的作用[3]. 故本文将对腺苷的免疫调节功能进行综述.

1 腺苷的代谢

腺苷是一种嘌呤代谢物. 在正常生理情况下, 腺苷主要是由细胞内S-腺苷同型半胱氨酸水解酶水解S-腺苷同型半胱氨酸产生, 且其一旦产生, 就会在腺苷脱氨酶(adenosine deaminase, ADA)的作用下代谢成肌酐, 进而代谢成尿酸; 也可受到腺苷激酶作用转化为一磷酸腺苷(adenosine monophosphate, AMP). 由于腺苷半衰期极短, 所以在正常情况下不会发挥强大的抗炎作用. 然而, 在急性炎症或缺血、缺氧等情况下, 参与腺苷代谢的核苷酸酶主要是CD39(胞膜三磷酸/二磷酸核苷酸水解酶家族成员)和CD73(胞膜-5'-核苷酸酶), 他们在细胞膜上的表达水平较正常生理情况下增多. 其过程为: 细胞分泌的大量的二/三磷酸腺苷及三磷酸尿苷(ADP/ATP及UTP), 在CD39的去磷酸作用下, 产生AMP, 随后在CD73的催化下, AMP脱磷酸变成腺苷, 从而使细胞外腺苷浓度迅速上升[4-6]. 细胞外腺苷的浓度迅速上升, 除与细胞产生增多有关外, 还与腺苷激酶受到抑制阻断其分解代谢有关[7]. Cabrita等[8]提出, 腺苷在细胞外的浓度还受到细胞膜上转运体(平衡型与浓度依赖型转运体)的调节, 平衡型核苷转运体顺浓度梯度双向转运核苷, 浓度依赖型核苷转运体逆浓度梯度单向转运核苷. 最近也有学者证实了这一观点, 即腺苷在细胞外的浓度受到此两种转运体调控[9].

2 腺苷的作用机制

腺苷可通过与特异的嘌呤受体(P1受体)结合调节免疫功能, 该受体可分为4种, 即A1、A2A、A2B及A3受体, 均为G蛋白耦联受体超家族成员[10], 有其独特的药理学作用及组织分布特点. Jacobson等[11]提出, 4种腺苷受体亲和力不同, A2B受体亲和力最低, A1和A2A受体亲和力最高, 而A3受体亲和力居中. 因此, 生理条件下的腺苷浓度可激活A1、A2A、A3受体, 而只有在病理条件下才能激活A2B受体[12]. 经典的腺苷信号通路是: A2A、A2B受体与Gs结合, 在腺苷刺激下激活腺苷酸环化酶(adenynate cyclase, AC), 促进第二信使cAMP的生成. 而A1、A3受体与Gi结合后, 抑制AC的活性, 使第二信使cAMP的产生减少, 发挥相应的生物学作用[13]. 腺苷与4种受体结合后也可以与丝裂原活化蛋白激酶(mitogen activated protein kinase, MAPK)信号通路耦联, 从而调节细胞的分化、成熟与存活[14]. 然而, Power Coombs等[15]认为其免疫抑制作用机制为: 腺苷与白细胞上的腺苷受体结合主要通过调节Toll样受体介导细胞因子的释放, 部分通过cAMP调节细胞内PKA来调节细胞因子的释放. 最近有学者证实腺苷也可通过抑制核因子-κB(nuclear factor-kappa B, NF-κB)信号通路, 抑制$CD4^+$ T细胞炎性细胞因子及化学因子的释放, 发挥强大的抗炎作用[16].

腺苷的4种受体在调节机体免疫反应过程中除上述的共同信号通路外, 他们都有各自独特的信号通路, 从而可能发挥不同的免疫调节作用. 腺苷作用于A1与A3腺苷受体能激活磷脂酶C(phospholipase C, PLC), 并使Ca^{2+}从细胞内释放出来, 从而发挥相应的生理作用[17]. A2A腺苷受体通过降低促炎症细胞因子白介素-2(interleukin, IL-2)与干扰素-γ(interferon-γ, IFN-γ) mRNA稳定性, 减少其表达, 抑制T细胞在结肠炎中的炎症作用[18]. Ryzhov等[19]提出A2B受体可作用于Gq而诱导磷脂酶C的产生, 从而通过Gs与Gq两条途径有效地促进肥大细胞产生与分泌IL-4.

3 腺苷与免疫反应

免疫系统包括固有免疫系统与适应性免疫系统, 他们在防御外来病原的入侵及清除体内抗原上发挥重要作用. 然而, 过度免疫反应则会导致正常组织损伤. 在哺乳动物, 几乎所有细胞均可分泌腺苷并表达腺苷受体. 首次证明细胞外的腺苷具有免疫抑制作用是在19世纪70年代[20]. 腺苷可作用于固有免疫系统及适应性免疫系统, 从而调节免疫反应.

3.1 腺苷与固有免疫系统

3.1.1 腺苷与中性粒细胞: 中性粒细胞可产生多种氧化酶(髓过氧化物酶、自由基等)与活性氧消灭病菌, 吞噬损伤细胞, 并释放细胞因子促使其他炎症细胞聚集到该部位. 在机体炎症过程中, 中性粒细胞分泌腺苷及其前体物质, 从而调节炎症反应.

在炎症初期腺苷浓度较低, 处于纳摩尔浓度水平时, 激活高亲和力受体A1与A3受体, 促进中

性粒细胞的聚集及吞噬作用, 促进炎症发展. 在炎症进展过程中, 细胞外腺苷浓度增高, 激活低亲和力A2(A2A、A2B)受体, 抑制中性粒细胞的吞噬、脱颗粒、氧化爆发, 从而限制组织过度损伤并加强内皮细胞屏障功能, 发挥抗炎作用[21]. Butler等[22]指出A3受体也可抑制中性粒细胞的粘附与迁移而发挥一定的抗炎作用.

3.1.2 腺苷与单核巨噬细胞系统: 单核巨噬细胞系统是炎症反应的主要参与细胞. 血液循环中的单核细胞进入组织后分化为巨噬细胞或树突细胞[23], 从而发挥吞噬及杀菌作用, 清除体内毒性复合物, 并将抗原呈递给T细胞, 发挥免疫反应. 然而, 当其免疫作用过度时则可导致正常组织遭到破坏甚至发展为慢性炎症. 在应激及炎症情况下, 细胞外增多的腺苷可调节单核巨噬系统细胞的分化与成熟.

腺苷与A1受体结合促进单核细胞分化为多核巨细胞, 而作用于A2受体则抑制单核细胞分化为多核巨细胞, 且可抑制IL-12炎症蛋白-1α、一氧化氮、超氧化物及肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)等促炎细胞因子产生, 增加抗炎症因子IL-10的分泌[24]. 腺苷的A2B受体促使单核细胞分化为异常的树突细胞, 该种树突细胞不能诱导T细胞增殖. 不成熟的树突细胞高度表达A1与A2A受体, 与腺苷结合后促使树突细胞向炎症部位迁移. 然而, 成熟的树突细胞膜上高表达的A2A受体与腺苷结合后, 减少促炎细胞因子(如: IL-6、IL-12和IFN-α)的产生而发挥抗炎作用[25]. 然而最近有学者提出腺苷主要识别未成熟树突细胞表面的A1与A3受体, 识别成熟树突细胞表面的A2受体, 而发挥免疫抑制及免疫调节作用[26]. 因此对于腺苷通过调控树突细胞发挥抗炎作用这一观点, 目前基本上达成共识. 而对于树突细胞分化成熟阶段表达腺苷受体的情况, 目前仍有争议, 有待进一步的研究.

3.2 腺苷与适应性免疫系统 各种T淋巴细胞是机体获得性免疫反应的实行细胞, 在机体特异性免疫应答中发挥重要的作用. 有资料表明, T细胞主要表达A2A与A2B受体[27]. 在炎症条件下, 淋巴细胞表面的A2A与A2B受体表达增加, 腺苷与淋巴细胞上的A2A受体结合抑制淋巴细胞迁移出血管, 减少IL-2、TNF-α及IFN-γ等细胞因子产生, 并抑制T细胞的增殖、迁移、存活, 从而发挥抗炎作用[28]. 腺苷作用于Treg细胞, 通过降低血管内皮表达的E选择素和P选择素而阻断效应T细胞与内皮的相互作用, 从而发挥抗炎作用, 而缺乏腺苷的Treg细胞的免疫抑制功能则减弱[29].

4 腺苷与疾病

4.1 腺苷与炎症性肠病 腺苷在炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)中的作用由相应的受体决定. 2008年Kolachala等[30]证实A2B腺苷受体在结肠炎疾病中有促炎症作用, 从而推测其受体拮抗剂能够用于治疗急性IBD的可能. 然而, Frick等[31]发现A2B腺苷受体能够诱导DSS结肠炎小鼠产生IL-10抗炎因子, 从而得出肠道上皮细胞表达的A2B腺苷受体为内源性保护分子. 因此, A2B腺苷受体在小鼠结肠炎模型中, 是有致病作用还是抗炎作用仍不明确, 有待进一步的研究. 2003年Mabley等[32]提出A3腺苷受体激动剂IB-MECA能减少DSS及*IL-10*基因敲除结肠炎小鼠肠道炎症细胞的浸润与肠道损伤并减少炎性细胞因子与化学因子的产生. 从而提出A3腺苷受体具有抗结肠炎的作用. 次年, Sullivan等[33]则提出IB-MECA的抗脂多糖所致的败血症及毒血症的作用可能是由于其与A2A受体结合所导致的. 2011年Ren等[34]通过使用敲除A3腺苷受体的小鼠模型, 得出激活突触前膜上的A3腺苷受体可调节神经递质的释放, 使肠道运动、排空及集团蠕动变慢, 从而促使粪便滞留. 并且A3受体的激活会加重DSS所致的结肠炎及组织损伤.

4.2 腺苷与其他疾病 腺苷不仅在炎症性肠病中发挥免疫调节作用.

Day等[35]通过使用腺苷A2A受体激动剂与拮抗剂及使用腺苷A2A受体敲除基因小鼠发现, 激活腺苷A2A受体, 可抑制T细胞表达IL-1α、IL-1β、IL-6、INF-β、INF-γ等炎症因子, 并抑制单核细胞趋化蛋白-1(monocyte chemotactic protein-1, MCP-1)的生成, 从而抑制缺血再灌注损伤中肝脏的炎症过程. 得出腺苷作用于A2A受体在缺血再灌注损伤中具有保护肝脏的作用. 最近也有学者得出腺苷具有保护肝脏缺血再灌注损伤, 同时得出腺苷的保护作用不依赖于腺苷受体[36]. 腺苷不仅在肝脏缺血再灌注损伤中具有保护作用, 其保护作用也可表现在肾脏、神经系统及心脏的缺血再灌注损伤[37,38]. 如腺苷在心肌缺血再灌注损伤中, 可通过抑制AMPK及P38 MAPK两种激酶, 阻滞心肌糖酵解及保护心肌, 改善左室功能[39].

肿瘤性疾病的手术切除率低, 术后复发率高, 死亡率高, 为探索新的治疗方法, 有学者研

■相关报道
国外Sun等报导腺苷在组织急性损伤过程中具有强大的抗炎作用及组织保护作用. 但其在慢性炎症过程中则发挥促炎作用及损伤组织作用. 腺苷的不同作用归因于其受体的表达水平的变化, 并进一步提出在慢性炎症中腺苷A2B受体具有促炎作用.

■创新盘点

本文从腺苷的代谢、作用机制、免疫反应及腺苷与疾病四个方面对腺苷的免疫调节作用进行了说明, 分析了近年来国内外对腺苷免疫调节的上述四个方面的研究进展, 探讨了腺苷今后的研究发展方向及其可能的临床用途, 加深了对腺苷免疫调节功能的认识.

究了腺苷与肿瘤的关系. 如肿瘤细胞可通过下调ADA表达, 使得肿瘤局部的腺苷水平增高, 发挥免疫抑制作用, 从而有利于肿瘤细胞的免疫逃逸[40]. 然而也有研究表明腺苷可通过上调抑癌基因*p53*的表达, 阻滞细胞周期的进展, 增加促凋亡蛋白的表达, 减少抗凋亡蛋白的表达, 诱导凋亡的发生, 而达到抑制前列腺癌细胞生长[41]. 有进一步的资料表明腺苷的抑癌作用是通过作用于腺苷A3受体, 上调抑癌基因*p53*的表达, 引起半胱天冬酶-9及半胱天冬酶-3的激活, 而诱导人类肺癌细胞的凋亡[42].

大量的免疫细胞参与了动脉粥样硬化的形成过程, 腺苷通过A2A、A2B受体调节单核巨噬细胞在间质的聚集, 调节动脉粥样硬化病变的发展[43,44]. 腺苷作用于A2B受体通过固醇调节原件结合蛋白-1(sterol regulatory element binding protein-1, SREBP-1)及其下游靶点ACC及FAS, 降血脂及抗动脉粥样斑块形成, 从而发挥抗动脉粥样硬化的作用[45]. 且腺苷作用于A2A受体, 上调ABCA1(ATP binding cassette transporter A1), ABCG1(ATP binding cassette transporter G1), 27-羟化酶(27-hydroxylase), 促进细胞内的胆固醇或磷脂的转运及代谢, 并抑制脂肪积聚于巨噬细胞, 减少泡沫细胞的形成, 而抗动脉粥样硬化[46]. Teng等[47]通过使用A1腺苷受体与载脂蛋白E双基因敲除小鼠研究动脉粥样硬化的损伤情况. 发现双基因敲除小鼠动脉粥样硬化进展程度较载脂蛋白E单基因敲除小鼠损伤程度轻, 而得出腺苷通过A1腺苷受体的促炎作用参与了动脉粥样硬化的发展过程.

腺苷除可能用于以上疾病的治疗外, 其通过调节免疫反应, 作用于其他免疫相关性疾病. 如2011年Mazzon等[48]指出A2A腺苷受体激动剂CGS21680可减轻小鼠胶原免疫性关节炎的炎症反应及组织损伤. Vincenzi等[49]亦证实腺苷可通过作用于腺苷A2A受体, 促进淋巴细胞分泌抗炎细胞因子IL-10, 调节免疫反应. 从而提出腺苷A2A受体可能成为风湿性关节炎的新的治疗靶点. 且腺苷在这些疾病中总体上均表现为保护作用, 但有研究表明在哮喘患者中腺苷的累积可引起气道的收缩, 加重哮喘患者的炎症反应[50,51].

5 结论

腺苷对机体的整体调节作用是抗炎作用, 且主要是通过与腺苷A2A受体结合介导的. 虽然, 选择性腺苷受体激动剂与拮抗剂以及敲除腺苷受体或敲除CD39或CD73的小鼠模型的出现, 对于我们进行腺苷及其受体在体内的作用的研究提供了很大的便利. 然而, 其具体的作用机制仍未完全阐明, 需要更为深入的研究. 目前, 腺苷受体拮抗剂茶碱已用于哮喘的临床治疗, 腺苷受体激动剂与拮抗剂在慢性阻塞性肺疾病、风湿性关节炎等疾病中也已用于临床试验. 但是, 在大部分免疫性疾病中, 对于腺苷及其受体的研究仅停留在体外及动物实验, 能否安全可靠的用于临床仍需依靠广大医学工作者的不懈努力. 随着对腺苷及其受体的相关研究, 有望对免疫性疾病患者提供更加有效的治疗.

6 参考文献

1 Peeters MC, Wisse LE, Dinaj A, Vroling B, Vriend G, Ijzerman AP. The role of the second and third extracellular loops of the adenosine A1 receptor in activation and allosteric modulation. *Biochem Pharmacol* 2012; 84: 76-87 [PMID: 22449615 DOI: 10.1016/j.bcp.2012.03.008]

2 Martin C, Leone M, Viviand X, Ayem ML, Guieu R. High adenosine plasma concentration as a prognostic index for outcome in patients with septic shock. *Crit Care Med* 2000; 28: 3198-3202 [PMID: 11008982 DOI: 10.1097/00003246-200009000-00014]

3 Sitkovsky MV, Ohta A. The 'danger' sensors that STOP the immune response: the A2 adenosine receptors? *Trends Immunol* 2005; 26: 299-304 [PMID: 15922945 DOI: 10.1016/j.it.2005.04.004]

4 Dwyer KM, Deaglio S, Gao W, Friedman D, Strom TB, Robson SC. CD39 and control of cellular immune responses. *Purinergic Signal* 2007; 3: 171-180 [PMID: 18404431 DOI: 10.1007/s11302-006-9050-y]

5 Kumar V, Sharma A. Adenosine: an endogenous modulator of innate immune system with therapeutic potential. *Eur J Pharmacol* 2009; 616: 7-15 [PMID: 19464286 DOI: 10.1016/j.ejphar.2009.05.005]

6 Thurner P, Gsandtner I, Kudlacek O, Choquet D, Nanoff C, Freissmuth M, Zezula J. A two-state model for the diffusion of the A2A adenosine receptor in hippocampal neurons: agonist-induced switch to slow mobility is modified by synapse-associated protein 102 (SAP102). *J Biol Chem* 2014; 289: 9263-9274 [PMID: 24509856 DOI: 10.1074/jbc.M113.505685]

7 Fredholm BB, IJzerman AP, Jacobson KA, Klotz KN, Linden J. International Union of Pharmacology. XXV. Nomenclature and classification of adenosine receptors. *Pharmacol Rev* 2001; 53: 527-552 [PMID: 11734617]

8 Cabrita MA, Baldwin SA, Young JD, Cass CE. Molecular biology and regulation of nucleoside and nucleobase transporter proteins in eukaryotes and prokaryotes. *Biochem Cell Biol* 2002; 80: 623-638 [PMID: 12440702 DOI: 10.1139/o02-153]

9 Sakowicz-Burkiewicz M, Pawelczyk T. Recent advances in understanding the relationship between adenosine metabolism and the function of T and B lymphocytes in diabetes. *J Physiol Pharmacol* 2011; 62: 505-512 [PMID: 22204797]

10 Mediero A, Kara FM, Wilder T, Cronstein BN. Ad-

enosine A(2A) receptor ligation inhibits osteoclast formation. *Am J Pathol* 2012; 180: 775-786 [PMID: 22138579 DOI: 10.1016/j.ajpath.2011.10.017]
11 Jacobson KA. Introduction to adenosine receptors as therapeutic targets. *Handb Exp Pharmacol* 2009; (193): 1-24 [PMID: 19639277]
12 Fredholm BB. Adenosine, an endogenous distress signal, modulates tissue damage and repair. *Cell Death Differ* 2007; 14: 1315-1323 [PMID: 17396131 DOI: 10.1038/sj.cdd.4402132]
13 Jacobson KA, Gao ZG. Adenosine receptors as therapeutic targets. *Nat Rev Drug Discov* 2006; 5: 247-264 [PMID: 16518376 DOI: 10.1038/nrd1983]
14 Chandrasekera PC, Wan TC, Gizewski ET, Auchampach JA, Lasley RD. Adenosine A1 receptors heterodimerize with β1- and β2-adrenergic receptors creating novel receptor complexes with altered G protein coupling and signaling. *Cell Signal* 2013; 25: 736-742 [PMID: 23291003 DOI: 10.1016/j.cellsig.2012.12.022]
15 Power Coombs MR, Belderbos ME, Gallington LC, Bont L, Levy O. Adenosine modulates Toll-like receptor function: basic mechanisms and translational opportunities. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2011; 9: 261-269 [PMID: 21342073 DOI: 10.1586/eri.10.158]
16 Romio M, Reinbeck B, Bongardt S, Hüls S, Burghoff S, Schrader J. Extracellular purine metabolism and signaling of CD73-derived adenosine in murine Treg and Teff cells. *Am J Physiol Cell Physiol* 2011; 301: C530-C539 [PMID: 21593451 DOI: 10.1152/ajpcell.00385.2010]
17 Schulte G, Fredholm BB. Signalling from adenosine receptors to mitogen-activated protein kinases. *Cell Signal* 2003; 15: 813-827 [PMID: 12834807 DOI: 10.1016/S0898-6568(03)00058-5]
18 Naganuma M, Wiznerowicz EB, Lappas CM, Linden J, Worthington MT, Ernst PB. Cutting edge: Critical role for A2A adenosine receptors in the T cell-mediated regulation of colitis. *J Immunol* 2006; 177: 2765-2769 [PMID: 16920910]
19 Ryzhov S, Goldstein AE, Biaggioni I, Feoktistov I. Cross-talk between G(s)- and G(q)-coupled pathways in regulation of interleukin-4 by A(2B) adenosine receptors in human mast cells. *Mol Pharmacol* 2006; 70: 727-735 [PMID: 16707627 DOI: 10.1124/mol.106.022780]
20 Abbracchio MP, Ceruti S. P1 receptors and cytokine secretion. *Purinergic Signal* 2007; 3: 13-25 [PMID: 18404415 DOI: 10.1007/s11302-006-9033-z]
21 Barletta KE, Ley K, Mehrad B. Regulation of neutrophil function by adenosine. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2012; 32: 856-864 [PMID: 22423037 DOI: 10.1161/ATVBAHA.111.226845]
22 Butler M, Sanmugalingam D, Burton VJ, Wilson T, Pearson R, Watson RP, Smith P, Parkinson SJ. Impairment of adenosine A3 receptor activity disrupts neutrophil migratory capacity and impacts innate immune function in vivo. *Eur J Immunol* 2012; 42: 3358-3368 [PMID: 23027555 DOI: 10.1002/eji.201242655]
23 Geissmann F, Manz MG, Jung S, Sieweke MH, Merad M, Ley K. Development of monocytes, macrophages, and dendritic cells. *Science* 2010; 327: 656-661 [PMID: 20133564 DOI: 10.1126/science.1178331]
24 Haskó G, Pacher P. Regulation of macrophage function by adenosine. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2012; 32: 865-869 [PMID: 22423038 DOI: 10.1161/ATVBAHA.111.226852]
25 Haskó G, Linden J, Cronstein B, Pacher P. Adenosine receptors: therapeutic aspects for inflammatory and immune diseases. *Nat Rev Drug Discov* 2008; 7: 759-770 [PMID: 18758473 DOI: 10.1038/nrd2638]
26 Gilles S, Fekete A, Zhang X, Beck I, Blume C, Ring J, Schmidt-Weber C, Behrendt H, Schmitt-Kopplin P, Traidl-Hoffmann C. Pollen metabolome analysis reveals adenosine as a major regulator of dendritic cell-primed T(H) cell responses. *J Allergy Clin Immunol* 2011; 127: 454-461.e1-9 [PMID: 21281872]
27 Ohta A, Gorelik E, Prasad SJ, Ronchese F, Lukashev D, Wong MK, Huang X, Caldwell S, Liu K, Smith P, Chen JF, Jackson EK, Apasov S, Abrams S, Sitkovsky M. A2A adenosine receptor protects tumors from antitumor T cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103: 13132-13137 [PMID: 16916931 DOI: 10.1073/pnas.0605251103]
28 Linden J, Cekic C. Regulation of lymphocyte function by adenosine. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2012; 32: 2097-2103 [PMID: 22772752 DOI: 10.1161/ATVBAHA.111.226837]
29 Ring S, Oliver SJ, Cronstein BN, Enk AH, Mahnke K. CD4+CD25+ regulatory T cells suppress contact hypersensitivity reactions through a CD39, adenosine-dependent mechanism. *J Allergy Clin Immunol* 2009; 123: 1287-1296.e2 [PMID: 19427686 DOI: 10.1016/j.jaci.2009.03.022]
30 Kolachala VL, Vijay-Kumar M, Dalmasso G, Yang D, Linden J, Wang L, Gewirtz A, Ravid K, Merlin D, Sitaraman SV. A2B adenosine receptor gene deletion attenuates murine colitis. *Gastroenterology* 2008; 135: 861-870 [PMID: 18601927 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.05.049]
31 Frick JS, MacManus CF, Scully M, Glover LE, Eltzschig HK, Colgan SP. Contribution of adenosine A2B receptors to inflammatory parameters of experimental colitis. *J Immunol* 2009; 182: 4957-4964 [PMID: 19342675 DOI: 10.4049/jimmunol.0801324]
32 Mabley J, Soriano F, Pacher P, Haskó G, Marton A, Wallace R, Salzman A, Szabó C. The adenosine A3 receptor agonist, N6-(3-iodobenzyl)-adenosine-5'-N-methyluronamide, is protective in two murine models of colitis. *Eur J Pharmacol* 2003; 466: 323-329 [PMID: 12694816 DOI: 10.1016/S0014-2999(03)01570-X]
33 Sullivan GW, Fang G, Linden J, Scheld WM. A2A adenosine receptor activation improves survival in mouse models of endotoxemia and sepsis. *J Infect Dis* 2004; 189: 1897-1904 [PMID: 15122527 DOI: 10.1086/386311]
34 Ren T, Grants I, Alhaj M, McKiernan M, Jacobson M, Hassanain HH, Frankel W, Wunderlich J, Christofi FL. Impact of disrupting adenosine A(3) receptors (A(3)(-)/(-) AR) on colonic motility or progression of colitis in the mouse. *Inflamm Bowel Dis* 2011; 17: 1698-1713 [PMID: 21744424 DOI: 10.1002/ibd.21553]
35 Day YJ, Marshall MA, Huang L, McDuffie MJ, Okusa MD, Linden J. Protection from ischemic liver injury by activation of A2A adenosine receptors during reperfusion: inhibition of chemokine induction. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2004; 286: G285-G293 [PMID: 14715520 DOI: 10.1152/ajpgi.00348.2003]
36 Módis K, Gerő D, Stangl R, Rosero O, Szijártó A, Lotz G, Mohácsik P, Szoleczky P, Coletta C, Szabó C. Adenosine and inosine exert cytoprotective effects

■应用要点

本文提出腺苷的免疫调节作用在大量的疾病的治疗中的可能用途, 但目前尚无确切的临床应用资料, 有待进一步研究.

■同行评价
本文内容全面、深入, 表达清楚、简练, 具有可读性.

in an in vitro model of liver ischemia-reperfusion injury. *Int J Mol Med* 2013; 31: 437-446 [PMID: 23232950 DOI: 10.3892/ijmm.2012.1203]
37 Day YJ, Huang L, McDuffie MJ, Rosin DL, Ye H, Chen JF, Schwarzschild MA, Fink JS, Linden J, Okusa MD. Renal protection from ischemia mediated by A2A adenosine receptors on bone marrow-derived cells. *J Clin Invest* 2003; 112: 883-891 [PMID: 12975473 DOI: 10.1172/JCI15483]
38 Rork TH, Wallace KL, Kennedy DP, Marshall MA, Lankford AR, Linden J. Adenosine A2A receptor activation reduces infarct size in the isolated, perfused mouse heart by inhibiting resident cardiac mast cell degranulation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2008; 295: H1825-H1833 [PMID: 18757481 DOI: 10.1152/ajpheart.495.2008]
39 Omar MA, Verma S, Clanachan AS. Adenosine-mediated inhibition of 5'-AMP-activated protein kinase and p38 mitogen-activated protein kinase during reperfusion enhances recovery of left ventricular mechanical function. *J Mol Cell Cardiol* 2012; 52: 1308-1318 [PMID: 22484620 DOI: 10.1016/j.yjmcc.2012.03.014]
40 黎万玲, 牟芝蓉, 傅晓岚, 吴玉章. 肿瘤细胞诱导T细胞下调表达腺苷脱氨酶. 免疫学杂志 2008; 24: 417-423
41 Aghaei M, Karami-Tehrani F, Panjehpour M, Salami S, Fallahian F. Adenosine induces cell-cycle arrest and apoptosis in androgen-dependent and -independent prostate cancer cell lines, LNcap-FGC-10, DU-145, and PC3. *Prostate* 2012; 72: 361-375 [PMID: 21656837 DOI: 10.1002/pros.21438]
42 Otsuki T, Kanno T, Fujita Y, Tabata C, Fukuoka K, Nakano T, Gotoh A, Nishizaki T. A3 adenosine receptor-mediated p53-dependent apoptosis in Lu-65 human lung cancer cells. *Cell Physiol Biochem* 2012; 30: 210-220 [PMID: 22759968 DOI: 10.1159/000339058]
43 陈文娜, 李曦明. 动脉粥样硬化发生的免疫学机制. 免疫学杂志 2004; 20: 109-111
44 Grandoch M, Hoffmann J, Röck K, Wenzel F, Oberhuber A, Schelzig H, Fischer JW. Novel effects of adenosine receptors on pericellular hyaluronan matrix: implications for human smooth muscle cell phenotype and interactions with monocytes during atherosclerosis. *Basic Res Cardiol* 2013; 108: 340 [PMID: 23440385 DOI: 10.1007/s00395-013-0340-6]
45 Koupenova M, Johnston-Cox H, Vezeridis A, Gavras H, Yang D, Zannis V, Ravid K. A2b adenosine receptor regulates hyperlipidemia and atherosclerosis. *Circulation* 2012; 125: 354-363 [PMID: 22144568 DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.111.057596]
46 Voloshyna I, Carsons S, Littlefield MJ, Rieger JM, Figler R, Reiss AB. Adenosine A(2A) receptor activation supports an atheroprotective cholesterol balance in human macrophages and endothelial cells. *Biochim Biophys Acta* 2013; 1831: 407-416 [PMID: 23168167 DOI: 10.1016/j.bbalip.2012.11.005]
47 Teng B, Smith JD, Rosenfeld ME, Robinet P, Davis ME, Morrison RR, Mustafa SJ. A(2A) adenosine receptor deficiency or inhibition reduces atherosclerotic lesions in apolipoprotein E deficient mice. *Cardiovasc Res* 2014; 102: 157-165 [PMID: 24525840 DOI: 10.1093/cvr/cvu033]
48 Mazzon E, Esposito E, Impellizzeri D, DI Paola R, Melani A, Bramanti P, Pedata F, Cuzzocrea S. CGS 21680, an agonist of the adenosine (A2A) receptor, reduces progression of murine type II collagen-induced arthritis. *J Rheumatol* 2011; 38: 2119-2129 [PMID: 21765105 DOI: 10.3899/jrheum.110111]
49 Vincenzi F, Padovan M, Targa M, Corciulo C, Giacuzzo S, Merighi S, Gessi S, Govoni M, Borea PA, Varani K. A(2A) adenosine receptors are differentially modulated by pharmacological treatments in rheumatoid arthritis patients and their stimulation ameliorates adjuvant-induced arthritis in rats. *PLoS One* 2013; 8: e54195 [PMID: 23326596 DOI: 10.1371/journal.pone.0054195]
50 Polosa R. Finding better therapeutic targets for patients with asthma: adenosine receptors? *Br J Pharmacol* 2008; 155: 441-443 [PMID: 18852692 DOI: 10.1038/bjp.2008.364]
51 Cicala C, Ialenti A. Adenosine signaling in airways: toward a promising antiasthmatic approach. *Eur J Pharmacol* 2013; 714: 522-525 [PMID: 23850943 DOI: 10.1016/j.ejphar.2013.06.033]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com
世界华人消化杂志 2014年6月18日; 22(17): 2385-2392
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

基础研究 BASIC RESEARCH

榄香烯乳对人胰腺癌移植瘤组织中凋亡相关蛋白表达的影响

张莉娜, 陈 恳, 钱 俐, 胡迎青, 许丽娜, 周国雄, 张 弘

张莉娜, 陈恳, 许丽娜, 周国雄, 张弘, 南通大学附属医院消化内科 江苏省南通市 226001
钱俐, 南通大学附属医院肿瘤科 江苏省南通市 226001
胡迎青, 南通大学免疫学系 江苏省南通市 226001
张莉娜, 主要从事消化系统疾病的研究.
南通大学附属医院基金资助项目, No. Tdfy0932
作者贡献分布: 张莉娜与张弘对此文所作贡献均等; 此课题由张莉娜、陈恳及张弘设计; 研究过程由张莉娜、陈恳及许丽娜操作完成; 研究所用试剂及分析工具由张弘、胡迎青、钱俐及周国雄提供; 数据分析由张莉娜完成; 本论文写作由张莉娜与张弘完成.
通讯作者: 张弘, 研究员, 226001, 江苏省南通市崇川区西寺路20号, 南通大学附属医院消化内科. zhangh111@sina.com
收稿日期: 2014-03-24 修回日期: 2014-04-09
接受日期: 2014-04-28 在线出版日期: 2014-06-18

Effect of treatment with elemene on expression of apoptosis-related proteins in pancreatic carcinoma xenografts in nude mice

Li-Na Zhang, Ken Chen, Li Qian, Ying-Qing Hu, Li-Na Xu, Guo-Xiong Zhou, Hong Zhang

Li-Na Zhang, Ken Chen, Li-Na Xu, Guo-Xiong Zhou, Hong Zhang, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China
Li Qian, Department of Oncology, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China
Ying-Qing Hu, Department of Immunology, School of Medicine, Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China
Supported by: the Foundation of Affiliated Hospital of Nantong University, No. Tdfy0932
Correspondence to: Hong Zhang, Researcher, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Nantong University, 20 Xisi Road, Chongchuan District, Nantong 226001, Jiangsu Province,
China. zhangh111@sina.com
Received: 2014-03-24 Revised: 2014-04-09
Accepted: 2014-04-28 Published online: 2014-06-18

Abstract

AIM: To investigate the expression of PTEN, p53 and Bcl-2 proteins in pancreatic carcinoma xenografts in nude mice after treatment with elemene, and to explore the effect of elemene on the apoptosis of pancreatic cancer cells.

METHODS: Thirty mice with subcutaneous xenografts of a pancreatic cancer cell line (SW1990) were randomly divided into five groups: a negative control group, low- and high-dose elemene-treated groups, a gemcitabine-treated group, and an elemene plus gemcitabine group. Western blot and immunohistochemical staining were used to determine the expression of PTEN, p53 and Bcl-2 proteins in pancreatic carcinoma xenografts in nude mice after treatment with elemene.

RESULTS: The expression of PTEN and p53 proteins had a trend of up-regulation, while the expression of Bcl-2 protein had a trend of down-regulation in pancreatic carcinoma xenografts in nude mice after treatment with elemene. The results of immunohistochemical staining showed the same trend. Compared with the negative control group, the expression of p53 was significantly up-regulated, while Bcl-2 was down-regulated in the high-dose elemene group. Compared with the gemcitabine-treated group, the expression of p53 was significantly up-regulated, but Bcl-2 had no significant change in the combination treatment group. Immunohistochemical staining showed similar results to Western blot analysis.

CONCLUSION: Elemene can up-regulate the expression of PTEN and p53 proteins and down-regulate the expression of Bcl-2 protein in pancreatic cancer in a dose dependent manner, thereby inducing the apoptosis of pancreatic cancer cells.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Elemene; Pancreatic carcinoma; PTEN; P53; Bcl-2

Zhang LN, Chen K, Qian L, Hu YQ, Xu LN, Zhou GX, Zhang H. Effect of treatment with elemene on expression of apoptosis-related proteins in pancreatic carcinoma xenografts in nude mice. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

■背景资料
胰腺癌是一种高度侵袭性的恶性肿瘤, 5年生存率不到5%. 吉西他滨是治疗胰腺癌的常用一线化疗药物, 然而单用吉西他滨作用有限, 肿瘤敏感性只有12%, 显然需要新的不同类型的治疗方法来治疗胰腺癌. 榄香烯已被国内证明在肺癌、白血病、肝癌、膀胱癌、胃癌、癌性腹水等治疗中是行之有效的. 榄香烯是否能在胰腺癌的治疗中达到很好的疗效仍有待进一步研究.

■同行评议者
杜奕奇, 副教授, 中国人民解放军第二军医大学长海医院

■研发前沿
目前榄香烯乳抗肿瘤的研究主要着重于基础研究，包括体内外实验研究榄香烯乳本身以及联合其他抗肿瘤药物后诱导凋亡、抑制增殖的作用，榄香烯仍未在临床得到广泛应用，尚缺乏临床研究.

2014; 22(17): 2385-2392 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2385.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i17.2385

摘要

目的: 了解榄香烯乳干预治疗后人胰腺癌裸鼠移植瘤组织中PTEN、P53、Bcl-2蛋白的表达情况, 初步探讨榄香烯乳对胰腺癌凋亡的影响.

方法: 构建人胰腺癌裸鼠移植瘤模型, 随机分为阴性对照组、榄香烯乳小剂量组、榄香烯乳大剂量组、吉西他滨阳性对照组和联合用药组五组, 分别干预处理; 采用Western blot和免疫组织化学的方法检测榄香烯乳干预治疗后人胰腺癌移植瘤组织细胞中PTEN、P53、Bcl-2蛋白表达情况.

结果: Western blot结果显示榄香烯乳干预治疗后人胰腺癌移植瘤细胞中PTEN和P53蛋白表达均有升高趋势, 而Bcl-2蛋白表达有下降的趋势. 榄香烯乳大剂量组与阴性对照组相比, P53蛋白表达显著升高(P<0.01)而Bcl-2蛋白表达显著降低(P<0.01). 联合用药组与吉西他滨阳性对照组相比, P53蛋白表达显著升高(P<0.01), 而Bcl-2蛋白表达降低不明显(P = 0.985) . 免疫组织化学结果显示与Western blot结果大致相同的变化趋势.

结论: 一定剂量的榄香烯乳可以增强胰腺癌裸鼠移植瘤组织中P53蛋白的表达而降低Bcl-2蛋白的表达, 从而起到促进胰腺癌细胞凋亡的作用.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 榄香烯乳; 胰腺癌; PTEN; P53; Bcl-2

核心提示: 本研究证实榄香烯在体内能够通过P53蛋白和Bcl-2蛋白家族相关的线粒体细胞凋亡途径诱导胰腺癌细胞的凋亡, 并且大剂量榄香烯乳抗胰腺癌作用显著. 所以, 榄香烯乳有望成为临床治疗胰腺癌的新的化疗药物. 当然, 榄香烯乳抗胰腺癌的作用机制及临床应用价值仍有待进一步的研究与评价.

张莉娜, 陈恩, 钱俐, 胡迎青, 许丽娜, 周国雄, 张弘. 榄香烯乳对人胰腺癌移植瘤组织中凋亡相关蛋白表达的影响. 世界华人消化杂志 2014; 22(17): 2385-2392 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2385.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i17.2385

0 引言

榄香烯(elemene)是从姜科植物莪术中提取出来的抗癌有效成分[1]. 大量的实验研究证实, 榄香烯能够促进肿瘤细胞凋亡、抑制肿瘤增殖[2,3]. 目前临床上常采用的榄香烯乳剂是以β-榄香烯为主要成分, 同时含有少量α-榄香烯及γ-榄香烯. 榄香烯乳已广泛应用于临床多种肿瘤的治疗, 如肺癌、胶质母细胞瘤和前列腺癌等[4-7], 但较少应用于胰腺癌, 相关的实验研究也较少, 榄香烯在胰腺癌发生发展中的作用机制仍有待更深入的研究. 本课题组前期体外实验发现榄香烯乳对胰腺癌Panc-1细胞具有诱导凋亡、抑制增殖的作用[8], 但其诱导凋亡、抑制增殖的确切机制尤其是其调控的上游信号途径仍有待进一步研究. 本研究采用构建人胰腺癌裸鼠移植瘤模型, 检测榄香烯乳干预治疗后移植瘤内PTEN(phosphatase and tensin homologue deleted from chromosome 10又称为MMAC1, mutated in multiple advance cancers 1)、P53以及Bcl-2蛋白的表达情况, 旨在探讨榄香烯乳对胰腺癌凋亡作用的影响.

1 材料和方法

1.1 材料 人胰腺癌SW1990细胞株. Balb/C裸鼠30只, 雌雄各半, 由南通大学医学院实验动物中心提供, 在南通大学医学院实验动物中心SPF级环境下饲养. 榄香烯乳注射液由大连华立金港药业有限公司提供; PTEN兔抗人单克隆抗体购自百奇生物科技(苏州)有限公司. P53鼠抗人单克隆抗体购自武汉博士德生物工程有限公司; Bcl-2兔抗人单克隆抗体购自武汉博士德生物工程有限公司; β-actin鼠抗人单克隆抗体购自百奇生物科技(苏州)有限公司.

1.2 方法

1.2.1 细胞培养: SW1990细胞用含有10%胎牛血清的DMEM培养基, 于37 ℃及5%CO_2的湿化培养箱中培养, 每2-3 d换液并传代, 将处于对数期的细胞用0.25%胰蛋白酶消化并收集, 细胞计数离心, 调整细胞浓度为1×10^7个/mL接种备用.

1.2.2 人胰腺癌移植瘤动物模型构建及药物干预: 按照要求在裸鼠左腋后接种胰腺癌细胞SW1990约1×10^6个后, 第10天移植瘤体积达约100 mm^3时, 将裸鼠随机分为5组, 每组6只, 雌雄各半, 分组饲养. 阳性对照组: 腹腔注射吉西他滨25 mg/kg, 1次/3 d; 阴性对照组: 腹腔注射脂肪乳0.2 mL/只, 1次/d; 榄香烯乳低剂量组: 腹腔注射榄香烯20 mg/kg, 1次/d; 榄香烯乳高剂量组: 腹腔注射榄香烯60 mg/kg, 1次/d; 联合用药

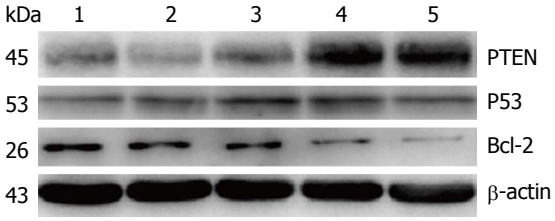


图 1 Western blot检测PTEN、P53、Bcl-2在各组肿瘤细胞中的表达. 1: 阴性对照组; 2: 榄香烯乳小剂量组; 3: 榄香烯乳大剂量组; 4: 吉西他滨阳性对照组; 5: 联合用药组.

组: 榄香烯20 mg/kg, 1次/d, 腹腔注射吉西他滨25 mg/kg, 1次/d. 肿瘤细胞接种后第28日脱颈处死实验动物, 取皮下肿瘤组织, 每块肿瘤组织分为两部分: 一部分液氮冷冻后-80 ℃保存以备Western blot检测使用; 一部分40 g/L甲醛溶液固定, 石蜡包埋以备免疫组织化学检测使用.

1.2.3 Western blot方法检测PTEN、P53在各组肿瘤细胞中的表达: 预留的冻存组织用预冷的PBS缓冲液洗涤后放入预冷的组织匀浆器, 加入组织匀浆缓冲液(50 mmol/L Tis-Hcl pH 7.5, 150 mmol/L NaCl, 1 mmol/L phenylmethylsulfonyl fluoride, 4 μg/mL leupeptin, 1 μg/mL aprotinin), 在冰浴中匀浆, 4 ℃ 10000 r/min离心, 收集上清. BCA法测定蛋白浓度, 按照100 μg/孔蛋白量进行10%SDS-PAGE电泳并转膜, 转好的PVDF膜封闭孵抗体后ECL显影, Syngene GBOX凝胶成像仪扫描, Quantity one软件分析.

1.2.4 免疫组织化学方法检测PTEN、P53、Bcl-2在各组肿瘤组织中的表达: 免疫组织化学操作方法采用EnVision二步法, 试剂盒购自北京中山生物技术有限公司. 4 μm石蜡切片, 微波加热法抗原修复, 采用已知阳性细胞作阳性对照, 采用PBS液代替一抗作阴性对照. 免疫组织化学结果由两位高年资病理医师采用双盲法阅片以获得统一结果为准, 光镜下观察整个视野, 在良好组织结构和清晰的背景下, 以细胞核或细胞浆出现棕黄色或黄色颗粒作为阳性染色. 0分(-), 阳性细胞数<5%; 1分(+), 阳性细胞数5%-25%; 2分(++), 阳性细胞数25%-50%; 3分(+++), 阳性细胞数>50%. 评估目的组织中阳性细胞数占细胞总数的百分率.

统计学处理 所有数据采用SPSS19.0统计软件进行统计分析, 所得数据以mean±SD表示, 重复测量的方差分析进行5组裸鼠肿瘤体积的比较, Western blot结果采用One-way ANOVA单因素方差分析, 免疫组织化学结果采用Fisher's确切概率法, 以$P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 Western blot方法检测PTEN、P53、Bcl-2在各组肿瘤细胞中的表达 在各组肿瘤细胞中可检测到PTEN蛋白的54 kDa的条带、P53蛋白的53 kDa的条带、Bcl-2蛋白的26 kDa的条带以及内参β-actin蛋白的43 kDA的条带(图1). PTEN蛋白在各组间的表达经统计分析显示: 各组间差异有统计学意义($F = 6.358$, $P = 0.001$), 组间多重比较显示榄香烯乳小剂量($P = 0.215$)和大剂量组($P = 0.430$)相比于阴性对照组虽然PTEN表达量升高, 但差异无统计学意义; 吉西他滨组($P = 0.000$)和联合用药组($P = 0.006$)相比于阴性对照组PTEN表达量显著升高; 并且联合用药组表达量低于吉西他滨阳性对照组, 但差异无统计学意义($P = 0.133$). 其各组相对表达量(图2A).

P53蛋白表达在各组间的表达经统计分析显示: 各组间差异有统计学意义($F = 18.320$, $P = 0.001$). 组间多重比较显示榄香烯乳大剂量组相比于阴性对照组P53蛋白表达显著升高($P = 0.001$); 联合用药组P53蛋白表达量高于吉西他滨阳性相比对照组($P = 0.001$), 其各组的相对表达量如图2B.

经统计分析, Bcl-2蛋白表达各组间差异有统计学意义($F = 4.87$, $P = 0.007$). 组间多重比较显示榄香烯乳大剂量组相比于阴性对照组Bcl-2蛋白表达显著降低($P = 0.001$); 联合用药组相比于吉西他滨阳性对照组Bcl-2蛋白表达差异无统计学意义($P = 0.985$). 其各组相对表达量如图2C.

2.2 组织学的改变

2.2.1 移植瘤组织学的变化: 我们对各组移植瘤组织进行了常规染色(HE染色)观察, 各组癌组织呈现了不同的形态变化(图3). 阴性对照组腺癌组织部分呈巢状, 部分呈腺管状, 部分腔内见大量黏液潴留, 细胞核大小不一, 异型明显, 癌组织中及周围少量淋巴细胞浸润(图3A); 小剂量组腺癌组织部分腺管状腔内见黏液变少, 癌组织中及周围可见有较多的淋巴细胞浸润(图3B); 大剂量组和吉西他滨组在癌组织及癌周组织中可见有较多的急性炎细胞浸润(图3C, D); 联合用药组部分癌细胞呈变性坏死, 癌组织中分泌细胞减少, 癌组织及癌周组织中见大量急慢炎细胞浸润(图3E). 其他用药组组织形态呈过度状, 可见有急慢炎细胞浸润.

2.2.2 免疫组织化学检测移植瘤中PTEN的表达: 人胰腺癌裸鼠移植瘤组织中PTEN阳性表达产物呈棕黄色颗粒, 主要分布于细胞浆. 阴性对照

■相关报道
本课题组前期体外实验发现榄香烯乳对胰腺癌Panc-1细胞具有诱导凋亡、抑制增殖的作用, 但其诱导凋亡、抑制增殖的确切机制尤其是其调控的上游信号途径仍有待进一步研究.

■创新盘点

本研究采用构建人胰腺癌裸鼠移植瘤模型，检测榄香烯乳干预治疗后移植瘤内PTEN、P53以及Bcl-2蛋白的表达情况，探讨了榄香烯乳对胰腺癌凋亡作用的影响.

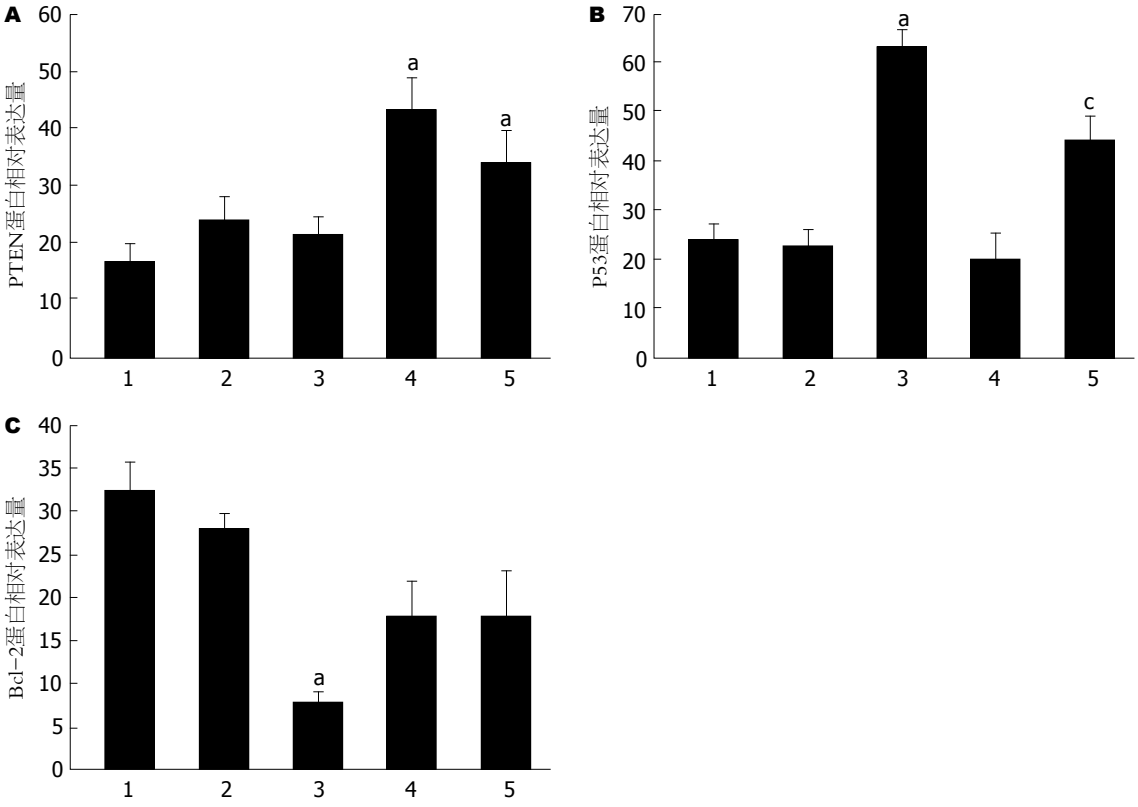


图 2 人胰腺癌移植瘤中PTEN、P53和Bcl-2蛋白的表达. A: PTEN: 各组间差异有统计学意义(F = 6.358, P = 0.001); B: P53各组间差异有统计学意义(F = 18.320, P = 0.001); C: Bcl-2(F = 4.87, P = 0.007). ^{a}P<0.05 *vs* 阴性对照组; ^{c}P<0.05 *vs* 吉西他滨阳性对照组. 1: 阴性对照组; 2: 榄香烯乳小剂量组; 3: 榄香烯乳大剂量组; 4: 吉西他滨阳性对照组; 5: 联合用药组.

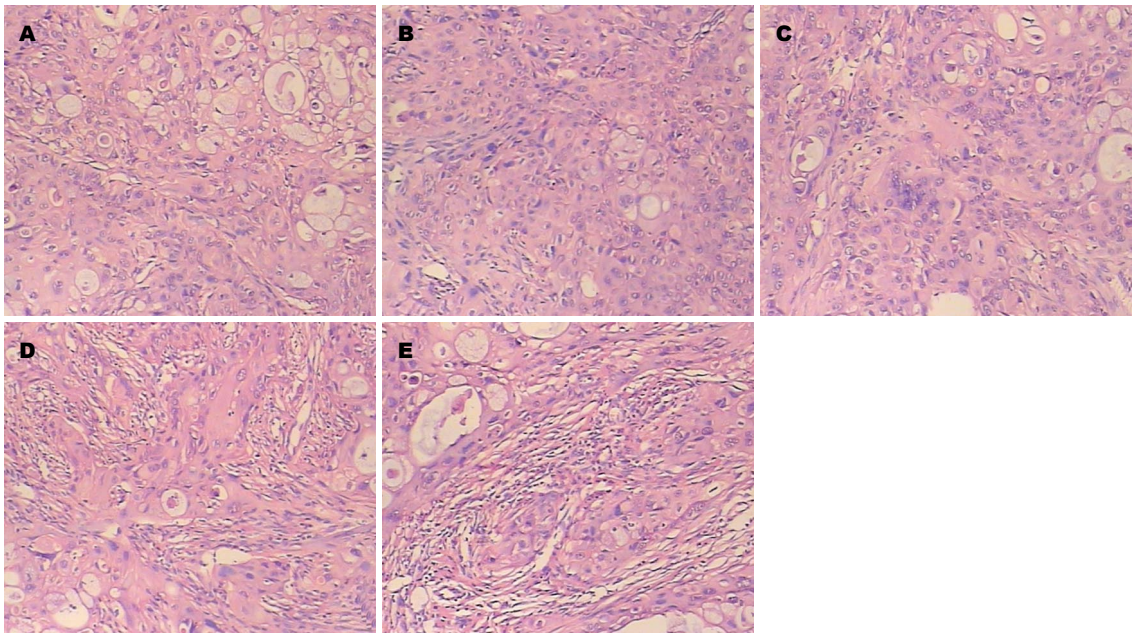


图 3 各组移植瘤组织HE染色(×100). A: 阴性对照组; B: 榄香烯乳小剂量组: C: 榄香烯乳大剂量组; D: 吉西他滨阳性对照组; E: 联合用药组.

组PTEN阳性表达产物较少，榄香烯乳干预组PTEN阳性表达产物随着药物剂量的增大而增强，吉西他滨阳性对照组和联合用药组表达更强(图4).

2.2.3 免疫组织化学检测移植瘤中P53的表达: 人胰腺癌裸鼠移植瘤组织中P53阳性表达产物呈棕黄色颗粒，主要分布于细胞核. 阴性对照组细胞核P53阳性表达产物较少，榄香烯乳干预组癌

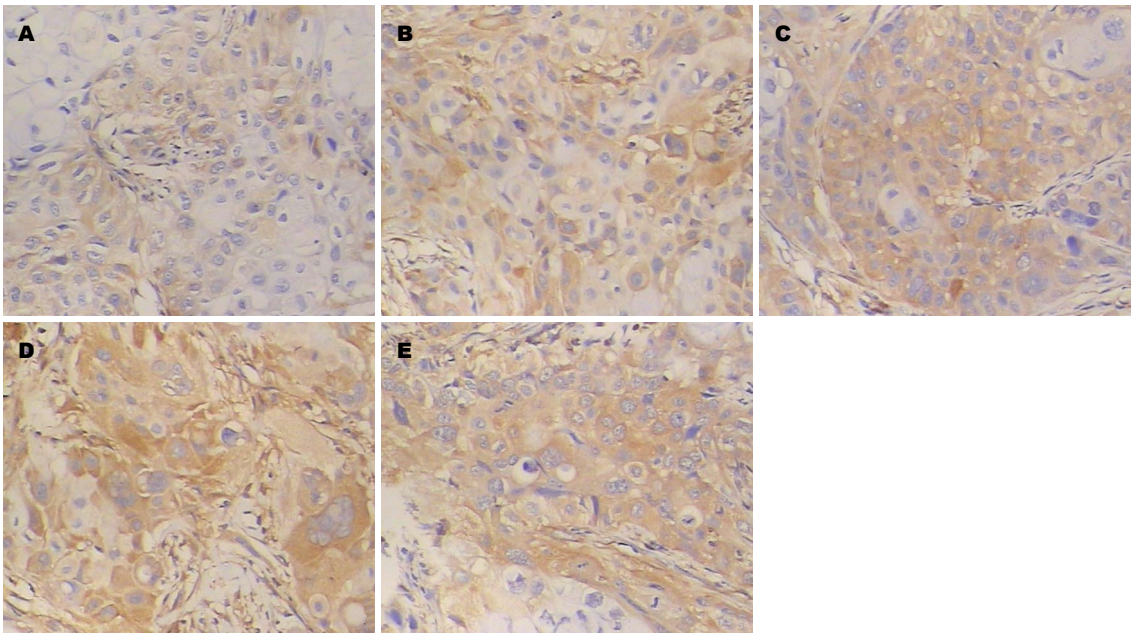


图 4 人胰腺癌裸鼠移植瘤组织中PTEN蛋白的表达(EnVision × 200). A: 阴性对照组; B: 榄香烯乳小剂量组: C: 榄香烯乳大剂量组; D: 吉西他滨阳性对照组; E: 联合用药组.

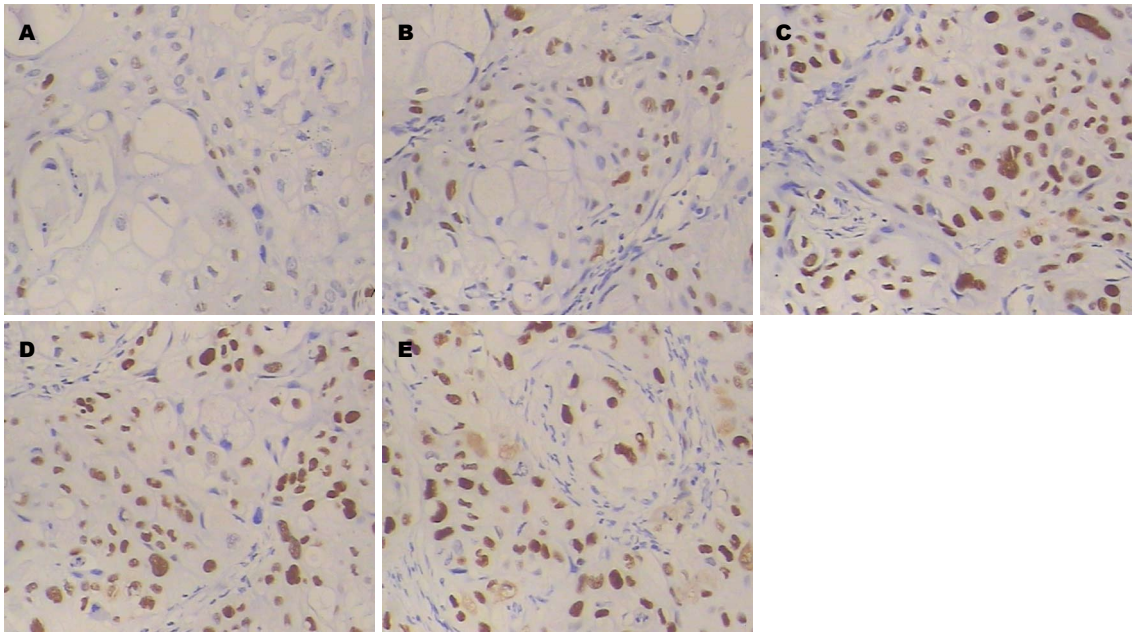


图 5 人胰腺癌裸鼠移植瘤组织中P53蛋白的表达(EnVision × 200). A: 阴性对照组; B: 榄香烯乳小剂量组: C: 榄香烯乳大剂量组; D: 吉西他滨阳性对照组; E: 联合用药组.

组织细胞核中P53阳性表达产物随着药物剂量的增大而增强, 细胞核深染, 吉西他滨阳性对照组和联合用药组表达更强(图5).

2.2.4 免疫组织化学检测移植瘤中Bcl-2的表达: 人胰腺癌裸鼠移植瘤组织中Bcl-2阳性表达产物呈棕黄色颗粒, 主要分布于细胞浆. 阴性对照组Bcl-2阳性表达产物较多, 榄香烯乳干预组Bcl-2阳性表达产物随着药物剂量的增大而减少, 吉西他滨阳性对照组和联合用药组Bcl-2阳性表达产物呈更少(图6) .

3 讨论

胰腺癌是高度恶性的消化系肿瘤之一, 在美国是癌症相关死亡的第四大首要原因, 5年生存率只有6%[9]. 在世界范围内在所有新发现的肿瘤患者中有超过2%的胰腺癌患者[10]. 我国胰腺癌

■应用要点

本研究探讨榄香烯乳干预治疗后人胰腺癌裸鼠移植瘤组织中凋亡相关蛋白的表达, 以证实榄香烯乳是否能诱导胰腺癌凋亡以达到治疗目的, 为胰腺癌临床治疗提供新的思路与方法.

■同行评价
本文设计合理, 具有一定临床指导意义.

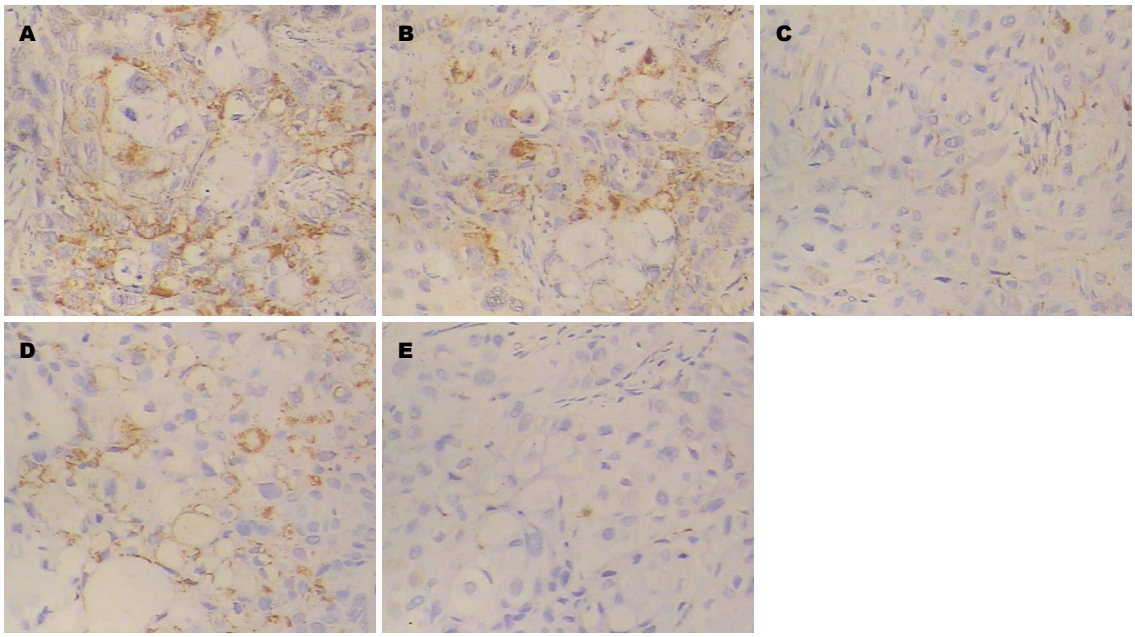


图 6 人胰腺癌裸鼠移植瘤组织中Bcl-2蛋白的表达(EnVision × 200). A: 阴性对照组; B: 榄香烯乳小剂量组: C: 榄香烯乳大剂量组; D: 吉西他滨阳性对照组; E: 联合用药组.

发病率逐年上升, 且有年轻化的趋势. 虽然放疗和化疗等手段对于延长患者生存期起到了一定的作用, 但是患者总体生存期仍不足24 mo[11,12]. 且胰腺癌对于常规化疗药物吉西他滨有一定的抵抗性, 治疗效果有限[13,14], 因此, 迫切需要寻找新的有效的治疗药物和治疗策略. 本课题组前期体外实验研究发现, 榄香烯乳能够显著抑制胰腺癌Panc-1细胞株增殖并促进其凋亡[8]. 本研究通过构建人胰腺癌裸鼠移植瘤模型, 研究榄香烯乳干预治疗以后与肿瘤细胞凋亡相关的蛋白如PTEN、P53和Bcl-2的表达情况, 发现榄香烯乳能够促进肿瘤细胞中P53的表达而抑制Bcl-2的表达, 但对PTEN无明显的促进作用.

PTEN蛋白由抑癌基因*PTEN*基因编码, 是一种对偶的特异性的磷酸酶, 能够将磷脂酰肌醇-3,4,5-三磷酸(phosphatidylinositol-3,4,5-triphosphare, PIP3)去磷酸化为磷脂酰肌醇-4,5-二磷脂(phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate, PIP2). 因此, 他是磷酸肌醇3激酶/ATP-依赖的络氨酸激酶(PI3K/Akt)信号途径的有效阻滞剂[15,16], 从而调控多种细胞功能, 包括细胞增殖、分化、凋亡等[17,18]. 有研究证实在体外实验中β-榄香烯能通过抑制MAPK/ERK和PI3K/Akt/mTOR信号途径诱导人肾细胞癌786-0细胞凋亡, 说明PI3K/Akt信号途径是β-榄香烯诱导肿瘤细胞凋亡的途径之一[19]. 而PTEN是PI3K/Akt信号途径重要的上游调控因子, β-榄香烯是否直接作用于PTEN来调控PI3K/Akt信号途径以诱导凋亡的. 本研究中Western blot和免疫组织化学结果均显示榄香烯乳干预后胰腺癌组织中的PTEN蛋白有升高的趋势, 但差异无统计学意义(P>0.05), 这说明PTEN可能不是榄香烯乳引起胰腺癌细胞凋亡、发挥抑癌作用的直接作用因子, 也可能是因为榄香烯的抗癌作用具有肿瘤细胞特异性[20].

Bcl-2蛋白家族是参与调控细胞凋亡的重要调控分子, 其分为两类: 一类是抗凋亡蛋白, 如Bcl-2; 一类是促凋亡蛋白, 如Bax. 细胞对凋亡刺激的敏感性取决于抗凋亡蛋白与促凋亡蛋白两者的比例[21-23]. P53蛋白由抑癌基因*TP53*基因编码, 可通过P53-Bax线粒体途径调控细胞凋亡[23-25]. 且研究证实β-榄香烯是通过线粒体介导的Caspase活性途径来诱导细胞凋亡[5], 并且β-榄香烯能够降低肺癌和前列腺癌中Bcl-2的表达而增加细胞色素C、ADP核糖聚合酶(ADP-ribose polymerase; PARP)以及Caspase3、Caspase7和Caspase9的表达[26], β-榄香烯在体内的抗癌作用具有浓度剂量依赖性, 半抑制浓度值(50% inhibiting concentration, IC_{50})达数百微摩尔, 并且取决于肿瘤细胞的类型[27].

本研究中结果显示榄香烯乳干预治疗后, 大剂量组胰腺癌组织中P53蛋白表达量显著说升高, 而Bcl-2蛋白表达量显著降低, 但小剂量组中P53蛋白和Bcl-2蛋白表达有升高或降低的趋势, 但差异无统计学意义, 从而提示胰腺癌对P53蛋

白和Bcl-2蛋白表达的调控有一定的剂量依赖关系; 联合用药组与吉西他滨阳性对照组相比, 胰腺癌组织中P53蛋白和Bcl-2蛋白表达的改变差异并无统计学意义, 可能是因为联合用药组中榄香烯乳用量为小剂量, 不能与吉西他滨起到很好的协同作用, 同样提示榄香烯乳对P53蛋白和Bcl-2蛋白表达的调控有一定的剂量依赖关系; 榄香烯乳大剂量能组与吉西他滨阳性对照组相比, P53蛋白表达明显升高而Bcl-2蛋白表达明显降低, 说明大剂量榄香烯乳对于诱导胰腺癌凋亡相关蛋白表达方面可能发挥与吉西他滨相似甚至更显著的作用. 结合前述结果分析可知, 榄香烯乳促进胰腺癌细胞凋亡的作用主要是通过调控与P53蛋白和Bcl-2蛋白家族相关的线粒体细胞凋亡途径实现的, 并且具有剂量依赖性, 与其他榄香烯相关研究结果相一致.

本研究证实榄香烯在体内能够通过P53蛋白和Bcl-2蛋白家族相关的线粒体细胞凋亡途径诱导胰腺癌细胞的凋亡, 并且大剂量榄香烯乳抗胰腺癌作用显著. 因为榄香烯细胞毒性小[20,28], 高浓度的榄香烯的抗癌作用在部分肿瘤中要优于某些肿瘤化疗药物, 如多柔比星、紫杉醇、喜树碱和长春新碱等[29,30], 所以, 榄香烯乳有望成为临床治疗胰腺癌的新的化疗药物. 当然, 榄香烯乳抗胰腺癌的作用机制及临床应用价值仍有待进一步的研究与评价.

4 参考文献

1 Zhang R, Tian A, Zhang H, Zhou Z, Yu H, Chen L. Amelioration of experimental autoimmune encephalomyelitis by β-elemene treatment is associated with Th17 and Treg cell balance. *J Mol Neurosci* 2011; 44: 31-40 [PMID: 21246417 DOI: 10.1007/s12031-010-9483-1]

2 Li QQ, Wang G, Zhang M, Cuff CF, Huang L, Reed E. beta-Elemene, a novel plant-derived antineoplastic agent, increases cisplatin chemosensitivity of lung tumor cells by triggering apoptosis. *Oncol Rep* 2009; 22: 161-170 [PMID: 19513519]

3 Dai ZJ, Tang W, Lu WF, Gao J, Kang HF, Ma XB, Min WL, Wang XJ, Wu WY. Antiproliferative and apoptotic effects of β-elemene on human hepatoma HepG2 cells. *Cancer Cell Int* 2013; 13: 27 [PMID: 23496852 DOI: 10.1186/1475-2867-13-27]

4 Yao CC, Tu YR, Jiang J, Ye SF, Du HX, Zhang Y. β-elemene reverses the drug resistance of lung cancer A549/DDP cells via the mitochondrial apoptosis pathway. *Oncol Rep* 2014; 31: 2131-2138 [PMID: 24627125 DOI: 10.3892/or.2014.3083]

5 Yao YQ, Ding X, Jia YC, Huang CX, Wang YZ, Xu YH. Anti-tumor effect of beta-elemene in glioblastoma cells depends on p38 MAPK activation. *Cancer Lett* 2008; 264: 127-134 [PMID: 18442668 DOI: 10.1016/j.canlet.2008.01.049]

6 Li QQ, Wang G, Reed E, Huang L, Cuff CF. Evaluation of cisplatin in combination with β-elemene as a regimen for prostate cancer chemotherapy. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2010; 107: 868-876 [PMID: 22545969 DOI: 10.1111/j.1742-7843.2010.00592.x]

7 Cai DY, Gao X, Wu XH, Hong TT. [Synergistic effect of beta-elemene injection combined paclitaxel injection on human breast cancer MB-468 cells: an in vitro study]. *Zhongguo Zhongxiyi Jiehe Zazhi* 2013; 33: 978-982 [PMID: 24063225]

8 朱郁飞, 陈恳, 钱俐, 张莉娜, 魏群, 李峰, 张弘, 胡迎青. 榄香烯乳对人胰腺癌细胞株Panc-1增殖和凋亡的影响. 江苏医药 2013; 39: 2516-2519

9 Jemal A, Siegel R, Xu J, Ward E. Cancer statistics, 2010. *CA Cancer J Clin* 2010; 60: 277-300 [PMID: 20610543 DOI: 10.3322/caac.20073]

10 Braat H, Bruno M, Kuipers EJ, Peppelenbosch MP. Pancreatic cancer: promise for personalised medicine? *Cancer Lett* 2012; 318: 1-8 [PMID: 22178657 DOI: 10.1016/j.canlet.2011.11.034]

11 Yu CK, Yu SN, Lu ZH, Chen J. [Research advances in microRNA in pancreatic ductal adenocarcinoma]. *Zhongguo Yixuekexueyuan Xuebao* 2011; 33: 575-581 [PMID: 22338146]

12 Riediger H, Keck T, Wellner U, zur Hausen A, Adam U, Hopt UT, Makowiec F. The lymph node ratio is the strongest prognostic factor after resection of pancreatic cancer. *J Gastrointest Surg* 2009; 13: 1337-1344 [PMID: 19418101 DOI: 10.1007/s11605-009-0919-2]

13 Shi S, Yao W, Xu J, Long J, Liu C, Yu X. Combinational therapy: new hope for pancreatic cancer? *Cancer Lett* 2012; 317: 127-135 [PMID: 22138436 DOI: 10.1016/j.canlet.2011.11.029]

14 Thota R, Pauff JM, Berlin JD. Treatment of metastatic pancreatic adenocarcinoma: a review. *Oncology* (Williston Park) 2014; 28: 70-74 [PMID: 24683721]

15 Krausch M, Raffel A, Anlauf M, Schott M, Willenberg H, Lehwald N, Hafner D, Cupisti K, Eisenberger CF, Knoefel WT. Loss of PTEN expression in neuroendocrine pancreatic tumors. *Horm Metab Res* 2011; 43: 865-871 [PMID: 22105477 DOI: 10.1055/s-0031-1291333]

16 Ma J, Sawai H, Ochi N, Matsuo Y, Xu D, Yasuda A, Takahashi H, Wakasugi T, Takeyama H. PTEN regulates angiogenesis through PI3K/Akt/VEGF signaling pathway in human pancreatic cancer cells. *Mol Cell Biochem* 2009; 331: 161-171 [PMID: 19437103 DOI: 10.1007/s11010-009-0154-x]

17 Ma J, Sawai H, Matsuo Y, Ochi N, Yasuda A, Takahashi H, Wakasugi T, Funahashi H, Sato M, Takeyama H. IGF-1 mediates PTEN suppression and enhances cell invasion and proliferation via activation of the IGF-1/PI3K/Akt signaling pathway in pancreatic cancer cells. *J Surg Res* 2010; 160: 90-101 [PMID: 19560785 DOI: 10.1016/j.jss.2008.08.016]

18 Shroff S, Overman MJ, Rashid A, Shroff RT, Wang H, Chatterjee D, Katz MH, Lee JE, Wolff RA, Abbruzzese JL, Fleming JB, Wang H. The expression of PTEN is associated with improved prognosis in patients with ampullary adenocarcinoma after pancreaticoduodenectomy. *Arch Pathol Lab Med* 2013; 137: 1619-1626 [PMID: 24168499 DOI: 10.5858/arpa.2012-0418-OA]

19 Zhan YH, Liu J, Qu XJ, Hou KZ, Wang KF, Liu YP, Wu B. β-Elemene induces apoptosis in human renal-cell carcinoma 786-0 cells through inhibition

of MAPK/ERK and PI3K/Akt/ mTOR signalling pathways. *Asian Pac J Cancer Prev* 2012; 13: 2739-2744 [PMID: 22938451]
20 Chen W, Lu Y, Wu J, Gao M, Wang A, Xu B. Beta-elemene inhibits melanoma growth and metastasis via suppressing vascular endothelial growth factor-mediated angiogenesis. *Cancer Chemother Pharmacol* 2011; 67: 799-808 [PMID: 20563582 DOI: 10.1007/s00280-010-1378-x]
21 Youle RJ, Strasser A. The Bcl-2 protein family: opposing activities that mediate cell death. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2008; 9: 47-59 [PMID: 18097445]
22 Chen D, Zheng X, Kang D, Yan B, Liu X, Gao Y, Zhang K. Apoptosis and expression of the Bcl-2 family of proteins and P53 in human pancreatic ductal adenocarcinoma. *Med Princ Pract* 2012; 21: 68-73 [PMID: 22024503 DOI: 10.1159/000332423]
23 Liu ZH, Wang MH, Ren HJ, Qu W, Sun LM, Zhang QF, Qiu XS, Wang EH. Interleukin 7 signaling prevents apoptosis by regulating Bcl-2 and bax via the p53 pathway in human non-small cell lung cancer cells. *Int J Clin Exp Pathol* 2014; 7: 870-881 [PMID: 24695377]
24 Li J, Lee B, Lee AS. Endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis: multiple pathways and activation of p53-up-regulated modulator of apoptosis (PUMA) and NOXA by p53. *J Biol Chem* 2006; 281: 7260-7270 [PMID: 16407291]
25 Liu XF, Jiang H, Zhang CS, Yu SP, Wang ZQ, Su HL. Targeted drug regulation on methylation of p53-BAX mitochondrial apoptosis pathway affects the growth of cholangiocarcinoma cells. *J Int Med Res* 2012; 40: 67-75 [PMID: 22429346]
26 Wang G, Li X, Huang F, Zhao J, Ding H, Cunningham C, Coad JE, Flynn DC, Reed E, Li QQ. Antitumor effect of beta-elemene in non-small-cell lung cancer cells is mediated via induction of cell cycle arrest and apoptotic cell death. *Cell Mol Life Sci* 2005; 62: 881-893 [PMID: 15868411]
27 Li QQ, Wang G, Huang F, Banda M, Reed E. Antineoplastic effect of beta-elemene on prostate cancer cells and other types of solid tumour cells. *J Pharm Pharmacol* 2010; 62: 1018-1027 [PMID: 20663036 DOI: 10.1111/j.2042-7158.2010.01135.x]
28 Li X, Wang G, Zhao J, Ding H, Cunningham C, Chen F, Flynn DC, Reed E, Li QQ. Antiproliferative effect of beta-elemene in chemoresistant ovarian carcinoma cells is mediated through arrest of the cell cycle at the G2-M phase. *Cell Mol Life Sci* 2005; 62: 894-904 [PMID: 15868412]
29 Grott M, Karakaya S, Mayer F, Baertling F, Beyer C, Kipp M, Kopp HG. Progesterone and estrogen prevent cisplatin-induced apoptosis of lung cancer cells. *Anticancer Res* 2013; 33: 791-800 [PMID: 23482746]
30 Li L, Xu L, Qu X, Zhao M, Yu P, Kang J, Liu Y, Hu X. Cbl-regulated Akt and ERK signals are involved in β-elemene-induced cell apoptosis in lung cancer cells. *Mol Med Rep* 2011; 4: 1243-1246 [PMID: 21837364 DOI: 10.3892/mmr.2011.548]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com
世界华人消化杂志 2014年6月18日; 22(17): 2393-2398
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

广西隆安县农村壮族人群功能性消化不良的流行病学调查

姚 萍, 梁列新, 董卫国, 张法灿, 农 兵, 周庆南, 陆海英, 黄平君

姚萍, 梁列新, 张法灿, 农兵, 周庆南, 广西壮族自治区人民医院消化内科 广西壮族自治区南宁市 530021
董卫国, 武汉大学人民医院 湖北省武汉市 430060
陆海英, 隆安县人民医院 广西壮族自治区南宁市隆安县 532700
黄平君, 隆安县乔建乡中心卫生院 广西壮族自治区南宁市隆安县 532707
姚萍, 住院医师, 主要从事功能性胃肠病的临床研究.
国家科技支撑基金资助项目, No. 2007BAI07A17-01
作者贡献分布: 姚萍负责数据收集、分析和论文撰写; 董卫国与张法灿负责课题设计、组织实施及资料整理分析; 梁列新参与课题设计、具体实施、指导数据分析及论文撰写; 农兵、周庆南、陆海英及黄平君参加调查.
通讯作者: 张法灿, 教授, 530021, 广西壮族自治区南宁市桃源路6号, 广西壮族自治区人民医院消化内科. zhangfacan@163.com
电话: 0771-2186184
收稿日期: 2014-03-14 修回日期: 2014-05-01
接受日期: 2014-05-06 在线出版日期: 2014-06-18

An epidemiologic survey of functional dyspepsia in Zhuang people in Longan rural area of Guangxi Zhuang Autonomous Region

Ping Yao, Lie-Xin Liang, Wei-Guo Dong, Fa-Can Zhang, Bing Nong, Qing-Nan Zhou, Hai-Ying Lu, Ping-Jun Huang

Ping Yao, Lie-Xin Liang, Fa-Can Zhang, Bing Nong, Qing-Nan Zhou, the People's Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China
Wei-Guo Dong, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, Hubei Province, China
Hai-Ying Lu, the People's Hospital of Longan County, Longan 532700, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China
Ping-Jun Huang, Qiaojian Town Health Center, Longan 532707, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China
Supported by: the National Science and Technology Foundation, No. 2007BAI07A17-01
Correspondence to: Fa-Can Zhang, Professor, the People's Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, 6 Taoyuan Road, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. zhangfacan@163.com
Received: 2014-03-14 Revised: 2014-05-01
Accepted: 2014-05-06 Published online: 2014-06-18

Abstract

AIM: To conduct an epidemiologic survey of the prevalence of and risk factors for functional dyspepsia (FD) in Zhuang population in Longan County, Guangxi Zhuang Autonomous Region.

METHODS: Cluster random sampling was performed to collect samples from Zhuang people in Longan rural area, and data were collected by face-to-face interview according to the Rome III Diagnostic Questionnaire for adult FGIDs. FD was diagnosed according to the Scoring Algorithm for Rome III Diagnostic Questionnaire for adult FGIDs. The prevalence of FD was counted and the risk factors for FD were analyzed.

RESULTS: A total of 2200 questionnaires were issued and 1951 were returned, with a response rate of 88.68%. The overall prevalence of FD among the Zhuang population in Longan rural area was 7.89%. The major symptoms for FD were diverse. Upper abdominal pain or burning sensation was reported in 94.81% of FD cases, abdominal bloating after meals and early satiety in 43.15% and 1.30%, respectively, and multiple overlapping symptoms in 38.1%. The prevalence of FD differs by gender, age, marriage and educational status ($P < 0.05$). The prevalence of FD in females was higher than that in males and increased with the age. FD was more common among in widows/widowers and in the population with a low level of education. Multivariate analysis revealed that cold, spicy food habit and fatigue were closely related to FD. Logistic multi-factor regression analysis showed that there was a positive correlation between the sour taste and pickled food habit with FD ($P < 0.05$).

CONCLUSION: The overall prevalence of FD in Zhuang population of Longan is 7.89%. Abdominal pain and burning sensation at the upper abdomen are common symptoms of this disease, and the factors that affect this disease mainly include age, gender, degree of education, and food habits.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Functional dyspepsia; Rome III criteria; Epidemiology; Prevalence; Risk factor

Yao P, Liang LX, Dong WG, Zhang FC, Nong B, Zhou

■背景资料
功能性消化不良(functional dyspepsia, FD)为常见病、多发病, 全球范围内普通人群消化不良的患病率为7%-45%, FD的患病率为11.5%-29.2%. 欧洲的调查显示, 20%的人群患有消化不良症状并且因此而进行专业咨询, 其中50%的消化不良患者大部分时间需要药物控制症状, 而50%的患者会因消化不良症状影响到学习和工作. 因此, 消化不良是一种值得关注的健康和社会问题.

■同行评议者
陈卫昌, 教授, 苏州大学附属第一医院消化内科

■研发前沿
FD是常见病、多发病，尽管国内外做了大量的研究，但其发病机制仍未阐明. 不同人群FD的流行病学特征不尽相同，针对以上的未知领域及研究仍有争议的地方，需要更广泛和深入的研究.

QN, Lu HY, Huang PJ. An epidemiologic survey of functional dyspepsia in Zhuang people in Longan rural area of Guangxi Zhuang Autonomous Region. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(17): 2393-2398 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2393.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i17.2393

摘要

目的: 调查广西隆安县农村壮族人群功能性消化不良(functional dyspepsia, FD)的患病率及其影响因素, 为本地区FD的防治提供一定的科学依据.

方法: 于2009年采用成人功能性胃肠病罗马III诊断性问卷及评分方法, 整群随机抽样方法, 对隆安县农村常住壮族人群进行FD患病情况的面访式调查, 分析人群的FD患病率、患病特点及其影响因素.

结果: (1)共发放问卷2200份, 回收有效问卷1951份, 有效回收率达88.68%, 其中154例诊断为FD, 隆安县农村壮族人群FD的总体患病率为7.89%; (2)FD患者中, 上腹部疼痛或烧灼感发生率最高为94.81%、餐后饱胀不适为43.15%, 早饱感为1.30%, 其中多个症状重叠率为38.1%; (3)不同性别、年龄、婚姻状况及文化程度的FD患病率不同(P<0.05): 女性患病率高于男性; 随着年龄的增长, FD的患病率呈升高的趋势; 丧偶者的患病率更高; 文化程度越低的患者FD的患病率越高; (4)与FD症状发作相关的因素中以生冷食品、辛辣、劳累与FD发作的关系最密切; (5)Logistic多因素回归分析结果: 喜酸、喜腌制品与FD的患病呈正相关(P<0.05).

结论: 隆安县农村壮族人群FD的总体患病率为7.89%, 消化不良症状以上腹部疼痛或上腹烧灼感为常见, 影响疾病的因素主要有年龄、性别、文化程度、饮食习惯等.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 功能性消化不良; 罗马III标准; 流行病学; 农村人群; 壮族

核心提示: 本研究表明, 功能性消化不良(functional dyspepsia)是壮族人群的常见病和多发病, 影响疾病的因素主要有年龄、性别、文化程度、饮食习惯等.

姚萍, 梁列新, 董卫国, 张法灿, 农兵, 周庆南, 陆海英, 黄平君. 广西隆安县农村壮族人群功能性消化不良的流行病学调查. 世界华人消化杂志 2014; 22(17): 2393-2398 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2393.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i17.2393

0 引言

功能性消化不良(functional dyspepsia, FD)是指来源于胃十二指肠区域的消化不良症状, 排除可以解释这种症状的器质性、全身性和代谢性疾病. 这些症状包括上腹痛、上腹烧灼感、餐后饱胀和早饱. FD是一种常见病和多发病, 全球范围内普通人群消化不良的患病率为7%-45%, FD的患病率为11.5%-29.2%[1]. 因此, 消化不良是一种值得关注的健康和社会问题. 国内外针对FD的病因及其影响因素做了大量的研究, 目前的研究表明[2], 影响FD的患病因素包括: 年龄、性别、种族、地区、吸烟、饮酒、非甾体类抗炎药、幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染、饮食因素、社会经济地位及精神心理因素等. 但是国内的FD流行病学资料仅来自少数地区, 目前缺乏有关农村地区、尤其是边远落后地区少数民族农村人群的研究资料. 广西是边远落后地区, 也是壮族的发源地和主要的壮族人群聚居地, 隆安县是国家级贫困县, 壮族人口占总人口的94.15%, 目前有关壮族人群FD的患病情况仍缺乏. 本研究通过对广西隆安县农村壮族人群FD的患病率及其影响因素进行研究, 为本地区少数民族农村人群的FD防治提供一定的理论依据.

1 材料和方法

1.1 材料 隆安县辖4乡6镇, 总人口37万, 按乡、村、屯进行整群随机抽样, 抽取隆安县乔建乡2个村6个屯的农村常住居民, 该镇总人口39203人. 其中, 农业人口37471人(2003-2004年官方数据), 对年龄为18-80岁, 性别不限, 户口登记为壮族的农业人口进行调查. 根据国内调查FD患病率的中间值15%计算, 取容许误差0.15P, 应调查人数1008人左右, 实际调查人数2200人. 回收有效问卷1951份, 回收率达88.68%.

1.2 方法

1.2.1 调查问卷: 采用基于功能性胃肠病罗马III标准为蓝本、自行设计的调查问卷, 调查内容包括: 一般情况(姓名、年龄、性别、文化程度、吸烟史、饮酒史、饮食习惯及既往病史等)、消化不良症状(消化不良的症状、时间和频率)、其他伴随症状(恶心、呕吐、嗳气、反

酸、纳差等)、报警症状(黑便、血便、呕血、体质量明显下降、吞咽困难等)、与消化系症状发作相关的因素(饮食习惯、生活习惯、情绪及精神方面)及就诊情况问卷(是否进行过胃镜检查、检查的次数及每年的就诊费用).

1.2.2 调查: 由调查员进村入户进行面访式调查, 首次失访者需再次入户面访, 所有调查在1 mo内完成.

1.2.3 调查员: 均具有流行病学调查经验的医务人员, 调查前经过培训并考核合格, 调查在消化专业医师的指导下进行.

1.2.4 调查问卷质量控制: 问卷收回后由专人逐份检查, 剔除空白问卷、不完整问卷及可疑虚假问卷, 问卷由2人统一编号, 1人编写, 1人复核, 以保证编号的唯一性.

1.2.5 判断标准和评价指标: (1)判断标准: 消化不良症状评分标准、FD诊断标准及排除标准参照文献[3]进行. (2)评价指标: 以百分数表示人群总的FD患病率、各变量的FD患病率; 以相对危险度表示各变量对FD患病的影响.

统计学处理 用SPSS17.0软件进行统计分析. 患病率以百分率表示, 分类资料采用卡方分析、等级资料采用秩和检验, 采用Logistic回归进行多因素分析. $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 调查对象的一般情况 共调查2200人, 收回1951份有效合格问卷进行统计分析, 回收率为88.68%. 调查对象的一般情况及其对FD患病的影响如表1.

2.2 调查对象的主要消化不良症状发生率 根据调查问卷设计调查的主要症状共5项, 分别为与心脏无关的胸部正中的疼痛或不适、烧心、餐后饱胀不适、早饱感及不向胸骨后放射的上腹正中疼痛或烧灼感, 其中不向胸骨后放射的上腹正中疼痛或烧灼感的频率最高, 占15.74%, 其次为餐后饱胀不适和与心脏无关的胸痛, 分别为8.10%和4.15%, 烧心及早饱感频率较低, 分别为3.49%和0.67%. 各主要症状男性发生频率为20.13%, 女性为46.51%, 总体发生频率为32.14%.

2.3 FD的人群患病率 对回收的1951份合格调查问卷(其中男性1063人, 女性888人)按照FD的诊断和排除标准进行诊断, FD的总患病人数为154例, 总患病率为7.89%(154/1951); 其中男性52例, 患病率为4.89%(52/1063); 女性102例, 患病率为11.49%(89/888), 女性患病率明显高于男性(表1).

2.4 FD患者中主要消化不良症状的发生频率 根据罗马III诊断标准, 诊断FD的主要症状包括餐后饱胀不适、早饱感、上腹痛或上腹烧灼感中的一种或多种, 在FD患者中, 上腹痛或上腹烧灼感的发生频率最高, 为94.81%, 其次为餐后饱胀不适, 为43.15%, 早饱感的发生频率仅为1.30%.

2.5 FD患病率与年龄的关系 将调查人群按每10岁为一年龄段进行年龄分组: <30岁、30-39岁、40-49岁、50-59岁、≥60岁组(由于<20岁、≥70岁的人数偏少, 将其归至邻近的年龄组)(表1). 结果显示, FD患病率随着年龄的增长逐渐升高, 主要集中在中老年阶段, 即50岁以上人群, 尤其是60岁以上人群的患病率最高为17.55%, 其次为50-59岁人群, 患病率为14.93%, 再者为40-49岁人群, 其患病率为10.17%.

2.6 FD患病率与文化程度的关系 将调查人群按文化程度划分为文盲、小学、中学、中专及以上4种程度(表1), 其中文盲的患病率为14.58%, 小学文化程度的患病率为15.40%, 中学文化程度的患病率为3.65%, 中专及以上文化程度的患病率为1.75%. 结果提示, 文化程度低者FD患病率高.

2.7 FD患者症状发作的影响因素 表2显示, 生冷食品、辛辣、劳累等因素与FD症状发作的关系较密切. 在FD患者中, 消化不良症状的发作, 87.01%与生冷食品有关, 其次为辛辣和劳累, 发生率分别为52.60%和32.47%.

2.8 不同生活方式的FD患病率 该研究显示不同的饮食习惯、生活方式, 其FD的患病率亦不同, 其中吸烟与不吸烟者FD的患病率为5.85% *vs* 8.58%($P<0.05$); 饮酒与不饮酒FD的患病率为5.52% *vs* 9.19%($P<0.05$); 喜食酸性食物与不食酸性食物的患病率为11.03% *vs* 4.55%($P<0.05$); 喜食腌制品与不食腌制品的患病率为14.22% *vs* 6.11%($P<0.05$); 喝茶与不喝茶的患病率为9.80% *vs* 7.84%($P>0.05$); 主食以干为主与以稀为主的患病率为7.81% *vs* 13.33%($P>0.05$); 喜食辛辣食物与不食辛辣食物的患病率为8.34% *vs* 7.47%($P>0.05$).

2.9 FD的影响因素分析

2.9.1 FD患病率与调查人群一般情况的关系: 表1结果显示, 不同性别、年龄、婚姻状况及不同文化程度FD的患病率不同. 女性患病率高于男性; 年龄越大FD的患病率越高; 丧偶患者FD的患病率更高; 文化程度越低, FD的患病率越高.

■相关报道
国内外对普通自然人群进行了较为广泛的FD流行病学研究, 不同的研究显示FD的患病率不尽相同, FD的患病率受多种因素的影响如: 地区、性别、年龄、种族、环境、生活习惯、饮食习惯等, 而不同人群的疾病影响因素也不尽相同, 有待进一步的研究.

■应用要点
广泛开展不同自然人群的FD流行病学调查, 对了解不同人群的疾病相关危险因素, 提高FD的防治水平具有重要的理论意义和现实意义.

表 1 调查对象基本情况及其对人群功能性消化不良患病率的影响

人员基本属性	因素	调查人数	功能性消化不良患病人数	患病率(%)	*P*值
性别	男	1063	52	4.89	<0.05
	女	888	102	11.49	
年龄(岁)	<30	481	0	0.00	
	30–39	408	12	2.94	
	40–49	482	49	10.17	<0.05
	50–59	335	50	14.93	
	≥60	245	43	17.55	
婚姻	单身	351	2	0.57	
	已婚	1528	132	8.64	
	分居	7	0	0.00	<0.05
	离异	2	0	0.00	
	丧偶	63	20	31.75	
文化程度	文盲	48	7	14.58	
	小学	669	103	15.40	<0.05
	中学	1177	43	3.65	
	中专及以上	57	1	1.75	

表 2 功能性消化不良患者消化不良症状发作的影响因素

与症状发作相关的因素	病例人数(*n*)	占患者比例(%)
生冷食品	134	87.01
辛辣	81	52.60
水果	0	0.00
饮酒	24	15.58
受凉	27	17.53
乳制品	0	0.00
劳累	50	32.47
情绪不佳	4	2.60
精神刺激	1	0.65

表 3 不同生活方式对FD患病的影响分析

危险因素	OR	95%CI	*P*值
吸烟	0.65	0.429–0.986	<0.05
饮酒	0.60	0.421–0.855	<0.05
喝茶	1.25	0.536–2.915	>0.05
主食以干为主	0.59	0.233–1.490	>0.05
喜酸	2.43	1.728–3.418	<0.05
喜辣	1.01	0.743–1.363	>0.05
喜腌制品	2.33	1.716–3.156	<0.05

FD: 功能性消化不良.

2.9.2 FD患病率与生活方式的关系: 表3表明, FD的患病率与喝茶、主食的种类及是否喜辣无明显关系(P>0.05); 而吸烟、饮酒、喜酸、喜腌制品的饮食习惯与FD的患病率均有明显的关系(P<0.05), 吸烟和饮酒与FD的患病率呈负相关, 为FD的保护因素; 喜酸和喜腌制品与FD的患病率呈正相关, 为FD的危险因素.

2.9.3 FD发病相关因素Logistic回归分析: 将FD患者和非FD患者在生活方式上有显著性差异的因素吸烟、饮酒、喜酸、喜腌制品引入Logistic回归分析模型, 结果显示, FD患病与吸烟、饮酒无关(P>0.05), 而与喜酸和喜腌制品呈显著正相关(P<0.05)(表4).

3 讨论

FD的病因及发病机制尚未完全明确, 目前比较公认的病因及发病机制有胃肠动力障碍、内脏高敏感性、胃肠激素分泌紊乱、精神心理因素及*H. pylori*感染等, 其患病的影响因素包括: 年龄、性别、种族、地区、生活及饮食习惯、社会经济地位、非甾体类抗炎药(non-steroid anti-inflammatory drug, NSAID)、*H. pylori*感染及精神心理等[2]. 不同人群具有不同的生活环境、不同的遗传背景、不同的生活习性、不同的社会经济条件等. 因此, 不同人群的FD患病情况及其影响因素有可能存在差异.

本研究的调查结果显示, 隆安县农村地区壮族人群FD的总体患病率为7.89%, 低于国内外的研究结果[1,4-10]. 高于王利营等[11]对河南兰考县农村人群功能性胃肠病的调查结果, 造成这些差异的原因可能与诊断标准不同、调查人群的种族、生活环境、社会经济条件、遗传背景等差

表 4 不同生活方式的多因素Logistic回归模型分析

影响因素	回归系数	标准误	Walds	自由度	*P*值	相对危险度
吸烟史	0.276	0.295	0.879	1	0.349	1.318
饮酒史	−0.280	0.315	0.792	1	0.374	0.756
喜酸	−0.482	0.242	3.965	1	0.046	0.618
喜腌制品	−0.869	0.237	13.405	1	0.000	0.419
对照	0.303	0.377	0.645	1	0.422	1.354

■同行评价
本文对于了解少数民族FD的发生情况有一定意义.

异有关. 目前, 国内外关于少数民族的FD的流行病学调查较少, 不同民族人群的疾病发病情况及其影响因素仍有待阐明. 总之, FD的患病率可能受多种因素影响, 应加强FD影响因素的研究.

本研究显示, 其中男性人群FD患病率为4.89%(52/1063), 女性患病率为11.49%(102/888), 女性患病率明显高于男性. 在亚洲, 多数研究均提示FD的患病率与性别无明显关系, Shaib等[12]的研究表明男性的患病率较女性高, 其男性患病率较女性高的原因并未阐明. 国外的一些研究提示女性FD的患病率明显高于男性[13-16]. 有研究显示, 造成不同性别FD患病率不同的原因可能与女性雌激素有关[17]. 因此, 性别对FD患病率的影响与否目前尚无定论, 仍需要进一步的深入研究.

本研究发现, 不同年龄段FD患病率不同, 总的趋势是年龄越大, 患病率越高. 目前, FD患病与年龄的关系仍存在争议, 多数研究表明FD患病率与年龄无关[2]. 但是也有一部分研究表明FD患病率在年龄方面存在一定的趋势, 加拿大的研究表明FD的高发人群主要集中在45-54岁之间[18], 中国的高发年龄为41-50岁[19], 而日本为50-59岁[8]. 另外有研究表明FD的患病率随着年龄的增加呈减少的趋势[13,15,20]. 本调查研究存在的不足之处为低年龄段和高年龄段人数过少, 有可能影响调查结果. 因此, 不同年龄与FD患病率的关系及其变化趋势以及这些可能存在的差异是一种生物学现象还是社会文化原因所致, 尚无定论, 值得进一步的研究.

本研究发现文化教育程度影响FD的患病率, 文化程度较低者FD的患病率较高. 国内外针对FD患者的职业、居住环境、经济条件等做了研究, 美国、加拿大、英国等研究[17,21]发现经济收入较低、失业、受教育水平较低、家庭人口数较多、居住环境比较拥挤的人群FD的患病率更高, 与本研究结果一致. 而马来西亚[22,23]及广东[24]的调查显示市区居民的患病率高于农村人群, 表明文化水平高的人群FD的患病率反而更高. 但是瑞典和意大利的研究报道FD与受教育程度无关[25]. 以上结果说明, 作为一个影响FD患病的因素, 文化教育程度在不同的人群可能产生不同的影响. 有研究提示, 较低的教育程度者生活水平较低, 生存压力较大; 而较高教育程度者也面临较大的工作压力, 两者都可出现社会心理问题[1]. 因此, 在分析文化程度对FD患病影响时, 应深入探讨与文化程度相关的其他社会经济和精神心理因素.

本调查发现在与FD症状发作相关的各种因素中以食生冷、辛辣食品诱发FD症状最为常见, 分别占87.01%和52.60%, 其次为劳累, 占32.47%. 有研究报道[26]生冷、辛辣食品容易诱发FD的机制为刺激性食物容易造成胃黏膜损伤以及胃液分泌的紊乱, 久之导致消化不良症状的发生. 劳累容易诱发FD症状, 可能与过度劳累后扰乱了人体的生物钟, 使体内多个系统运转发生变化, 持续的生理疲惫状态, 还容易引起心理疲惫有关, 继而出现各种胃肠道的不适[27]. 本研究显示某些饮食习惯、生活方式与FD的患病率有关, 经Logistic回归分析发现喜酸及喜腌制品为FD的患病率的危险因素. 目前国内外的研究关于吸烟与饮酒是否为FD的危险因素尚无一致性报道. 部分研究[7,13,28]并不认为吸烟为FD的危险因素, 与本研究结果一致. 但是有研究却表明吸烟为FD的危险因素[9,14,16]. 推测吸烟是通过对胃黏膜的影响而引起消化不良症状. 大部分的研究证明经常饮酒并不是引起消化不良的危险因素, 与本研究结果一致. 但是在亚洲、印度和新西兰的研究表明饮酒与FD的患病率有明显的关系. FD的发病机制包括胃肠动力障碍、内脏高敏感, 而喜酸、喜腌制品等饮食习性是否影响胃肠动力、内脏感觉, 抑或与一定的食物成分有关仍有待深入研究. 此外, 标准化的膳食标准和不良饮食习惯的明确定义, 也是今后进行相关研究值得重视的问题.

总之, FD是隆安县农村壮族人群的常见病和多发病, 其主要消化不良症状以上腹部疼痛或上腹烧灼感为常见, 影响疾病的因素主要有年龄、性别、文化程度、饮食习惯. 在疾病的防治上, 应结合本地区人群的疾病特点, 采取有针对性的防治措施, 提高疾病的防治水平.

4 参考文献

1 Mahadeva S, Goh KL. Epidemiology of functional dyspepsia: a global perspective. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 2661-2666 [PMID: 16718749 DOI: 10.3748/wjg.v12.i17.2661]
2 廖献花, 汪安江, 熊理守, 肖英莲, 彭穗, 胡品津, 陈旻湖. 罗马III和罗马II标准诊断功能性消化不良的比较. 中华消化杂志 2008; 28: 19-21
3 左国文, 梁列新, 姚萍, 黄丹, 刘鑫, 何宛蓉, 张法灿. 南宁市大学生功能性消化不良的流行病学调查. 世界华人消化杂志 2014; 22: 263-267
4 Stanghellini V. Relationship between upper gastrointestinal symptoms and lifestyle, psychosocial factors and comorbidity in the general population: results from the Domestic/International Gastroenterology Surveillance Study (DIGEST). *Scand J Gastroenterol Suppl* 1999; 231: 29-37 [PMID: 10565621 DOI: 10.1080/002655299750025255]
5 王爱民. 黑龙江省讷河市居民消化不良的流行病学调查. 中华现代内科学杂志 2005; 2: 862-864
6 Jones R, Lydeard S. Prevalence of symptoms of dyspepsia in the community. *BMJ* 1989; 298: 30-32 [PMID: 2492849]
7 Bernersen B, Johnsen R, Straume B. Non-ulcer dyspepsia and peptic ulcer: the distribution in a population and their relation to risk factors. *Gut* 1996; 38: 822-825 [PMID: 8984017 DOI: 10.1136/gut.38.6.822]
8 Hirakawa K, Adachi K, Amano K, Katsube T, Ishihara S, Fukuda R, Yamashita Y, Shiozawa S, Watanabe M, Kinoshita Y. Prevalence of non-ulcer dyspepsia in the Japanese population. *J Gastroenterol Hepatol* 1999; 14: 1083-1087 [PMID: 10574135 DOI: 10.1046/j.1440-1746.1999.02012.x]
9 Shah SS, Bhatia SJ, Mistry FP. Epidemiology of dyspepsia in the general population in Mumbai. *Indian J Gastroenterol* 2001; 20: 103-106 [PMID: 11400800]
10 韩昌圣, 王新月. 北京地区韩国人和中国人功能性消化不良相关因素和中医证候特点研究. 吉林中医药 2010; 30: 304-306
11 王利营, 杨云生, 曹晓鹏, 彭丽华, 蔡赐河, 蔡顺天, 张雷. 河南省兰考县农村地区功能性肠病的流行病学调查 2012; 5: 485-487
12 Shaib Y, El-Serag HB. The prevalence and risk factors of functional dyspepsia in a multiethnic population in the United States. *Am J Gastroenterol* 2004; 99: 2210-2216 [PMID: 15555004 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2004.40052.x]
13 Lu CL, Lang HC, Chang FY, Chen CY, Luo JC, Wang SS, Lee SD. Prevalence and health/social impacts of functional dyspepsia in Taiwan: a study based on the Rome criteria questionnaire survey assisted by endoscopic exclusion among a physical check-up population. *Scand J Gastroenterol* 2005; 40: 402-411 [PMID: 16028434 DOI: 10.1080/00365520510012190]
14 Kay L, Jørgensen T. Epidemiology of upper dyspepsia in a random population. Prevalence, incidence, natural history, and risk factors. *Scand J Gastroenterol* 1994; 29: 2-6 [PMID: 8128172 DOI: 10.3109/00365529409090428]
15 Caballero-Plasencia AM, Sofos-Kontoyannis S, Valenzuela-Barranco M, Martín-Ruiz JL, Casado-Caballero FJ, López-Mañas JG. Irritable bowel syndrome in patients with dyspepsia: a community-based study in southern Europe. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1999; 11: 517-522 [PMID: 10755255]
16 王瑞, 唐承薇. 雌激素与功能性消化不良关系研究进展. 中国实用内科杂志 2008; 28: 578-579
17 Tougas G, Chen Y, Hwang P, Liu MM, Eggleston A. Prevalence and impact of upper gastrointestinal symptoms in the Canadian population: findings from the DIGEST study. Domestic/International Gastroenterology Surveillance Study. *Am J Gastroenterol* 1999; 94: 2845-2854 [PMID: 10520832 DOI: 10.1111/j.1572-0241.1999.01427.x]
18 Jones RH, Lydeard SE, Hobbs FD, Kenkre JE, Williams EI, Jones SJ, Repper JA, Caldow JL, Dunwoodie WM, Bottomley JM. Dyspepsia in England and Scotland. *Gut* 1990; 31: 401-405 [PMID: 2338264 DOI: 10.1136/gut.31.4.401]
19 Locke GR, Zinsmeister AR, Talley NJ, Fett SL, Melton LJ. Familial association in adults with functional gastrointestinal disorders. *Mayo Clin Proc* 2000; 75: 907-912 [PMID: 10994826]
20 周劲峰. 压力、抑郁与功能性消化不良及治疗. 中国现代医生 2008; 46: 30-32
21 Moayyedi P, Forman D, Braunholtz D, Feltbower R, Crocombe W, Liptrott M, Axon A. The proportion of upper gastrointestinal symptoms in the community associated with Helicobacter pylori, lifestyle factors, and nonsteroidal anti-inflammatory drugs. Leeds HELP Study Group. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 1448-1455 [PMID: 10894577]
22 Mahadeva S, Yadav H, Rampal S, Everett SM, Goh KL. Ethnic variation, epidemiological factors and quality of life impairment associated with dyspepsia in urban Malaysia. *Aliment Pharmacol Ther* 2010; 31: 1141-1151 [PMID: 20175766 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2010.04270.x]
23 连群龙. 新加坡地区功能性消化不良(胃痞)中医证候学研究. 北京: 北京中医药大学, 2007
24 陈湖, 钟碧慧, 李初俊, 彭晓忠, 胡品津. 广东城镇居民消化不良的流行病学调查. 中华内科杂志 1998; 37: 312
25 Zagari RM, Law GR, Fuccio L, Cennamo V, Gilthorpe MS, Forman D, Bazzoli F. Epidemiology of functional dyspepsia and subgroups in the Italian general population: an endoscopic study. *Gastroenterology* 2010; 138: 1302-1311 [PMID: 20074574 DOI: 10.1053/j.gastro.2009.12.057]
26 王雪艳. 倒班制护士功能性消化不良和功能性胃肠病的调查. 中华劳动卫生职业病杂志 2008; 26: 157-160
27 杨春敏. 飞行因素与胃肠运动. 中华医学杂志 2006; 86: 2379-2381
28 Li Y, Nie Y, Sha W, Su H. The link between psychosocial factors and functional dyspepsia: an epidemiological study. *Chin Med J* (Engl) 2002; 115: 1082-1084 [PMID: 12173597]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年6月18日; 22(17): 2399-2405
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

文献综述 REVIEW

ERCP术后胰腺炎防治的进展

王 静, 吕 瑛, 邹晓平

王静, 吕瑛, 邹晓平, 南京大学医学院附属鼓楼医院消化科 江苏省南京市 210008
王静, 在读硕士, 主要从事ERCP术后并发症的研究.
作者贡献分布: 本文综述由王静与吕瑛完成; 邹晓平审校.
通讯作者: 邹晓平, 教授, 主任医师, 210008, 江苏省南京市中山路321号, 南京大学医学院附属鼓楼医院消化科.
13770771661@163.com
电话: 025-83304616
收稿日期: 2014-03-10 修回日期: 2014-04-14
接受日期: 2014-04-17 在线出版日期: 2014-06-18

Prevention and treatment of post-ERCP pancreatitis

Jing Wang, Ying Lv, Xiao-Ping Zou

Jing Wang, Ying Lv, Xiao-Ping Zou, Department of Gastroenterology, the Affiliated Drum Tower Hospital of Nanjing University Medical School, Nanjing 210008, Jiangsu Province, China
Correspondence to: Xiao-Ping Zou, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Affiliated Drum Tower Hospital of Nanjing University Medical School, 321 Zhongshan Road, Nanjing 210008, Jiangsu Province, China. 13770771661@163.com
Received: 2014-03-10 Revised: 2014-04-14
Accepted: 2014-04-17 Published online: 2014-06-18

Abstract
Endoscopic retrograde cholangiopancreatography (ERCP) is widely used in the diagnosis and treatment of cholangiopancreatic diseases, and pancreatitis remains the most common and severe complication. It is therefore important to minimize the incidence and severity of pancreatitis. This paper discusses the recent progress in the prevention and treatment of post-ERCP pancreatitis.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Endoscopic retrograde cholangiopancreatography; Post-Endoscopic retrograde cholangiopancreatography pancreatitis; Prevention

Wang J, Lv Y, Zou XP. Prevention and treatment of post-ERCP pancreatitis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(17): 2399-2405 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2399.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i17.2399

摘要
经内镜逆行胰胆管造影术(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)是胆胰疾病的重要诊治手段之一, 随着内镜技术的不断进步, 其应用越来越广泛. ERCP术后常见的并发症有急性胰腺炎、出血、穿孔、感染、心肺意外等, 其中胰腺炎是ERCP术后最常见也是最严重的并发症, 严重时甚至可致死亡. 因此, 降低ERCP术后胰腺炎的发生率、减轻其严重程度至关重要, 近来年国内外学者医师对此研究众多, 其中临床报道有明确疗效的有术中预防性置入胰管支架和使用非甾体抗炎药(nonsteroidal anti-inflammatory drugs), 本文就近年来对ERCP术后胰腺炎的防治进展予以综述.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 内镜逆行胰胆管造影术; ERCP术后胰腺炎; 预防

核心提示: 内镜预防中预防性置入胰管支架疗效显著, 导丝辅助插管、括约肌预切开和电流的选择暂不确定, 造影剂方面建议限制性注入, 而鼻胆管/胰管引流仍待进一步研究. 药物预防方面, 非甾体抗炎疗效确定, 其他如蛋白酶抑制剂、降低Oddi括约肌压力的药物、用于减少胰酶分泌的药物, 目前的报道均无统一意见, 此外目前也有一些研究使用新的药物来预防经内镜逆行胰胆管造影术(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)术后胰腺炎(post-ERCP pancreatitis), 值得期待.

王静, 吕瑛, 邹晓平. ERCP术后胰腺炎防治的进展. 世界华人消化杂志 2014; 22(17): 2399-2405 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2399.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i17.2399

0 引言
自1968年Mccune首次报道经内镜逆行胰胆管造影术(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)以来, 随着内镜技术和的进步, 其在

■背景资料
内镜逆行胰胆管造影术(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)是胆胰疾病的重要诊治方法之一, 随着内镜技术的进步, 其应用也越来越广泛, 而作为ERCP术后最常见也是最严重并发症的ERCP术后胰腺炎的预防显得尤为重要.

■同行评议者
巩鹏, 教授, 大连医科大学附属第一医院普外二科

■研发前沿
目前国内外报道有明确疗效的有术中预防性置入胰管支架和使用非甾体抗炎药，本文就近年来对ERCP术后胰腺炎的防治进展予以综述.

胆胰疾病诊治中的作用愈发举足轻重，但ERCP相关并发症却制约了其广泛使用. 急性胰腺炎是经内镜逆行胰胆管造影术最常见最严重的并发症之一，文献报道其发生率为1%-10%，高危患者发病率为30%[1]. 大多数患者ERCP术后并发急性胰腺炎都为轻到中度，但仍有小部分患者术后发生重度胰腺炎，甚至可能出现死亡. 因此，降低ERCP术后胰腺炎(post-ERCP pancreatitis, PEP)发生率和严重程度至关重要，目前关于内镜技术及药物预防PEP的研究众多，本文就ERCP术后胰腺炎的防治进展进行简单综述.

1 一般措施

严格掌握ERCP指征，减少不必要的ERCP操作是减少PEP发生的根本方法. 术前内镜医师应充分了解患者病情，结合PEP的高危因素，全面评估，当危险因素较多，不建议行ERCP术. 此外，内镜、附件及操作相关器材材料应该严格消毒，减少医源性感染的可能性. 术后充分补液可改善胰腺灌注及组织氧含量，并减少胰腺坏死，有文献报道充分补液可降低PEP的发生率[2].

2 内镜技术预防

2.1 导丝辅助插管 导丝辅助插管可以分为单导丝法和双导丝法. 单导丝法先将导丝置入胆管，再利用导丝引导导管进入胆管，多用于困难插管患者. 最近的Meta分析显示经导丝引导插管后插管成功率增加，PEP发生率明显降低[3]; Cheung等[4]建议特别是行预切开和首次插管失败的患者，单导丝引导插管效果更加明显. 双导丝法即置入胰管导丝，可以通过拉直壶腹部，帮助避免插管入胰管，亦多用于困难插管的患者. Hisa等[5]曾报道，使用双腔导管和胰管导丝辅助插管后，减少了造影剂的用量，PEP的发病率大大降低. 但考虑到双导丝法操作难度较大，建议有相应技术水平的内镜中心采用.

2.2 括约肌预切开 曾有报道括约肌预切开可增加PEP的风险，有学者将其风险归功于困难插管的操作繁杂: 如在Swan等[6]的研究中，73例困难插管的患者，使用针状刀行括约肌预切开的患者PEP发生率(20.5%)与对照组(17.6%)差异并无统计学意义，而多变量分析则证明插管次数超过7-8次或插管失败会增加PEP的风险. Cennamo等[7]对6项随机对照试验(randomized controlled trials, RCTs)中的966例病例进行统计学分析，认为经验丰富的内镜医师操作的前提下，行预切开术后插管成功率与持续尝试插管的成功率相仿，且预切开能够降低PEP的发生率，同时并不增加其他的并发症发生率.

2.3 置入胰管支架 术中置入临时胰管支架可有效地避免术后十二指肠乳头水肿、Oddis括约肌痉挛导致的胰管引流障碍，促进胰液的引流. 最新的Meta分析综合近年40项RCT，认为置入胰管支架组PEP患病率明显降低，其中中重度PEP患者尤其受益[8]. Sakai等[9]还发现在困难插管患者，预防性置入胰管支架不仅能够降低PEP和高淀粉酶血症的发生率，还可以减少腹痛和血清淀粉酶水平. 此外，学者们还探讨了支架的留置时间、支架的性质，包括支架内径、形状、置放部位等. 在Conigliaro等[10]的研究中，所有患者在胰管导丝引导插管后均置入胰管支架(5 F猪尾支架)，术后立即移除支架组的PEP发生率为29%，而留置支架组PEP发生率为0.0%，差异有统计学意义. Pahk等[11]和Zolotarevsky等[12]比较了5 F与4 F及5 F与3 F支架的作用效果，与5 F支架相比，3 F降低PEP发生率的疗效较小，4 F支架更易自行脱落. Tabata等[13]则提出棒状支架(stick-type stent)拥有更高的通畅率，PEP发生率较圣诞树支架(branch-type stent)和Y型支架(halfway-type stent)明显降低. 另有研究报道，预防性置入跨胰管括约肌支架可预防PEP，小口径胰管支架可用于PEP发生后的补救[14]. 尽管置入胰管支架在降低PEP发生率方面作用突出，但置入支架的操作难度系数不容忽视，特别是在乳头口狭窄或胰管迂曲的患者，置入支架失败同样可能诱发PEP[15]. 因此，有学者建议可以给有胰腺炎病史、困难插管、使用胰管导丝辅助选择性插管等高危患者预防性置入胰管支架[16,17].

2.4 内镜下鼻胆管/胰管引流 采用鼻胆管/胰管引流可以保持ERCP术后胰胆管流出道通畅，减少造影剂和胰液、胆汁的逆流，减少胰胆管括约肌损伤和痉挛等诱发的不利因素，减少PEP和胆管炎的发生. 国内对此研究较多，多数研究认为鼻胆管/胰管引流可明显减少PEP的发生率，尤其是高危患者，但Yang等[18]的实验中鼻胆管引流组的血清淀粉酶水平及高淀粉酶血症发病率明显降低，但PEP的发生率没有明显降低.

2.5 电流的选择 ERCP术中使用电烙术引起的热损伤，造成乳头口水肿，阻碍胰液引流，可能诱发PEP. 理论上，纯切割电流的切割能力较强，引起更少的水肿，可用于预防PEP. 国外有Meta分

析对此进行了研究, 分析认为纯切割电流与混合电流对PEP的发生无明显影响, 但纯切割电流可能引起出血的风险增大[19]. 而Stefanidis等[20]的临床试验却证明与混合电流相比, 纯切割电流能够降低血淀粉酶水平和PEP的发生率. 目前对于电流的使用仍无定论, 仍待进一步的大规模研究确定.

2.6 造影剂的使用 胰管注入造影剂, 尤其是多次、大量注入是PEP的高危因素之一, 因此有学者提出限制性注入造影剂可预防PEP[21]. 此外, Noble等[22]针对造影剂的pH值进行了临床试验, 当造影剂pH为7.3时, 患者局部水肿、中性粒细胞浸润以及组织学损伤的程度均较pH为6.9时轻, 由此推测, 如能增加造影剂的pH值, 可能降低PEP的发生率. 除此之外, 国外还有关于低渗非离子型造影剂的报道, 亦未得出确定性结论.

3 药物预防

药物预防PEP的机制有: 降低Oddi括约肌压力、减少胰腺炎分泌、抑制胰酶激活、减少全身性炎症反应. 预防PEP的理想药物是能有效地减少PEP的发病率, 且作用时间短, 不良反应小. 关于药物预防PEP的文献报道不胜枚举, 但是大多数药物的疗效仍存在争议.

3.1 用于降低Oddi括约肌压力的药物 硝酸甘油(glyceryl trinitrate, GTN)对平滑肌有强大的松弛作用, 15 min内可将Oddi括约肌的压力降至基础水平, 促进胰液引流. 国内外学者对此药研究众多, 如Ding等[23]的Meta分析认为, GTN降低PEP的发生率, 尤其是在高危患者, 高淀粉酶血症发生率也明显降低, 分层分析提示皮下给药较经皮给药、局部用药效果更好. 但Bang等[24]则注意到, 在降低PEP发生率的铜丝, GTN也增加低血压和头痛的风险.

在乳头喷洒肾上腺素能够减轻局部水肿, 相对降低Oddi括约肌的压力. Xu等[25]发现术中在乳头喷洒20 mL 0.02%肾上腺素的患者, PEP的发生率较对照组明显降低. Nakaji等[26]的实验也得出相同结论, 并建议尤其是女性患者在胰管插管后, 可在十二指肠乳头喷洒肾上腺素.

肉毒杆菌被广泛应用于治疗平滑肌功能异常, 如食管下括约肌、Oddi括约肌等, 有学者试图将其应用于预防PEP. 但Gorelick等[27]发现在胰管括约肌注射肉毒杆菌毒素的患者, 术后发生PEP的数量减少, 但与对照组相比并没有统计学的价值.

乌地那非是一种磷酸二酯酶-5抑制剂, 能够降低Oddi括约肌, 然而临床实验却证实其不能降低PEP发生率和严重程度[28].

3.2 用于减少胰酶分泌的药物 生长抑素及其类似物奥曲肽能够抑制胰腺外分泌, 减轻胰腺的自身消化, 同时还有抗炎和细胞保护的作用, 但其用于预防PEP的疗效尚待确定. Wang等[29]认为大剂量的生长抑素(0.5 mg/h维持24 h)无论术前术后使用, 对PEP都无明显预防效果. 而Katsinelos报道术后生长抑素静脉维持6 h(0.25 mg/h), 联合术前30-60 min直肠使用双氯芬酸100 mg, 术后PEP发生率明显低于对照组[30]. 奥曲肽是长效的生长抑素类似物, 有2项关于奥曲肽的Meta分析, Bai等[31]的Meta认为没有足够的证据表明奥曲肽能够预防PEP; 另一项Meta分析着重于奥曲肽的使用剂量, 认为只有足量(≥0.5 mg)使用奥曲肽才能降低PEP的发生率[32].

另外, 5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)参与激活胰酶的分泌, 急性胰腺炎的动物模型中, 应用5-HT拮抗剂利培酮可降低血清白介素-6(interleukin-6, IL-6)、血淀粉酶、脂肪酶水平以及血小板计数, 改善组织学改变. Uchino[33]、Tsujino等[34]欲将其应用于临床试验, 但结果证明无论是单用还是与乌司他丁连用, 均不能减少PEP的发生.

3.3 蛋白酶抑制剂 胰酶的内激活是PEP发生的关键步骤, 因此可以通过抑制胰酶的激活减少PEP的发生并减轻其严重度, 基于此种机制的药物有萘莫司他、加贝酯、乌司他丁等. 表1总结了近年的Meta分析, 可见蛋白酶抑制剂用于减少PEP发生的疗效并不确定, 且使用剂量、给药途径有待进一步研究.

另外, 肝素能够同时抑制血浆和胰腺组织中的胰酶活性, 并改善胰腺炎模型的胰腺微循环, 曾被建议用于临床, 预防PEP. 但国外已有大规模的临床实验和Meta分析证明普通肝素和低分子肝素对PEP均无预防作用[35,36]. 有文献报道了一项使用硫酸镁(镁离子拮抗钙离子的作用, 减少胰酶激活)预防PEP的III期随机双盲空白对照临床试验, 目前尚在进行中[37].

3.4 抗炎药物 本组药物包括非甾体抗炎药(non-steroidal anti-inflammatory drugs, NSAIDs)、类固醇、抗氧化剂、抗生素以及免疫调节剂等, 其中NSAID的研究颇有成效, Ding等[38]综合分析了近年的10项RCT, 其中包括病例2269例, 涉及的药物有双氯芬酸(100、75、50、25 mg)、

■相关报道
由于ERCP的广泛使用, PEP也得到更多的重视, 近年关于预防PEP的临床试验及Meta分析众多, 其中Meta分析多总结分析了近期的大规模临床试验, 对临床的指导价值更大.

■创新盘点
本文有选择的引用大量RCT和Meta分析, 并对其结果进行分析, 对临床预防PEP有一定参考价值.

表 1 关于蛋白酶抑制剂预防PEP的4项Meta分析

作者	n	涉及药物	结论
Yuhara等[50]	10273(26项RCT)	NSAID、萘莫司他、加贝酯、乌司他丁	NSAID和萘莫司他降低PEP的发生率, 而加贝酯和乌司他丁不能降低PEP的发生率
Zhang等[51]	5105(12项RCT)	加贝酯、乌司他丁	大剂量加贝酯迅速注入和足量的乌司他丁降低PEP的发生率
Seta等[52]	4966(19项RCT)	萘莫司他、加贝酯、抑肽酶、乌司他丁	蛋–白酶抑制剂不能降低PEP的发生率
Chen等[53]	1039(7项RCT)	乌司他丁	乌司他丁可减少PEP和高淀粉酶血症的发生率, 但其术前静脉注射量应不少于150000 U

RCT: 随机对照试验; NSAID: 非甾体抗炎药; PEP: ERCP术后胰腺炎; ERCP: 经内镜逆行胰胆管造影术.

吲哚美辛(100 mg)、伐地考昔(20 mg), 给药途径有直肠、口服、静注、肌注、十二指肠, 得出结论NSAID降低PEP的发生率和严重程度. Elmunzer等[39]采用术后直肠使用吲哚美辛, 发现在PEP高危患者中, 治疗组发生率(9.2%)较对照组(16.9%)明显降低, 且中重度PEP的发病率也明显减少.

类固醇因其不良反应明显, 目前很少应用于预防PEP. Zheng等[40]和Bai等[41]的Meta分析指出类固醇不能降低PEP和高淀粉酶血症的发生率[40,41]. 但有学者报道泼尼松为肝移植患者发生PEP的保护性因素, 这可能与其免疫抑制有关, 尚需更进一步的临床试验证明[42].

氧化应激和自由基能够增加急慢性胰腺炎患者的十二指肠液和血流量, 且抗氧化治疗有助于抑制炎症进程. Gu等[43]对11项RCT进行分析, 其中涉及的抗氧化剂有亚硒酸盐、β-胡萝卜素、别嘌呤醇、N-乙酰半胱氨酸、己酮可可碱, 得出结论抗氧化剂并不能降低PEP的发生率. 其中已有Meta分析和多项临床实验证明, 别嘌呤醇和N-乙酰半胱氨酸不能减少PEP的发生[44,45]. van Westerloo等[46]的临床试验提出, ERCP术前1 h使用塞马莫德虽然可以降低血淀粉酶水平和高淀粉酶水平, 也不能明显减少PEP的发生.

细胞因子在PEP的发病机制中发挥重要作用, 有免疫调节作用的细胞因子因此有望用于预防PEP. 如Sherman等[47]曾给患者术前使用IL-10, 但未能明显降低PEP的发生率; 其另一项实验中试图采用血小板活化因子乙酰水解酶减少PEP的发生, 然而无论1 mg/kg还是5 mg/kg都没有明显预防PEP的效果[48].

既往曾有学者认为抗生素可以作为重要的预防PEP用药, 但抗生素对PEP无预防作用目前已达成共识.

3.5 其他 有实验证实神经源性炎症(感觉神经元的病理激活)在急性胰腺炎发病中的作用, 但临床实验中, 选择性神经激肽-1(neurokinin-1, NK-1)受体拮抗剂阿瑞吡坦却不能明显降低PEP的发生率[49]. 此外, 尚有报道中药中清胰汤大黄、利胆排石汤、柴芩承气汤、肝胆宁汤剂等也有预防PEP的作用.

4 结论

ERCP是一种先进的胆胰系统疾病诊治技术, 具有成功率高、创伤小、适用范围广的特点, 在胰胆管和十二指肠疾病的诊断和治疗中发挥了重要作用; 但作为一项侵入性操作, 并发症的发生亦不可避免. 可喜的是经过众多学者的共同努力研究, PEP的预防已卓有成效. 在PEP的预防中, 根据目前的文献报道, 疗效确定的有置入预防性临时胰管支架以及预防性使用NSAID类药物, 其他预防措施及药物尚待进一步的研究.

5 参考文献

1 Parsi MA. NSAIDs for prevention of pancreatitis after endoscopic retrograde cholangiopancreatography: ready for prime time? *World J Gastroenterol* 2012; 18: 3936-3937 [PMID: 22912542 DOI: 10.3748/wjg.v18.i30.3936]

2 Elmunzer BJ. Aggressive intravenous fluid resuscitation for preventing post-endoscopic retrograde cholangiopancreatography pancreatitis: finally on the right track. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2014; 12: 308-310 [PMID: 24036053 DOI: 10.1016/j.cgh.2013.09.009]

3 Tse F, Yuan Y, Moayyedi P, Leontiadis GI. Guide wire-assisted cannulation for the prevention of post-ERCP pancreatitis: a systematic review and meta-analysis. *Endoscopy* 2013; 45: 605-618 [PMID: 23807804 DOI: 10.1055/s-0032-1326640]

4 Cheung J, Tsoi KK, Quan WL, Lau JY, Sung JJ. Guidewire versus conventional contrast cannulation of the common bile duct for the prevention of post-ERCP pancreatitis: a systematic review and meta-analysis. *Gastrointest Endosc* 2009; 70: 1211-1219

[PMID: 19962504 DOI: 10.1016/j.gie.2009.08.007]
5 Hisa T, Matsumoto R, Takamatsu M, Furutake M. Impact of changing our cannulation method on the incidence of post-endoscopic retrograde cholangiopancreatography pancreatitis after pancreatic guidewire placement. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 5289-5294 [PMID: 22219598 DOI: 10.3748/wjg.v17.i48.5289]
6 Swan MP, Alexander S, Moss A, Williams SJ, Ruppin D, Hope R, Bourke MJ. Needle knife sphincterotomy does not increase the risk of pancreatitis in patients with difficult biliary cannulation. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2013; 11: 430-436.e1 [PMID: 23313840 DOI: 10.1016/j.cgh.2012.12.017]
7 Cennamo V, Fuccio L, Zagari RM, Eusebi LH, Ceroni L, Laterza L, Fabbri C, Bazzoli F. Can early precut implementation reduce endoscopic retrograde cholangiopancreatography-related complication risk? Meta-analysis of randomized controlled trials. *Endoscopy* 2010; 42: 381-388 [PMID: 20306386 DOI: 10.1055/s-0029-1243992]
8 Mazaki T, Mado K, Masuda H, Shiono M. Prophylactic pancreatic stent placement and post-ERCP pancreatitis: an updated meta-analysis. *J Gastroenterol* 2014; 49: 343-355 [PMID: 23612857 DOI: 10.1007/s00535-013-0806-1]
9 Sakai Y, Tsuyuguchi T, Mikata R, Tawada K, Tada M, Togo S, Tamura R, Saito M, Kurosawa J, Ishihara T, Yokosuka O. Utility of placement of pancreatic duct spontaneous dislodgement stent for prevention of post-ERCP pancreatitis in patients with difficulty in selective biliary cannulation. *Hepatogastroenterology* 2011; 58: 687-693 [PMID: 21830369]
10 Conigliaro R, Manta R, Bertani H, Manno M, Barbera C, Caruso A, Olivetti G, Melotti G, Frazzoni M. Pancreatic duct stenting for the duration of ERCP only does not prevent pancreatitis after accidental pancreatic duct cannulation: a prospective randomized trial. *Surg Endosc* 2013; 27: 569-574 [PMID: 22926890 DOI: 10.1007/s00464-012-2487-x]
11 Pahk A, Rigaux J, Poreddy V, Smith J, Al-Kawas F. Prophylactic pancreatic stents: does size matter? A comparison of 4-Fr and 5-Fr stents in reference to post-ERCP pancreatitis and migration rate. *Dig Dis Sci* 2011; 56: 3058-3064 [PMID: 21487771 DOI: 10.1007/s10620-011-1695-x]
12 Zolotarevsky E, Fehmi SM, Anderson MA, Schoenfeld PS, Elmunzer BJ, Kwon RS, Piraka CR, Wamsteker EJ, Scheiman JM, Korsnes SJ, Normolle DP, Kim HM, Elta GH. Prophylactic 5-Fr pancreatic duct stents are superior to 3-Fr stents: a randomized controlled trial. *Endoscopy* 2011; 43: 325-330 [PMID: 21455872 DOI: 10.1055/s-0030-1256305]
13 Tabata T, Kamisawa T, Takuma K, Anjiki H, Egawa N. A patent accessory pancreatic duct prevents pancreatitis following endoscopic retrograde cholangiopancreatography. *Dig Surg* 2010; 27: 140-143 [PMID: 20551660 DOI: 10.1159/000286962]
14 Madácsy L, Kurucsai G, Joó I, Gódi S, Fejes R, Székely A. Rescue ERCP and insertion of a small-caliber pancreatic stent to prevent the evolution of severe post-ERCP pancreatitis: a case-controlled series. *Surg Endosc* 2009; 23: 1887-1893 [PMID: 19057957 DOI: 10.1007/s00464-008-0199-z]
15 Saritaş Ü, Üstündağ Y, Baron TH. Prevention of post-ERCP pancreatitis. *Turk J Gastroenterol* 2011; 22: 449-463 [PMID: 22234751]
16 Takenaka M, Fujita T, Sugiyama D, Masuda A, Shiomi H, Sugimoto M, Sanuki T, Hayakumo T, Azuma T, Kutsumi H. What is the most adapted indication of prophylactic pancreatic duct stent within the high-risk group of post-endoscopic retrograde cholangiopancreatography pancreatitis? Using the propensity score analysis. *J Hepatobiliary Pancreat Sci* 2014; 21: 275-280 [PMID: 24039185 DOI: 10.1002/jhbp.24]
17 Ito K, Fujita N, Noda Y, Kobayashi G, Obana T, Horaguchi J, Takasawa O, Koshita S, Kanno Y, Ogawa T. Can pancreatic duct stenting prevent post-ERCP pancreatitis in patients who undergo pancreatic duct guidewire placement for achieving selective biliary cannulation? A prospective randomized controlled trial. *J Gastroenterol* 2010; 45: 1183-1191 [PMID: 20607310 DOI: 10.1007/s00535-010-0268-7]
18 Yang J, Peng JY, Pang EJ, Chen W. Efficacy of endoscopic nasobiliary drainage for the prevention of post-endoscopic retrograde cholangiopancreatography pancreatitis and cholangitis after repeated clearance of common bile duct stones: experience from a Chinese center. *Dig Endosc* 2013; 25: 453-458 [PMID: 23363031 DOI: 10.1111/den.12013]
19 Verma D, Kapadia A, Adler DG. Pure versus mixed electrosurgical current for endoscopic biliary sphincterotomy: a meta-analysis of adverse outcomes. *Gastrointest Endosc* 2007; 66: 283-290 [PMID: 17643701]
20 Stefanidis G, Karamanolis G, Viazis N, Sgouros S, Papadopoulou E, Ntatsakis K, Mantides A, Nastos H. A comparative study of postendoscopic sphincterotomy complications with various types of electrosurgical current in patients with choledocholithiasis. *Gastrointest Endosc* 2003; 57: 192-197 [PMID: 12556783 DOI: 10.1067/mge.2003.61]
21 Donnellan F, Byrne MF. Prevention of Post-ERCP Pancreatitis. *Gastroenterol Res Pract* 2012; 2012: 796751 [PMID: 21845187 DOI: 10.1155/2012/796751]
22 Noble MD, Romac J, Vigna SR, Liddle RA. A pH-sensitive, neurogenic pathway mediates disease severity in a model of post-ERCP pancreatitis. *Gut* 2008; 57: 1566-1571 [PMID: 18625695 DOI: 10.1136/gut.2008.148551]
23 Ding J, Jin X, Pan Y, Liu S, Li Y. Glyceryl trinitrate for prevention of post-ERCP pancreatitis and improve the rate of cannulation: a meta-analysis of prospective, randomized, controlled trials. *PLoS One* 2013; 8: e75645 [PMID: 24098392 DOI: 10.1371/journal.pone.0075645]
24 Bang UC, Nøjgaard C, Andersen PK, Matzen P. Meta-analysis: Nitroglycerin for prevention of post-ERCP pancreatitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2009; 29: 1078-1085 [PMID: 19236312 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2009.03978.x]
25 Xu LH, Qian JB, Gu LG, Qiu JW, Ge ZM, Lu F, Wang YM, Li YM, Lu HS. Prevention of post-endoscopic retrograde cholangiopancreatography pancreatitis by epinephrine sprayed on the papilla. *J Gastroenterol Hepatol* 2011; 26: 1139-1144 [PMID: 21392105 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2011.06718.x]
26 Nakaji K, Suzumura S, Nakae Y, Kojima K, Kumamoto M, Kozu T. Effects in the control of edema of the papilla of Vater by epinephrine saline irrigation after endoscopic retrograde cholangiopancreatography in an endoscopy center in Japan, 2003 to 2007: exploratory retrospective analysis to evaluate the

■应用要点

本文从一般措施、内镜技术、药物预防三个方面, 对近年关于预防PEP的研究进行综述, 其中内镜技术中疗效确定的为预防性置入胰管支架, 而药物预防方面比较推荐非甾体抗炎药的使用.

■同行评价
本文就近年来内镜和药物防治ERCP术后胰腺炎的进展, 从一般措施、内镜技术预防、药物预防等方面予以综述. 本文所述问题为内镜科临床常见问题, 论述清晰, 观点明确, 论据充分, 且引用较多RCT文献, 文字流畅, 结构合理.

characteristics of eligible patients with a focus on serum amylase levels. *Intern Med* 2009; 48: 945-952 [PMID: 19525579]
27 Gorelick A, Barnett J, Chey W, Anderson M, Elta G. Botulinum toxin injection after biliary sphincterotomy. *Endoscopy* 2004; 36: 170-173 [PMID: 14765315 DOI: 10.1055/s-2004-814185]
28 Oh HC, Cheon YK, Cho YD, Do JH. Use of udenafil is not associated with a reduction in post-ERCP pancreatitis: results of a randomized, placebo-controlled, multicenter trial. *Gastrointest Endosc* 2011; 74: 556-562 [PMID: 21802079 DOI: 10.1016/j.gie.2011.04.047]
29 Wang ZK, Yang YS, Cai FC, Wang YH, Shi XL, Ding C, Li W. Is prophylactic somatostatin effective to prevent post-endoscopic retrograde cholangiopancreatography pancreatitis or hyperamylasemia? A randomized, placebo-controlled pilot trial. *Chin Med J* (Engl) 2013; 126: 2403-2408 [PMID: 23823808]
30 Katsinelos P, Fasoulas K, Paroutoglou G, Chatzimavroudis G, Beltsis A, Terzoudis S, Katsinelos T, Dimou E, Zavos C, Kaltsa A, Kountouras J. Combination of diclofenac plus somatostatin in the prevention of post-ERCP pancreatitis: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Endoscopy* 2012; 44: 53-59 [PMID: 22198776 DOI: 10.1055/s-0031-1291440]
31 Bai Y, Gao J, Zou DW, Li ZS. Prophylactic octreotide administration does not prevent post-endoscopic retrograde cholangiopancreatography pancreatitis: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Pancreas* 2008; 37: 241-246 [PMID: 18815543 DOI: 10.1097/MPA.0b013e31816c90a1]
32 Zhang Y, Chen QB, Gao ZY, Xie WF. Meta-analysis: octreotide prevents post-ERCP pancreatitis, but only at sufficient doses. *Aliment Pharmacol Ther* 2009; 29: 1155-1164 [PMID: 19302265 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2009.03991.x]
33 Uchino R, Isayama H, Tsujino T, Sasahira N, Ito Y, Matsubara S, Takahara N, Arizumi T, Toda N, Mohri D, Togawa O, Yagioka H, Yanagihara Y, Nakajima K, Akiyama D, Hamada T, Miyabayashi K, Mizuno S, Kawakubo K, Kogure H, Sasaki T, Yamamoto N, Nakai Y, Hirano K, Tada M, Koike K. Results of the Tokyo trial of prevention of post-ERCP pancreatitis with risperidone-2: a multicenter, randomized, placebo-controlled, double-blind clinical trial. *Gastrointest Endosc* 2013; 78: 842-850 [PMID: 23910063 DOI: 10.1016/j.gie.2013.06.028]
34 Tsujino T, Isayama H, Nakai Y, Ito Y, Togawa O, Toda N, Arizumi T, Kogure H, Yamamoto K, Mizuno S, Yashima Y, Yagioka H, Sasaki T, Matsubara S, Yamamoto N, Hirano K, Sasahira N, Tada M, Koike K. The results of the Tokyo trial of prevention of post-ERCP pancreatitis with risperidone (Tokyo P3R): a multicenter, randomized, phase II, non-placebo-controlled trial. *J Gastroenterol* 2013; 48: 982-988 [PMID: 23090004 DOI: 10.1007/s00535-012-0698-5]
35 Barkay O, Niv E, Santo E, Bruck R, Hallak A, Konikoff FM. Low-dose heparin for the prevention of post-ERCP pancreatitis: a randomized placebo-controlled trial. *Surg Endosc* 2008; 22: 1971-1976 [PMID: 18214607 DOI: 10.1007/s00464-007-9738-2]
36 Li S, Cao G, Chen X, Wu T. Low-dose heparin in the prevention of post endoscopic retrograde cholangiopancreatography pancreatitis: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2012; 24: 477-481 [PMID: 22293331 DOI: 10.1097/MEG.0b013e328351097f]
37 Fluhr G, Mayerle J, Weber E, Aghdassi A, Simon P, Gress T, Seufferlein T, Mössner J, Stallmach A, Rösch T, Müller M, Siegmund B, Büchner-Steudel P, Zuber-Jerger I, Kantowski M, Hoffmeister A, Rosendahl J, Linhart T, Maul J, Czakó L, Hegyi P, Kraft M, Engel G, Kohlmann T, Glitsch A, Pickartz T, Budde C, Nitsche C, Storck K, Lerch MM. Pre-study protocol MagPEP: a multicentre randomized controlled trial of magnesium sulphate in the prevention of post-ERCP pancreatitis. *BMC Gastroenterol* 2013; 13: 11 [PMID: 23320650 DOI: 10.1186/1471-230X-13-11]
38 Ding X, Chen M, Huang S, Zhang S, Zou X. Non-steroidal anti-inflammatory drugs for prevention of post-ERCP pancreatitis: a meta-analysis. *Gastrointest Endosc* 2012; 76: 1152-1159 [PMID: 23164513 DOI: 10.1016/j.gie.2012.08.021]
39 Elmunzer BJ, Waljee AK, Elta GH, Taylor JR, Fehmi SM, Higgins PD. A meta-analysis of rectal NSAIDs in the prevention of post-ERCP pancreatitis. *Gut* 2008; 57: 1262-1267 [PMID: 18375470 DOI: 10.1136/gut.2007.140756]
40 Zheng M, Bai J, Yuan B, Lin F, You J, Lu M, Gong Y, Chen Y. Meta-analysis of prophylactic corticosteroid use in post-ERCP pancreatitis. *BMC Gastroenterol* 2008; 8: 6 [PMID: 18271973 DOI: 10.1186/1471-230X-8-6]
41 Bai Y, Gao J, Shi X, Zou D, Li Z. Prophylactic corticosteroids do not prevent post-ERCP pancreatitis: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Pancreatology* 2008; 8: 504-509 [PMID: 18765955 DOI: 10.1159/000151999]
42 Law R, Leal C, Dayyeh BA, Leise MD, Balderramo D, Baron TH, Cardenas A. Role of immunosuppression in post-endoscopic retrograde cholangiopancreatography pancreatitis after liver transplantation: a retrospective analysis. *Liver Transpl* 2013; 19: 1354-1360 [PMID: 24115362 DOI: 10.1002/lt.23758]
43 Gu WJ, Wei CY, Yin RX. Antioxidant supplementation for the prevention of post-endoscopic retrograde cholangiopancreatography pancreatitis: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Nutr J* 2013; 12: 23 [PMID: 23398675 DOI: 10.1186/1475-2891-12-23]
44 Abbasinazari M, Mohammad Alizadeh AH, Moshiri K, Pourhoseingholi MA, Zali MR. Does allopurinol prevent post endoscopic retrograde cholangio- pancreatography pancreatitis? A randomized double blind trial. *Acta Med Iran* 2011; 49: 579-583 [PMID: 22052140]
45 Mohseni Salehi Monfared SS, Vahidi H, Abdolghaffari AH, Nikfar S, Abdollahi M. Antioxidant therapy in the management of acute, chronic and post-ERCP pancreatitis: a systematic review. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 4481-4490 [PMID: 19777606]
46 van Westerloo DJ, Rauws EA, Hommes D, de Vos AF, van der Poll T, Powers BL, Fockens P, Dijkgraaf MG, Bruno MJ. Pre-ERCP infusion of semapimod, a mitogen-activated protein kinases inhibitor, lowers post-ERCP hyperamylasemia but not pancreatitis incidence. *Gastrointest Endosc* 2008; 68: 246-254 [PMID: 18455169 DOI: 10.1016/j.gie.2008.01.034]
47 Sherman S, Cheng CL, Costamagna G, Binmoeller KF, Puespoek A, Aithal GP, Kozarek RA, Chen YK, Van Steenbergen W, Tenner S, Freeman M, Monroe P, Geffner M, Deviere J. Efficacy of recom-

binant human interleukin-10 in prevention of post-endoscopic retrograde cholangiopancreatography pancreatitis in subjects with increased risk. *Pancreas* 2009; 38: 267-274 [PMID: 19214137 DOI: 10.1097/MPA.0b013e31819777d5]

48 Sherman S, Alazmi WM, Lehman GA, Geenen JE, Chuttani R, Kozarek RA, Welch WD, Souza S, Pribble J. Evaluation of recombinant platelet-activating factor acetylhydrolase for reducing the incidence and severity of post-ERCP acute pancreatitis. *Gastrointest Endosc* 2009; 69: 462-472 [PMID: 19231487 DOI: 10.1016/j.gie.2008.07.040]

49 Shah TU, Liddle R, Branch MS, Jowell P, Obando J, Poleski M. Pilot study of aprepitant for prevention of post-ERCP pancreatitis in high risk patients: a phase II randomized, double-blind placebo controlled trial. *JOP* 2012; 13: 514-518 [PMID: 22964958]

50 Yuhara H, Ogawa M, Kawaguchi Y, Igarashi M, Shimosegawa T, Mine T. Pharmacologic prophylaxis of post-endoscopic retrograde cholangiopancreatography pancreatitis: protease inhibitors and NSAIDs in a meta-analysis. *J Gastroenterol* 2014; 49: 388-399 [PMID: 23720090 DOI: 10.1007/s00535-013-0834-x]

51 Zhang ZF, Yang N, Zhao G, Zhu L, Zhu Y, Wang LX. Preventive effect of ulinastatin and gabexate mesylate on post-endoscopic retrograde cholangiopancreatography pancreatitis. *Chin Med J* (Engl) 2010; 123: 2600-2606 [PMID: 21034635]

52 Seta T, Noguchi Y. Protease inhibitors for preventing complications associated with ERCP: an updated meta-analysis. *Gastrointest Endosc* 2011; 73: 700-706.e1-2 [PMID: 21145053 DOI: 10.1016/j.gie.2010.09.022]

53 Chen S, Shi H, Zou X, Luo H. Role of ulinastatin in preventing post-endoscopic retrograde cholangiopancreatography pancreatitis: the Emperor's New Clothes or Aladdin's Magic Lamp? *Pancreas* 2010; 39: 1231-1237 [PMID: 20531245 DOI: 10.1097/MPA.0b013e3181dc67e7]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年6月18日; 22(17): 2406-2413
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

文献综述 REVIEW

胰腺癌早期诊断的研究进展

纪道林, 李春龙, 崔云甫

■背景资料
胰腺癌是常见的胰腺肿瘤, 是一种恶性程度很高, 诊断和治疗都很困难的消化系恶性肿瘤, 约90%起源于腺管上皮. 其发病率和死亡率近年来明显上升, 5年生存率<1%, 因临床表现隐匿及早期诊断困难而致预后极差. 在胰腺癌早期进行确诊能明显改善预后, 因此如何对其进行有效的早期诊断已成为近年来国内外研究的热点.

纪道林, 李春龙, 崔云甫, 哈尔滨医科大学附属第二医院普外科 黑龙江省哈尔滨市 150086
纪道林, 在读硕士, 主要从事胰腺癌的临床和基础研究.
黑龙江省科技计划基金资助项目, No. GC12C304-1
作者贡献分布: 本文综述由纪道林完成; 李春龙与崔云甫审校.
通讯作者: 崔云甫, 教授, 主任医师, 博士生导师, 150086, 黑龙江省哈尔滨市南岗区学府路246号, 哈尔滨医科大学附属第二医院普外科. yfcui777@hotmail.com
电话: 0451-86605113
收稿日期: 2014-03-12 修回日期: 2014-04-05
接受日期: 2014-04-17 在线出版日期: 2014-06-18

Early diagnosis of pancreatic cancer

Dao-Lin Ji, Chun-Long Li, Yun-Fu Cui

Dao-Lin Ji, Chun-Long Li, Yun-Fu Cui, Department of General Surgery, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China
Supported by: the Science and Technology Program of Heilongjiang Province, No. GC12C304-1
Correspondence to: Yun-Fu Cui, Professor, Chief Physician, Department of General Surgery, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, 246 Xuefu Road, Nangang District, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China. yfcui777@hotmail.com
Received: 2014-03-12 Revised: 2014-04-05
Accepted: 2014-04-17 Published online: 2014-06-18

Abstract
Pancreatic cancer is a common malignancy of the pancreas, with about 90% originating in the glandular epithelium. As a highly malignant gastrointestinal tumor, pancreatic cancer is difficult to diagnose and treat. The silent nature of the clinical manifestations and the difficulty of early diagnosis lead to a poor prognosis. In recent years, the incidence rate and mortality rate have increased significantly, with the 5-year survival rate being less than 1%. It is evident that early diagnosis is an effective strategy to improve the prognosis and therefore has become a hotspot of research. This article reviews the progress in early diagnosis of pancreatic cancer in terms of imageological diagnosis, serological examinations and genomic testing as well as the screening of high-risk populations.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Pancreas; Pancreatic cancer; Tumor; Early diagnosis

Ji DL, Li CL, Cui YF. Early diagnosis of pancreatic cancer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(17): 2406-2413 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2406.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i17.2406

摘要
胰腺癌是常见的胰腺肿瘤, 是一种恶性程度很高、诊断和治疗都很困难的消化系恶性肿瘤, 约90%起源于腺管上皮. 其发病率和死亡率近年来明显上升, 5年生存率<1%, 因临床表现隐匿及早期诊断困难而致预后极差. 在胰腺癌早期进行确诊能明显改善预后, 因此如何对其进行有效的早期诊断已成为近年来国内外研究的热点. 本文就胰腺癌的影像学检查、血清学检查、基因组学检查及胰腺癌高危人群的筛查方面的研究进展作一综述.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 胰腺; 胰腺癌; 肿瘤; 早期诊断

核心提示: 胰腺癌是常见的胰腺恶性肿瘤, 因临床表现隐匿及早期诊断困难而致预后极差. 在胰腺癌早期进行确诊能明显改善预后, 因此如何进行有效的早期诊断已成为近年来国内外研究的热点. 本文就胰腺癌影像学检查、血清学检查、基因组学检查及胰腺癌高危人群的筛查方面的研究进展作一综述.

纪道林, 李春龙, 崔云甫. 胰腺癌早期诊断的研究进展. 世界华人消化杂志 2014; 22(17): 2406-2413 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2406.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i17.2406

0 引言
胰腺癌是一种恶性程度很高的肿瘤, 其年死亡率几乎等于其发病率, 世界范围内, 胰腺癌在引起男性和女性因癌症死亡的原因中分别排名第8位和第9位[1]. 尽管胰腺癌在胃肠道恶性肿瘤中未排名前列, 但根据近几年几个亚太地区癌症

■同行评议者
朱亮, 副教授, 大连医科大学生理教研室

登记记录显示, 其年龄标准化发病率几乎增加至每年4/100000-10/100000, 是世界上重要的癌症之一[2]. 基于发达国家的统计, 估计有近75%的患者在确诊胰腺癌后1年内死亡, 约有4%的患者在确诊后能生存5年[3]. 能早期诊断并且根治性切除的患者, 其5年生存率也<20%[3]. 在日本, 胰腺癌是引起癌症死亡的第5大原因, 最新统计显示, 其5年生存率为5.5%, 每年有超过26000例死于胰腺癌[4]. 在中国, 仅有8%-10%的胰腺癌患者能在确诊后的1年存活, 平均存活期为4-5 mo[5], 98%-99%的患者会在5年之内死亡. 如此差的预后与胰腺癌本身临床表现的隐匿性有直接关系, 患者通常很晚出现明显的临床症状, 比如梗阻性黄疸、腹痛和体质量下降, 此时为胰腺癌进展期, 已经没有治疗的可能性了. 因此, 提高胰腺癌早期诊断, 对于预后的提高有重要意义. 胰腺癌早期诊断的难题还在于进一步通过手术切除肿瘤. 和其他肿瘤治疗相比较, 比如结肠癌、结肠息肉等, 胰腺切除术后各种并发症发生率以及死亡率都较高.

1 早期胰腺癌定义

胰腺癌的早期诊断对于提高预后有重要意义, Moossa等[6]提出, 早期胰腺癌是指肿瘤直径≤2 cm、局限于胰腺实质内、无胰外浸润及淋巴结转移, 相当于TNM分期中的T1a期. 有研究报告直径≤2 cm的胰腺癌术后5年生存率为19%-41%, 直径在1-2 cm的胰腺癌多已有局部淋巴结、血管和神经等部位侵犯, 术后5年生存率与进展期胰腺癌相比无明显差异; 而直径≤1 cm的微小胰癌术后5年生存率可达到67%, 故认为将直径≤1 cm定义为早期胰腺癌更为恰当[7].

2 临床表现诊断(clinical symptoms)

单纯地通过临床表现来早期诊断胰腺癌是不可能的, 由于肿瘤的位置和疾病的不同阶段, 胰腺癌的临床表现有很大的不同, 腹痛、体质量下降、腹泻及一些其他疾病普遍性临床表现通常没有特异性, 并且这些临床表现也预示着此时胰腺癌已是晚期. 梗阻性黄疸的症状出现在肿瘤位于胰头部的胰腺癌患者, 通常此时肿瘤体积已经较大压迫胆总管甚至十二指肠. 位于胰腺体尾部的肿瘤, 通常表现为腹痛和体质量下降. 在胰腺癌中疼痛症状十分普遍(>80%, ≤85%), 这种疼痛一般表现为来自上腹部深部的钝痛, 并向背部放散. 有很少一部分的胰腺癌会引起胃肠道出血症状[8,9]. 有超过80%的胰腺癌患者伴有高血糖和糖尿病症状, 并且晚发性糖尿病, 尤其是对于老年患者而言, 也被认为是胰腺癌的先兆. 其他的一些系统症状和体征包括, 乏力、厌食、浅静脉血栓形成、脂膜炎、肝功能异常和腹围增大.

3 影像学诊断(radiological imaging)

近些年影像学的快速发展, 为早期诊断胰腺癌提供了重要手段. 通常微小胰腺癌(直径<1 cm)无局部淋巴结侵犯, 可以进行根治性切除获得长期生存率[10]. 因此, 急需找到一种诊断方式, 达到这一目的. 当前, 除了超声内镜(endoscopic ultrasound, EUS), 其他的影像学诊断方式, 如腹部超音波, 电脑断层扫描(computed tomography, CT)和磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)都无法单独可靠地检测出这种微小的病变[11].

3.1 内镜逆行胰胆管造影(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)和EUS 通过利用ERCP使得EUS检查得到了进一步发展. 在美国华盛顿大学[12]的一项关于侦测胰腺微小发育异常的研究中, ERCP意外地发现胰管的异常(狭窄或者扩展)以及胰管的充填不佳. 胰腺导管内乳头状黏液性肿瘤(一个已知的癌前病变)的特征性发现对于胰腺癌早期诊断是非常有帮助的[13]. 其他还应该通过EUS进行诊断的疾病为胰腺炎, 无论是酒精引起的还是遗传性胰腺炎, 因为胰腺炎病变可以掩盖早期胰腺上皮内瘤变, 还能表现出胰腺癌的假象. 由于可能有局灶性病变的存在, 区分胰腺癌和自身免疫性胰腺炎之间的差异是一个难题[14]. 超声内镜的最新发展, 包括使用对比增强谐波超声内镜可以帮助克服这些困难, 使得胰腺癌早期诊断更为明确[15,16]. 和过去相比, 采用ERCP诊断胰腺癌显著地的减少.由于ERCP术后可能引起胰腺炎, 因此目前其主要应用在梗阻性疾病患者中安放支架; 至于ERCP的诊断角色, 已经被EUS和MRCP逐步取代[17].

3.2 MRI 在胰腺癌的研究中, MRI已经成为胰腺癌诊断的重要工具. 由于其较高的软组织对比性和多种类型数据的可获得性, MRI对胰腺肿瘤的诊断要优于CT, 尤其对于小的、非轮廓变形的癌症性病变、肝脏转移和血管侵犯的探查更为明确[18,19]. 由于胰腺腺泡中水性蛋白质的存在, 正常胰腺实质在非对比增强T1加权像上呈现高信号, 而胰腺癌在平扫和增强后T1加权脂肪抑

■研发前沿

目前对胰腺癌早期进行诊断依然困难, 研究目前主要围绕在影像学检查、血清学检查、基因组学检查及胰腺癌高危人群的筛查方面, 多种影像学方法的有效联合、寻找新型肿瘤标志物、探索胰腺癌相关基因、如何在高危人群中有效筛查是现阶段研究的热点问题.

■相关报道
国内外研究表示, 如Khean-Lee等报道, 对于胰腺癌早期微小病变, 除了超声内镜(endoscopic ultrasound, EUS), 其他的影像学诊断方式都无法单独可靠地检测出这种微小的病变; 血清学和基因组学方面, PAM4、MUC-1、REG4等新型肿瘤标志物, *K-ras*、*ZIP4*、*PDX-1*等基因研究也对指导临床进行有效诊断有重要意义.

制图像上常表现为低信号(甚至正常)强度的病变, 因为胰腺肿瘤存在相对丰富的纤维间质[19,20]. 近些年多种技术的发展使得MRI在诊断领域有了很大的发展. 3D梯度回波体现得尤为明显, 因为他具有更好的信号噪声比, 这允许切片薄至2 mm和更均匀脂肪饱和度[21]. 最近的一项研究表明, 应用新近研发的3.0T MR设备并采用高b值弥散加权成像对于鉴别慢性胰腺炎病变与胰腺癌有很大帮助[22]. 然而, 通过这一复杂方法能否有效地检测出<1 cm病变的研究, 还有待继续观察.

3.3 CT 在胰腺癌研究中, CT是一种被广泛应用和验证的工具[17,20]. 对于那些伴有胰腺癌症状、怀疑患有胰腺癌的患者而言, 首先应当进行CT检查, CT不仅可以检查胰腺肿瘤的存在, 还可以对是否可切除进行评估、检查肝脏是否有转移瘤. 近些年, 随着科学技术的发展进步, 其敏感性和特异性都有了很大的提升. 多排CT允许对更大体积的胰腺组织进行成像, 同时可以在较短的时间内采集胰腺动静脉期图像, 并且区分主胰管和小的实质性团块. 各机构之间的胰腺成像方案可以有所不同, 但有几个原则应该遵守, 以保证胰腺疾病诊断的最佳收益率. 从内脏动脉供血于胰腺, 胰腺强化峰值出现在主动脉强化峰值(动脉期)之后, 肝脏强化峰值(肝脏期)之前[20]. 研究表明, 这个时期是胰腺肿瘤组织与周围实质对比度最大的时期, 借此来评估血管受侵犯的情况[20]. 由于灌流不足, 胰腺癌通常在CT上通常表现为低密度团块, 但有时也可表现为与周围正常组织等密度[17,18,20]. 有的时候只能通过第二征象检测肿瘤的存在, 如周围血管的偏差或胰管、胆总管的扩张[17].

CT对于胰腺癌检查的敏感性为89%-97%, 对于体积较大的病变敏感性更高[20]. Legmann等[23]表示, CT对于>1.5 cm的病变检出率为100%, 但是对于较小的病变, 检出率仅为67%[23]. Bronstein等[24]发现对于<2.0 cm的病变来说, 其敏感性为77%, 特异性为100%[24]. 这些数据可能有一定的偏差, 因为他们没有包含患有慢性胰腺炎的患者. 一些研究也将径向和线性EUS与螺旋CT进行对比, 发现EUS在胰腺癌诊断中等同或优于CT. EUS的敏感性为97%-100%, 而CT的敏感性为68%-91%[18]. 最终, 多层CT与EUS进行对比表明, 对于CT平扫未见的病变检测, EUS具有完全的优势[18].

比较两种检查在T/N分期方面的差异, 证实了在肿块大小分期方面EUS比CT有着更高的准确率(67% *vs* 41%, P<0.001), 但是对于淋巴结分期两者基本一致(EUS *vs* CT, 44% *vs* 47%)[18].

3.4 内镜超声引导下细针穿刺活检(endoscopic ultrasonography guided fine needle aspiration, EUS-FNA) FNA联合EUS为胰腺癌诊断的另一重要手段, 但在进行EUS-FNA操作中, 鉴于操作者技术水平、医疗仪器质量等因素, 常常不能获得满意诊断图片和体现典型病理特征的活检组织, 使EUS-FNA对胰腺癌诊断的敏感性、特异性及准确性有很大差异. 在EUS-FNA组织细胞学诊断胰腺癌中, 为减少了穿刺的并发症(包括疼痛、出血、针道移行细胞的种植), 临床医生常选取较细的穿刺针, 常导致获得的穿刺物太少从而影响病理科医生的检查结果. 同样, 这种病理学诊断也依赖病理科医生的经验, 因此为了提高准确性, 目前有很多研究在围绕开展*K-ras*等基因检测, 来弥补病理学诊断的不足, 从而提高胰腺癌早期诊断的效率.

3.5 正电子发射计算机断层显像(positron emission tomography, PET) 鉴于空间分辨力较差, PET在胰腺癌的诊断和分期中作用甚微, 但是其在远处转移检测, 尤其是局部肿瘤复发检测中有很重要的意义[18,20]. 最近, 一项回顾性研究表明, 对于局部晚期无法切除的胰腺癌患者, 预辐射氟脱氧葡萄糖-PET(fluoro-deoxy-glucose PET, FDG-PET)的参数是作为预后预测的重要工具[25].

最常用的PET放射示踪物为18-FDG(一种葡萄糖类似物), 通过葡萄糖转运体在细胞内进行转运, 并且在肿瘤细胞内高表达[17,20]. 他对于胰腺癌检测的敏感性为71%-92%, 特异性为64%-94%[17], Lytras等[26]最近报道了一例在胰腺癌评估中应用FDG-PET取得的结果, 这一结果的准确性和应用CT进行评估相当[26]. Fröhlich等[27]发现, 在肝转移诊断中, 整体的特异性为95%, 对于较大的病灶更为明确(对于>1 cm的肿块, 特异性为97%, 然而对于<1 cm的肿块, 特异性仅为45%)[27]. 假阳性的结果通常发生在一些炎症性疾病, 如胰腺炎、高血糖等疾病[17]. 初步的研究表明, 在胰腺癌影像学研究中, 由FDG-PET提供的功能性信息和CT提供的解剖学信息应该紧密联系在一起. 一般来说, PET/CT对胰腺肿块的诊断的阳性和阴性预测值分别是91%和69%, 鉴于其对于远处转移诊断的高预测率, 在胰腺切除术前这种新颖的方法应该予以考虑[28].

表 1 糖类抗原19-9的优缺点

优点	缺点
可以对治疗中的患者进行监测	不适用于胰腺癌的筛查及诊断
可以被用于预后评估	路易斯(Lewis)血型依赖(不考虑肿瘤体积, Le^{a-b-}的患者不表达)
为治疗决策的选择提供帮助	对于早期的胰腺癌不敏感

■创新盘点

本文对近年来胰腺癌早期诊断进展进行了综述, 其中EUS检查、各种影像学方法的有效联合为影像学热点; 基因组学和血清学方面围绕在新型基因如*K-ras*、*ZIP4*、*PDX-1*和新型标志物如PAM4、MUC-1、REG4的研究, 其中基因组学研究为近2年肿瘤研究的热议话题. 另一方面, 高危人群筛查一题也被提出, 高危因素要点被不断完善.

4 血清学诊断(biomarkers)

鉴于其较低的花费和低创伤性, 在早期胰腺癌诊断研究中, 血清学标志物检测被认为是一种理想化的方法. 在过去的十年里, 关于胰腺癌血清学诊断的研究一直发展, 有很多出版物都在论述各自观点与研究成果.

4.1 糖类抗原19-9(carbohydrate antigen 19-9, CA19-9)和癌胚抗原(carcino-embryonic antigen, CEA) 目前被广泛应用于临床诊断胰腺癌的肿瘤标志物有CA19-9和CEA, 但是在胰腺癌早期诊断筛查方面, 这两种标志物都有各自的缺陷. CA19-9是1981年人们在寻找一种比CEA更可靠用于胃肠道癌症诊断的标志物时被发现的. 尽管CA19-9最初被认为是结直肠癌诊断的肿瘤标志物, 但很快研究表明将其用于胰腺癌诊断的标志物更为合适. 在对两个大型文献综述的汇总研究中, 作者发现CA19-9也有一定范围的敏感性和特异性, 平均敏感性为80%, 特异性为86%[29]. 但CA19-9也有其缺陷, 在一些非恶性肿瘤的疾病中, 如急性胆管炎、胰腺炎, 都可能伴有CA19-9的升高[30,31]. 其他恶性肿瘤也可能伴有CA19-9的升高, 例如有2/3的胆管癌患者和1/2的肝细胞癌患者伴有CA19-9升高[29]. 低分化的胰腺癌与中、高分化的胰腺癌相比, CA19-9升高的更不明显. 并且, CA19-9对于早期胰腺肿瘤和癌前病变的敏感性很低[32]. 表1为CA19-9在胰腺癌诊断与治疗中的优缺点. 因此, 目前CA19-9没有作为对无症状人群进行筛查的生物学标志物, 而是被应用于那些有症状患者的检查和帮助医生鉴别胰腺炎患者与胰腺癌患者.

CEA是一种糖蛋白, 是1965年Gold和Freedman[33]在人类结肠癌研究中发现的. CEA是第一个被用于检测胰腺癌的肿瘤标志物, 一个汇总了13个已发表报告的分析阐明, 在1323例患者中, CEA平均敏感性为54%, 平均特异性为79%, 如此低的敏感性使其无法被用于胰腺癌筛查[34]. 并且, 在一些其他肿瘤, 比如乳腺癌、胃癌、结直肠癌也有CEA的表达, 因此, 如此差的特异性使得CEA同样不能被用于胰腺癌的筛查[35]. 因此, 过去的20年中, 在胰腺癌诊断方面CEA被CA19-9所代替. 考虑到CEA不能在胰腺癌诊断中独立使用, 其临床应用可能需要联合其他标志物. 当CEA被与CA19-9联合应用于对123例胰腺癌和58例早期胰腺疾病(如慢性胰腺炎、胰腺假性囊肿)进行诊断时, 其敏感性和特异性分别是86%和72%, 与孤立的使用CEA进行诊断有明显的提高[36].

4.2 新型肿瘤标志物 在胰腺癌早期诊断过程中也同时对其他一些标志物进行了研究, 大量基于蛋白质和基于DNA的标志物被调查研究, 但其中大部分仍处于Ⅰ期或Ⅱ研究中. 在胰腺癌标志物研究中, 很多都是针对黏蛋白-1(mucin 1, MUC-1)的糖类抗原, 以提高CA19-9在胰腺癌诊断中的效率. 例如美国新泽西州癌症中心Gold报告, 单克隆抗体PAM4在胰腺癌中对MUC-1糖蛋白探测的特异性明显高于在其他肿瘤中, 利用这一抗体可以在患者的血清样本中检测出一种独特的抗原-PAM4-抗原, 免疫组织化学研究结果提示该特异性抗原在健康人群中不表达, 仅罕见于胰腺癌患者中[37]. 既往免疫组织化学研究显示, PAM4这一标志物在87%的胰腺恶性肿瘤中予以表达, 而在相对照的胰腺炎样本中不予表达[38,39]; PAM4-抗原检测胰腺癌的敏感性和特异性分别为77%和95%; 最近一项研究是分析比较PAM4和CA19-9分别在胰腺癌患者、其他类型癌症、胰腺良性病变、健康人群中的敏感性和和特异性, 免疫统计分析表明, 两者在检测胰腺导管腺癌包括早期病变的敏感性基本一致. 然而, 特异性方面, 尤其是考虑到慢性胰腺炎, CA19-9明显比PAM4低很多(68% *vs* 86%, $P = 0.014$). 最后, 进行两种标志物联合分析表明, 将CA19-9与PAM4联合起来可以提高胰腺导管腺癌检出率(84%), 特异性也没有明显降低(83%)[40]. 在胰腺癌鉴别诊断中, 利用酶联免疫吸附法(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)对血液循环中MUC-1表原决定簇的检测

■应用要点
通过整理近年来胰腺癌早期诊断的方式方法, 为提升临床胰腺癌诊断提供了一定的理论指导, 方便医疗界同行了解胰腺癌早期诊断方面的进展.

表 2 胰腺癌风险因素的分类

低风险(<5倍)
男性
黑色人种
犹太人后裔
肥胖
吸烟
糖尿病
幽门螺杆菌感染
一级亲属中有患癌症的(任何癌症)
遗传性非息肉性大肠癌
家族性腺瘤性息肉病(familial adenomatous polyposis, FAP)
一级亲属中有1个人患过胰腺癌
中风险(5–10倍)
一级亲属中有2个人患过胰腺癌
囊性纤维化病
慢性胰腺炎
*BRCA2*突变基因携带者
高风险(>10倍)
伴有p16胚系突变的家族性非典型多痣黑色素瘤综合征(FAMMM)家族中, 在一级或二级亲属中有至少1个人患过胰腺癌
黑斑息肉病(Peutz–Jeghers)
遗传性胰腺炎
一级、二级、三级亲属中有共超过3个人患过胰腺癌
极大可能: BRCA1和BRCA2突变基因携带者的一级或二级亲属中至少有1个人患过胰腺癌

本表引用来源于第四届国际胰腺遗传性疾病研讨会公布的最新胰腺癌风险因素结果.

的敏感性和特异性都要高于CA19-9[41].

同时, Takayama等[42]也在评估其他标志物的应用价值, 也就是所谓的人胰岛再生性蛋白4(regenerating islet-derived 4, REG4). REG4是一种新型再生蛋白, 在消化系器官的组织再生和炎症中发挥重要作用[43,44]. 这一研究揭示, 与健康对照组相比较, REG4的敏感性、特异性、精确度分别是94.9%、64%和77.5%. 研究者们也通过癌症分期对REG4水平进行分组, 发现相对于健康对照组, 癌症Ⅰ期和Ⅱ期患者体内的REG4水平明显升高. 研究同时表明, 在鉴别胰腺癌患者和健康人群中应用REG4也要优于CA19-9[42,45].

鉴于各种标志物的敏感性和特异性差异, 在早期胰腺癌诊断中单独应用生物学标志物仍然是不可行的.

5 基因组学诊断(genomics)

肿瘤是一种基因异常性疾病, 异常基因表达导致其编码蛋白质功能异常, 最终损伤细胞的功能产生疾病. 近10年基因组测序技术有了长足的发展, 新一代基因组测序技术不仅其测序周期明显缩短, 测序费用显著降低, 而且对全基因组范围的表观遗传学和转录组学等进行了深入研究. 随着后基因组时代的来临, 未来将对基因组表达调控及编码蛋白所产生的功能进行深入研究, 有利于阐述疾病的发病机制, 为临床应用打下坚实基础. 因此, 全基因组测序有助于深入研究胰腺癌的发病机制, 在不久的未来, 指导个体化治疗. 研究证实许多基因突变, 如*K-ras*、*SMAD4*、*CDKN2A(p16)*和*TP53*(*p53*), 密切参与胰腺癌的发生发展. 尤其*K-ras*基因是目前研究最多, 并且认为与胰腺癌关系最为密切的原癌基因之一, 由于在胰腺癌及具有胰腺癌高易感性人群中*K-ras*基因突变率极高, 越来越多的学者开始强调依靠检测*K-ras*基因的突变来达到早期诊断胰腺癌的目的[46,47]. 深入研究这些基因突变的功能可进一步明确胰腺癌的发病机制及有助于开发胰腺癌诊断标志物和治疗靶点. 近年发现一些新的胰腺癌相关基因, 比如过表达ZIP4和PDX-1促进胰腺癌的生长.

随着海量基因组数据的产生, 如何高效地进行数据分析并指导临床是目前面临的主要挑战. 并且对于胰腺癌的基因组学研究还停留在实验室研究阶段, 想要投入临床对早期胰腺癌进行诊断依然不可行.

6 对胰腺癌高危人群的筛查(high-risk groups)

一般来说, 胰腺癌筛查主要针对的是高风险人群. 第四届国际胰腺遗传性疾病研讨会公布的最新胰腺癌风险因素结果如表2[48], 最主要的风险是基因遗传因素, 包括*BRCA1*、*BRCA2*、*p16/CDKN2A*、*STK11/LKB1*和*PRSS1*的突变, 同时遗传相关性胰腺炎、遗传相关性乳腺癌、黑斑息肉病(Peutz-Jeghers)和家族性非典型多痣黑色素瘤综合征(familial atypical multiple mole melanoma, FAMMM)也是引起胰腺癌的高危因素. 另一方面, 对于有家族性胰腺癌遗传基础的家属, 也就是家族中有至少2个一级亲属患有胰腺癌但没有发生其他癌症或家族性疾病的, 尚未阐明. 一项以加拿大社区为基础的研究[49]表明7.8%的胰腺癌患者有明确家族史, 相对的, 有10%的胰腺癌具有家族性因素[50].

目前, 各种影像学手段被用于尝试在高危人群中进行胰腺早期病变的探查, 这些影像学

手段包括CT、MRI、ERCP、EUS, 甚至在一些确定为胰腺癌高危因素的人群中行剖腹探查部分胰腺切除术[51,52]. 在适当的遗传咨询后, 可以对一些突变进行基因学检测, 如*BRCA1*、*BRCA2*、*PRSS1*. 然而这些测试都不是现成的, 考虑到高风险人群的遗传异质性和尚未完善的胰腺癌基因谱, 临床上应用这种方法筛查高风险人群依然不可行也不切实际.

7 结论

普通人群中进行胰腺癌的检测和筛查是不可行的. 在现阶段, 筛选和监控仅限于那些胰腺癌的高发人群. 这种高危人群的识别往往是基于家族史和存在明显的遗传性症状, 然而这只存在于少数的胰腺癌患者中. 尽管将常规基因检测作为筛查胰腺癌的工具是不可行的, 但是对常见标志物的分析还是有助于增加高风险人群的检出率. 在早期胰腺癌诊断中临床评估和使用血清生物标志物仍然是不实际的, 目前为了检测出这种<1 cm的微小胰腺病灶, 只能通过EUS. 然而, EUS本身也存在问题, 胰腺肿瘤的过度诊断和误诊就是一个一直存在的难题. 随着研究的不断深入, 加强多学科、多领域的合作, 胰腺癌的早期诊断率一定会有所提高.

8 参考文献

1 Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 69-90 [PMID: 21296855 DOI: 10.3322/caac.20107]
2 International Agency for Research on Cancer. Cancer incidence in five continents. Cancer Mondial. Cited: 2012-10-10. Available from: URL: http: //ci5.iarc.fr/CI5plus/ci5plus.htm
3 Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Murray T, Thun MJ. Cancer statistics, 2008. *CA Cancer J Clin* 2008; 58: 71-96 [PMID: 18287387 DOI: 10.3322/CA.2007.0010]
4 Vital Statics Japan. 2010. Cancer survival (1993-2002). Ministry of Health, Labour and Welfare. Cited: 2012-04-10. Available from: URL: http: //ganjoho.ncc.go.jp/professional/statistics/statistics.html
5 Guo X, Cui Z. Current diagnosis and treatment of pancreatic cancer in China. *Pancreas* 2005; 31: 13-22 [PMID: 15968242 DOI: 10.1097/01.mpa.0000168220.97967.d1]
6 Moossa AR, Levin B. The diagnosis of "early" pancreatic cancer: the University of Chicago experience. *Cancer* 1981; 47: 1688-1697 [PMID: 6168357 DOI: 10.1002/1097-0142(19810315)47: 6]
7 张群华, 陈宗祐. 努力推进胰腺癌规范治疗. 世界华人消化杂志 2008; 16: 3819-3821
8 Hidalgo M. Pancreatic cancer. *N Engl J Med* 2010; 362: 1605-1617 [PMID: 20427809 DOI: 10.1056/NEJMra0901557]
9 Cascinu S, Falconi M, Valentini V, Jelic S. Pancreatic cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2010; 21 Suppl 5: v55-v58 [PMID: 20555103 DOI: 10.1093/annonc/mdq165]
10 Ariyama J, Suyama M, Satoh K, Sai J. Imaging of small pancreatic ductal adenocarcinoma. *Pancreas* 1998; 16: 396-401 [PMID: 9548685 DOI: 10.1097/00006676-199804000-00030]
11 Goh KL, Yoon BK. Early detection of pancreatic cancer: a possibility in some cases but not a reality in most. *J Dig Dis* 2012; 13: 389-392 [PMID: 22788923 DOI: 10.1111/j.1751-2980.2012.00609.x]
12 Brentnall TA, Bronner MP, Byrd DR, Haggitt RC, Kimmey MB. Early diagnosis and treatment of pancreatic dysplasia in patients with a family history of pancreatic cancer. *Ann Intern Med* 1999; 131: 247-255 [PMID: 10454945 DOI: 10.7326/0003-4819-131-4-199908170-00003]
13 Canto MI, Goggins M, Hruban RH, Petersen GM, Giardiello FM, Yeo C, Fishman EK, Brune K, Axilbund J, Griffin C, Ali S, Richman J, Jagannath S, Kantsevoy SV, Kalloo AN. Screening for early pancreatic neoplasia in high-risk individuals: a prospective controlled study. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2006; 4: 766-781; quiz 665 [PMID: 16682259 DOI: 10.1016/j.cgh.2006.02.005]
14 Gong PL, Liu TT, Shen XZ. Differentiation of autoimmune pancreatitis with pancreatic carcinoma remains a challenge to physicians. *J Dig Dis* 2012; 13: 267-273 [PMID: 22500789 DOI: 10.1111/j.1751-2980.2012.00582.x]
15 Larghi A, Verna EC, Lecca PG, Costamagna G. Screening for pancreatic cancer in high-risk individuals: a call for endoscopic ultrasound. *Clin Cancer Res* 2009; 15: 1907-1914 [PMID: 19276278 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-08-1966]
16 Yasuda I, Iwashita T, Doi S, Nakashima M, Moriwaki H. Role of EUS in the early detection of small pancreatic cancer. *Dig Endosc* 2011; 23 Suppl 1: 22-25 [PMID: 21535195 DOI: 10.1111/j.1443-1661.2011.01113.x]
17 Michl P, Pauls S, Gress TM. Evidence-based diagnosis and staging of pancreatic cancer. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2006; 20: 227-251 [PMID: 16549326 DOI: 10.1016/j.bpg.2005.10.005]
18 Săftoiu A, Vilmann P. Role of endoscopic ultrasound in the diagnosis and staging of pancreatic cancer. *J Clin Ultrasound* 2009; 37: 1-17 [PMID: 18932265 DOI: 10.1002/jcu.20534]
19 Vachiranubhap B, Kim YH, Balci NC, Semelka RC. Magnetic resonance imaging of adenocarcinoma of the pancreas. *Top Magn Reson Imaging* 2009; 20: 3-9 [PMID: 19687720 DOI: 10.1097/RMR.0b013e3181b48392]
20 Wong JC, Lu DS. Staging of pancreatic adenocarcinoma by imaging studies. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2008; 6: 1301-1308 [PMID: 18948228 DOI: 10.1016/j.cgh.2008.09.014]
21 Lall CG, Howard TJ, Skandarajah A, DeWitt JM, Aisen AM, Sandrasegaran K. New concepts in staging and treatment of locally advanced pancreatic head cancer. *AJR Am J Roentgenol* 2007; 189: 1044-1050 [PMID: 17954638 DOI: 10.2214/AJR.07.2131]
22 Huang WC, Sheng J, Chen SY, Lu JP. Differentiation between pancreatic carcinoma and mass-forming chronic pancreatitis: usefulness of high

■同行评价

文章对胰腺癌早期诊断的最新进展进行了综述, 条理清晰, 分析合理. 参考文献较新, 所引杂志影响力高.

b value diffusion-weighted imaging. *J Dig Dis* 2011; 12: 401-408 [PMID: 21955434 DOI: 10.1111/j.1751-2980.2011.00517.x]
23 Legmann P, Vignaux O, Dousset B, Baraza AJ, Palazzo L, Dumontier I, Coste J, Louvel A, Roseau G, Couturier D, Bonnin A. Pancreatic tumors: comparison of dual-phase helical CT and endoscopic sonography. *AJR Am J Roentgenol* 1998; 170: 1315-1322 [PMID: 9574609 DOI: 10.2214/ajr.170.5.9574609]
24 Bronstein YL, Loyer EM, Kaur H, Choi H, David C, DuBrow RA, Broemeling LD, Cleary KR, Charnsangavej C. Detection of small pancreatic tumors with multiphasic helical CT. *AJR Am J Roentgenol* 2004; 182: 619-623 [PMID: 14975959 DOI: 10.2214/ajr.182.3.1820619]
25 Schellenberg D, Quon A, Minn AY, Graves EE, Kunz P, Ford JM, Fisher GA, Goodman KA, Koong AC, Chang DT. 18Fluorodeoxyglucose PET is prognostic of progression-free and overall survival in locally advanced pancreas cancer treated with stereotactic radiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2010; 77: 1420-1425 [PMID: 20056345 DOI: 10.1016/j.ijrobp.2009.06.049]
26 Lytras D, Connor S, Bosonnet L, Jayan R, Evans J, Hughes M, Garvey CJ, Ghaneh P, Sutton R, Vinjamuri S, Neoptolemos JP. Positron emission tomography does not add to computed tomography for the diagnosis and staging of pancreatic cancer. *Dig Surg* 2005; 22: 55-61; discussion 62 [PMID: 15838173 DOI: 10.1159/000085347]
27 Fröhlich A, Diederichs CG, Staib L, Vogel J, Beger HG, Reske SN. Detection of liver metastases from pancreatic cancer using FDG PET. *J Nucl Med* 1999; 40: 250-255 [PMID: 10025831]
28 Heinrich S, Goerres GW, Schäfer M, Sagmeister M, Bauerfeind P, Pestalozzi BC, Hany TF, von Schulthess GK, Clavien PA. Positron emission tomography/computed tomography influences on the management of resectable pancreatic cancer and its cost-effectiveness. *Ann Surg* 2005; 242: 235-243 [PMID: 16041214 DOI: 10.1097/01.sla.0000172095.97787.84]
29 Steinberg W. The clinical utility of the CA 19-9 tumor-associated antigen. *Am J Gastroenterol* 1990; 85: 350-355 [PMID: 2183589]
30 Mann DV, Edwards R, Ho S, Lau WY, Glazer G. Elevated tumour marker CA19-9: clinical interpretation and influence of obstructive jaundice. *Eur J Surg Oncol* 2000; 26: 474-479 [PMID: 11016469 DOI: 10.1053/ejso.1999.0925]
31 DiMagno EP, Reber HA, Tempero MA. AGA technical review on the epidemiology, diagnosis, and treatment of pancreatic ductal adenocarcinoma. American Gastroenterological Association. *Gastroenterology* 1999; 117: 1464-1484 [PMID: 10579989 DOI: 10.1016/S0016-5085(99)70298-2]
32 Bünger S, Laubert T, Roblick UJ, Habermann JK. Serum biomarkers for improved diagnostic of pancreatic cancer: a current overview. *J Cancer Res Clin Oncol* 2011; 137: 375-389 [PMID: 21193998 DOI: 10.1007/s00432-010-0965-x]
33 Gold P, Freedman SO. Demonstration of tumor-specific antigens in human colonic carcinomata by immunological tolerance and absorption techniques. *J Exp Med* 1965; 121: 439-462 [PMID: 14270243 DOI: 10.1084/jem.121.3.439]
34 Goonetilleke KS, Siriwardena AK. Systematic review of carbohydrate antigen (CA 19-9) as a biochemical marker in the diagnosis of pancreatic cancer. *Eur J Surg Oncol* 2007; 33: 266-270 [PMID: 17097848 DOI: 10.1016/j.ejso.2006.10.004]
35 Brody JR, Witkiewicz AK, Yeo CJ. The past, present, and future of biomarkers: a need for molecular beacons for the clinical management of pancreatic cancer. *Adv Surg* 2011; 45: 301-321 [PMID: 21954696 DOI: 10.1016/j.yasu.2011.04.002]
36 Duraker N, Hot S, Polat Y, Höbek A, Gençler N, Urhan N. CEA, CA 19-9, and CA 125 in the differential diagnosis of benign and malignant pancreatic diseases with or without jaundice. *J Surg Oncol* 2007; 95: 142-147 [PMID: 17262731 DOI: 10.1002/jso.20604]
37 Gold DV, Goggins M, Modrak DE, Newsome G, Liu M, Shi C, Hruban RH, Goldenberg DM. Detection of early-stage pancreatic adenocarcinoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2010; 19: 2786-2794 [PMID: 20810605 DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-10-0667]
38 Gold DV, Lew K, Maliniak R, Hernandez M, Cardillo T. Characterization of monoclonal antibody PAM4 reactive with a pancreatic cancer mucin. *Int J Cancer* 1994; 57: 204-210 [PMID: 7512537 DOI: 10.1002/ijc.2910570213]
39 Gold DV, Karanjawala Z, Modrak DE, Goldenberg DM, Hruban RH. PAM4-reactive MUC1 is a biomarker for early pancreatic adenocarcinoma. *Clin Cancer Res* 2007; 13: 7380-7387 [PMID: 18094420 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-07-1488]
40 Gold DV, Gaedcke J, Ghadimi BM, Goggins M, Hruban RH, Liu M, Newsome G, Goldenberg DM. PAM4 enzyme immunoassay alone and in combination with CA 19-9 for the detection of pancreatic adenocarcinoma. *Cancer* 2013; 119: 522-528 [PMID: 22898932 DOI: 10.1002/cncr.27762]
41 Gold DV, Modrak DE, Ying Z, Cardillo TM, Sharkey RM, Goldenberg DM. New MUC1 serum immunoassay differentiates pancreatic cancer from pancreatitis. *J Clin Oncol* 2006; 24: 252-258 [PMID: 16344318 DOI: 10.1200/JCO.2005.02.8282]
42 Takayama R, Nakagawa H, Sawaki A, Mizuno N, Kawai H, Tajika M, Yatabe Y, Matsuo K, Uehara R, Ono K, Nakamura Y, Yamao K. Serum tumor antigen REG4 as a diagnostic biomarker in pancreatic ductal adenocarcinoma. *J Gastroenterol* 2010; 45: 52-59 [PMID: 19789838 DOI: 10.1007/s00535-009-0114-y]
43 Hartupee JC, Zhang H, Bonaldo MF, Soares MB, Dieckgraefe BK. Isolation and characterization of a cDNA encoding a novel member of the human regenerating protein family: Reg IV. *Biochim Biophys Acta* 2001; 1518: 287-293 [PMID: 11311942 DOI: 10.1016/S0167-4781(00)00284-0]
44 Watanabe T, Yonekura H, Terazono K, Yamamoto H, Okamoto H. Complete nucleotide sequence of human reg gene and its expression in normal and tumoral tissues. The reg protein, pancreatic stone protein, and pancreatic thread protein are one and the same product of the gene. *J Biol Chem* 1990; 265: 7432-7439 [PMID: 2332435]
45 Takehara A, Eguchi H, Ohigashi H, Ishikawa O, Kasugai T, Hosokawa M, Katagiri T, Nakamura Y, Nakagawa H. Novel tumor marker REG4 detected in serum of patients with resectable pancreatic cancer and feasibility for antibody therapy targeting REG4. *Cancer Sci* 2006; 97: 1191-1197 [PMID: 16918991 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2006.00297.x]

46 Maluf-Filho F, Kumar A, Gerhardt R, Kubrusly M, Sakai P, Hondo F, Matuguma SE, Artifon E, Monteiro da Cunha JE, César Machado MC, Ishioka S, Forero E. Kras mutation analysis of fine needle aspirate under EUS guidance facilitates risk stratification of patients with pancreatic mass. *J Clin Gastroenterol* 2007; 41: 906-910 [PMID: 18090159 DOI: 10.1097/MCG.0b013e31805905e9]

47 Pellisé M, Castells A, Ginès A, Solé M, Mora J, Castellví-Bel S, Rodríguez-Moranta F, Fernàndez-Esparrach G, Llach J, Bordas JM, Navarro S, Piqué JM. Clinical usefulness of KRAS mutational analysis in the diagnosis of pancreatic adenocarcinoma by means of endosonography-guided fine-needle aspiration biopsy. *Aliment Pharmacol Ther* 2003; 17: 1299-1307 [PMID: 12755843 DOI: 10.1046/j.1365-2036.2003.01579.x]

48 Brand RE, Lerch MM, Rubinstein WS, Neoptolemos JP, Whitcomb DC, Hruban RH, Brentnall TA, Lynch HT, Canto MI. Advances in counselling and surveillance of patients at risk for pancreatic cancer. *Gut* 2007; 56: 1460-1469 [PMID: 17872573 DOI: 10.1136/gut.2006.108456]

49 Ghadirian P, Boyle P, Simard A, Baillargeon J, Maisonneuve P, Perret C. Reported family aggregation of pancreatic cancer within a population-based case-control study in the Francophone community in Montreal, Canada. *Int J Pancreatol* 1991; 10: 183-196 [PMID: 1787333]

50 Lynch HT, Smyrk T, Kern SE, Hruban RH, Lightdale CJ, Lemon SJ, Lynch JF, Fusaro LR, Fusaro RM, Ghadirian P. Familial pancreatic cancer: a review. *Semin Oncol* 1996; 23: 251-275 [PMID: 8623061]

51 McSweeney SE, O'Donoghue PM, Jhaveri K. Current and emerging techniques in gastrointestinal imaging. *J Postgrad Med* 2010; 56: 109-116 [PMID: 20622390 DOI: 10.4103/0022-3859.65280]

52 Galasso D, Carnuccio A, Larghi A. Pancreatic cancer: diagnosis and endoscopic staging. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2010; 14: 375-385 [PMID: 20496552]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



世界华人消化杂志 2014年6月18日; 22(17): 2414-2420
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

研究快报 RAPID COMMUNICATION

双联抗血小板药物对大鼠胃黏膜损伤的机制

季英兰, 陆 伟, 张志广, 李 熳, 张雪莲, 刘 霞

■背景资料
由于经皮冠状动脉介入治疗和植入药物洗脱支架临床应用的增多, 人群中接受双联抗血小板治疗的患者已显著增加. 消化系不良事件也日渐增多. 双联抗血小板药物对胃黏膜损伤表现及机制并不完全清楚, 需要更进一步研究, 以期为临床预防及治疗提供实验室依据.

季英兰, 张志广, 李熳, 张雪莲, 刘霞, 天津医科大学第二医院消化科 天津市 300211
陆伟, 天津市第二人民医院 天津市 300192
季英兰, 住院医师, 主要从事消化系统疾病的研究.
天津市卫生局科技基金资助项目, No. 07KG8
作者贡献分布: 此课题由陆伟、张志广、李熳及季英兰设计与结果判读; 研究过程由季英兰、张雪莲及刘霞操作完成; 数据分析与本论文写作由季英兰完成.
通讯作者: 陆伟, 主任医师, 300192, 天津市南开区苏堤路75号, 天津市第二人民医院消化科. jiyinglan521@163.com
收稿日期: 2014-03-16 修回日期: 2014-04-15
接受日期: 2014-04-28 在线出版日期: 2014-06-18

Gastric mucosal injury induced by dual antiplatelet drugs in rats

Ying-Lan Ji, Wei Lu, Zhi-Guang Zhang, Man Li, Xue-Lian Zhang, Xia Liu

Ying-Lan Ji, Zhi-Guang Zhang, Man Li, Xue-Lian Zhang, Xia Liu, Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300211, China
Wei Lu, the Second People's Hospital of Tianjin, Tianjin 300192, China
Supported by: Science and Technology Foundation of Tianjin Municipal Health Bureau, No. 07KG8
Correspondence to: Wei-Lu, Chief Physician, the Second People's Hospital of Tianjin, 75 Suti Road, Nankai District, Tianjin 300192, China. jiyinglan521@163.com
Received: 2014-03-16 Revised: 2014-04-15
Accepted: 2014-04-28 Published online: 2014-06-18

Abstract

AIM: To investigate the effect of different antiplatelet drugs on gastric mucosal injury in rats and the possible mechanisms involved.

METHODS: Eighty 6-7-week-old male SD rats were randomly allocated into four groups. Except a negative control group, the other three groups were given clopidogrel [7.81 mg/(kg•d), n = 20], aspirin [10.41 mg/(kg•d), n = 20] and clopidogrel plus aspirin (n = 20), respectively. The drugs were intragastrically administered once daily, and the negative control group was given normal saline (n = 20). All rats received operation after the final intragastric administration to observe gastric injury. The degree of gastric and small intestinal mucosal injury was assessed by HE staining, and the expression of tumor necrosis factor-α (TNF-α) and interleukin-1β (IL-1β) in gastric mucosal cells was detected by immunohistochemistry.

RESULTS: The scores of gross and pathological lesions were significantly higher in each drug treatment group than in the negative control group (P < 0.01), in the aspirin group than in the clopidogrel group (13.4000 ± 3.28634 *vs* 8.8000 ± 1.48324, P < 0.01), and in the combination group than in the two monotherapy groups (P < 0.01). Immunohistochemistry analysis revealed that the expression of TNF-α and IL-1β in the gastric and small intestinal mucosa was significantly higher in each drug treatment group than in the negative control group (P < 0.01), in the aspirin group than in the clopidogrel group (P < 0.01), and in the combination group than in the two monotherapy groups (P < 0.01).

CONCLUSION: Routine doses of antiplatelet drugs can cause gastrointestinal injury in rats, and the combination of antiplatelet drugs aggravates the injury compared with monotherapy. The high expression of TNF-α and IL-1β may be involved in mucosal injury induced by antiplatelet drugs.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Antiplatelet drugs; Aspirin; Clopidogrel; Gastric mucosa injury

Ji YL, Lu W, Zhang ZG, Li M, Zhang XL, Liu X. Gastric mucosal injury induced by dual antiplatelet drugs in rats. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(17): 2414-2420
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2414.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i17.2414

摘要

目的: 探讨双联抗血小板药物对大鼠胃黏膜损伤及其可能发生机制.

方法: SPF级♂6-7周龄SD大鼠80只, 体质量200-220 g, 随机分为阴性对照组、阿司匹林

■同行评议者
王承党, 教授, 福建医科大学附属第一医院消化内科

组、氯吡格雷组、阿司匹林联合氯吡格雷组(以下简称双抗组), 每组20只, 分别予生理盐水、阿司匹林10.41 mg/(kg·d)、氯吡格雷7.81 mg/(kg·d)、阿司匹林联合氯吡格雷灌胃1次/d, 共14 d. 所有大鼠于末次给药后手术, 观察胃的损伤情况, HE染色法评估胃黏膜损伤程度, 免疫组织化学法测定肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)、白介素-1β(interleukin-1β, IL-1β)表达水平的变化.

结果: (1)各实验组大鼠胃黏膜的大体和病理损伤均高于阴性对照组(0.0000±0.00000)(P<0.01), 且阿司匹林组(13.4000±3.28634)损伤高于氯吡格雷组(8.8000±1.48324)(P<0.01), 双抗组(23.6000±3.57771)损伤高于阿司匹林组及氯吡格雷组(P<0.01); (2)免疫组织化学显示: 与对照组(10%)相比, 各实验组大鼠胃黏膜TNF-α蛋白均呈明显高水平表达(P<0.01); 阿司匹林组(90%)表达水平高于氯吡格雷组(85%)(P<0.01), 双抗组(100%)高于阿司匹林组及氯吡格雷组(P<0.01). 与对照组(5%)相比, 各实验组大鼠胃黏膜IL-1β蛋白均呈明显高水平表达(P<0.01); 阿司匹林组(100%)表达水平高于氯吡格雷组(80%)(P<0.01), 双抗组高于氯吡格雷组(P<0.01).

结论: 常规剂量抗血小板药物的使用可造成大鼠胃黏膜损伤, 联合用药较单一用药造成损伤程度加重, TNF-α、IL-1β表达增强, 提示这种变化可能参与黏膜的损伤.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 抗血小板药物; 阿司匹林; 氯吡格雷; 胃黏膜损伤

核心提示: 我们用标准剂量阿司匹林、氯吡格雷灌服大鼠, 免疫组织化学法测定肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)、白介素-1β(interleukin-1β, IL-1β)表达, 结果显示, 各实验组胃黏膜中TNF-α、IL-1β均较对照组呈显著高水平表达, 且阿司匹林组与氯吡格雷组相比呈高水平表达, 双抗组较单用阿司匹林、单用氯吡格雷亦呈明显高水平表达.

季英兰, 陆伟, 张志广, 李熳, 张雪莲, 刘霞. 双联抗血小板药物对大鼠胃黏膜损伤的机制. 世界华人消化杂志 2014; 22(17): 2414-2420 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2414.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i17.2414

0 引言

随着社会人口老龄化及心脑血管疾病呈现日益高发的趋势, 越来越多的患者服用抗血小板药物. 在经皮冠状动脉介入治疗(percutaneous coronary intervention, PCI)患者中, 阿司匹林联合氯吡格雷的双联抗血小板治疗已成为预防支架内血栓形成和减少缺血事件的标准治疗方案[1]. 由于PCI和植入药物洗脱支架(drug-eluting stent, DES)临床应用的增多, 人群中接受双联抗血小板治疗的患者已显著增加[2]. 大量循证医学证据已证实抗血小板药物对心脑血管疾病一级、二级预防的重要性. 由于抗血小板药物的广泛使用, 消化系不良事件也日渐增多[3]. 本实验旨在研究双联抗血小板药物对大鼠胃黏膜的损伤, 并探讨可能机制, 以期为临床的预防及治疗提供实验室依据.

■研发前沿
专门针对阿司匹林和/或氯吡格雷的双抗或单抗治疗与消化系统损伤的研究还甚少. 本实验旨在通过研究阿司匹林、氯吡格雷单药及联合用药对大鼠胃黏膜损伤的表现, 以期为临床的预防及治疗提供实验室依据.

1 材料和方法

1.1 材料 SPF级♂6-7周龄SD大鼠80只, 体质量200-220 g(天津医科大学药学院动物房提供); 拜阿司匹林肠溶片(拜耳医药保健有限公司); 氢氯吡格雷片(天津腾麟发展有限公司); 依文思蓝100 mL(北京索莱宝科技有限公司); 即用型SP免疫组织化学通用试剂盒(天津市津脉基因测绘技术有限公司); 兔抗大鼠多克隆抗体肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)抗体、兔抗大鼠多克隆抗体白介素-1β(interleukin-1β, IL-1β)(武汉博士得生物工程有限公司).

1.2 方法

1.2.1 动物分组: 将80只大鼠随机分为4组, 每组20只. A组: 阴性对照组; B组: 阿司匹林组; C组: 氯吡格雷组; D组: 阿司匹林联合氯吡格雷组.

1.2.2 动物造模: 四组分别予以生理盐水、阿司匹林10.41 mg/(kg·d)、氯吡格雷7.81 mg/(kg·d)、阿司匹林联合氯吡格雷灌胃, 1次/d, 连续14 d, 以上所有大鼠每次灌胃液体量均按10 mL/kg计算. 造模期间大鼠正常饮食饮水.

1.2.3 标本制备: 末次灌胃后所有大鼠禁食不禁水18 h, 以10%水合氯醛按3 mL/kg行腹腔注射麻醉, 分离出胃, 60 min后处死大鼠, 留取胃, 用冰生理盐水冲洗干净后, 置4%甲醛液中固定, 常规石蜡包埋, 切片厚度4 μm, 进行HE染色以及免疫组织化学检测TNF-α、IL-2β的表达.

1.2.4 检测指标: (1)胃黏膜大体观察及评分: 沿胃大弯剪开胃壁并使胃腔黏膜外翻, PBS漂洗胃黏膜3遍后, 以游标卡尺测定溃疡指数, 按Guth标准[4]累积计算损伤指数(lesion index, LI): 斑点样损伤 = 1分, 损伤直径(长度)<1 mm为2分, 损

■相关报道
以往研究阿司匹林与氯吡格雷损伤机制以及肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)、白介素在炎症损伤中的表达情况, 但对双联抗血小板引起胃黏膜损伤研究少.

表 1 大鼠胃黏膜损伤指数(Guth评分)

分组	大鼠胃黏膜损伤程度				损伤率(%)
	0级	Ⅰ级	Ⅱ级	Ⅲ-Ⅳ级	
对照组	20	0	0	0	0
阿司匹林组	2	3	10	5	90
氯吡格雷组	4	5	9	2	80
双抗组	0	3	6	11	100

伤直径(长度)1-2 mm为3分, 损伤直径(长度)2-4 mm为4分, 损伤直径(长度)>4 mm为5分, 宽度>2 mm的损伤积分值×2; (2)胃黏膜组织学观察及评分: 以文献报道[5]为判断标准, 按照黏膜损伤的程度分为0-Ⅳ级. 0级: 黏膜组织完好无缺损, 偶见极少数上皮细胞脱落. Ⅰ级: 黏膜上皮细胞损伤, 胞质有空泡, 肿胀, 核固缩或细胞破碎, 有部分上皮细胞脱落, 但胃小凹无损伤; Ⅱ级: 除了黏膜上皮细胞广泛损伤外, 胃小凹也有破坏. 损伤区附近可有毛细血管充血, 但胃腺细胞无损伤; Ⅲ级: 胃腺细胞损伤, 可见腺细胞的胞质有空泡, 核固缩, 或有整层的坏死上皮细胞脱落, 使固有层和腺细胞直接暴露于胃腔, 并可见轻微出血; Ⅳ级: 损伤深入腺体深部, 并有部分腺体坏死脱落, 整个胃黏膜广泛出血; (3)免疫组织化学法检测胃黏膜TNF-α、IL-1β表达: 采用SABC法(按试剂盒说明书). 主要步骤: 石蜡切片常规脱蜡至水, 枸橼酸盐缓冲液中, 于微波炉中低火修复抗原, 3%H_2O_2封闭内源性过氧化物酶15 min, 滴加一抗(TNF-α、IL-1β均为1∶200稀释) 4 ℃过夜, 37 ℃复温1 h, 滴加生物素标记二抗工作液, 37 ℃ 30 min, PBS冲洗, DAB显色3-4 min, 镜下控制显色时间, 苏木精复染、脱水、透明、中性树胶封片. PBS代替一抗作为空白对照. 定性判定: 依据阳性细胞数量计分: 阳性细胞数<10%, 计0分; 阳性细胞数10%-25%, 计1分; 阳性细胞数为26%-50%, 计2分; 阳性细胞数为51%-75%, 计3分; 阳性细胞数>75%, 计4分; 依据细胞着色强度计分 无色为0分; 淡黄色为1分; 棕黄为2分; 棕褐为3分; 细胞阳性数量和着色强度两项得分相加: 0-1分为阴性; 2-3分为弱阳性(+); 4-5分为阳性(++); 6-7分为强阳性(+++).

统计学处理 采用SPSS17.0软件进行处理及分析, 计量数据以mean±SD表示, 预先检验方差齐性, 如方差齐则多组间均数比较采用两独立样本*t*检验, 如方差不齐则采用秩转换的非参数检验. 免疫组织化学数据以mean±SD表示, 组间差异选用两独立样本*t*检验, $P<0.05$为差异有统计学意义. 大体及病理损伤评分以中位数及四分位间距表示, 组间比较采用两独立样本秩和检验, 统计量采用Mann-Whitney *U*检验; 检验水准$\alpha = 0.05$, $P<0.05$为差异有统计学意义.

表 2 各组大鼠胃黏膜组织学损伤程度

分组	大鼠胃黏膜损伤指数
对照组	0.0000 ± 0.00000
阿司匹林组	13.4000 ± 3.28634
氯吡格雷组	8.8000 ± 1.48324
双抗组	23.6000 ± 3.57771

2 结果

2.1 胃黏膜大体表现 对照组未见黏膜损伤, 阿司匹林组大鼠黏膜表面出现点状糜烂、小溃疡、出血; 氯吡格雷灌胃后大鼠黏膜表面可见散在点状糜烂、出血; 双抗组灌胃后黏膜表面出现糜烂、溃疡、出血.

2.2 胃黏膜HE染色病理观察 对照组大鼠胃黏膜正常, 结构层次清楚, 上皮结构完整, 无损伤, 腺体排列整齐, 腺腔整洁, 损伤程度为0级. 氯吡格雷组大鼠胃黏膜上皮基本完整、连续, 腺体排列较整齐, 部分上皮细胞脱落、破坏, 胃腺体少量表层坏死, 可见中性粒细胞浸润, 胃黏膜轻微充血, 绝大部分为Ⅰ-Ⅱ级的损伤, 极少数为Ⅲ级以上的损伤; 阿司匹林组大鼠胃黏膜部分上皮细胞脱落、破坏, 胃腺体少量表层坏死, 可见中性粒细胞浸润, 胃黏膜轻微充血, 大部分为Ⅰ-Ⅱ级的损伤, 部分为Ⅲ级以上的损伤; 双抗组大鼠胃黏膜组织结构损伤明显, 部分为Ⅰ-Ⅱ级的损伤, 大部分为Ⅲ-Ⅳ级损伤, 在Ⅲ级以上损伤的切片内伴有炎症反应, 大量上皮细胞坏死脱落, 腺体结构破坏, 组织结构损伤明显, 黏膜下或黏膜内散在广泛出血(表1, 图1).

2.3 大体及病理学损伤评分 各实验组大体和病理评分明显高于对照组($P = 0.000$); 阿司匹林组较氯吡格雷组大体和病理评分为高, 差异具有统计学意义($P<0.05$), 双抗组较阿司匹林组和氯吡格雷组大体和病理评分均明显升高, 差异具有统计学意义($P<0.05$)(表2).

2.4 胃黏膜组织TNF-α、IL-1β蛋白免疫组织化学染色 根据免疫组织化学染色结果, TNF-α表达于胃腺体部及底部的细胞浆, 呈黄色或棕黄色. IL-1β胃黏膜全层均可见表达, 主要表达于胃

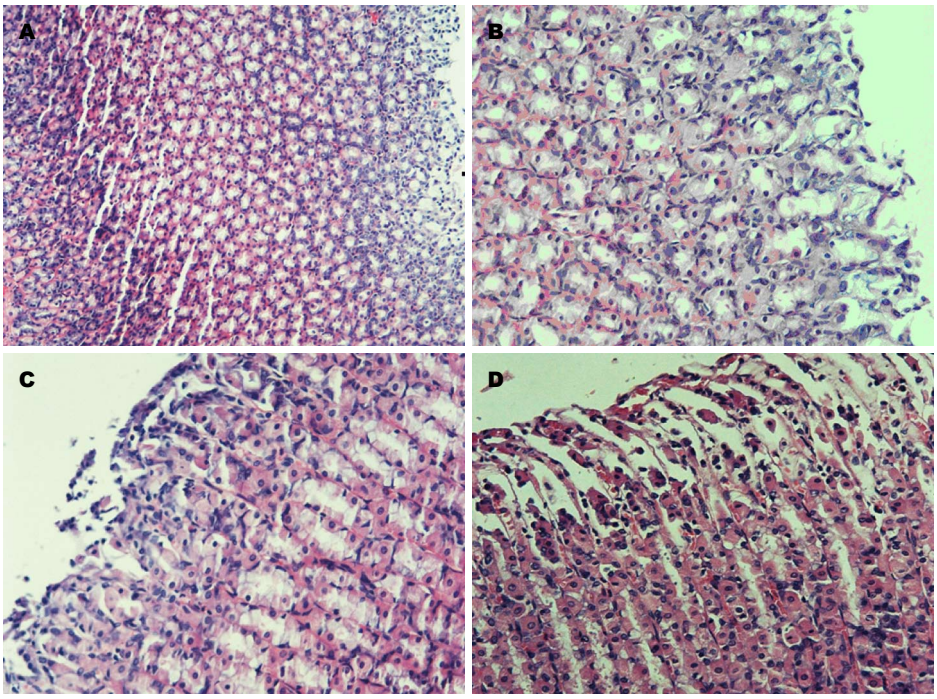


图 1 各组大鼠胃黏膜组织学表现(HE染色). A: 对照组(×100). 胃黏膜、腺体结构完整, 层次清楚, 腺体排列整齐, 腺腔整洁无损伤; B: 阿司匹林组(×200); 黏膜上皮细胞损伤, 胞质有空泡、肿胀, 上皮表层脱落、部分上皮破损; C: 氯吡格雷组(×200). 胃黏膜上皮层基本完整, 腺体部分受损, 部分黏膜上皮细胞损伤、脱落, 胞质有空泡、肿胀; D: 双抗组(×40). 大量上皮细胞坏死, 黏膜下间隙增大, 细胞肿胀, 腺体结构破坏, 大量空泡细胞, 单核细胞浸润, 腺体受损明显, 少量红细胞浸润.

表 3 不同实验组及对照组TNF-α表达阳性程度的分布

分组	不同实验组及对照组TNF-α表达				阳性率(%)
	阴性(-)/(+-)	弱阳性(+)	阳性(++)	强阳性(+++)	
对照组	18	2	0	0	10
阿司匹林组	1	3	7	9	90
氯吡格雷组	3	11	6	0	85
双抗组	0	1	6	13	100

TNF-α: 肿瘤坏死因子-α.

腺体部及底部的细胞浆, 呈黄色或棕黄色. 正常对照组大鼠病理免疫组织化学显示TNF-α、IL-1β的基本无表达(-) 或表达微弱(+), 而经阿司匹林处理组TNF-α、IL-1β表达主要呈阳性(++) 或强阳性(+++), 氯吡格雷处理组TNF-α、IL-1β表达主要呈弱阳性(+), 阿司匹林联合氯吡格雷组大鼠免疫组织化学结果主要呈强阳性(+++), 结果强于阿司匹林组及氯吡格雷组大鼠, 各实验组TNF-α、IL-1β表达与对照组相比均有显著性差异(表3, 4, 图2,3).

3 讨论

抗血小板药物在缺血性心脑血管疾病的治疗中发挥着越来越重要的作用, 已作为心脑血管疾病的一级预防和二级预防药物. 虽然在多项大规模的研究[6-8]的结果中证实阿司匹林联合氯吡格雷的双联抗血小板治疗可进一步降低ACS和接受PCI治疗的患者近期和远期的心血管风险, 但同时也发现双联抗血小板治疗会增加患者出血、特别是胃肠道出血的风险. 两药联用后发生胃肠道出血的概率显著高于单药治疗[9]. 虽然目前对非甾体抗炎药(non-steroidal anti-inflammatory drug, NSAID)引起上消化道不良反应研究较多, 但是专门针对阿司匹林和/或氯吡格雷的双抗或单抗治疗与消化系统损伤的研究还甚少. 本实验旨在通过研究阿司匹林、氯吡格雷单药及联合用药对大鼠胃黏膜损伤的表现, 以期为临床的预防及治疗提供实验室依据.

■创新盘点
本文不仅研究阿司匹林、氯吡格雷对胃黏膜损伤大体表现、损伤指数及TNF-α、IL-1β的表达情况, 对双抗联合应用组也进行了相应的研究.

■应用要点
在双联抗血小板药物的应用的过程中, 对胃黏膜损伤临床的预防及治疗提供实验室依据.

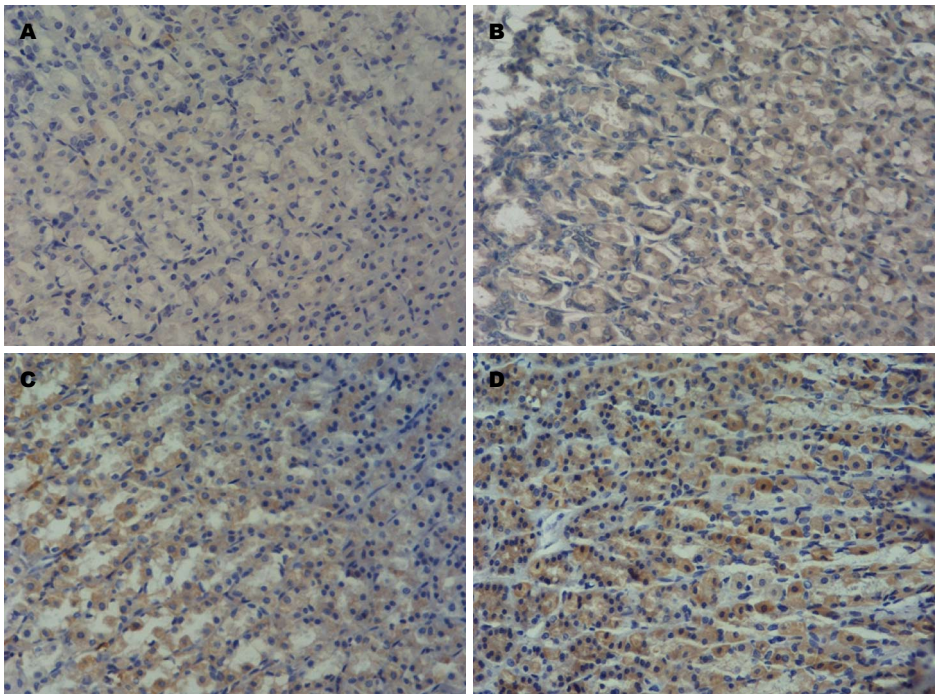


图 2 各组大鼠胃黏膜TNF-α表达(IHC × 200). A: 对照组; B: 阿司匹林组; C: 氯吡格雷组; D: 双抗组. TNF-α: 肿瘤坏死因子-α.

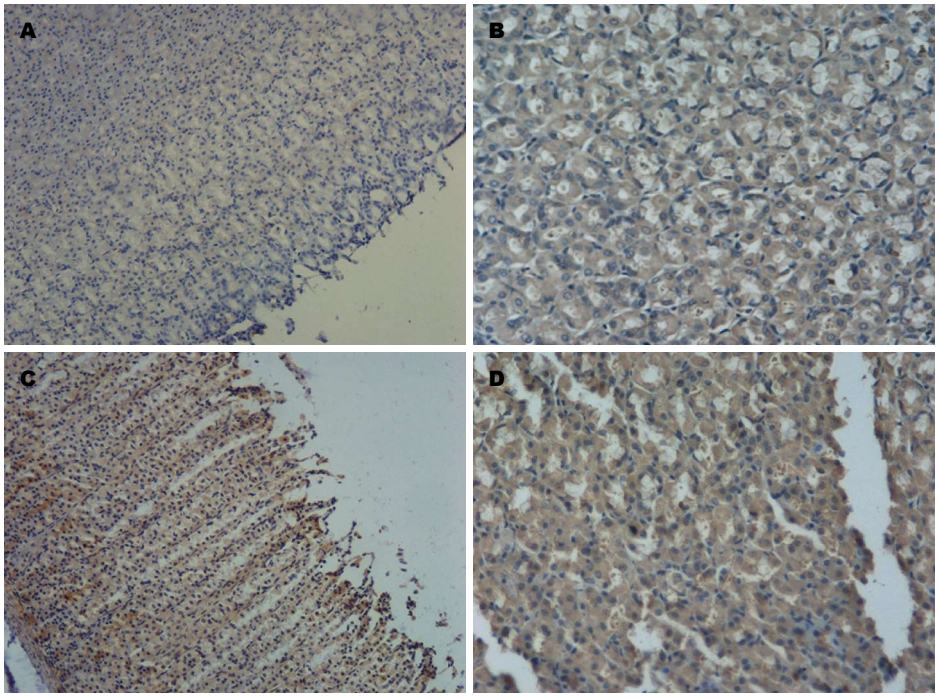


图 3 各组大鼠胃黏膜IL-1β表达. A: 对照组(IHC × 200); B: 阿司匹林组(IHC × 200); C: 氯吡格雷组(IHC × 100); D: 双抗组(IHC × 200). IL-1β: 白介素-1β.

阿司匹林(aspirin, ASA)是目前临床应用最为广泛的抗血小板药物, 为NSAIDs的经典代表. 既往对NSAIDs所致的消化系损伤的研究多集中在胃黏膜, 可能损伤机制包括ASA对胃黏膜直接损伤的局部作用及依赖环氧合酶途径的全身作用. 氯吡格雷是一种血小板表面二磷酸腺苷(adenosine diphosphate, ADP)受体拮抗剂, 属于噻吩吡啶类衍生物, 是不具有抗血小板活性的前体药物, 其活性代谢产物发挥抗血小板聚集作用[10], 并可抑制促血管生长因子合成, 进一步导致血小

表 4 不同实验组及对照组IL-1β表达阳性程度的分布

分组	不同实验组及对照组IL-1β表达				阳性率(%)
	阴性(-)/(+-)	弱阳性(+)	阳性(++)	强阳性(+++)	
对照组	19	1	0	0	5
阿司匹林组	0	4	7	9	100
氯吡格雷组	4	9	8	0	80
双抗组	0	1	7	12	100

IL-1β: 白介素-1β.

■同行评价
本文瞄准前沿, 具有一定临床指导意义.

板源性生成因子和血管内皮生长因子合成减少, 从而导致新生血管形成障碍, 使得胃肠受损伤黏膜修复受阻[11]. 因此, 认为氯吡格雷不是溃疡产生的直接原因, 而是通过抑制血小板聚集及新生血管形成阻碍溃疡愈合, 诱发已存在的无临床症状的溃疡出血. 尚无确切证据表明氯吡格雷具有独立的损伤胃肠道黏膜的作用.

炎症反应在消化系损伤中的作用受到广泛关注. TNF-α是一种重要的炎症介质, 主要来源于腹膜和内脏的单核细胞、巨噬细胞和T细胞. 机体受内外环境刺激后产生的具有重要生物学功能的细胞调节蛋白, 参与机体的免疫、炎症、抗感染等过程. 通过上调中性粒细胞(polymorphonuclear, PMN)及内皮细胞上黏附分子的表达引起PMN移动[12], 而在TNF-β缺失的情况下, PMN的移动不足以产生胃黏膜损伤[13]. Santucci等[14]的研究表明, 应用消炎痛后, 鼠血清中TNF-α的水平明显升高, 与胃黏膜微循环中的中性粒细胞增高、胃黏膜的损伤进程一致; 干扰试验发现, 用己酮可可碱(pentoxifynlline)或抗TNF-α抗体治疗, 可降低TNF-α的水平, 同时减少中性粒细胞在胃黏膜微循环中的数量, 降低胃黏膜的损伤程度. 认为TNF-α是NSAIDs诱导中性粒细胞黏附及造成胃黏膜损伤的关键介质. IL-l是典型的致炎细胞因子, 几乎各种有核细胞均能产生IL-1. 按其结构分IL-α和IL-1β两种. IL-1β是重要的炎症介质, 也可通过上调PMN及内皮细胞上黏附分子的表达而引起PMN移动, 有报道腹腔注射IL-1β后, 可促进中性粒细胞浸润胃黏膜, 使已愈合的溃疡复发[15], 在机体的炎症反应中起重要作用. Shiotani等[16]对232例服用100 mg阿司匹林的心血管患者进行研究, 其中40例有消化性溃疡者作为入选病例, 检测出IL-1β -511/-31基因多态性, 尤其是IL-1β -511T等位基因, 直接影响IL-1β炎症因子的表达, 与胃十二指肠疾病发生的危险性有明显关系. Zhang等[17]通过研究显示证明, 吲哚美辛灌胃能够显著增加大鼠胃黏膜IL-1β浓度.

我们用标准剂量阿司匹林、氯吡格雷灌服大鼠, 免疫组织化学法测定TNF-α、IL-1β表达, 结果显示, 各实验组胃黏膜中TNF-α、IL-1β均较对照组呈显著高水平表达, 且阿司匹林组与氯吡格雷组相比呈高水平表达, 双抗组较单用阿司匹林、单用氯吡格雷亦呈明显高水平表达.研究显示阿司匹林相关消化系损伤呈剂量相关性. Serebruany等[18]的荟萃分析显示: <100、100-200和>200 mg/d剂量阿司匹林的总出血事件发生率分别为3.7%、11.3%和9.8%. 条件所限, 本实验仅用标准计量药物进行研究, 我们将在下一步的实验中进行药物量效关系和时效关系研究.

总之, 我们认为阿司匹林、氯吡格雷可能前期机制不同. 阿司匹林可主动引起溃疡形成, 而氯吡格雷可能由于血管形成受阻, 导致已有溃疡难以愈合, 两者最终均引起炎症因子TNF-α、IL-1β不同程度的释放, 但由于经费及时间的限制, 本实验仅在一定程度上说明了抗血小板药物对大鼠消化系的损伤及相关可能机制, 针对临床上如何预防及治疗消化系损伤, 何时恢复抗血小板药物使用时机, 仍需大量的临床研究和体内试验来解决这一令心脏科及消化科医师共同关注的临床难题.

4 参考文献

1 Sabatine MS, Cannon CP, Gibson CM, López-Sendón JL, Montalescot G, Theroux P, Claeys MJ, Cools F, Hill KA, Skene AM, McCabe CH, Braunwald E. Addition of clopidogrel to aspirin and fibrinolytic therapy for myocardial infarction with ST-segment elevation. *N Engl J Med* 2005; 352: 1179-1189 [PMID: 15758000 DOI: 10.1056/NEJMoa050522]

2 Hallas J, Dall M, Andries A, Andersen BS, Aalykke C, Hansen JM, Andersen M, Lassen AT. Use of sin-

gle and combined antithrombotic therapy and risk of serious upper gastrointestinal bleeding: population based case-control study. *BMJ* 2006; 333: 726 [PMID: 16984924 DOI: 10.1136/bmj.38947.697558.AE]
3 Luk HH. Use of gastroprotective drugs in patients receiving low-dose aspirin. *J Chin Med Assoc* 2009; 72: 356-361 [PMID: 19581141 DOI: 10.1016/S1726-4901(09)70387-9]
4 Guth PH, Paulsen G. Aspirin-induced gastric injury in the rat: histologic changes and sucralfate cytoprotection. *Proc Soc Exp Biol Med* 1987; 184: 423-428 [PMID: 3104918]
5 Campo R, Montserrat A, Brullet E. Transnasal gastroscopy compared to conventional gastroscopy: a randomized study of feasibility, safety, and tolerance. *Endoscopy* 1998; 30: 448-452 [PMID: 9693891 DOI: 10.1055/s-2007-1001306]
6 Steinhubl SR, Berger PB, Mann JT, Fry ET, DeLago A, Wilmer C, Topol EJ. Early and sustained dual oral antiplatelet therapy following percutaneous coronary intervention: a randomized controlled trial. *JAMA* 2002; 288: 2411-2420 [PMID: 12435254 DOI: 10.1001/jama.288.19.2411]
7 Yusuf S, Zhao F, Mehta SR, Chrolavicius S, Tognoni G, Fox KK. Effects of clopidogrel in addition to aspirin in patients with acute coronary syndromes without ST-segment elevation. *N Engl J Med* 2001; 345: 494-502 [PMID: 11519503 DOI: 10.1056/NEJMoa010746]
8 Bertrand ME, Rupprecht HJ, Urban P, Gershlick AH. Double-blind study of the safety of clopidogrel with and without a loading dose in combination with aspirin compared with ticlopidine in combination with aspirin after coronary stenting : the clopidogrel aspirin stent international cooperative study (CLASSICS). *Circulation* 2000; 102: 624-629 [PMID: 10931801 DOI: 10.1161/01.CIR.102.6.624]
9 Diener HC, Bogousslavsky J, Brass LM, Cimminiello C, Csiba L, Kaste M, Leys D, Matias-Guiu J, Rupprecht HJ. Aspirin and clopidogrel compared with clopidogrel alone after recent ischaemic stroke or transient ischaemic attack in high-risk patients (MATCH): randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet* 2004; 364: 331-337 [PMID: 15276392 DOI: 10.1016/S0140-6736(04)16721-4]
10 Mega JL, Close SL, Wiviott SD, Shen L, Hockett RD, Brandt JT, Walker JR, Antman EM, Macias W, Braunwald E, Sabatine MS. Cytochrome p-450 polymorphisms and response to clopidogrel. *N Engl J Med* 2009; 360: 354-362 [PMID: 19106084 DOI: 10.1056/NEJMoa0809171]
11 Bhatt DL, Scheiman J, Abraham NS, Antman EM, Chan FK, Furberg CD, Johnson DA, Mahaffey KW, Quigley EM, Harrington RA, Bates ER, Bridges CR, Eisenberg MJ, Ferrari VA, Hlatky MA, Kaul S, Lindner JR, Moliterno DJ, Mukherjee D, Schofield RS, Rosenson RS, Stein JH, Weitz HH, Wesley DJ. ACCF/ACG/AHA 2008 expert consensus document on reducing the gastrointestinal risks of antiplatelet therapy and NSAID use: a report of the American College of Cardiology Foundation Task Force on Clinical Expert Consensus Documents. *J Am Coll Cardiol* 2008; 52: 1502-1517 [PMID: 19017521 DOI: 10.1016/j.jacc.2008.08.002]
12 Appleyard CB, McCafferty DM, Tigley AW, Swain MG, Wallace JL. Tumor necrosis factor mediation of NSAID-induced gastric damage: role of leukocyte adherence. *Am J Physiol* 1996; 270: G42-G48 [PMID: 8772499]
13 Fiorucci S, Antonelli E, Migliorati G, Santucci L, Morelli O, Federici B, Morelli A. TNFalpha processing enzyme inhibitors prevent aspirin-induced TNFalpha release and protect against gastric mucosal injury in rats. *Aliment Pharmacol Ther* 1998; 12: 1139-1153 [PMID: 9845404 DOI: 10.1046/j.1365-2036.1998.00409.x]
14 Santucci L, Fiorucci S, Giansanti M, Brunori PM, Di Matteo FM, Morelli A. Pentoxifylline prevents indomethacin induced acute gastric mucosal damage in rats: role of tumour necrosis factor alpha. *Gut* 1994; 35: 909-915 [PMID: 8063218 DOI: 10.1136/gut.35.7.909]
15 Watanabe T, Higuchi K, Tominaga K, Fujiwara Y, Arakawa T. Acid regulates inflammatory response in a rat model of induction of gastric ulcer recurrence by interleukin 1beta. *Gut* 2001; 48: 774-781 [PMID: 11358894 DOI: 10.1136/gut.48.6.774]
16 Shiotani A, Sakakibara T, Yamanaka Y, Nishi R, Imamura H, Fujita M, Tarumi K, Kamada T, Hata J, Haruma K. The preventive factors for aspirin-induced peptic ulcer: aspirin ulcer and corpus atrophy. *J Gastroenterol* 2009; 44: 717-725 [PMID: 19448967 DOI: 10.1007/s00535-009-0068-0]
17 Zhang X, Tajima K, Kageyama K, Kyoi T. Irsogladine maleate suppresses indomethacin-induced elevation of proinflammatory cytokines and gastric injury in rats. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 4784-4790 [PMID: 18720540 DOI: 10.3748/WJG.14.4784]
18 Serebruany VL, Steinhubl SR, Berger PB, Malinin AI, Baggish JS, Bhatt DL, Topol EJ. Analysis of risk of bleeding complications after different doses of aspirin in 192,036 patients enrolled in 31 randomized controlled trials. *Am J Cardiol* 2005; 95: 1218-1222 [PMID: 15877994 DOI: 10.1016/j.amjcard.2005.01.049]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



世界华人消化杂志 2014年6月18日; 22(17): 2421-2426
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

研究快报 RAPID COMMUNICATION

六棱菊提取物体外抗乙型肝炎的作用

沈钰明, 戴灵豪, 伍义行, 俞晓平, 张永勇, 赵 昱

沈钰明, 戴灵豪, 伍义行, 俞晓平, 张永勇, 浙江省生物计量及检验检疫技术重点实验室 中国计量学院生命科学学院药学系 浙江省杭州市 310018
赵昱, 浙江大学药学院 浙江省杭州市 310053
沈钰明, 主要从事肝脏药理的研究.
国家自然科学基金资助项目, No. 30701049
作者贡献分布: 本论文由伍义行设计与撰写; 研究过程具体操作由沈钰明、戴灵豪及张永勇完成; 俞晓平与赵昱提供技术指导和平台支持.
通讯作者: 伍义行, 教授, 医学博士, 310018, 浙江省杭州市下沙高教园区学源街258号, 中国计量学院生命科学学院药学系. yihangwu@126.com
电话: 0571-86835702 传真: 0571-86914449
收稿日期: 2014-03-13 修回日期: 2014-04-14
接受日期: 2014-04-24 在线出版日期: 2014-06-18

Effect of *Laggera alata* extract against hepatitis B virus infection *in vitro*

Yu-Ming Shen, Ling-Hao Dai, Yi-Hang Wu, Xiao-Ping Yu, Yong-Yong Zhang, Yu Zhao

Yu-Ming Shen, Ling-Hao Dai, Yi-Hang Wu, Xiao-Ping Yu, Yong-Yong Zhang, Zhejiang Provincial Key Laboratory of Biometrology and Inspection & Quarantine, Department of Pharmacy, College of Life Sciences, Jiliang University of China, Hangzhou 310018, Zhejiang Province, China
Yu Zhao, College of Pharmaceutical Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310053, Zhejiang Province, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 30701049
Correspondence to: Yi-Hang Wu, Professor, Department of Pharmacy, College of Life Sciences, Jiliang University of China, 258 Xueyuan Street, Xiasha Higher Education Zone, Hangzhou 310018, Zhejiang Province, China. yihangwu@126.com
Received: 2014-03-13 Revised: 2014-04-14
Accepted: 2014-04-24 Published online: 2014-06-18

Abstract

AIM: To assess the effect of *Laggera alata* (*L. alata*) extract against hepatitis B virus (HBV) infection *in vitro*.

METHODS: Effect of *L. alata* extract against HBV infection was studied using the D-galactosamine (D-GalN)-induced HL-7702 hepatocyte damage model and HBV-transfected HepG2.2.15 cells. Cytotoxicity induced by *L. alata* extract and hepatocyte viability were detected using MTT assay. The levels of hepatitis B surface antigen (HBsAg) and hepatitis B e antigen (HBeAg) were determined by enzyme immunoassay. HBV DNA level was measured by quantitative fluorescence PCR.

RESULTS: Hepatocyteprotective assay using the D-GalN-induced hepatocyte damage model indicated that *L. alata* extract markedly improved HL-7702 hepatocyte viability at 25-100 μg/mL and produced a maximum protection of 45.66% at 100 μg/mL. HBsAg and HBeAg levels were assayed after hepG2.2.15 cells were incubated with *L. alata* extract for 3 d. The results showed that *L. alata* extract significantly inhibited HBsAg expression at 10-100 μg/mL and produced a maximum inhibition of 45.92% at 100 μg/mL, while it markedly repressed the expression rate of HBeAg by 50.5% at 100 μg/mL. In addition, HBsAg, HBeAg and HBV DNA levels were measured after the cells were treated with *L. alata* extract for 6 d. At 10-100 μg/mL and 25-100 μg/mL, *L. alata* extract significantly inhibited the expression of HBsAg and HBeAg, respectively. At 100 μg/mL, *L. alata* extract inhibited the expression rates of HBsAg and HBeAg by 84.31% and 88.45%, respectively. In addition, *L. alata* extract showed significant inhibition on HBV DNA replication at 100 μg/mL.

CONCLUSION: *L. alata* extract have potent anti-HBV and hepatocyteprotective effects *in vitro*. The anti-hepatitis B effect of *L. alata* extract is likely based on their active components dicaffeoylquinic acids.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: *L. alata* extract; Hepatitis B; Hepatocyte protective; Antiviral effect

Shen YM, Dai LH, Wu YH, Yu XP, Zhang YY, Zhao Y. Effect of *Laggera alata* extract against hepatitis B virus infection *in vitro*. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(17): 2421-2426 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2421.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i17.2421

■背景资料
慢性乙型肝炎危害严重, 至今尚无根治的药物和手段. 六棱菊作为治疗炎症性疾病的良药, 在民间和中医实践中应用广泛, 开展其现代化研究具有重要的意义.

■同行评议者
杨江华, 副教授, 皖南医学院弋矶山医院感染科

■研发前沿
深入开展中药现代化研究是抗肝炎创新药物研制的重要途径之一，而在六棱菊的现代化研究中，尚未见其提取物直接抗HBV作用研究的报道.

摘要

目的: 探讨六棱菊(*Laggera alata*, *L. alata*)提取物对乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染影响.

方法: 采用D-氨基半乳糖(D-galactosamine, D-GalN)致人源HL-7702肝细胞损伤模型, 研究六棱菊提取物对类似乙型肝炎引起的肝细胞损伤的影响; 采用HBV基因转染的HepG2.2.15细胞模型, 评价六棱菊提取物的体外抗HBV作用. 通过MTT法检测细胞毒性和细胞活力; 通过ELISA和荧光定量PCR法分别检测乙型肝炎表面抗原(hepatitis B virus surface antigen, HBsAg)/乙型肝炎e抗原(hepatitis B e antigen, HBeAg)和HBV DNA水平.

结果: 六棱菊提取物在25-100 μg/mL浓度时, 对D-GalN致肝细胞损伤均具有显著保护作用, 而在100 μg/mL浓度时展示了其最高保护率为45.66%. 六棱菊提取物作用HepG2.2.15细胞3 d, 在10-100 μg/mL浓度下对HBsAg有显著抑制作用, 其最高抑制率为45.92%; 在100 μg/mL下能显著抑制HBeAg分泌, 其抑制率为50.5%. 六棱菊提取物作用HepG2.2.15细胞6 d, 在10-100 μg/mL浓度下对HBsAg有显著抑制作用, 其最高抑制率为84.31%; 在25-100 μg/mL浓度下能显著抑制HBeAg分泌, 最高抑制率为88.45%; 同时, 在100 μg/mL时对HBV DNA复制有显著抑制作用.

结论: 六棱菊提取物具有较强的体外抗肝细胞损伤作用和抗HBV作用, 其抗乙型肝炎作用可能与所含咖啡酰奎宁酸类活性成分有关.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 六棱菊提取物; 乙型肝炎; 抗肝细胞损伤作用; 抗病毒作用

核心提示: 六棱菊提取物具有较强的体外抗肝细胞损伤作用和抗乙型肝炎病毒(hepatitis B virus)作用, 其抗乙型肝炎作用可能与所含咖啡酰奎宁酸类活性成分有关.

沈钰明, 戴灵豪, 伍义行, 俞晓平, 张永勇, 赵昱. 六棱菊提取物体外抗乙型肝炎的作用. 世界华人消化杂志 2014; 22(17): 2421-2426
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2421.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i17.2421

0 引言

药用植物六棱菊(*Laggera alata*, *L. alata*)具有清热解毒、抗菌消炎等功效, 长期广泛应用于民间和中医实践中, 疗效甚著[1]. 以“六棱菊”为主要成分的复方制剂在临床上治疗感冒、扁桃体炎、腮腺炎、急性呼吸道感染等取得了显著疗效, 具有重要的研发价值. 近年来六棱菊属植物研究备受关注, 有关该植物化学成分研究已有报道[2-7]. 在前期对六棱菊药效部位及其抗炎药理作用进行深入研究的基础上[8-11], 本文进一步采用D-氨基半乳糖(D-galactosamine, D-GalN)致人源HL-7702肝细胞损伤模型和乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)基因转染的HepG2.2.15细胞模型研究了六棱菊提取物的体外抗乙型肝炎作用.

1 材料和方法

1.1 材料 水飞蓟宾(陕西森弗生物技术有限公司产品); D-GalN(武汉祥和精细化工有限公司产品); 拉米夫定(武汉远城医药有限公司); RPMI 1640培养基、DMEM培养基和胎牛血清(美国GIBCOTM产品); 乙型肝炎e抗原(hepatitis B e antigen, HBeAg)、乙型肝炎表面抗原(hepatitis B virus surface antigen, HBsAg)ELISA检测试剂盒和PCR HBV DNA荧光定量试剂盒(上海科华生物工程股份有限公司); G418(美国Sigma-Aldrich公司产品); 胰酶, MTT(上海生工生物工程技术服务有限公司); 正常人源HL-7702肝细胞株(购自中科院上海细胞库); 转染HBV基因细胞株HepG2.2.15细胞(浙江大学医学院附属第一医院提供).

1.2 方法

1.2.1 六棱菊提取物的制备: 按本课题组前期报道的方法制备[10], 六棱菊提取物的总酚含量为56.5 g GAE/100 g提取物; 其主要成分二咖啡酰奎尼酸类化合物的含量为53.0%.

1.2.2 HL-7702肝细胞和HepG2.2.15细胞的培养: 正常人源HL-7702肝细胞采用含10%胎牛血清的RPMI 1640培养液, 置于含5%CO_2的培养箱中, 37 ℃下进行培养. 转染HBV基因的HepG2.2.15细胞采用含10%胎牛血清和280 μg/mL G418的DMEM培养液, 置于含5%CO_2的培养箱中, 37 ℃下进行培养.

1.2.3 对HL-7702肝细胞正常生长的影响: 以MTT法测定样品对HL-7702肝细胞生长的影响. 将HL-7702肝细胞用胰蛋白酶-EDTA消化并稀释成1×10^5/mL, 接种200 μL于96孔板中培养. 待细胞贴壁后弃去培养基, 加入200 μL用培养基稀

表 1 六棱菊提取物对HL-7702肝细胞的毒性作用 (mean ± SD, n = 4)

分组	浓度 (μg/mL)	A_{570}值	细胞存活率(%)
溶剂	–	1.299 ± 0.051	100.00
水飞蓟膜	100	1.256 ± 0.072	96.69
	50	1.271 ± 0.054	97.84
	25	1.282 ± 0.052	98.69
	10	1.289 ± 0.045	99.23
	1	1.295 ± 0.063	99.69
六棱菊	100	1.275 ± 0.055	98.15
提取物	50	1.287 ± 0.038	99.08
	25	1.291 ± 0.053	99.38
	10	1.297 ± 0.062	99.85
	1	1.298 ± 0.049	99.92

表 2 六棱菊提取物对HepG2.2.15细胞的毒性作用 (mean ± SD, n = 4)

分组	浓度 (μg/mL)	A_{570}值	细胞存活率(%)
溶剂	–	0.944 ± 0.047	100.00
拉米夫定	100	0.921 ± 0.099	97.56
	50	0.925 ± 0.089	97.99
	25	0.934 ± 0.101	98.94
	10	0.939 ± 0.087	99.47
	1	0.942 ± 0.078	99.79
六棱菊	100	0.931 ± 0.075	98.62
提取物	50	0.933 ± 0.097	98.83
	25	0.940 ± 0.091	99.58
	10	0.941 ± 0.088	99.68
	1	0.944 ± 0.071	100.00

■相关报道
本课题组系统研究了六棱菊治疗肝炎的潜力, 已发表了多篇有关其抗炎和保肝作用的论文, 其他课题组只报道过该植物化学成分研究.

释成不同浓度的样品, 每个浓度设4个平行, 同时设溶剂对照. 继续培养48 h后弃掉培养基, 每孔分别加入200 μL PBS和20 μL MTT(5 mg/mL)溶液. 再培养4 h后弃上清, 每孔加入150 μL DMSO振荡10 min. 在酶标仪上检测570 nm波长处的吸光度. 根据A_{570}值判断样品本身对细胞的毒性, 以决定试验样品的浓度.

1.2.4 对D-GalN致HL-7702肝细胞损伤的影响: 将HL-7702肝细胞用胰蛋白酶-EDTA消化并稀释成1×10^5/mL, 接种200 μL于96孔板中培养. 待细胞贴壁后弃去培养基, 加入200 μL用培养基稀释成不同浓度的样品, 每个浓度设4个平行, 同时设模型对照、阳性对照和溶剂对照. 培养40 h后, 试验孔与模型孔换上含80 mmol/mL D-GalN的新鲜培养基, 确保试验样品浓度不变. 又培养8 h后弃培养基, 每孔分别加入200 μL PBS和20 μL MTT(5 mg/mL)溶液. 再培养4 h后弃去上清, 每孔加入150 μL DMSO振荡10 min. 在酶标仪上检测570 nm波长处的吸光度.

1.2.5 对HepG2.2.15细胞生长的影响: 以MTT法测定样品对HepG2.2.15细胞生长的影响. 将HepG2.2.15细胞用胰蛋白酶-EDTA消化并稀释成1×10^5/mL, 接种200 μL于96孔板中培养. 待细胞贴壁后倾去培养基, 加入用培养基稀释成不同浓度的样品, 每孔200 μL, 每个浓度设4个平行, 同时设阳性和溶剂对照. 培养6 d后弃掉培养基, 每孔分别加入200 μL PBS和20 μL MTT(5 mg/mL)溶液. 再培养4 h后弃去上清, 每孔加入150 μL DMSO振荡10 min. 用酶标仪检测570 nm波长处的吸光度.

1.2.6 体外抗HBV作用: 以转染HBV基因的HepG2.2.15细胞为模型, 通过被测样品对细胞培养上清中的HBsAg、HBeAg、HBV DNA的抑制情况, 来评价样品的抗HBV作用. 将HepG2.2.15细胞用胰蛋白酶-EDTA消化并稀释成1×10^5/mL, 接种200 μL于96孔板中培养. 待细胞贴壁后倾去培养基, 加入用培养基稀释成不同浓度的样品, 每孔200 μL, 每个浓度设3个平行, 同时设阳性和溶剂对照. 每3 d换含无毒浓度样品的培养基, 将换出的同一样品同一浓度的培养基等体积混匀, 作为待测样品. 在加药后第3天和第6天分别提取培养上清, 用ELISA试剂测定培养基中HBsAg和HBeAg浓度, 以P/N表示; 用HBV DNA定量PCR试剂测定培养基中HBV DNA浓度.

统计学处理 实验数据以mean±SD表示, 采用单因素方差分析(ANOVA)和t检验统计, P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 六棱菊提取物对HL-7702和HepG2.2.15细胞的毒性作用 采用MTT方法研究六棱菊提取物对HL-7702肝细胞和HepG2.2.15细胞的毒性, 结果表明: 六棱菊提取物在1-100 μg/mL浓度下对HL-7702肝细胞和HepG2.2.15细胞生长均无显著影响(表1, 2).

2.2 六棱菊提取物对D-GalN致HL-7702肝细胞损伤的保护作用 如表3所示, D-GalN损伤组与溶剂组比较具有显著性差异(P<0.01); 六棱菊提取物在25-100 μg/mL浓度时, 对D-GalN致肝细胞损伤有显著的保护作用(P<0.05, P<0.01), 最高保护率为45.66%; 阳性对照水飞蓟膜显示了相对较弱

■创新盘点
采用HBV基因转染的HepG2.2.15细胞模型和D-GalN致人源HL-7702肝细胞损伤模型研究六棱菊提取物体外抗乙型肝炎作用.

表 3 六棱菊提取物对D-GalN致HL-7702肝细胞损伤的保护作用 (mean ± SD, n = 4)

分组	浓度(μg/mL)	A_{570}值	保护率(%)
溶剂对照	–	1.242 ± 0.043[b]	–
D-GalN对照	–	0.655 ± 0.056	–
水飞蓟	100	0.832 ± 0.039[a]	30.15
膜-D-GalN	50	0.789 ± 0.047[a]	22.83
	25	0.732 ± 0.056	13.12
	10	0.711 ± 0.038	9.54
	1	0.687 ± 0.057	5.45
六棱菊提取	100	0.923 ± 0.041[b]	45.66
物- D-GalN	50	0.874 ± 0.054[a]	37.31
	25	0.781 ± 0.044[a]	21.46
	10	0.741 ± 0.057	14.65
	1	0.706 ± 0.045	8.69

[a]P<0.05, [b]P<0.01 *vs* D-GalN对照组. 保护率(%) = (试验组A_{570}均值-D-GalN组A_{570}均值)/(溶剂组A_{570}均值-D-GalN组A_{570}均值)×100%. D-GalN: D-氨基半乳糖.

的保护作用, 在50-100 μg/mL浓度时, 对D-GalN致肝细胞损伤有显著的保护作用(P<0.05), 最高保护率为30.15%. 结果表明六棱菊提取物具有较强的抗D-GalN损伤肝细胞的作用.

2.3 六棱菊提取物体外抗HBV作用 六棱菊提取物作用于HepG2.2.15细胞3 d后其结果如表4所示, 在浓度为100、50和25 μg/mL时, 对HBsAg和HBeAg均有抑制作用, 且其抑制作用随药物浓度的增加而增强. 与溶剂对照组比较, 六棱菊提取物在100、50、25和10 μg/mL时, 对HBsAg分泌有显著抑制作用(P<0.05, P<0.01), 其抑制率分别为45.92%、40.89%、34.03%和10.72%. 同时, 六棱菊提取物在100 μg/mL下能显著抑制HBeAg分泌(P<0.05), 其抑制率为50.5%. 而阳性对照拉米夫定显示了相似的影响, 但在相同浓度下其抑制作用弱于试验药物六棱菊提取物.

六棱菊提取物作用于HepG2.2.15细胞6 d后其结果如表5所示, 六棱菊提取物在浓度为100、50和25 μg/mL时, 对HBsAg和HBeAg均有抑制作用, 且抑制作用随药物浓度的增加而增强. 与溶剂对照组相比, 六棱菊提取物在100、50、25和10 μg/mL时, 对HBsAg分泌具有显著抑制作用(P<0.05, P<0.01), 其抑制率分别为84.31%、71.49%、58.98%和12.41%. 同时, 六棱菊提取物在100、50和25 μg/mL时, 显著抑制了HBeAg的分泌水平(P<0.05, P<0.01), 其抑制率分别为88.45%、67.38%和51.76%. 更为重要的是, 六棱菊提取物在100 μg/mL时对HBV DNA复制有显著抑制作用(P<0.05). 而阳性对照拉米夫定显示了相似的影响, 但对HBsAg和HBeAg的抑制作用弱于试验药物. 综合作用3和6 d的结果, 说明六棱菊提取物具有较强的体外抗HBV作用.

3 讨论

乙型肝炎是由HBV引起的一种危害极大的世界性流行的传染病, 据统计目前全世界约有3.5亿HBV携带者, 而中国是HBV高感染地区, HBV携带者占总人口比例高达10%-15%, 其中慢性乙型肝炎患者约3000万例, 每年约有35万例死于慢性乙型肝炎相关疾病[12]. HBV主要通过血液和性接触传播, 母婴垂直传播也很常见. 成人感染HBV多表现为无症状感染或急性肝炎, 约有15%-20%患者转为慢性携带者和慢性患者, 部分慢性乙型肝炎患者进一步转化为肝硬化和原发性肝细胞性肝癌. 虽然目前HBV基因工程亚单位疫苗可控制感染流行, 但大量已感染HBV的携带者和慢性患者依然存在. 1990年起我国开展的新生儿疫苗接种显著降低了儿童慢性乙型肝炎感染率, 但并未遏止乙型肝炎发病率的上升趋势, 乙型肝炎及其相关疾病仍是中国乃至全球的重要公共卫生问题之一[13]. 尽管国内外研制的一些抗乙型肝炎药物(如α-干扰素和核苷类似物)可一定程度抑制病毒复制、控制病情发展, 但其疗效距离清除病毒感染、治愈绝大多数乙型肝炎患者及病毒携带者的目标尚有很长的距离[14]. 因此, 在目前生物药物和化学药物无重大突破的情况下, 深入开展中药现代化研究, 研制安全有效的抗乙型肝炎创新药物具有重大意义.

HBV是一种较为严格的嗜肝DNA病毒, 其感染有高度的种属和组织特异性, 由于病毒黏附以及DNA转录和复制对宿主有严格的要求, HBV只感染人类和类人猿, 建立常规的细胞及动物模型比较困难, 大大限制了HBV感染机制研究和抗HBV药物的发展. HepG2.2.15细胞是将含有HBV基因组的重组载体质粒转染肝癌HepG2细胞, 经G418筛选得到的克隆, 该细胞能在体外长期培养, 并能稳定分泌HBsAg、HBeAg及Dane颗粒, 可检测到细胞内DNA和RNA(包括细胞内cccDNA), 能很好地模拟HBV感染肝细胞的过程, 将该细胞培养上清静脉注射黑猩猩可致典型肝炎[15,16]. HepG2.2.15细胞是目前抗乙型肝炎药物药效评价最常用的细胞模

表 4 六棱菊提取物作用3 d后对HBsAg和HBeAg表达的影响 (mean ± SD, n = 3)

试验药物	浓度(μg/mL)	HBsAg		HBeAg	
		A_{570}值	抑制率(%)	A_{570}值	抑制率(%)
溶剂对照	–	1.200 ± 0.033	–	0.893 ± 0.079	–
拉米夫定	100	0.794 ± 0.147[b]	33.81	0.729 ± 0.045[a]	18.36
	50	0.945 ± 0.064[b]	21.20	0.793 ± 0.027	11.20
	25	1.096 ± 0.013[b]	8.69	0.849 ± 0.107	4.96
	10	1.153 ± 0.123	3.89	0.964 ± 0.059	–
	1	1.229 ± 0.079	–	0.916 ± 0.104	–
六棱菊提取物	100	0.649 ± 0.066[b]	45.92	0.442 ± 0.057[a]	50.50
	50	0.709 ± 0.016[b]	40.89	0.764 ± 0.007	14.48
	25	0.792 ± 0.051	34.03	0.867 ± 0.080	2.95
	10	1.071 ± 0.052[a]	10.72	0.999 ± 0.066	–
	1	1.306 ± 0.034[a]	–	0.922 ± 0.143	–

[a]P<0.05, [b]P<0.01 *vs* 溶剂对照组(DMSO含量<0.1%). 抑制率(%) = (对照组平均A值–实验组平均A值)/(对照组平均A值) × 100%. HBeAg: 乙型肝炎e抗原; HBsAg: 乙型肝炎表面抗原.

表 5 六棱菊提取物作用6 d对HBsAg、HBeAg、HBV DNA的影响 (mean ± SD, n = 3)

试验药物	浓度 (μg/mL)	HBsAg		HBeAg		log (HBV DNA)
		A_{570}值	抑制率(%)	A_{570}值	抑制率(%)	
溶剂对照	–	2.497 ± 0.009	–	2.360 ± 0.088	–	5.137 ± 0.032
拉米夫定	100	1.728 ± 0.173[b]	30.60	1.921 ± 0.145[a]	18.24	4.923 ± 0.127[a]
	50	1.905 ± 0.095[b]	23.48	2.002 ± 0.175[a]	14.79	5.078 ± 0.048
	25	2.150 ± 0.091[b]	13.67	2.084 ± 0.126[a]	11.32	5.081 ± 0.036
	10	2.175 ± 0.142[a]	12.66	2.244 ± 0.102	4.52	5.228 ± 0.024
	1	2.475 ± 0.142	0.61	2.387 ± 0.169	–	5.281 ± 0.149
六棱菊提取物	100	0.391 ± 0.018[b]	84.31	0.271 ± 0.054[b]	88.45	4.951 ± 0.106[a]
	50	0.710 ± 0.021[b]	71.49	0.767 ± 0.094[b]	67.38	5.070 ± 0.037
	25	1.021 ± 0.071[b]	58.98	1.133 ± 0.123[b]	51.76	5.140 ± 0.050
	10	2.181 ± 0.073[a]	12.41	2.261 ± 0.049	3.81	5.412 ± 0.123
	1	2.478 ± 0.029	0.48	2.345 ± 0.025	0.21	5.388 ± 0.108

[a]P<0.05, [b]P<0.01 *vs* 溶剂对照组(DMSO含量<0.1%). 抑制率(%) = (对照组平均A值–实验组平均A值)/(对照组平均A值) × 100%. HBeAg: 乙型肝炎e抗原; HBsAg: 乙型肝炎表面抗原.

型[17]. 本文通过运用HepG2.2.15细胞研究六棱菊提取物对HBV基因表达(HBV DNA、HBV抗原表达)的影响, 从而评价其抗HBV作用. 结果表明: 六棱菊提取物具有较强的体外抗HBV作用.

在肝炎治疗中, 抗病毒药、免疫增强剂及保肝药都很重要, 除了抗病毒治疗外, 保肝药物对减少肝细胞破坏、延缓慢性肝病的发展具有十分重要的意义. Keppler等[18]于1968年首次应用D-GalN制备大鼠肝损伤模型, 认为其肝脏病理和生理改变与人类病毒性肝炎相似, 经反复多次给药, D-GalN还能够诱发动物产生慢性肝损伤甚至癌变. 对于D-GalN的损伤作用机制, 过去大都认为D-GalN是一种肝细胞磷酸尿嘧啶核苷干扰剂, 能竞争性捕捉UTP生成二磷酸尿苷半乳糖(UTP-galactose), 使磷酸尿苷耗竭, 导致物质代谢障碍, 引起肝细胞变性、花丝[19]. 随着研究的深入, 人们发现自由基和脂质过氧化反应在D-GalN引起的肝损伤中起着十分重要的作用[20]. 鉴于D-GalN诱发的肝损伤与人类乙型肝炎等病毒性肝炎引起肝损伤非常相似, 且D-GalN诱导的肝损伤模型已成为目前最常用的保肝药物评价模型之一. 因此, 本研究采用 D-GalN引起正常人源HL-7702肝细胞损伤模型探讨了六棱菊提取物的体外抗肝细胞损伤作用, 结果表明六棱

■应用要点
为六棱菊的现代化研究及开发利用打下了基础, 同时也为其民间应用和中医临床用药提供了部分科学依据.

■同行评价
本文设计合理, 方法可靠, 具有一定创新性, 对六棱菊的开发应用具有重要意义.

菊提取物具有较强的抗D-GalN损伤肝细胞的作用, 其作用强于阳性对照水飞蓟宾.

菊科六棱菊属(*Laggera genus*)约有20余种, 主要分布在非洲热带及亚洲东南部. 国内仅有六棱菊(*L. alata*)和齿翼六棱菊(*L. pterodonta*)两个种药用, 别名臭灵丹, 主产长江流域以南地区, 资源丰富. 六棱菊和齿翼六棱菊民间广泛应用于炎症性疾病的治疗, 取得了显著疗效[1]. 在前期研究中, 通过活性跟踪分离纯化了六棱菊提取物, 并对其主要成分类型进行了量化分析; 抗炎药理研究证明了该提取物的药效物质基础主要是酚酸类尤其是咖啡酰奎宁酸类成分[8-10]. 在此基础上[1-4]. 本研究采用HBV基因转染的HepG2.2.15细胞模型和D-GalN致人源HL-7702肝细胞损伤模型, 进一步探讨并证明了六棱菊提取物具有较强的抗乙型肝炎作用, 提示六棱菊提取物的抗乙型肝炎作用可能与咖啡酰奎宁酸类成分有关[11]. 总之, 该研究为六棱菊的现代化研究及开发利用打下了基础.

4 参考文献

1 江苏新医学院. 中药大辞典(下册). 上海: 上海科技出版社, 2009: 1889-1890, 2238-2239
2 Bohlmann F, Wallmeyer M, Jakupovic J, Gerke T, King RM, Robinson H. Cuauthemone sesquiterpenoids from Blumea alata. *Phytochemistry* 1985; 24: 505-509 [DOI: 10.1016/S0031-9422(00)80757-8]
3 Rakotoarivelomanana P, Bianchini JP, Ramanoelina ARP, Rasoarhona JRE, Faure R, Cambon A. Eudesmane sesquiterpenes from Laggera alata. *Phytochemistry* 1998; 47: 1085-1088 [DOI: 10.1016/S0031-9422(97)00692-4]
4 Zheng QX, Xu ZJ, Sun XF, Gueritte Francoise, Cesario Michele, Cheng Christopher HK, Sun HD, Zhao Y. New eudesmane and eremophilane derivatives from Laggera alata. *Chin Chem Lett* 2003; 14: 393-396
5 Zheng QX, Xu ZJ, Sun XF, Guéritte F, Cesario M, Sun HD, Cheng CH, Hao XJ, Zhao Y. Eudesmane derivatives and other sesquiterpenes from Laggera alata. *J Nat Prod* 2003; 66: 1078-1081 [PMID: 12932128 DOI: 10.1021/np0205856]
6 Zheng Q, Xu Z, Sun X, Yao W, Sun H, Cheng CH, Zhao Y. Eudesmane and megastigmane glucosides from Laggera alata. *Phytochemistry* 2003; 63: 835-839 [PMID: 12877925 DOI: 10.1016/S0031-9422(03)00370-4]
7 Ekundayo O, Oguntimein B, Laakso I, Hiltunen R. Composition of the Essential Oil of Laggera alata. *Planta Med* 1989; 55: 573-574 [PMID: 17262484 DOI: 10.1055/s-2006-962103]
8 Wu Y, Zhou C, Song L, Li X, Shi S, Mo J, Chen H, Bai H, Wu X, Zhao J, Zhang R, Hao X, Sun H, Zhao Y. Effect of total phenolics from Laggera alata on acute and chronic inflammation models. *J Ethnopharmacol* 2006; 108: 243-250 [PMID: 16814499 DOI: 10.1016/j.jep.2006.05.017]
9 Wu YH, Zhang XM, Hu MH, Wu XM, Zhao Y. Effect of Laggera alata on hepatocyte damage induced by carbon tetrachloride in vitro and in vivo. *J Ethnopharmacol* 2009; 126: 50-56 [PMID: 19703545 DOI: 10.1016/j.jep.2009.08.030]
10 伍义行, 郝冰洁, 胡少青, 施树云, 王建国, 杨雷香, 赵昱. 六棱菊提取物对醋氨酚致小鼠肝损伤的影响. 世界华人消化杂志 2010; 18: 711-715
11 Hao BJ, Wu YH, Wang JG, Hu SQ, Keil DJ, Hu HJ, Lou JD, Zhao Y. Hepatoprotective and antiviral properties of isochlorogenic acid A from Laggera alata against hepatitis B virus infection. *J Ethnopharmacol* 2012; 144: 190-194 [PMID: 22982394 DOI: 10.1016/j.jep.2012.09.003]
12 张顺财, 石碧坚, 王伟岸. 慢性肝病. 北京: 科学技术文献出版社, 2005: 55-88
13 Liu J, Fan D. Hepatitis B in China. *Lancet* 2007; 369: 1582-1583 [PMID: 17499584 DOI: 10.1016/S0140-6736(07)60723-5]
14 陈鸿珊, 张兴权. 抗病毒药物及其研究方法. 北京: 化学工业出版社, 2006: 386-392
15 Sureau C, Romet-Lemonne JL, Mullins JI, Essex M. Production of hepatitis B virus by a differentiated human hepatoma cell line after transfection with cloned circular HBV DNA. *Cell* 1986; 47: 37-47 [PMID: 3019565 DOI: 10.1016/0092-8674(86)90364-8]
16 Acs G, Sells MA, Purcell RH, Price P, Engle R, Shapiro M, Popper H. Hepatitis B virus produced by transfected Hep G2 cells causes hepatitis in chimpanzees. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1987; 84: 4641-4644 [PMID: 2885842 DOI: 10.1073/pnas.84.13.4641]
17 Korba BE, Milman G. A cell culture assay for compounds which inhibit hepatitis B virus replication. *Antiviral Res* 1991; 15: 217-228 [PMID: 1716089 DOI: 10.1016/0166-3542(91)90068-3]
18 Keppler D, Lesch R, Reutter W, Decker K. Experimental hepatitis induced by D-galactosamine. *Exp Mol Pathol* 1968; 9: 279-290 [PMID: 4952077 DOI: 10.1016/0014-4800(68)90042-7]
19 Decker K, Keppler D. Galactosamine induced liver injury. *Prog Liver Dis* 1972; 4: 183-199 [PMID: 4631501]
20 Hu HL, Chen RD. Changes in free radicals, trace elements, and neurophysiological function in rats with liver damage induced by D-galactosamine. *Biol Trace Elem Res* 1992; 34: 19-25 [PMID: 1382518 DOI: 10.1007/BF02783894]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年6月18日; 22(17): 2427-2433
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

研究快报 RAPID COMMUNICATION

糖基化终末产物影响结肠平滑肌肌球蛋白轻链激酶表达在糖尿病大鼠结肠动力障碍中的作用

王庆娥, 王 云, 朱 滢, 孙晓萌, 林 琳

王庆娥, 王云, 朱滢, 孙晓萌, 林琳, 南京医科大学第一附属医院消化科 江苏省南京市 210029
王庆娥, 在读硕士, 主要从事胃肠动力性疾病的研究.
国家自然科学基金资助项目, No. 81270462
江苏省国际合作基金资助项目, No. BZ2011044
作者贡献分布: 该课题由王云、王庆娥及林琳共同设计; 研究过程由王庆娥与朱滢操作完成; 研究所用试剂与分析工具由王庆娥与王云提供; 数据分析由王庆娥完成; 论文撰写由王庆娥完成; 林琳与王云协助课题设计并修改论文, 孙晓萌参与.
通讯作者: 林琳, 教授, 210029, 江苏省南京市广州路300号, 南京医科大学第一附属医院消化科. llin9100@126.com
电话: 025-68136920
收稿日期: 2014-03-16 修回日期: 2014-04-04
接受日期: 2014-04-20 在线出版日期: 2014-06-18

Effect of advanced glycation end products on myosin light chain kinase expression in smooth muscle cells and colonic motility dysfunction in diabetic rats

Qing-E Wang, Yun Wang, Ying Zhu, Xiao-Meng Sun, Lin Lin

Qing-E Wang, Yun Wang, Ying Zhu, Xiao-Meng Sun, Lin Lin, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China
Supported by: National Nature Science Foundation of China, No. 81270462; the International Science and Technology Cooperation Program of Jiangsu Province, No. BZ2011044
Correspondence to: Lin Lin, Professor, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, 300 Guangzhou Road, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China. llin9100@126.com
Received: 2014-03-16 Revised: 2014-04-04
Accepted: 2014-04-20 Published online: 2014-06-18

Abstract

AIM: To investigate whether advanced glycation end products (AGEs) affect colonic motility and the expression of myosin light chain kinase in diabetic rats.

METHODS: Forty-eight SD rats were evenly and randomly divided into four groups: normal controls, normal rats treated with aminoguanidine (AG, an inhibitor of AGEs), diabetic rats, and diabetic rats treated with AG. Diabetes mellitus (DM) was induced by a single intraperitoneal injection of streptozotocin (STZ) (60 mg/kg). AG was given in drinking water at a dose of 1 g/L after DM was induced. ELISA and Western blot were used to measure levels of AGEs in serum and the colonic muscle layer, respectively. Colon transit time was measured by plastic bead expulsion test, and the contractility of circular smooth muscle strips was tested using the MPA analysis system. The protein expression level of myosin light chain kinase (MLCK) was determined by Western blot.

RESULTS: Compared with the normal control group, the expression levels of AGEs in the colonic muscle layer and serum (3.00 μg/mL ± 0.34 μg/mL *vs* 4.31 μg/mL ± 0.73 μg/mL, $P < 0.01$) were increased, colon transit time was delayed (209.50 min ± 48.88 min *vs* 297.00 min ± 35.71 min, $P < 0.01$), the contractility of circular smooth muscle strips was weakened (2.17 g ± 0.57 g *vs* 0.80 g ± 0.34 g, $P < 0.01$), and the expression of MLCK in the colonic muscle layer was lower (1.46 ± 0.11 *vs* 1.01 ± 0.08, $P < 0.01$) in the diabetic group. There was no significant change in blood glucose levels in rats treated with AG. Compared with the diabetic group, DM rats treated with AG showed decreased levels of AGEs in the colon muscle layer and serum (4.31 μg/mL ± 0.73 μg/mL *vs* 3.35 μg/mL ± 0.58 μg/mL, $P < 0.05$), shortened colon transit time (297.00 min ± 35.71 min *vs* 212.13 min ± 42.95 min, $P < 0.01$), enhanced contractility of circular smooth muscle strips (0.80 g ± 0.34 g *vs* 1.49 g ± 0.44 g, $P < 0.01$), and higher expression of MLCK in the colonic muscle layer (1.01 ± 0.08 *vs* 1.40 ± 0.09, $P < 0.01$).

CONCLUSION: AGEs might be involved in the pathogenesis of colonic motility dysfunction in diabetic rats via decreasing the expression of MLCK.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

■背景资料
糖尿病(diabetes mellitus, DM)胃肠动力障碍主要表现为胃肠排空延迟, 胃肠自主神经病变、Cajal间质细胞丢失、平滑肌病变等与之相关. 平滑肌细胞保持正常收缩功能是胃肠运动的基础, 肌球蛋白轻链激酶(myosin light chain kinase, MLCK)与平滑肌收缩密切相关, 其表达减少是本病的病理基础之一.

■同行评议者
宁钧宇, 副研究员, 北京市疾病预防控制中心卫生毒理所

■研发前沿
糖基化终末产物(advanced glycation end products, AGEs)在DM患者血清及多种组织中含量均显著升高, AGEs在DM肾病、DM血管病变中的研究颇多. 但其在DM结肠平滑肌病变中的作用鲜有报道.

Key Words: Advanced glycation end products; Colonic motility; Myosin light chain kinase; Diabetes; Rat

Wang QE, Wang Y, Zhu Y, Sun XM, Lin L. Effect of advanced glycation end products on myosin light chain kinase expression in smooth muscle cells and colonic motility dysfunction in diabetic rats. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(17): 2427-2433 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2427.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i17.2427

摘要

目的: 探讨糖基化终末产物(advanced glycation end products, AGEs)对糖尿病(diabetes mellitus, DM)大鼠结肠动力及肌球蛋白轻链激酶(myosin light chain kinase, MLCK)表达的影响.

方法: SD大鼠48只, 随机均分为4组, 即正常对照组、正常+AGEs抑制剂氨基胍(aminoguanidine, AG)干预组、DM组、DM+AG干预组. 单次腹腔注射链脲佐菌素(streptozotocin, STZ)(60 mg/kg)构建DM大鼠模型, 造模成功后, AG干预按1 g/L饮用水给药, 持续至实验结束. ELISA、Western blot检测大鼠血清及结肠肌层AGEs水平, 玻璃珠排出法检测结肠转运功能, MPA分析系统检测结肠环肌肌条收缩力, Western blot检测结肠肌层肌球蛋白轻链激酶(myosin light chain kinase, MLCK)的表达. 各组间比较采用单因素方差分析和成组*t*检验.

结果: 与正常对照组相比, DM大鼠结肠肌层AGEs表达增多, 血清AGEs水平升高(3.00 μg/mL±0.34 μg/mL *vs* 4.31 μg/mL±0.73 μg/mL, *P*<0.01), 结肠转运时间延长(209.50 min±48.88 min *vs* 297.00 min±35.71 min, *P*<0.01), 环肌肌条收缩力减弱(2.17 g±0.57 g *vs* 0.80 g±0.34 g, *P*<0.01), 结肠肌层MLCK蛋白表达减少(1.46±0.11 *vs* 1.01±0.08, *P*<0.01). AG干预不影响大鼠血糖水平, 但与DM组相比, DM+AG组大鼠结肠AGEs表达减少, 血清AGEs水平降低(4.31 μg/mL±0.73 μg/mL *vs* 3.35 μg/mL±0.58 μg/mL, *P*<0.05), 结肠转运时间缩短(297.00 min±35.71 min *vs* 212.13 min±42.95 min, *P*<0.01)、肌条收缩力增强(0.80 g±0.34 g *vs* 1.49 g±0.44 g, *P*<0.01), 结肠肌层MLCK蛋白表达升高(1.01±0.08 *vs* 1.40±0.09, *P*<0.01).

结论: AGEs可能通过减少结肠肌层MLCK蛋白表达参与DM大鼠结肠动力障碍的发生.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 糖基化终末产物; 结肠动力; 肌球蛋白轻链激酶; 糖尿病; 大鼠

核心提示: 本研究提示糖尿病(diabetes mellitus, DM)大鼠血清及结肠肌层糖基化终末产物(advanced glycation end products)的含量均上升, 他可能是通过减少DM大鼠结肠肌层肌球蛋白轻链激酶(myosin light chain kinase)表达参与其结肠动力障碍的发生.

王庆娥, 王云, 朱滢, 孙晓萌, 林琳. 糖基化终末产物影响结肠平滑肌肌球蛋白轻链激酶表达在糖尿病大鼠结肠动力障碍中的作用. 世界华人消化杂志 2014; 22(17): 2427-2433 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2427.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i17.2427

0 引言

结肠动力障碍是糖尿病(diabetic metabolism, DM)患者常见的消化系并发症, 发病率约45%, 便秘和腹泻为常见症状[1,2]. 发病机制尚不明确. 研究认为高水平氧化应激、胃肠神经病变、Cajal间质细胞丢失、平滑肌病变等与之相关[3-5]. 糖基化终末产物(advanced glycation end products, AGEs)是由蛋白质、脂质或核酸等物质通过非酶糖基化反应, 自发与葡萄糖或其他还原单糖反应生成的稳定共价化合物[6], N^{ε}-羧甲基赖氨酸(N^{ε}-carboxymethyllysine, CML)是AGEs重要组成成分, 可用于反映体内AGEs的含量[6,7]. 氨基胍(aminoguanidine, AG)是AGEs抑制剂, 用于DM慢性并发症的许多研究中[8-10]. 本文探讨AGEs是否影响DM大鼠结肠动力, 为DM胃肠动力障碍的研究提供依据.

1 材料和方法

1.1 材料 健康8周龄♂SD大鼠(北京维通利华实验动物技术有限公司)48只, 饲养于南京医科大学动物中心(清洁级), 所有动物实验均遵循南京医科大学动物伦理条例. 乙酰胆碱(Sigma-Aldrich, 美国), 链脲佐菌素(Sigma-Aldrich, 美国), 氨基胍(Sigma-Aldrich, 美国), CML ELISA试剂盒(CircuLex公司, 日本), 肌球蛋白轻链激酶(myosin light chain kinase, MLCK)抗体(Abcam, 美国), RIPA裂解液(碧云天生物技术研究所, 中国上海), MPA分析系统(上海奥尔科特生物技术有限公司, 可用于记录分析胃电图、肠电图、胃肠张力、活动节律等), 血糖仪(Roche, 瑞士),

余试剂均为市售分析纯.

1.2 方法

1.2.1 建立DM大鼠模型及AG给药干预: 48只SD大鼠随机均分为4组, 分别为正常对照组、正常+AGEs抑制剂氨基胍(aminoguanidine, AG)干预组、DM组、DM+AG干预组. 所有大鼠禁食12 h后, DM组给予单次腹腔注射链脲佐菌素(streptozotocin, STZ)60 mg/kg造模, 对照组则给予等体积柠檬酸溶剂腹腔注射. 3 d后尾静脉取血, 罗氏血糖仪检测血糖, 血糖≥16.7 mmol/L且持续1 wk, 认为DM模型建立成功. 造模成功后, 正常+AG组及DM+AG组开始给予AG(1 g/L饮用水)干预, 正常对照组及DM组则给予正常饮用水.

1.2.2 ELISA检测大鼠血清中CML含量: 各组大鼠于第16周时眼眶取血, 离心取血清, 按照CML ELISA试剂盒说明书, 将1∶4稀释的待检样品加入已包被的反应孔中, 每个样本做双复孔, 室温震荡孵育1 h; 洗涤4次, 加入二抗, 室温震荡孵育1 h; 洗涤4次, 加入底物反应液, 避光、室温震荡孵育20 min; 加入反应中止液, 将板置入酶标仪内, 在450 nm波长下读板.

1.2.3 玻璃珠排出法检测结肠转运功能[11,12]: 各组大鼠饲养至第15周进行, 实验前禁食12 h, 乙醚吸入短暂麻醉后, 用8号导尿管将直径5 mm的玻璃珠自肛门推入3 cm深处, 缓慢退出导尿管, 使玻璃珠滞留于结肠内. 置入玻璃珠的大鼠单独饲养于一个笼子, 进食及饮水如常, 记录各实验大鼠排出玻璃珠所需的时间, 即为结肠转运时间. 饲养过程中DM组死亡4只大鼠, 因此其余各组均随机选取8只大鼠进行实验.

1.2.4 MPA分析系统检测肌条收缩功能: 各组大鼠饲养至第16周时, 断颈处死, 取出距肛门5 cm处结肠, 剪取约2 cm长结肠组织, 放入用95%O_2、5%CO_2饱和过的Kreb's液中, 沿肠管横轴剪取约2 mm×8 mm的肌条, 即为环肌肌条, 丝线结扎肌条两端, 一端固定于组织固定器, 另一端与传感器力臂相连, 记录肌肉收缩张力变化. 待记录线稳定后, 予不同浓度的乙酰胆碱(acetylcholine, Ach)促发肌条收缩, 观察肌条收缩张力变化情况.

1.2.5 Western blot检测结肠肌层CML及MLCK表达: 结肠组织均于第16周时取自各组大鼠, 玻片刮去黏膜层及浆膜, 加入液氮研钵中磨成粉状, RIPA裂解液提取肌层组织蛋白, BCA法测定蛋白浓度, 十二烷基硫酸钠(SDS)-聚丙烯酰胺凝胶恒流30 mA电泳, 恒压80 V转膜, 5%脱脂奶粉室温封闭1.5 h, 加入稀释的CML一抗、MLCK一抗或GAPDH一抗. 4 ℃过夜, TBST洗膜3次, 加入二抗, 37 ℃温育2 h, 再用TBST洗膜3次, 加显色液, 曝光显影, 以GAPDH为内参, 凝胶成像分析系统处理数据.

统计学处理 应用SPSS17.0统计软件进行分析, 所有数据以mean±SD表示, 各组间比较采用单因素方差分析和成组t检验. P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 DM大鼠模型建立 在第0(造模前)、1、4、8、16周时分别检测大鼠血糖、体质量, 结果显示, 与正常对照组相比, DM大鼠血糖显著升高、体质量逐渐下降, 持续至第16周(6.83 mmol/L±0.87 mmol/L *vs* 29.35 mmol/L±1.97 mmol/L; 484.20 g±43.63 g *vs* 261.30 g±18.26 g; 均P<0.01). 给予AG干预后, DM大鼠仍保持较高血糖水平, 亦持续至第16周(6.67 mmol/L±0.63 mmol/L *vs* 29.52 mmol/L±2.87 mmol/L, P<0.01), 且体质量并未上升(476.00 g±48.40 g *vs* 265.10 g±14.91 g, P<0.01). 此结果说明, DM大鼠模型构建成功, AG干预不影响大鼠血糖及体质量(图1).

2.2 各组大鼠血清及结肠肌层CML含量的比较 检测结果为, DM大鼠血清CML水平显著高于正常对照组(3.00 μg/mL±0.34 μg/mL *vs* 4.31 μg/mL±0.73 μg/mL, P<0.01). AG干预后, DM大鼠血清中CML水平降低(4.31 μg/mL±0.73 μg/mL *vs* 3.35 μg/mL±0.58 μg/mL, P<0.05)(图2A). Western blot检测各组大鼠结肠肌层CML的表达, 其结果与血清CML水平一致(图2B). 所以, AG干预可有效抑制DM大鼠血清及结肠组织中AGEs的合成.

2.3 各组大鼠结肠转运功能的检测 与正常对照组相比, DM大鼠结肠转运时间明显延长(209.50 min±48.88 min *vs* 297.00 min±35.71 min, P<0.01). 而DM+AG组结肠转运时间短于DM组(212.13 min±42.95 min *vs* 297.00 min±35.71 min, P<0.01)(图3).

2.4 各组大鼠结肠环肌肌条收缩力比较 在10^{-1} μmol/L及1 μmol/L浓度Ach的作用下, DM大鼠肌条均表现为收缩能力减弱, AG干预后其收缩能力有所提高(图4A). 在1 μmol/L Ach作用时, DM大鼠肌条的最大收缩张力较对照组明显降低(2.17 g±0.57 g *vs* 0.80 g±0.34 g, P<0.01). AG

■相关报道

Pengmin Chen等学者报道AGEs或其受体存在于DM大鼠空肠、回肠及结肠. Wenchao等研究发现, DM大鼠幽门、回肠肌球蛋白轻链激酶(myosin light chain kinase, MLCK)表达下降参与DM胃肠动力障碍的发生.

■创新盛点
本文首次报道了糖基化终末产物(advanced glycation end products, AGEs)影响DM大鼠结肠平滑肌myosin light chain kinase, MLCK表达在DM结肠动力障碍中的作用, 为DM胃肠动力障碍的研究提供依据.

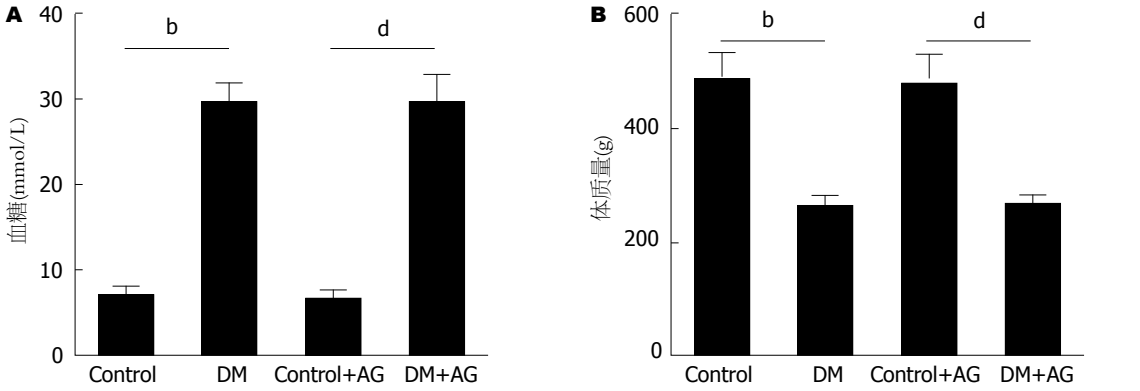


图 1 各组大鼠第16周时血糖、体质量比较. A: 各组大鼠血糖水平的比较; B: 各组大鼠体质量的比较. $^{b}P<0.01$, $^{d}P<0.01$. DM: 糖尿病; AG: 氨基胍.

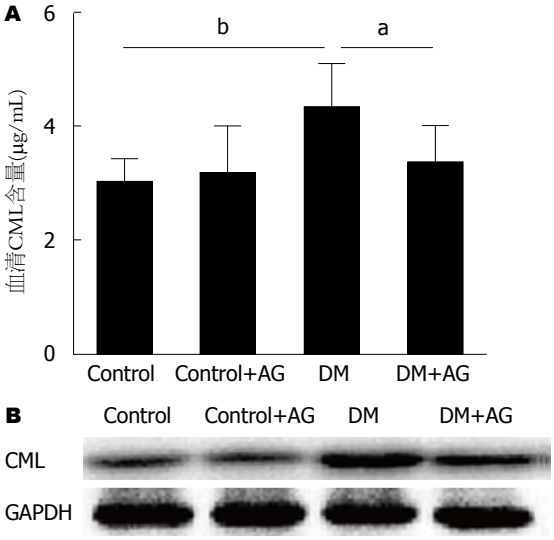


图 2 各组大鼠血清及结肠肌层CML含量比较. A: 各组大鼠血清CML含量ELISA结果; B: 各组大鼠结肠肌层CML表达比较. $^{a}P<0.05$, $^{b}P<0.01$. DM: 糖尿病; AG: 氨基胍; CML: N^{ε}-羧甲基赖氨酸.

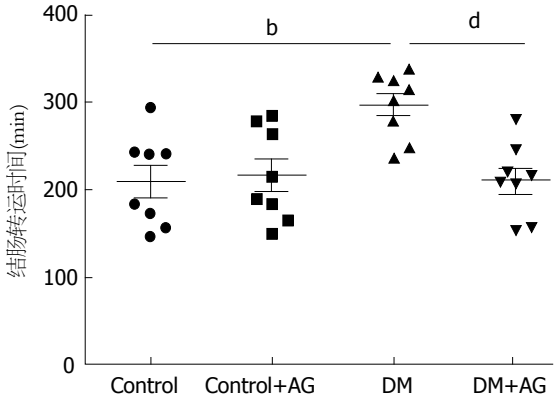


图 3 各组大鼠结肠转运功能比较. $^{b}P<0.01$, $^{d}P<0.01$. DM: 糖尿病; AG: 氨基胍.

干预的DM大鼠肌条收缩能力较DM大鼠增强(0.80 g±0.34 g *vs* 1.49 g±0.44 g, $P<0.01$)(图4B).

2.5 各组大鼠结肠肌层MLCK的表达情况 与对照组相比, DM大鼠结肠肌层MLCK表达下降, AG干预后其表达升高(1.46±0.11、1.01±0.08 *vs* 1.40±0.09, 均$P<0.01$)(图5).

3 讨论

AGEs是葡萄糖与蛋白质、脂质、核酸等物质经非酶糖基化反应形成的一类复合物, 其生成过程复杂, 主要包括3个步骤: 首先, 葡萄糖与上述物质的氨基酸残基结合, 形成Schiff碱基, 若此反应过程中葡萄糖浓度下降, 则该反应可逆; 然后, Schiff碱基发生化学结构重组, 形成Amadori产物; 第3阶段即Amadori产物持续堆积、经过一系列化学结构重组并与蛋白质交联, 最终形成稳定的AGEs, 该过程一般需数周. CML则是AGEs的主要成分, 可反映AGEs含量, 其分子量约10-12 kDa[13,14]. AG通过清除上述反应过程中生成的羰基产物, 抑制AGEs合成[15]. 本研究中DM大鼠高血糖持续16 wk, 足以形成不可逆的AGEs. 研究结果也显示, DM大鼠血清、结肠肌层AGEs水平均显著高于对照组, 但给予AG干预后, AGEs水平明显降低, 提示本实验所采用的AG剂量可有效抑制AGEs的形成.

AGEs在组织和器官中的蓄积参与DM慢性并发症的发生, 包括视网膜病变、肾脏病变、动脉粥样硬化等[16-18]. 但其在DM胃肠病变中的作用仅有部分报道. DM过程中, AGEs可引起小肠刷状缘理化特征改变[19], 抑制肠神经元一氧化氮合酶表达[20,21]. 亦有研究指出, AGEs或其受体存在于DM大鼠(Wistar大鼠) 空肠、回肠及结肠[22]. 但AGEs对DM结肠动力的影响尚未见报道. 本研究发现, DM大鼠结肠转运时间较正常组明显延长, 结肠环肌肌条收缩力降低, 提示DM大鼠存

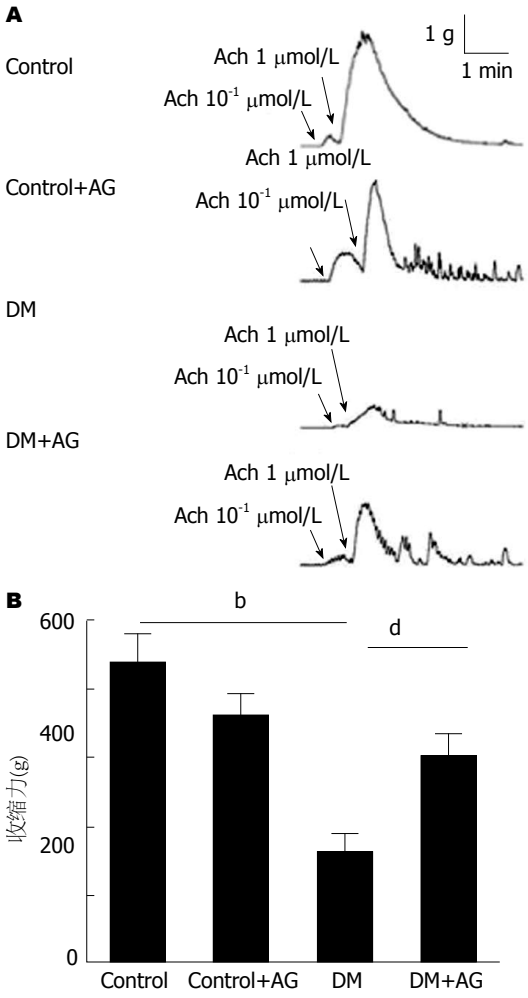


图 4 各组大鼠结肠环肌肌条收缩力比较. A: 10^{-1} μmol/L及1 μmol/L浓度Ach的作用下, 各组大鼠环肌肌条收缩曲线图; B: 1 μmol/L浓度Ach作用下, 各组大鼠环肌肌条最大收缩张力比较. ^{b}P<0.01, ^{d}P<0.01. Ach: 乙酰胆碱; DM: 糖尿病; AG: 氨基胍.

在结肠动力障碍. 这些现象伴随着血清、结肠肌层组织中AGEs水平的升高, 且给予AGEs抑制剂AG后, 上述病变均得到有效改善. 提示AGEs可能参与DM结肠动力障碍的发生.

本研究还显示, DM大鼠结肠肌层MLCK表达下降. MLCK是平滑肌收缩过程中的重要信号分子[23]. 平滑肌细胞受到相应刺激(如细胞因子、神经递质、胃肠激素等)后, 引起胞内钙离子浓度升高, 钙离子和钙调蛋白结合, 此复合物结合并活化MLCK, 继而磷酸化肌球蛋白轻链(myosin light chain, MLC), 促进肌球蛋白与肌动蛋白结合, 产生横桥周期, 引起平滑肌收缩[24]. 所以, MLCK表达下降可降低MLC磷酸化水平, 使平滑肌收缩功能受损, 最终引起胃肠动力障碍. Hu等[25]亦指出, DM大鼠幽门、回肠MLCK表达下降参与DM胃肠动力障碍的发生. 本研究对DM大鼠给

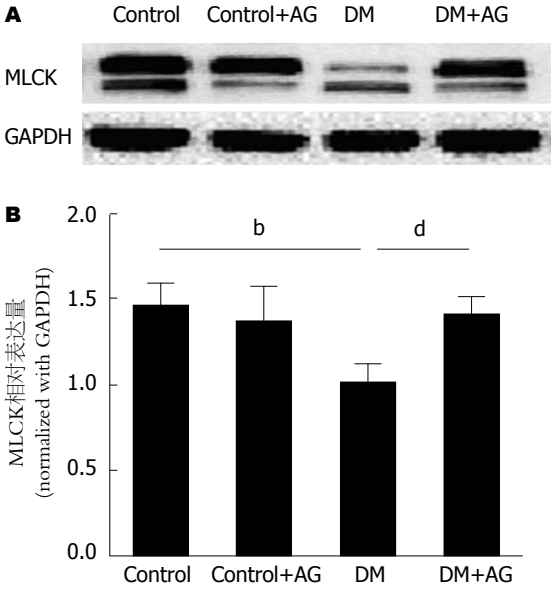


图 5 Western blot检测各组大鼠结肠肌层MLCK表达. A: 各组大鼠结肠肌层MLCK表达WB条带图; B: MLCK表达灰度分析结果. ^{b}P<0.01, ^{d}P<0.01. MLCK: 肌球蛋白轻链激酶; DM: 糖尿病; AG: 氨基胍.

予AG干预后, 其结肠动力有所恢复, MLCK表达亦升高. 因此推测, AGEs可能下调MLCK表达而影响DM结肠动力.

总之, AGEs参与DM大鼠结肠动力障碍的发生, MLCK表达下降是可能的机制之一. 研究报道, AGEs可通过受体依赖型和非受体依赖型两条通路参与DM合并症[26,27], 前者通过与细胞外特异性受体结合激活胞内信号通路而改变细胞功能, 后者通过非酶糖化反应、形成蛋白质交叉连接改变细胞外基质的结构, 促进合并症的发生[28,29]. 本研究未对SD大鼠结肠是否表达AGEs受体进行探讨, 现有研究结果亦不能说明AGEs通过何种途径影响DM大鼠的结肠动力. 因此, AGEs发挥作用的具体机制如何、AGEs对影响平滑肌收缩的其他因素有何作用, 仍待研究.

4 参考文献

1 Forrest A, Parsons M. The enhanced spontaneous activity of the diabetic colon is not the consequence of impaired inhibitory control mechanisms. *Auton Autacoid Pharmacol* 2003; 23: 149-158 [PMID: 14690489 DOI: 10.1046/j.1474-8673.2003.00290.x]
2 Talley NJ, Young L, Bytzer P, Hammer J, Leemon M, Jones M, Horowitz M. Impact of chronic gastrointestinal symptoms in diabetes mellitus on health-related quality of life. *Am J Gastroenterol* 2001; 96: 71-76 [PMID: 11197290]
3 Chandrasekharan B, Anitha M, Blatt R, Shahnavaz N, Kooby D, Staley C, Mwangi S, Jones DP, Sitaraman SV, Srinivasan S. Colonic motor dysfunction in human diabetes is associated with enteric neuronal

■应用要点
本研究显示, AGEs可能通过减少结肠肌层MLCK表达参与DM大鼠结肠动力障碍的发生, 为DM胃肠动力障碍发病机制的研究提供新思路.

■同行评价
本文采用动物模型研究AGEs在DM结肠动力障碍中的作用及可能机制，创新性较好. 具有一定的理论及应用价值.

loss and increased oxidative stress. *Neurogastroenterol Motil* 2011; 23: 131-138, e26 [PMID: 20939847 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2010.01611.x]

4 Nakahara M, Isozaki K, Hirota S, Vanderwinden JM, Takakura R, Kinoshita K, Miyagawa J, Chen H, Miyazaki Y, Kiyohara T, Shinomura Y, Matsuzawa Y. Deficiency of KIT-positive cells in the colon of patients with diabetes mellitus. *J Gastroenterol Hepatol* 2002; 17: 666-670 [PMID: 12100611 DOI: 10.1046/j.1440-1746.2002.02756.x]

5 Forrest A, Huizinga JD, Wang XY, Liu LW, Parsons M. Increase in stretch-induced rhythmic motor activity in the diabetic rat colon is associated with loss of ICC of the submuscular plexus. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2008; 294: G315-G326 [PMID: 18006604 DOI: 10.1152/ajpgi.00196.2007]

6 Singh R, Barden A, Mori T, Beilin L. Advanced glycation end-products: a review. *Diabetologia* 2001; 44: 129-146 [PMID: 11270668]

7 Kilhovd BK, Juutilainen A, Lehto S, Rönnemaa T, Torjesen PA, Hanssen KF, Laakso M. Increased serum levels of advanced glycation endproducts predict total, cardiovascular and coronary mortality in women with type 2 diabetes: a population-based 18 year follow-up study. *Diabetologia* 2007; 50: 1409-1417 [PMID: 17479244]

8 Thornalley PJ. Use of aminoguanidine (Pimagedine) to prevent the formation of advanced glycation endproducts. *Arch Biochem Biophys* 2003; 419: 31-40 [PMID: 14568006 DOI: 10.1016/j.abb.2003.08.013]

9 Hughes JM, Kuiper EJ, Klaassen I, Canning P, Stitt AW, Van Bezu J, Schalkwijk CG, Van Noorden CJ, Schlingemann RO. Advanced glycation end products cause increased CCN family and extracellular matrix gene expression in the diabetic rodent retina. *Diabetologia* 2007; 50: 1089-1098 [PMID: 17333105]

10 Sugimoto H, Grahovac G, Zeisberg M, Kalluri R. Renal fibrosis and glomerulosclerosis in a new mouse model of diabetic nephropathy and its regression by bone morphogenic protein-7 and advanced glycation end product inhibitors. *Diabetes* 2007; 56: 1825-1833 [PMID: 17456853 DOI: 10.2337/db06-1226]

11 Million M, Maillot C, Saunders P, Rivier J, Vale W, Taché Y. Human urocortin II, a new CRF-related peptide, displays selective CRF(2)-mediated action on gastric transit in rats. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2002; 282: G34-G40 [PMID: 11751155]

12 Poole DP, Pelayo JC, Cattaruzza F, Kuo YM, Gai G, Chiu JV, Bron R, Furness JB, Grady EF, Bunnett NW. Transient receptor potential ankyrin 1 is expressed by inhibitory motoneurons of the mouse intestine. *Gastroenterology* 2011; 141: 565-575, 575.e1-e4 [PMID: 21689654 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.04.049]

13 Luevano-Contreras C, Chapman-Novakofski K. Dietary advanced glycation end products and aging. *Nutrients* 2010; 2: 1247-1265 [PMID: 22254007 DOI: 10.3390/nu2121247]

14 Vlassara H, Striker GE. AGE restriction in diabetes mellitus: a paradigm shift. *Nat Rev Endocrinol* 2011; 7: 526-539 [PMID: 21610689 DOI: 10.1038/nrendo.2011.74]

15 Nagai R, Shirakawa J, Ohno R, Moroishi N, Nagai M. Inhibition of AGEs formation by natural products. *Amino Acids* 2014; 46: 261-266 [PMID: 23504149 DOI: 10.1007/s00726-013-1487-z]

16 Sugiyama T, Okuno T, Fukuhara M, Oku H, Ikeda T, Obayashi H, Ohta M, Fukui M, Hasegawa G, Nakamura N. Angiotensin II receptor blocker inhibits abnormal accumulation of advanced glycation end products and retinal damage in a rat model of type 2 diabetes. *Exp Eye Res* 2007; 85: 406-412 [PMID: 17678894 DOI: 10.1016/j.exer.2007.06.008]

17 Fukami K, Yamagishi S, Ueda S, Okuda S. Role of AGEs in diabetic nephropathy. *Curr Pharm Des* 2008; 14: 946-952 [PMID: 18473844 DOI: 10.2174/138161208784139710]

18 Prasad A, Bekker P, Tsimikas S. Advanced glycation end products and diabetic cardiovascular disease. *Cardiol Rev* 2012; 20: 177-183 [PMID: 22314141 DOI: 10.1097/CRD.0b013e318244e57c]

19 Bhor VM, Sivakami S. Regional variations in intestinal brush border membrane fluidity and function during diabetes and the role of oxidative stress and non-enzymatic glycation. *Mol Cell Biochem* 2003; 252: 125-132 [PMID: 14577585]

20 Korenaga K, Micci MA, Taglialatela G, Pasricha PJ. Suppression of nNOS expression in rat enteric neurones by the receptor for advanced glycation end-products. *Neurogastroenterol Motil* 2006; 18: 392-400 [PMID: 16629867 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2006.00774.x]

21 Jeyabal PV, Kumar R, Gangula PR, Micci MA, Pasricha PJ. Inhibitors of advanced glycation end-products prevent loss of enteric neuronal nitric oxide synthase in diabetic rats. *Neurogastroenterol Motil* 2008; 20: 253-261 [PMID: 17971026]

22 Chen P, Zhao J, Gregersen H. Up-regulated expression of advanced glycation end-products and their receptor in the small intestine and colon of diabetic rats. *Dig Dis Sci* 2012; 57: 48-57 [PMID: 22057282 DOI: 10.1007/s10620-011-1951-0]

23 Sanders KM. Regulation of smooth muscle excitation and contraction. *Neurogastroenterol Motil* 2008; 20 Suppl 1: 39-53 [PMID: 18402641]

24 Sanders KM, Koh SD, Ro S, Ward SM. Regulation of gastrointestinal motility--insights from smooth muscle biology. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2012; 9: 633-645 [PMID: 22965426 DOI: 10.1038/nrgastro.2012.168]

25 Hu W, Feng P. Myosin light chain kinase is involved in the mechanism of gastrointestinal dysfunction in diabetic rats. *Dig Dis Sci* 2012; 57: 1197-1202 [PMID: 22302242 DOI: 10.1007/s10620-012-2041-7]

26 Schmidt AM, Hori O, Brett J, Yan SD, Wautier JL, Stern D. Cellular receptors for advanced glycation end products. Implications for induction of oxidant stress and cellular dysfunction in the pathogenesis of vascular lesions. *Arterioscler Thromb* 1994; 14: 1521-1528 [PMID: 7918300 DOI: 10.1161/01.ATV.14.10.1521]

27 Vlassara H. Receptor-mediated interactions of advanced glycosylation end products with cellular components within diabetic tissues. *Diabetes* 1992; 41 Suppl 2: 52-56 [PMID: 1326453 DOI: 10.2337/diab.41.2.S52]

28 Bierhaus A, Humpert PM, Morcos M, Wendt T, Chavakis T, Arnold B, Stern DM, Nawroth PP. Understanding RAGE, the receptor for advanced glycation end products. *J Mol Med* (Berl) 2005; 83: 876-886 [PMID: 16133426 DOI: 10.1007/s00109-005-0688-7]

29 Stern DM, Yan SD, Yan SF, Schmidt AM. Receptor for advanced glycation endproducts (RAGE) and the complications of diabetes. *Ageing Res Rev* 2002; 1: 1-15 [PMID: 12039445]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

• 消息 •

中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》影响因子0.873

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

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

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com
世界华人消化杂志 2014年6月18日; 22(17): 2434-2438
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

研究快报 RAPID COMMUNICATION

草酸铂腹腔化疗时机的选择

刘 勇, 杨 阳, 刘 辉, 宋云骏

■背景资料
中晚期结直肠癌根治术后腹膜种植转移率达4%-19%, 发展至腹膜转移癌时患者中位生存时间仅为5.2-12.6 mo, 术后早期腹腔化疗可有效解决这一潜在威胁. 研究证实腹腔注射草酸铂显著抑制腹膜种植瘤的形成, 但草酸铂腹腔化疗损害肠管吻合口愈合已经受到学者关注.

刘勇, 保定市第一中心医院肿瘤内科 河北省保定市 071000
杨阳, 河北大学医学部河北省医学教育研究室 河北省保定市 071000
刘辉, 中国医学科学院&北京协和医学院基础医学研究所 北京市 100730
宋云骏, 承德市肿瘤医院肿瘤外科 河北省承德市 067000
刘勇, 主治医师, 主要从事消化系恶性肿瘤的基础与临床研究.
保定市科学技术研究与发展基金资助项目, No. 13ZF030
作者贡献分布: 此课题由刘勇与杨阳设计; 动物模型制作、腹腔黏连分级、吻合口破裂压测定及病理取材由宋云骏、刘勇及杨阳操作完成; 统计分析由刘辉完成; 论文写作由刘勇与杨阳完成.
通讯作者: 杨阳, 讲师, 071000, 河北省保定市裕华东路342号, 河北大学医学部河北省医学教育研究室. liuzerang@163.com
收稿日期: 2014-02-15 修回日期: 2014-04-18
接受日期: 2014-04-28 在线出版日期: 2014-06-18

Optimal timing of intraperitoneal chemotherapy with oxaliplatin in rats after colonic anastomosis

Yong Liu, Yang Yang, Hui Liu, Yun-Jun Song

Yong Liu, Department of Medical Oncology, No. 1 Central Hospital, Baoding 071000, Hebei Province, China
Yang Yang, Laboratory of Hebei Medical Education Research, Hebei University Health Science Center, Baoding 071000, Hebei Province, China
Hui Liu, Institute of Basic Medical Sciences, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100730, China
Yun-Jun Song, Department of Surgical Oncology, Tumor Hospital, Chengde 067000, Hebei Province, China
Supported by: Science & Technology Research and Development Project of Baoding, No. 13ZF030
Correspondence to: Yang Yang, Lecturer, Laboratory of Hebei Medical Education Research, Hebei University Health Science Center, 342 Yuhua East Road, Baoding 071000, Hebei Province, China. liuzerang@163.com
Received: 2014-02-15 Revised: 2014-04-18
Accepted: 2014-04-28 Published online: 2014-06-18

Abstract

AIM: To investigate the effect of intraperitoneal oxaliplatin administration at different times postoperatively on colonic wound healing in rats.

METHODS: Forty male Wistar rats underwent end-to-end anastomosis after colonic transection and then were randomly assigned to receive intraperitoneal administration of oxaliplatin or not as follows: group A (n = 30), 25 mg/kg oxaliplatin; control group (n = 10). The former group was sub-divided into three equal subgroups (A1-3) and oxaliplatin was intra-abdominally injected postoperatively as follows: day 3 (A1), day 5 (A2) and day 7 (A3). Abdominal adhesion, anastomotic bursting pressure and histomorphometric parameters were assessed on the postoperative day 10.

RESULTS: All the rats survived throughout the experimental period. Group A1 presented a significantly higher extent of intra-abdominal adherences than the other groups (P < 0.05). The bursting pressure was significantly lower in group A1 than in groups A2, A3 and control group (103.90 mmHg ± 7.97 mmHg *vs* 167.10 mmHg ± 19.84 mmHg, 178.20 mmHg ± 26.67 mmHg, 184.10 mmHg ± 23.77 mmHg; χ^2 = 18.64, P = 0.0001). The submucosal thickness in groups A1, A2, A3 and control group were 82.40 μm ± 9.66 μm, 91.50 μm ± 8.74 μm, 96.00 μm ± 7.85 μm and 95.40 μm ± 8.95 μm, respectively. The myenteron thickness in groups A1, A2, A3 and control group were 487.20 μm ± 26.28 μm, 539.30 μm ± 39.46 μm, 521.00 μm ± 35.35 μm and 539.60 μm ± 45.61 μm, respectively. The alterations in submucosal thickness and myenteron thickness were most pronounced in group A1, which were significantly decreased compared to the control group and groups A2 and A3 (F = 5.05, P = 0.0051; F = 4.35, P = 0.0103). There was no significant difference regarding mucosal thickness among the groups (P = 0.0623).

CONCLUSION: Intraperitoneal oxaliplatin administration is safe and feasible on postoperative day 5 after colonic resection, which may be an optimal time point for patients with colorectal carcinoma with unfavorable prognosis to accept early postoperative intraperitoneal chemotherapy.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Organoplatinum compounds; Intraperitoneal injection; Drug therapy; Colorectal neoplasms

■同行评议者
高英堂, 研究员, 天津市第三中心医院

Liu Y, Yang Y, Liu H, Song YJ. Optimal timing of intraperitoneal chemotherapy with oxaliplatin in rats after colonic anastomosis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(17): 2434-2438 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2434.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i17.2434

摘要

目的: 观察草酸铂不同时间腹腔化疗对大鼠结肠吻合口愈合的影响, 探讨最佳给药时机.

方法: 40只♂Wistar大鼠实施结肠切除+端端吻合, 术后随机分为Control组(n = 10)与A组(n = 30). A组接受草酸铂25 mg/kg腹腔化疗, 依据给药时间随机等分为3个亚组, 即: A1组(3 d)、A2组(5 d)和A3组(7 d). 术后10 d通过腹腔黏连分级、吻合口破裂压、计算机图像软件测量组织形态参数等, 评估各组大鼠肠管愈合质量.

结果: 40只大鼠均进入结果分析, 无脱落. A1组大鼠腹腔黏连程度最严重, 同A2组、A3组和Control组比较差异有统计学意义(P<0.05). A1组大鼠吻合口破裂压为103.90 mmHg±7.97 mmHg, 而A2组、A3组和Control组吻合口强度显著提高, 分别为167.10 mmHg±19.84 mmHg、178.20 mmHg±26.67 mmHg、184.10 mmHg±23.77 mmHg, 差异有显著性意义(χ^2 = 18.64, P = 0.0001). 组织形态测量结果显示: A1-3组与Control组黏膜下层厚度分别为82.40 μm±9.66 μm、91.50 μm±8.74 μm、96.00 μm±7.85 μm、95.40 μm±8.95 μm, 肠肌层厚度分别为487.20 μm±26.28 μm、539.30 μm±39.46 μm、521.00 μm±35.35 μm、539.60 μm±45.61 μm. A2组、A3组和Control组在黏膜下层及肠肌层厚度方面优于A1组(F = 5.05, P = 0.0051; F = 4.35, P = 0.0103). Control组与A组的黏膜层厚度差别无显著性(χ^2 = 7.324, P = 0.0623).

结论: 结肠术后5 d草酸铂腹腔化疗安全、可行, 对伴高危因素的结直肠癌患者术后早期腹腔化疗或许是最佳时机.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 有机铂类化合物; 腹腔内注射; 药物疗法; 结直肠肿瘤

核心提示: 草酸铂腹腔药代动力学及药效学的优势显著, 本研究发现结肠术后5 d草酸铂腹腔化疗, 即保证结肠吻合口的愈合, 又避免严重的腹腔黏连所致药物在腹膜腔中分布不均, 对临床中伴高危因素的结直肠癌患者术后早期实施腹腔化疗具有一定的参考意义.

刘勇, 杨阳, 刘辉, 宋云骏. 草酸铂腹腔化疗时机的选择. 世界华人消化杂志 2014; 22(17): 2434-2438 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2434.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i17.2434

■研发前沿
目前国内外学者着重研究不同因素(包括化疗药物)对肠管吻合口愈合的影响, 而较少关注术后早期细胞毒药物腹腔化疗的合理时间窗.

0 引言

以往的研究[1-3]着重探索草酸铂腹腔化疗是否损害肠吻合口愈合及其预防措施, 而对草酸铂腹腔给药时机的选择很少关注.

肠吻合口愈合是肠管断端的炎性反应、组织修复及重塑的动态过程, 涉及与邻近组织的黏连. 因此选择合适的时间窗腹腔注射草酸铂, 既保证肠吻合的愈合质量, 又避免严重的腹腔黏连所致药物分布不均匀, 就显得尤为重要. 本实验以此为目的, 探讨最佳的草酸铂腹腔化疗时机以期为临床实践提供实验依据.

1 材料和方法

1.1 材料 3月龄清洁级♂Wistar大鼠40只, 体质量225 g±18 g, 购自河北医科大学实验动物中心; 注射用草酸铂50 mg/瓶(江苏恒瑞医药有限公司, 中国), 戊巴比妥钠粉剂10g/瓶(Sigma公司, 美国).

1.2 方法

1.2.1 手术流程: 所有Wistar大鼠适应实验室环境1 wk, 饲养标准: 室温保持23 ℃±2 ℃, 12 h定时昼夜循环, 50%相对湿度, 自由食标准鼠料与水. 大鼠术前12 h禁食, 戊巴比妥钠(40 mg/kg)腹腔麻醉成功后仰卧位固定四肢, 腹部备皮, 常规消毒, 腹壁正中切口约4 cm, 暴露结肠, 距腹膜反折以上2 cm切除长约0.5 cm肠管, 避免损伤系膜缘血管, 行结肠端端吻合, 5-0聚丙烯缝线单层间断缝合, 4-0聚丙烯缝线关腹. 术后大鼠禁食24 h, 不限制饮水. 手术由同一外科医师在无菌环境里完成.

1.2.2 实验分组: 按随机数字表法将大鼠随机分为对照组(Control 组, n = 10)与实验组(A组, n = 30). A组随机等分为3个亚组, 即A1组、A2组、A3组, 分别于手术完成后3、5、7 d腹腔注射10 mL含草酸铂(25 mg/kg)的5%葡萄糖溶液.

1.2.3 观察指标: 术后10 d各组大鼠再次腹腔麻醉, 腹壁U型切口暴露腹腔.

1.2.4 腹腔黏连评分: 根据Blauer[4]评分系统, 将腹

■相关报道
在国内, 我们的研究团队较早的开展草酸铂腹腔化疗对肠管吻合口愈合影响的研究, 率先描述了术后早期草酸铂腹腔化疗时肠管吻合口的病理学变化, 并探讨相关预防机制. 关于草酸铂腹腔化疗时间窗的选择未见报导.

表 1 各组大鼠腹腔粘连分级构成 (n = 10)

分组	腹腔黏连分级				
	0	I	II	III	IV
Control组	3	6	1	0	0
A1组	0	0	3	5	2
A2组	2	4	3	1	0
A3组	3	4	2	1	0

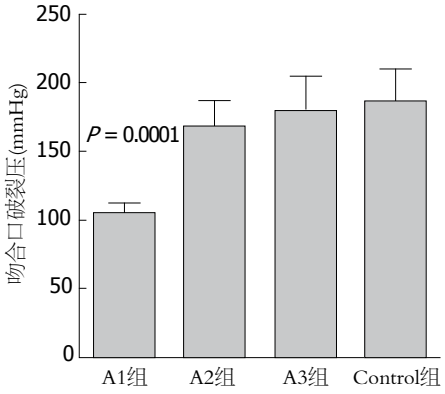


图 1 各组吻合口破裂压比较.

腔黏连程度分为0-4级: 0级, 黏连未形成; 1级, 黏连纤细易分离; 2级, 黏连致密局限; 3级, 黏连致密广泛; 4级, 致密广泛的黏连涉及腹壁或脏器.

1.2.5 吻合口破裂压测定: 若肠管吻合口与周围组织黏着则仔细轻柔的分离, 将肠管内容物推向近端. 18 G聚氨酯导管经直肠达吻合口水平, 其远、近端2 cm处封闭结扎结肠, 导管体外连接注射泵与压力传感器, 以120 mL/h速率注入生理盐水, 肠管内压力上升后突然下降时即为破裂压.

1.2.6 组织形态测量: 破裂压测定后颈椎脱臼法处死大鼠, 沿纵轴切开肠管, 以吻合口为中心切取0.5 cm×0.5 cm组织, 4%多聚甲醛磷酸缓冲溶液固定, 石蜡包埋, 5 μm厚度切片, HE染色, 每个标本连续切片中随机取5张, ImageJ® 1.37图像分析处理软件测量肠管吻合口黏膜层、黏膜下层及肠肌层厚度.

统计学处理 采用SAS6.12统计软件进行分析, 参数检验选择单因素方差分析及SNK检验; 非参数检验选择Kruskal-Wallis H检验及Nemenyi检验. 检验水准$\alpha = 0.05$. $P<0.05$为差异有统计学意义,

2 结果

2.1 一般状况 各组大鼠均存活至实验结束. 所有大鼠术后出现行动迟缓, 进食减少、黑便, 术后48 h饮食、二便逐步恢复正常, 腹部切口愈合良好. A1组2只大鼠腹腔注射草酸铂后出现稀水样便, 2 d后恢复正常.

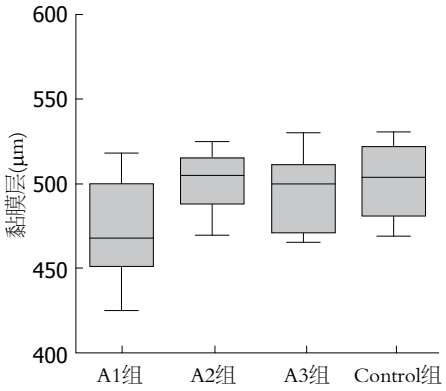


图 2 各组黏膜层厚度比较.

2.2 腹腔黏连程度 A2、A3组与Control组少许纤细黏连带附着在肠管吻合口和周围组织间, 易钝性分离, 未发现肠管的扩张; A1组肠管吻合口与邻近肠管或网膜黏连紧密, 范围较广, 部分肠管扩张, 钝性分离困难. 根据Blauer分级标准, A1组腹腔黏连程度最重, 与A2、A3组及Control组比较差别有显著性($\chi^2 = 18.81$, $P<0.005$), 而其余三组间比较差异无统计学意义($P>0.05$)(表1).

2.3 破裂压比较 破裂压是反映肠管完整性的机械参数, A1组破裂压水平最低, Kruskal-Wallis H检验分析显示显著低于其他各组, 差异有统计学意义($\chi^2 = 18.64$, $P = 0.0001$), 而A2、A3组与Control组比较未见显著性差别($P>0.05$)(图1).

2.4 组织形态测量 A1组黏膜完整性尚可, 黏膜下层胶原纤维网络稀疏, A2、A3组与Control组黏膜覆盖较完整, 胶原纤维网络较为致密. ANOVA方差分析A1组黏膜下层、肠肌层厚度显著低于其他三组($F = 5.05$, $P = 0.0051$; $F = 4.35$, $P = 0.0103$), 剩余三组间比较差异无统计学意义($P>0.05$). Control组与A组黏膜层厚度比较差异无显著性($\chi^2 = 7.324$, $P = 0.0623$)(图2-4).

3 讨论

腹膜复发转移仍然是结直肠癌患者的治疗难点及预后不佳的重要因素, 较内脏器官的转移不同, 腹膜癌病的出现加速机体衰竭, 而现代化疗方案与分子靶向药物的应用未达到预期效果[5]. 因此早期预测腹膜亚临床病灶, 及时阻断成为改善预后的关键. Gunduz等[6]研究发现术后7 d内残存肿瘤细胞增殖动力学发生改变, G_0期细胞比例减少, 对药物较敏感, 且腹腔化疗时细胞毒

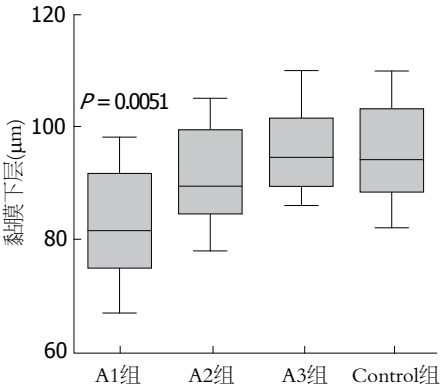


图 3 各组黏膜下层厚度比较.

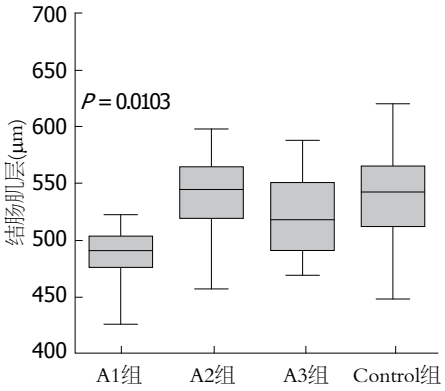


图 4 各组肠肌层厚度比较.

■创新盘点

本实验采用病理组织形态测量客观比较不同时间窗草酸铂腹腔化疗对肠管吻合口愈合的影响; 根据腹腔粘连分级间接评价腹腔中药物分布状态.

药物组织穿透能力至多数毫米, 因此肿瘤形态越小疗效越好. 目前主要的干预措施是术后早期腹腔化疗, 尤其伴浆膜受侵、区域淋巴结转移、脉管癌栓或腹腔游离癌细胞阳性等高危因素的结直肠癌患者, 但这种给药方式增加肠吻合口破裂的发生风险[7], 延长患者住院时间. 故有必要在保证肠吻合愈合质量的前提下, 探索伴高危因素的结直肠癌患者术后腹腔化疗最佳时机. 依据我们的前期研究结果及肠管愈合特点[7,8], 将草酸铂腹腔给药设定在结肠吻合术后3、5、7 d等时间点.

1986年, 草酸铂被Mathé等[9]首次引入临床试验, 逐步成为结直肠癌内科治疗的基石. 随着研究的深入, 人们发现改变草酸铂给药途径可提高治疗指数. 由于血浆-腹膜屏障的存在及草酸铂分子结构的特性, 其腹腔药代动力学及药效学优势显著, 腹膜腔中保持较长时间的有效高浓度, 而药物全身暴露极少. Hribaschek等[10]借助大鼠模型证实草酸铂腹腔化疗有效抑制结肠癌腹膜播散肿瘤的形成. Elias等[11]长期随访发现结直肠癌源性腹膜癌病患者接受细胞减量手术联合草酸铂腹腔化疗, 较单纯手术人群中位生存时间及5年生存率得到显著改善. 本实验中草酸铂的剂量参照人与实验动物药物剂量转换公式[12]设定为25 mg/kg, 其给药频率遵循临床常规处方原则.

评估肠管愈合的参数较多, 多集中于机械强度和组织病理学方面. 破裂压反映肠管吻合口破裂时肠腔内瞬时压力, 与其他的机械参数比较, 更接近愈合初期肠管张力的真实状态[13]. 组织形态维度的差异是不同因素调控组织的修饰或重塑的结果, 故定量测定组织形态维度、甄别差距可以更客观、准确的评估组织器官的功能构造[14]. 本实验采用此法阐述不同时间草酸铂腹腔化疗对肠管修复微观结构的影响. 从外科视角来看, 肠管黏膜下层极其重要, 其维持大部分肠壁张力, 术后早期肠管良好对合依赖于此层提供的缝合固定能力. 本实验发现A1组黏膜下层、肠肌层厚度明显变薄, 这种组织形态的异常必然影响肠管的完整性, 表现为肠吻合口破裂压水平同步降低, 抗张力强度大幅度削弱, 成为肠壁的薄弱环节, 继发穿孔、脓肿等并发症的风险增加. A2、A3组肠管愈合进程与Control组大体相仿, 其黏膜下层、肠肌层的恢复类似正常条件下肠愈合效果, 破裂压水平近似. Control组与A组黏膜层未受到显著影响, 我们推测与草酸铂的组织渗透力逐渐衰减有关.

腹腔黏连是腹膜对外来刺激的保护性措施. 腹部手术时, 创伤、缺血、出血、炎症等因素促使富含纤维素的渗出物覆盖脏器的浆膜面, 彼此相互交织形成黏连, 我们采用腹腔黏连评分反映组织黏连、分隔程度, 间接评估腹腔化疗时药物分布状况. 肠管离断数小时后炎症细胞开始浸润, 持续约48-72 h, 释放细胞因子触发腹腔的黏连. 适度的炎性反应是损伤愈合的重要组分, 反之过度的炎症则促进胶原纤维过度降解而延缓愈合[15]. 研究证实细胞毒药物增加组织中炎症细胞浸润[1]. 生理状态下, 腹膜腔中渗出的纤维素72-96 h被纤溶系统溶解. 本实验中A1组大鼠腹腔黏连程度最严重, 原因可能在于炎症期草酸铂的存在促进炎症细胞的迁移、活化, 纤维素渗出增多或溶解纤维通路受阻. A2、A3组腹腔给药时肠管愈合处于增殖、重塑期, 炎症消退, 化疗药物的负面影响降低, 黏连失代偿反应轻. 由此我们推测在愈合进程的炎症期, 若负面因素占据主导的情况下, 纤维素加快了渗出、机化, 黏连程度严重, 此结果可能造成过多的纤维素包裹残存肿瘤细胞, 减少对细胞毒

■同行评议
本课题具有很好的研究价值, 对临床实践有一定的参考意义, 但仍需更多的循证医学研究数据.

药物暴露, 同时不均质的黏连阻碍腹腔中药物的均匀分布.

总之, 就本实验而言: 术后5 d给予草酸铂腹腔化疗, 即保证结肠吻合口的愈合, 又避免严重的腹腔黏连所致药物分布不均, 为临床中伴高危因素的结直肠癌患者选择最佳的时机进行术后早期干预, 奠定了基础. 但是我们结论仅以动物实验为支撑, 缺乏临床实践的证据, 未来仍需进一步探索.

4 参考文献

1 Kanellos D, Pramateftakis MG, Demetriades H, Zacharakis E, Angelopoulos S, Mantzoros I, Kanellos I, Despoudi K, Zaraboukas T, Koliakos G, Galovatsea K, Lazaridis H. Healing of colonic anastomoses after immediate postoperative intraperitoneal administration of oxaliplatin. *Int J Colorectal Dis* 2008; 23: 1185-1191 [PMID: 18677490 DOI: 10.1007/s00384-008-0538-5]

2 Blouhos K, Pramateftakis MG, Tsachalis T, Kanellos D, Zaraboukas T, Koliakos G, Betsis D. The integrity of colonic anastomoses following the intraperitoneal administration of oxaliplatin. *Int J Colorectal Dis* 2010; 25: 835-841 [PMID: 20217424 DOI: 10.1007/s00384-010-0912-y]

3 刘勇, 杨阳, 刘辉, 李淼, 宋云骏. 草酸铂腹腔化疗对大鼠结肠吻合口愈合影响及粒-巨噬细胞集落刺激因子的干预效应. 中华临床医师杂志(电子版) 2011; 5: 66-69

4 Koçak I, Unlü C, Akçan Y, Yakin K. Reduction of adhesion formation with cross-linked hyaluronic acid after peritoneal surgery in rats. *Fertil Steril* 1999; 72: 873-878 [PMID: 10560992]

5 Ceelen WP. Current management of peritoneal carcinomatosis from colorectal cancer. *Minerva Chir* 2013; 68: 77-86 [PMID: 23584267]

6 Gunduz N, Fisher B, Saffer EA. Effect of surgical removal on the growth and kinetics of residual tumor. *Cancer Res* 1979; 39: 3861-3865 [PMID: 476622]

7 刘勇, 杨阳, 刘辉, 宋云骏, 贾喜花, 张晓伟, 郭建美. 粒-巨噬细胞集落刺激因子促进草酸铂腹腔化疗下大鼠结肠吻合口愈合机制的初步研究. 中国修复重建外科杂志 2012; 26: 1232-1236

8 Thompson SK, Chang EY, Jobe BA. Clinical review: Healing in gastrointestinal anastomoses, part I. *Microsurgery* 2006; 26: 131-136 [PMID: 16518804 DOI: 10.1002/micr.20197]

9 Mathé G, Kidani Y, Triana K, Brienza S, Ribaud P, Goldschmidt E, Ecstein E, Despax R, Musset M, Misset JL. A phase I trial of trans-1-diaminocyclohexane oxalato-platinum (l-OHP). *Biomed Pharmacother* 1986; 40: 372-376 [PMID: 3580505]

10 Hribaschek A, Meyer F, Ridwelski K, Kuester D, Lippert H. Oxaliplatin for chemotherapeutic treatment and prevention of experimental peritoneal carcinomatosis in rats comparing the intraperitoneal and intravenous application mode. *Eur Surg Res* 2010; 44: 74-81 [PMID: 20051689 DOI: 10.1159/000269932]

11 Elias D, Lefevre JH, Chevalier J, Brouquet A, Marchal F, Classe JM, Ferron G, Guilloit JM, Meeus P, Goéré D, Bonastre J. Complete cytoreductive surgery plus intraperitoneal chemohyperthermia with oxaliplatin for peritoneal carcinomatosis of colorectal origin. *J Clin Oncol* 2009; 27: 681-685 [PMID: 19103728 DOI: 10.1200/JCO.2008.19.7160]

12 郝光荣. 实验动物学. 第2版. 上海: 第二军医大学出版社, 2002: 276

13 Muniredddy S, Kavalukas SL, Barbul A. Intra-abdominal healing: gastrointestinal tract and adhesions. *Surg Clin North Am* 2010; 90: 1227-1236 [PMID: 21074038 DOI: 10.1016/j.suc.2010.08.002]

14 Lętowska-Andrzejewicz K, Torres A, Torres K, Dobrowolski P, Piersiak T, Maciejewski R, Gawron A, Staśkiewicz G, Plewa Z. The use of morphometric and fractal parameters to assess the effects of 5-fluorouracil, interferon and dexamethasone treatment on colonic anastomosis healing: an experimental study in rats. *Folia Histochem Cytobiol* 2011; 49: 80-89 [PMID: 21526493 DOI: 10.5603/FHC.2011.0012]

15 Ayten R, Cetinkaya Z, Girgin M, Ozercan I, Ustundag B, Aygen E. The effects of intraperitoneal sildenafil administration on healing of left colonic anastomoses and intra-abdominal adhesion formation in the presence of intra-abdominal infection. *Dis Colon Rectum* 2008; 51: 1837-1841 [PMID: 18607551 DOI: 10.1007/s10350-008-9398-x]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com
世界华人消化杂志 2014年6月18日; 22(17): 2439-2444
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

研究快报 RAPID COMMUNICATION

MicroRNA570通过Wnt/β–catenin通路抑制人结肠癌HT–29细胞的增殖及调控机制

叶玉兰, 周春立, 庞 智, 郑家驹

叶玉兰, 周春立, 庞智, 郑家驹, 南京医科大学附属苏州医院消化内科 江苏省苏州市 215008
叶玉兰, 主治医师, 主要从事胃肠肿瘤方面的研究.
苏州市青年基金资助项目, No. KJXW2012024
作者贡献分布: 叶玉兰与庞智对此文贡献均等; 实验设计由叶玉兰与庞智完成; 数据获取由叶玉兰完成; 数据统计由周春立与庞智完成; 论文撰写由叶玉兰完成; 实验监督由郑家驹完成.
通讯作者: 周春立, 主任医师, 215008, 江苏省苏州市广济路242号, 南京医科大学附属苏州医院消化内科.
pangzhi0273@sina.com
电话: 0512–62363008
收稿日期: 2014–02–26 修回日期: 2014–04–06
接受日期: 2014–04–20 在线出版日期: 2014–06–18

MicroRNA570 inhibits human colon cancer HT-29 cell proliferation *via* Wnt/β-catenin pathway

Yu-Lan Ye, Chun-Li Zhou, Zhi Pang, Jia-Ju Zheng

Yu-Lan Ye, Chun-Li Zhou, Zhi Pang, Jia-Ju Zheng, Department of Gastroenterology, Affiliated Suzhou Hospital of Nanjing Medical University, Suzhou 215008, Jiangsu Province, China
Support by: Youth Foundation of Suzhou City, No. KJXW2012024
Correspondence to: Chun-Li Zhou, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Affiliated Suzhou Hospital of Nanjing Medical University, 242 Guangji Road, Suzhou 215008, Jiangsu Province, China. pangzhi0273@sina.com
Received: 2014-02-26 Revised: 2014-04-06
Accepted: 2014-04-20 Published online: 2014-06-18

Abstract

AIM: To investigate the effect of microRNA570 (miR-570) on the proliferation and biological properties of HT-29 cells and the possible mechanisms involved.

METHODS: An miR-570 mimic was transfected into human colon cancer HT-29 cells. Cell proliferation was studied by cell counting kit-8 assay (CCK-8). Total miRNA was extracted and the relative expression of miR-570 was quantified by real-time quantitative PCR. Western blot and real-time quantitative PCR were performed to analyze the expression of β-catenin in the cytoplasm and nucleus. The expression of c-myc, cyclinD1 and survivin was also detected by real-time quantitative PCR and Western blot.

RESULTS: After transfection with the miR-570 mimic, the proliferation ability of HT-29 cells decreased. The inhibitory effect was most significant at 72 h (53.23% ± 1.22%) ($P < 0.05$). The expression of miR-570 was up-regulated more than 20 times (20.01 ± 0.32) ($P < 0.05$). The mRNA and protein expression of β-catenin, c-myc, cyclinD1 and survivin was decreased in the miR-570 mimic group, compared with blank and negative control groups. Western blot results further confirmed that the protein expression of β-catenin in the nucleus decreased significantly, although its expression in the cytoplasm did not change significantly.

CONCLUSION: MiR-570 significantly inhibits the proliferation of HT-29 cells possibly by regulation of the Wnt/β-catenin signal pathway.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: MicroRNA570; HT-29; β-catenin; Wnt

Ye YL, Zhou CL, Pang Z, Zheng JJ. MicroRNA570 inhibits human colon cancer HT-29 cell proliferation *via* Wnt/β-catenin pathway. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(17): 2439-2444 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2439.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i17.2439

摘要

目的: 探讨microRNA570(miR-570)对人结肠癌细胞株HT-29生物学特性的影响, 并阐明其对Wnt/β-catenin通路的影响机制.

方法: 将miR-570 mimics转染人结肠癌细胞株HT-29后, 采用cell counting(CCK-8)法检测细胞增殖变化, 应用实时定量PCR技术检测转染后HT-29细胞中miR-570的表达, Western blot技术及实时定量PCR技术检测各组中胞核及胞浆内β-catenin的变化, 及对Wnt/β-catenin通

■背景资料
结肠癌是消化系常见的恶性肿瘤之一, Wnt信号通路的激活对结肠癌的发生、发展起重要作用, 其中研究最深入的一支为Wnt/β-catenin信号通路. 而90%以上人结肠癌存在Wnt/β-catenin信号通路的激活即细胞内β-catenin的积聚.

■同行评议者
卢晓梅, 教授, 研究员, 新疆医科大学第一附属医院临床医学研究院

■研发前沿
MicroRNA是一类长约21-25个核苷酸的小分子非编码RNA, Wnt通路受到多种基因的共同调节, 并已发现部分miRNA作为癌基因或抑癌基因调节Wnt信号通路的活性. 而我们的前期研究显示miR-570靶基因参与的通路中可能性最大的是Wnt/β-catenin通路.

路下游基因*c-myc*、*cyclinD1*和*survivin*表达的影响.

结果: HT-29细胞转染miR-570 mimics后, HT-29细胞增殖能力下降, 72 h细胞增殖抑制率最为明显, 约为53.23%±1.22%(P<0.05). 实时定量PCR结果显示miR-570表达上调20倍(20.01±0.32)(P<0.05). Western blot技术及实时定量PCR技术检测显示, β-catenin、c-myc、cyclinD1和survivin蛋白表达和mRNA表达均下降(P<0.05), 而空白对照组与阴性对照差异无统计学意义. Western blot结果进一步证实胞核内β-catenin的蛋白表达量下降明显, 而胞浆内, β-catenin的蛋白表达量无明显变化.

结论: miR-570能明显抑制人结肠癌细胞株HT-29的增殖, 并下调Wnt相关基因的表达, 其可能作为抑癌基因参与Wnt/β-catenin信号通路的调节.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: MicroRNA570; HT-29; β-catenin; Wnt

核心提示: 结肠癌是危害人类健康的重大疾病之一, 在世界范围内是位居前列的常见肿瘤. Wnt/β-catenin信号通路的激活对结肠癌的发生、发展起重要作用. 而miR-570与Wnt/β-catenin信号通路的相关性文献鲜有报道. 本研究探讨上调miR-570后在结肠癌细胞株中的作用及其作用机制, 分析针对miR-570的靶向治疗对结肠癌的治疗价值.

叶玉兰, 周春立, 庞智, 郑家驹. MicroRNA570通过Wnt/β-catenin通路抑制人结肠癌HT-29细胞的增殖及调控机制. 世界华人消化杂志 2014; 22(17): 2439-2444 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2439.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i17.2439

0 引言

结肠癌是消化系常见的恶性肿瘤之一, Wnt信号通路的激活对结肠癌的发生、发展起重要作用[1]. Wnt信号通路分为“经典Wnt信号通路”及“非经典Wnt信号通路”, 其中非经典Wnt信号通路是研究最深入的一支, 又称为Wnt/β-catenin信号通路. 研究表明, 90%以上人类结肠癌存在Wnt/β-catenin信号通路的激活即细胞内β-catenin的积聚[2]. MicroRNA(miRNA)是一类长约21-25个核苷酸的小分子非编码RNA, 通过与靶RNA的3端非翻译区互补结合以降解靶RNA或阻遏其转录和翻译, 由此参与基因的转录后调控[3]. 有研究显示Wnt通路受到多种基因的共同调节, 并已发现部分miRNA作为癌基因或抑癌基因调节Wnt信号通路的活性.

我们的前期研究结果显示, 塞来昔布干预结肠癌细胞株HT-29后, 芯片筛选得到差异表达的miRNAs 28种[4]. 采用文献报道的靶基因与三个靶基因预测软件(miRNAs、RNAHybrid和Targetscan)预测差异表达miRNAs可能作用的靶基因; 并采用Enrichment分析和GenGO Pathway分析探讨了靶基因参与的特异性通路分类, 从而构建了靶基因与其调控miRNAs之间的通路关系. 我们的结果进一步显示, miR-570参与的通路中可能性最大的为Wnt/β-catenin信号通路, 其可能的靶基因为*CTNNB1*(*β-catenin*)等. 本实验通过将miR-570 mimics瞬时转染人结肠癌HT-29细胞中, 分析结肠癌细胞的增殖活力、miR-570的表达及对Wnt信号通路下游靶基因的影响, 以此探讨miR-570对结肠癌细胞的作用机制.

1 材料和方法

1.1 材料 DMEM细胞培养基、OPTI-MEM细胞转染培养基和胎牛血清购自Gibco; 细胞转染试剂Lipofectamine™ 2000、RNA抽提裂解液TRIzol和SYBR Green实时荧光定量PCR试剂盒均购自Invitrogen公司; β-catenin、c-myc、cyclinD1、survivin、miR-570和内参照的引物由上海吉码公司合成; 多克隆抗体购自CST公司; Western blot相关试剂、全细胞蛋白提取试剂盒、BCA法测蛋白浓度试剂盒、CCK-8试剂盒均购自上海碧云天生物公司; 人结肠癌HT-29细胞(购自苏州大学细胞生物学实验室)采用DMEM培养基和10%FBS培养.

1.2 方法

1.2.1 细胞培养: 人结肠癌细胞HT-29在含10%胎牛血清的DMEM培养基中, 于37 ℃、5%的CO_2条件下培养, 每两天换液1次, 3-4 d传代1次. 细胞融合至80%时进行转染.

1.2.2 细胞转染: miR-570 mimics和阴性对照组(NC)序列由上海吉码公司设计并合成. 实验分为3组: (1)空白对照组(BC组): 给予常规培养液; (2)阴性对照组(NC组): 细胞转染随机合成的miR-570 mimics NC片段; (3)实验组(mimics组): 细胞转染miR-570 mimics组. miR-570 mimics序列为: 正义链: 5'-UAGCACCAUUUGAAAUCAGUGUU-3', 反义链: 5'-CACUGAUUUCAAAUGGUGCUAUU-3'. miR-570 mimics阴性

对照为随机合成, 正义链: 5'-UUCUCCGAACGUGUCACGUTT-3', 反义链: 5'-ACGUGACACGUUCGGAGAATT-3'. 具体方法参见Lipofectamine 2000操作手册. 取对数生长的细胞接种于六孔板, 细胞生长至占培养孔80%-85%时进行转染. 制备miRNA/Lipofectamine™ 2000复合物如下: 稀释10 μL Lipofectamine™ 2000至100 μL无血清培养液OPTI-MEM中; 同时用100 μL无血清培养液OPTI-MEM稀释miR-570 mimics和阴性对照; 将两种混合物轻轻混合均匀, 室温放置20 min后即得到miRNA/Lipofectamine™ 2000复合物. 将miRNA/Lipofectamine™ 2000复合物轻滴入6孔培养板中, 37 ℃培养箱培育18-24 h后, 每孔加入1800 μL含10%胎牛血清的RPMI 1640培养液培养细胞, 转染48 h后, 倒置荧光显微镜观察转染率, 转染率为80%, 取细胞进行实验.

1.2.3 细胞增殖抑制实验(CCK-8实验): 取对数生长的细胞按每孔1×10^{4}个细胞接种于96孔板, 每组细胞设3个平行孔. 培养24 h后进行转染, 转染后24、48、72 h, 加入浓度为10 μL的细胞计数试剂盒8(cell counting kit-8 assay, CCK-8)溶液, 酶标仪测定各孔450 nm处的吸光度(*A*)值. 细胞增殖抑制率 = 1-(实验组*A*值-空白组*A*值)/(对照组平均*A*值-空白组*A*值)×100%. 实验重复3次.

1.2.4 Real-time PCR检测miR-570的表达量: miR-570 TRIzol一步法提取转染率达80%细胞总RNA, 分光光度计测定总RNA的纯度, 甲醛变性凝胶电泳质检总RNA的质量. 应用miScript Reverse Transcription反转录试剂盒将其反转录为cDNA, 反应条件: 37 ℃ 1 h, 95 ℃ 5 min. 以cDNA为模板, 应用miScript SYBR Green PCR试剂盒进行实时荧光定量PCR, 以U6为内参照, 各个miRNA和U6 snRNA的特异性引物根据miRNA的序列(http://microrna.sanger.ac.uk/)及U6 snRNA序列应用Primer Express software v2.0进行设计, 引物序列为分别为U6: TTCGTGAAGCGTTCCATATTT, miRNA570: TCTCCTCTGCTGGTCTCATAC, 实时荧光定量PCR检测在7300定量PCR仪上进行. PCR反应条件: 95 ℃预热20 min 94 ℃ 10 s、60 ℃ 20 s、70 ℃ 10 s, 共40个循环. 以$2^{-\Delta\Delta Ct}$表示每个miRNA的相对表达量, Δ Ct = Ct_{miRNA}-Ct_{U6}. 实验重复3次.

1.2.5 Real-time PCR检测β-catenin, c-myc, cyclinD1, survivin mRNA表达量: 以cDNA为模板, 实时荧光定量PCR检测在7300定量PCR仪上进行, 采用管家基因GAPDH为内参照. 引物序列如下: β-catenin的上游引物为5'-GCCAGTGGATTCCGTACTGT-3', 下游引物为5'-GAGCTTGCTTTCCTGATTGC-3'; c-myc上游引物为5'-ATCACAGCCCTCACTCAC-3', 下游引物为5'-ACAGATTCCACAAGGTGC-3'; cyclinD1上游引物为5'-CCGTCCATGCGGAAGATC-3', 下游引物为5'-ATGGCCAGCGGGAAGAC-3'; survivin的上游引物为5'-TCAGTGGGGCAGTGGATG-3', 下游引物为5'-CCTGGCAGCCTTTCTCA-3'; PCR反应条件: 95 ℃预热20 min, 95 ℃ 15 s, 60 ℃ 60 s, 72 ℃ 15 s, 共40个循环. 实验重复3次.

1.2.6 免疫印迹实验(Western blot)检测β-catenin、c-myc、cyclinD1、survivin蛋白表达水平: 胞浆蛋白及胞核蛋白提取如下: 取培养细胞5×10^6-1×10^{7}个/mL, 离心, 收集细胞, 弃上清, 估计细胞压积(PCV), 每20 μL细胞压积中加入200 μL BufferA, 涡旋震荡, 冰浴, 加入11 μL BufferB, 继续震荡、冰浴, 离心(16000 *g*, 5 min), 收集上清即为胞浆蛋白. 在离心沉淀物中加入BufferC, 震荡、冰浴、离心, 再次取得上清即为核蛋(具体按照试剂盒说明书操作). 常规法提取细胞总蛋白. BCA法测定蛋白浓度. 样本加入10%SDS-PAGE电泳分离, 电转至纤维素膜上. 一抗浓度(β-catenin 1∶1000, c-myc 1∶1500, cyclinD1 1∶2000, survivin 1∶2000)室温孵育过夜, 洗膜3次. 二抗浓度为1∶10000, 室温孵育2 h, 洗膜. 以β-actin为内参照. 实验重复3次.

统计学处理 数据应用SPSS12.0软件进行统计学分析, 计算数据以mean±SD表示, 两样本均属间比较采用独立分组*t*检验. 多组之间数据分析采用单因素方差分析(one-way ANOVA). *P*<0.05差异有统计学意义.

2 结果

2.1 miR-570对HT-29细胞增殖的影响 用CCK-8法分析转染24、48、72 h的细胞增殖活力, 测得mimics组与对照组相比, mimics组在转染miR-570后各时点的细胞增殖抑制率均显著升高(*P*<0.01), 72 h的抑制作用最明显, 细胞增殖抑制率为53.23%±1.22%(表1).

2.2 转染48 h后不同细胞组间miR-570的表达水平 与空白对照组(1.00±0.05)相比, miR-570 mimics组(20.01±0.32)表达上调20倍(*P*<0.05)(图1).

■相关报道

Li的研究显示, miR-570具有抑癌基因的作用, 他通过靶定B7-H1基因的功能区, 调节B7-H1分子的表达, 从而促进胃癌的进一步发展. 此外miR-570对CD274也有调控作用, 且呈剂量依赖性.

■创新盛点
本研究结果显示，通过上调miR-570的表达，可以明显抑制结肠癌细胞的增殖，并导致Wnt通路相关因子β-catenin、c-myc、cyclinD1和survivin mRNA表达下降.

表 1 HT29细胞转染后各监测时点细胞增殖抑制率 (n = 3, mean ± SD, %)

分组	24 h	48 h	72 h
BC组	16.63 ± 2.4	15.62 ± 0.28	18.53 ± 1.56
NC组	15.98 ± 0.45	17.45 ± 0.95	19.21 ± 1.42
mimics组	38.47 ± 0.24[bd]	45.12 ± 0.23[bd]	53.23 ± 1.22[bd]

[b]P<0.01 *vs* BC组; [d]P<0.01 *vs* NC组. BC组: 空白对照组, 给予常规培养液; NC组: 阴性对照组, 细胞转染随机合成的miR-570 mimics NC片段; mimics组: 实验组, 细胞转染miR-570 mimics组.

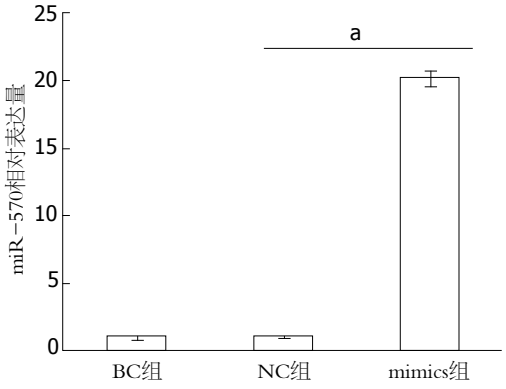


图 1 HT-29细胞转染miR-570 mimics后对miR-570的表达影响. [a]P<0.05. BC组: 空白对照组, 给予常规培养液; NC组: 阴性对照组, 细胞转染随机合成的miR-570 mimics NC片段; mimics组: 实验组, 细胞转染miR-570 mimics组.

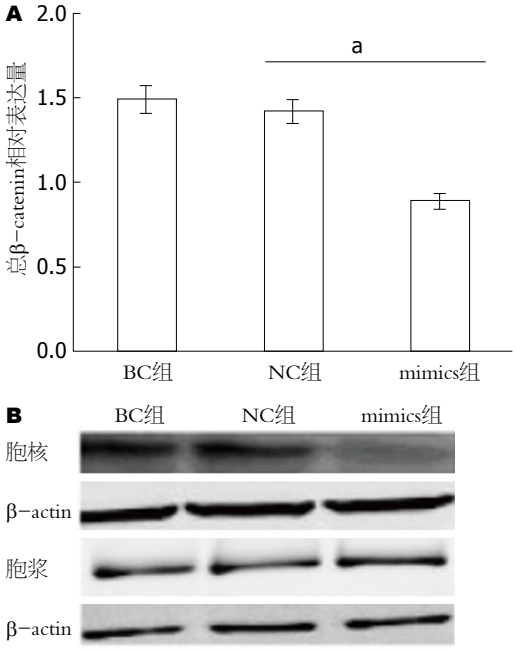


图 2 HT-29细胞转染miR-570 mimics后对β-catenin的影响. [a]P<0.05. A: HT-29细胞总β-catenin mRNA表达水平; B: 细胞浆及细胞核内β-catenin蛋白表达水平. BC组: 空白对照组, 给予常规培养液; NC组: 阴性对照组, 细胞转染随机合成的miR-570 mimics NC片段; mimics组: 实验组, 细胞转染miR-570 mimics组.

2.3 外源性miR-570对Wnt通路中β-catenin、c-myc、cyclinD1、survivin的影响

2.3.1 对β-catenin的影响: β-catenin进入细胞核是Wnt信号通路关键调节步骤, 本实验运用实时定量PCR及Western blot检测miR-570 mimics转染HT-29细胞后β-catenin表达量的变化. 实时定量PCR结果显示, 与对照组相比, miR-570 mimics组β-catenin mRNA下调约36.5%(P<0.05). Western blot结果显示细胞浆内β-catenin表达量无明显增加, 但细胞核内β-catenin的表达量明显下调(图2).

2.3.2 对c-myc、cyclinD1、survivin的表达影响: cmy-c、cyclinD1和survivin是Wnt通路的下游因子. 而本实验在转染miR-570 mimics后, cmy-c、cyclinD1和survivin mRNA表达受到抑制(P<0.05), Western blot结果与其相符, cmy-c、cyclinD1和survivin表达量下降, 空白对照组和阴性对照组差异无统计学意义(图3).

3 讨论

miRNA是一类长约21-25个核苷酸的小分子非编码RNA, 广泛存在于动植物中. 大量研究表明, miRNA通过调控细胞周期、细胞凋亡、细胞迁移和血管生成等肿瘤相关基因的表达, 参与肿瘤的发生发展和预后.

结肠癌的发生发展是一个多因素参与多基因改变的病变过程, 具有复杂的分子机制, 深入了解结肠癌发病的分子机制对于结肠癌的治疗有重要意义. Wnt/β-catenin通路是Wnt通路中研究最为深入的一条分支. 他主要通过激活β-catenin在核内的功能来调节靶基因.

现有研究显示miR-570在人胃癌中低表达[5], 可能具有抑癌基因的作用. 而Wang等[6]的研究也显示miR-570靶定于*B7-H1*基因的功能区, 调节B7-H1分子的表达, 从而促进胃癌的进一步发展. 此外miR-570对CD274也有调控作用,

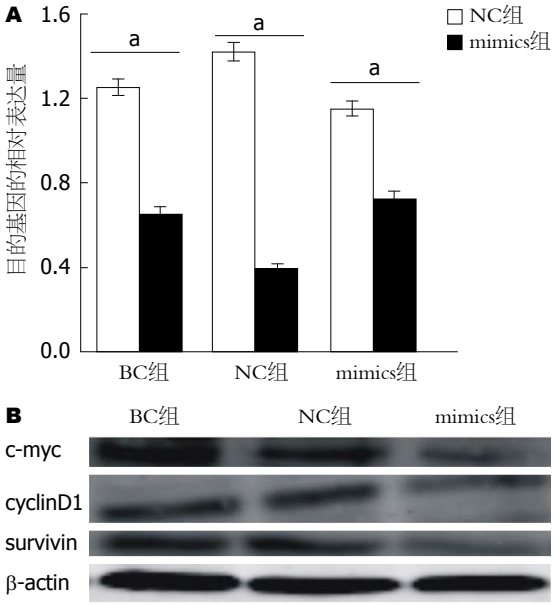


图 3 HHT-29细胞转染miR-570 mimics后对c-myc、cyclinD1、survivin表达影响. $^{a}P<0.05$. A: c-myc、cyclinD1、survivin mRNA表达水平; B: c-myc、cyclinD1、survivin蛋白表达水平. BC组: 空白对照组, 给予常规培养液; NC组: 阴性对照组, 细胞转染随机合成的miR-570 mimics NC片段; mimics组: 实验组, 细胞转染miR-570 mimics组.

且呈剂量依赖性[7].

我们的前期工作发现塞来昔布能够诱导结肠癌细胞株HT-29中miR-570高表达, 推测其可能起到抑癌基因的作用, 而对该基因进行Enrichment分析及GeneGo Pathway分析推论, miR-570靶基因参与的通路中可能性最大的是经典Wnt通路, 即Wnt/β-catenin通路[4]. 为证实这一推测, 我们通过将miR-570 mimics转染至人结肠癌细胞株HT-29中后,行Real-time PCR显示miR-570表达升高20倍. CCK-8实验显示, miR-570瞬时转染后明显抑制HT-29细胞的增殖能力, 进一步证实miR-570具有抑癌基因的作用. 近年来的大量研究显示, miRNA与肿瘤的发生发展密切相关[8], miRNA既可作为抑癌基因下调原癌基因的活性, 也可作为癌基因下调抑癌基因的活性[9,10]. 而miRNA在肿瘤中的分子机制主要是对信号途径的调控.

为探讨miR-570是否通过Wnt/β-catenin通路发挥抑癌作用, 我们检测了miR-570 mimics转染后对Wnt通路中各因子的影响. 结果显示miR-570在HT-29细胞中的过表达可明显下调β-catenin、c-myc、cyclinD1、survivin. 已知β-catenin是Wnt信号通路的枢纽分子, 核内β-catenin高表达使癌细胞具备了上皮-间质转化和干细胞形成的能力[11,12]. 这两种能力可导致肿瘤干细胞播散, 进而引起肿瘤的侵袭与增殖. 而Su等[13]研究显示miR-200a主要通过调控β-catenin及下游因子的表达来抑制胃癌细胞上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)能力, 从而调控WNT通路. c-myc、cyclinD1、survivin是Wnt/β-catenin通路的下游靶基因, 其中c-myc、cyclinD1是促进细胞增殖基因, survivin与抗细胞凋亡基因相关, 研究表明他们在结直肠中表达增高[14,15]. 而本实验表明, 外源性miR-570能促使HT-29细胞核内β-catenin表达降低, 同时使Wnt下游因子cmy-c、cyclinD1和survivin表达下调. 所以我们推测在结肠癌中miR-570通过Wnt/β-catenin信号通路影响结肠癌细胞的增殖.

总之, Wnt通路中的某个信号蛋白可受多个miRNA共同调节, 而某个miRNA可能同时调节Wnt通路中的多个信号蛋白分子, miRNA和Wnt信号途径的相互作用形成精密复杂的调控网络. 本实验通过细胞实验初步证miRNA570对HT-29细胞的抑制作用, 这有助于进一步了解结肠癌的发生发展机制, 为分子靶向治疗提供新的作用靶点.

■应用要点

本实验有助于进一步了解结肠癌的发生发展机制, miR-570是结肠癌中有意义的生物治疗靶点, 为分子靶向治疗提供了新的方向, 而其作用机制与Wnt/β-catenin通路有关.

4 参考文献

1 Klaus A, Birchmeier W. Wnt signalling and its impact on development and cancer. *Nat Rev Cancer* 2008; 8: 387-398 [PMID: 18432252 DOI: 10.1038/nrc2389]

2 Giles RH, van Es JH, Clevers H. Caught up in a Wnt storm: Wnt signaling in cancer. *Biochim Biophys Acta* 2003; 1653: 1-24 [PMID: 12781368 DOI: 10.1016/s0304-419x(03)00005-2]

3 Lewis BP, Burge CB, Bartel DP. Conserved seed pairing, often flanked by adenosines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets. *Cell* 2005; 120: 15-20 [PMID: 15652477]

4 叶玉兰, 陈卫昌, 林茂松. 塞来昔布对人结肠癌细胞系HT-29增殖的抑制及其对miRNA表达谱的影响. 苏州大学学报 2011; 31: 404-408

5 Kunej T, Godnic I, Ferdin J, Horvat S, Dovc P, Calin GA. Epigenetic regulation of microRNAs in cancer: an integrated review of literature. *Mutat Res* 2011; 717: 77-84 [PMID: 21420983]

6 Wang W, Li F, Mao Y, Zhou H, Sun J, Li R, Liu C, Chen W, Hua D, Zhang X. A miR-570 binding site polymorphism in the B7-H1 gene is associated with the risk of gastric adenocarcinoma. *Hum Genet* 2013; 132: 641-648 [PMID: 23430453 DOI: 10.1007/s00439-013-1275.6]

7 Wang W, Sun J, Li F, Li R, Gu Y, Liu C, Yang P, Zhu M, Chen L, Tian W, Zhou H, Mao Y, Zhang L, Jiang J, Wu C, Hua D, Chen W, Lu B, Ju J, Zhang X. A frequent somatic mutation in CD274 3'-UTR leads to protein over-expression in gastric cancer by disrupting miR-570 binding. *Hum Mutat* 2012; 33: 480-484 [PMID: 22190470 DOI: 10.1002/humu.22014]

8 Lu J, Getz G, Miska EA, Alvarez-Saavedra E, Lamb

■同行评价
本文选题创新性较好, 作者以前期芯片数据的基础上做了更进一步的研究, 为结肠癌的发生发展提供了一定的理论基础, 有一定的科学意义.

J, Peck D, Sweet-Cordero A, Ebert BL, Mak RH, Ferrando AA, Downing JR, Jacks T, Horvitz HR, Golub TR. MicroRNA expression profiles classify human cancers. *Nature* 2005; 435: 834-838 [PMID: 15944708 DOI: 10.1038/nature.03702]

9 Calin GA, Croce CM. MicroRNA-cancer connection: the beginning of a new tale. *Cancer Res* 2006; 66: 7390-7394 [PMID: 16885332 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-06-0800]

10 Cho WC. OncomiRs: the discovery and progress of microRNAs in cancers. *Mol Cancer* 2007; 6: 60 [PMID: 17894887]

11 Kikuchi A. Regulation of beta-catenin signaling in the Wnt pathway. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; 268: 243-248 [PMID: 10679188 DOI: 10.1006/bbrc.1999.1860]

12 Cheng XX, Wang ZC, Chen XY, Sun Y, Kong QY, Liu J, Li H. Correlation of Wnt-2 expression and beta-catenin intracellular accumulation in Chinese gastric cancers: relevance with tumour dissemination. *Cancer Lett* 2005; 223: 339-347 [PMID: 15896469 DOI: 10.1016/j.canlet.2004.11.013]

13 Su J, Zhang A, Shi Z, Ma F, Pu P, Wang T, Zhang J, Kang C, Zhang Q. MicroRNA-200a suppresses the Wnt/β-catenin signaling pathway by interacting with β-catenin. *Int J Oncol* 2012; 40: 1162-1170 [PMID: 22211245 DOI: 10.3892/ijo.2011.1322]

14 Kim PJ, Plescia J, Clevers H, Fearon ER, Altieri DC. Survivin and molecular pathogenesis of colorectal cancer. *Lancet* 2003; 362: 205-209 [PMID: 12885482 DOI: 10.1016/s0140-6736(03)13910-4]

15 D'Orazio D, Muller PY, Heinimann K, Albrecht C, Bendik I, Herzog U, Tondelli P, Bauerfeind P, Müller H, Dobbie Z. Overexpression of Wnt target genes in adenomas of familial adenomatous polyposis patients. *Anticancer Res* 2002; 22: 3409-3414 [PMID: 12530096]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年6月18日; 22(17): 2445-2448
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

研究快报 RAPID COMMUNICATION

黄连素等中草药提取物对多重耐药性大肠杆菌*gyrA*基因的作用

黄衍强, 刘坤友, 莫小强, 黄小凤, 韦连登, 韦红玉, 陈源红, 唐华英

黄衍强, 莫小强, 黄小凤, 韦连登, 韦红玉, 陈源红, 唐华英, 右江民族医学院微生物学与免疫学教研室 广西壮族自治区百色市 533000
刘坤友, 柳江县人民医院检验科 广西壮族自治区柳州市柳江县 545100
黄衍强, 副教授, 主要从事病原生物致病性和耐药性的研究.
广西教育厅科研立项基金资助项目, No. 桂教科研[2008]27号
2013年校地校企共建创新平台基金资助项目, No. 桂教科研[2013]8号
作者贡献分布: 黄衍强与刘坤友对此论文的贡献均等, 负责课题的设计、数据分析、论文的撰写及研究资金的提供; 莫小强与黄小凤负责收集标本与抑菌实验; 韦连登与韦红玉负责耐药基因的检测; 陈源红与唐华英负责耐药菌的培养.
通讯作者: 刘坤友, 545100, 广西壮族自治区柳州市柳江县, 柳江县人民医院检验科. ljrylky@163.com
收稿日期: 2014-04-20 修回日期: 2013-05-31
接受日期: 2014-06-08 在线出版日期: 2014-06-18

Effect of berberine and other herbal extracts on *gyrA* gene mutations in multidrug resistant *Escherichia coli*

Yan-Qiang Huang, Kun-You Liu, Xiao-Qiang Mo, Xiao-Feng Huang, Lian-Deng Wei, Hong-Yu Wei, Yuan-Hong Chen, Hua-Ying Tang

Yan-Qiang Huang, Xiao-Qiang Mo, Xiao-Feng Huang, Lian-Deng Wei, Hong-Yu Wei, Yuan-Hong Chen, Hua-Ying Tang, Department of Medical Microbiology and Immunology, Youjiang Medical College for Nationalities, Baise 533000, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China
Kun-You Liu, Clinical Laboratory, Liujiang River County People's Hospital, Liuzhou 545100, the Guangxi Zhuang Autonomous Region, China
Supported by: Research Foundation of Guangxi Department of Education, No. [2008]27; 2013 College and Enterprise Innovation Platform Construction Foundation, No. [2013]8
Correspondence to: Kun-You Liu, Clinical Laboratory, Liujiang River County People's Hospital, Liuzhou 545100, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. ljrylky@163.com
Received: 2014-04-20 Revised: 2014-05-31
Accepted: 2014-06-08 Published online: 2014-06-18

Abstract

AIM: To investigate if berberine and other herbal extracts have an effect on *gyrA* gene mutations in multidrug resistant *Escherichiae coli* (*E. coli*).

METHODS: The multidrug resistance of *E. coli* to ofloxacin, ciprofloxacin and norfloxacin was determined by K-B method. Multidrug resistant *E. coli* was cultured in the presence of berberine or other herbal extracts and passaged once every 2 d for a total of 15 times. *E. coli* DNA was extracted to amplify the *gyrA* gene by PCR, and *gyrA* gene sequence was analyzed to check the mutation status before and after treatment.

RESULTS: The multidrug resistant *E. coli* had *gyrA* gene mutations, mainly C-T mutation at nt83 and G-A mutation at nt87. After treatment with berberine or other herbal extracts for 30 d, no significant changes were found in the *gyrA* gene mutations.

CONCLUSION: Multidrug resistant *E. coli* to quinolones carry *gyrA* gene mutations, and berberine and other herbal extracts have no significant impact on these mutations.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Berberine; Multidrug resistance; *Escherichia coli*; *GyrA* gene; Mutation

Huang YQ, Liu KY, Mo XQ, Huang XF, Wei LD, Wei HY, Chen YH, Tang HY. Effect of berberine and other herbal extracts on *gyrA* gene mutations in multidrug resistant *Escherichia coli*. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(17): 2445-2448 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2445.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i17.2445

摘要

目的: 探索黄连素等中草药提取物对大肠杆菌耐药基因*gyrA*的回复突变作用.

方法: 用纸片扩散法(K-B)法筛选多重耐药大肠杆菌. 在含黄连素等中草药提取物的威迫环境下培养多重耐药性大肠杆菌, 每2 d传代1次, 共传15次, 提取中药提取物作用前后的耐药性大肠杆菌DNA, PCR扩增*gyrA*基因, 并检测基因序列, 对比前后突变情况.

结果: 对氧氟沙星、环氧沙星和诺氟沙星等

■背景资料
大肠杆菌大多数是正常菌群, 但条件致病菌和致病型的菌株可引起肠道内或肠道外的感染, 严重者可导致死亡, 并且非常容易产生耐药变异, 这给防治带来很大的困难, 因此必须探讨有效方法解决该困难.

■同行评议者
沈涛, 副教授, 云南省第一人民医院临床基础医学研究所

■研发前沿
随着抗生素的广泛使用，微生物耐药日益严重，如何解决微生物耐药问题，是目前微生物领域或药物领域的热点和难点之一. 筛选中草药有效成份抑制耐药菌或逆转耐药是解决耐药问题的有效方法之一，但抗耐药的理想中草药及其作用机制有待研究.

耐药的多重耐药性大肠杆菌均出现*gyrA*基因突变，主要是第83和87位点分别出现C-T和G-A的突变；黄连素等中药提取物作用30 d后未发现基因回复突变.

结论：对喹诺酮类药物耐药的大肠杆菌有*gyrA*耐药基因突变，黄连素等中药提取物在30 d内尚未能威迫多重耐药性大肠杆菌*gyrA*耐药基因发生回复突变.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词：黄连素；多重耐药性；大肠杆菌；*gyrA*基因；回复突变

核心提示：本文在含1/2最小抑菌浓度(minimum inhibitory concentration)中草药提取物的肉汤培养基中传代培养多重耐药性大肠杆菌，对比中药提取物作用前后的耐药性大肠杆菌*gyrA*基因突变情况，以期能发现黄连素等中草药提取物对耐药性大肠杆菌的分子作用机制.

黄衍强，刘坤友，莫小强，黄小凤，韦连登，韦红玉，陈源红，唐华英. 黄连素等中草药提取物对多重耐药性大肠杆菌*gyrA*基因的作用. 世界华人消化杂志 2014; 22(17): 2445-2448 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2445.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i17.2445

0 引言

大肠杆菌是常见的肠道杆菌，部分菌株可引起腹泻，甚至死亡，而且容易产生耐药性变异，近年来随着喹诺酮类药物的广泛使用，耐药率逐年升高，这对防治耐药性大肠杆菌带来很大的困难[1-5]. 因此很多学者都努力寻找理想的防治方法，提高大肠杆菌感染性疾病的治愈率. 我们前期研究发现一些中草药提取物对耐药性大肠杆菌有抑制作用，并能降低其他药物的最低抑菌浓度，因此筛选出对多重耐药性大肠杆菌有抑制作用的黄连素等中草药提取物，在小于最低抑菌浓度的环境中威迫耐药菌株生长，观察提取物对耐药基因的作用，探讨中草药提取物的抑菌作用机制. 实验报道如下.

1 材料和方法

1.1 材料 于右江民族医学院附属医院腹泻患者分离获得菌株，经AUTOREADER快速细菌自动鉴定仪鉴定是大肠杆菌. 标准大肠杆菌敏感菌株ATCC25922购自广东省微生物菌种保藏中心. 环氧沙星(批号：120228)、氧氟沙星(批号：120221)、诺氟沙星(批号：120325)、营养琼脂(批号：12099)、营养肉汤(批号：12099)、M-H培养基(批号：120326)购自杭州天和生物有限公司；97%黄连素(批号：120810)、98%苦参碱(批号：120908)、90%黄芩苷(批号：120908)、98%大黄素(批号：120908)购自陕西昂盛生物科技有限公司；DNA试剂盒购自广州迪景生物科技有限公司，引物由上海生工生物工程技术服务有限公司合成，基因序列检测送上海博雅生物工程公司检测.

1.2 方法

1.2.1 药物敏感试验：采用纸片扩散法(K-B法)[6]，检测菌株耐药性. 经K-B法检测出大肠杆菌的抑菌环直径，参照2012年CLSI临床微生物标准“对喹诺酮类药物抑菌环直径≥16 mm为敏感，抑菌环直径≤8 mm为耐药”，同时对3种或3种以上抗生素耐药的判断为多重耐药菌株，以此方法筛选出两株多重耐药性大肠杆菌，命名为菌株1和菌株2.

1.2.2 中草药提取物威迫多重耐药菌株生长获得新的菌株：经对倍稀释法检测大黄素、黄连素、苦参碱对耐药性大肠杆菌的最小抑菌浓度(minimum inhibitory concentration, MIC)分别是32、64、128 μg/mL[7]，在1/2MIC中草药提取物肉汤培养基中传代培养多重耐药性大肠杆菌菌株1和菌株2，每2 d传代1次，连续培养15次，获得两株新的菌株，即菌株3和菌株4.

1.2.3 提取DNA：分别提取中草药提取物作用前的菌株1、菌株2和作用后的菌株3、菌株4的DNA，提取方法参照说明书.

1.2.4 扩增*gyrA*：使用引物5'-CGATGTCGGTCATTGTTG-3'，5'-ACTTCGTCAGGTTGTGC-3'. 反应体系为50 μL，10×PCR缓冲液5 μL，2 mmol/L dNTP 5 μL，0.5 μmol/L上、下游引物各1 μL，TaqDNA 聚合酶0.4 μL，25 mmol/L $MgCl_2$ 3 μL，无菌双蒸水补至50 μL. 扩增条件为95 ℃ 3 min；95 ℃ 30 s，51 ℃ 30 s，72 ℃ 1 min. 扩增产物用1.7%琼脂糖凝胶电泳，溴化乙啶染色检测.

1.2.5 *gyrA*基因突变分析：将PCR扩增*gyrA*基因产物送上海博雅生物工程公司检测碱基序列，确定基因突变. *gyrA*基因序列从核苷酸的160位点和438位点位置双向进行测序，所对应的氨基酸序列是54位点到146位点.

2 结果

2.1 多重耐药检测 经K-B法检测获得菌株1和菌

表 1 大肠杆菌药物敏感实验结果

菌株	抑菌环直径(mm)		
	氧氟沙星	环氧沙星	诺氟沙星
菌株1	5.5	4.6	6.5
菌株2	6.0	4.2	5.8
ATCC25922	22.5	24.0	23.0

对喹诺酮类药物抑菌环直径≥16 mm为敏感, 抑菌环直径≤8 mm为耐药.

表 2 黄连素作用前后耐药性大肠杆菌*gyrA*基因序列和敏感性大肠杆菌相同位置序列

菌株	大肠杆菌部分碱基序列								
	83					87			
氨基酸单字符	G	D	S	A	V	Y	D	T	I
DNA序列数据库	GGT	GAC	TCG	GCG	GTC	TAT	GAC	ACG	ACT
ATCC25922	GGT	GAC	TCG	GCG	GTC	TAT	GAC	ACG	ACT
1	GGT	GAC	TTG	GCG	GTC	TAT	AAC	ACG	ACT
2	GGT	GAC	TTG	GCG	GTC	TAT	AAC	ACG	ACT
3	GGT	GAC	TTG	GCG	GTC	TAT	AAC	ACG	ACT
4	GGT	GAC	TTG	GCG	GTC	TAT	AAC	ACG	ACT

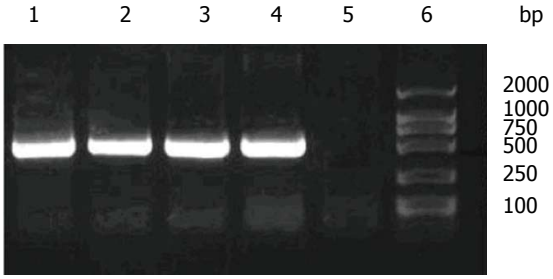


图 1 黄连素作用前后耐药性和敏感性大肠杆菌扩增的*gyrA*基因. 1, 2: 实验室分离获得的中药诱导前的耐药菌株; 3, 4: 1和2用中药诱导后的耐药菌株; 5: 敏感菌株ATCC25922; 6: Marker.

株2, 均对氧氟沙星、环氧沙星、诺氟沙星均产生耐药性, 属于多重耐药菌株, 并以敏感菌株ATCC25922为对照, 确认敏感菌株(表1).

2.2 *gyrA*基因PCR产物 对大黄素、黄连素、苦参碱等中草药提取物作用前后的4株多重耐药的大肠杆菌进行扩增, 均获得约500 bp的*gyrA*基因片段, 而敏感菌株ATCC25922未获得目的基因. 黄连素作用前后耐药性和敏感性大肠杆菌*gyrA*基因扩增如图1, 大黄素、苦参碱作用前后扩增的目的基因结果与黄连素的相同.

2.3 *gyrA*基因测序 检测大黄素、黄连素、苦参碱等中草药提取物作用前后耐药性大肠杆菌*gyrA*基因序列, 均发现第83和87位点分别有C-T和G-A的变化, 作用前后未发现有回复变化, 而标准敏感菌株ATCC25922无突变. 黄连素作用前后耐药性和敏感性大肠杆菌*gyrA*基因序列变化如表2, 大黄素、苦参碱作用前后*gyrA*基因序列变化结果与黄连素的相同.

3 讨论

国内资料显示, 大肠杆菌对氟哇诺酮类药物的耐药率达50%-70%以上[8,9], 如何解决大肠杆菌的耐药性问题已经刻不容缓. 目前普遍认为大肠杆菌对喹诺酮类药物的耐药机制主要是*gyrA*基因发生突变[10-12]. *gyrA*基因是DNA回旋酶的A亚单位, 在DNA的复制过程中回旋酶结合到双链DNA环上造成缺口, 允许另一DNA环由此穿过, 然后连接DNA链, 再生DNA环. 喹诺酮类药物主要是通过干扰DNA回旋酶阻止DNA环的重新连接, 抑制DNA的合成起作用从而起到抑菌作用. gyrA末端与喹诺酮耐药决定区域有关, 该区发生氨基酸的替代将影响喹诺酮类药物与酶结合, 使耐药性增加. 本研究通过检测对喹诺酮类药物耐药的大肠杆菌, 同样发现有*gyrA*基因突变, 突变主要是第83、87两个位点分别出现C-T和G-A突变, 使丝氨酸和天冬氨酸分别变为亮氨酸和天冬酰胺.

大黄素、黄连素、苦参碱对耐药性大肠杆

■相关报道
郭美丽等在研究中已经阐明大肠杆菌对喹诺酮类药物的耐药主要是*gyrA*基因突变, 黄干荣等也证明大黄素等中药提取物对耐药性大肠杆有明显的抑制作用, 这启发了作者从逆转耐药基因突变角度考虑中草药的作用.

■同行评价
本文为探讨中草药对耐药菌的作用机制提供了参考, 具有一定临床意义.

菌有抑制作用[7,13-15], 其作用原理是否与*gyrA*基因回复突变有关, 这一直是我们关注的问题. 我们通过在较低的中药提取物浓度下威迫耐药菌株生长, 提取作用前和作用后的耐药性大肠杆菌, 扩增*gyrA*基因并测序, 比对各种中草药提取物作用前后耐药菌株的突变, 未发现*gyrA*基因第83和87位点有回复突变. 因此, 研究结果表明黄连素、大黄素、苦参碱等中药提取物在30天内尚未能威迫多重耐药性大肠杆菌*gyrA*基因发生回复突变, 初步判断黄连素、大黄素、苦参碱等对耐药性大肠杆菌抑制作用与*gyrA*基因回复突变无关, 可能与耐药性大肠杆菌的生物膜被抑制或外排泵被调控有关, 改变了细胞膜、细胞壁的通透性, 这需要我们进一步探索.

4 参考文献

1 刘洋, 任晓峰, 吴金花, 布日额, 薛晓阳. 鹅大肠杆菌性腹泻的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21: 1-5
2 朱静, 蒋伟, 常东, 于勇. 北京市某三甲医院病原菌结构及耐药性变迁. 国际检验医学杂志 2011; 32: 763-765
3 董懿珍. 我院2009-2010年抗菌药物使用与细菌耐药性分析. 中国药房 2012; 23: 905-907
4 张婴元, 朱德妹, 胡付品, 吴湜, 汪复. 1990-2004年上海地区临床分离大肠埃希菌耐药性变迁. 中华医学杂志 2006; 86: 12-16
5 李景云, 马越, 张力, 胡昌勤, 金少鸿. 临床52家医院常见分离菌株的药物敏感性监测. 中华检验医学杂志 2006; 29: 452- 457
6 赵丽娟, 黄衍强. 医学微生物学实验指导与考试指南. 广西科学技术出版社出版, 2008
7 黄干荣, 李晓华, 黄衍强, 黄小凤, 韦连登, 韦红玉, 陈源红, 唐华英, 杨珊, 覃艳春. 大黄素等提取物对耐药性大肠杆菌生物膜形成的影响. 中成药杂志 2013; 35: 2602-2605
8 吕卫东. 260株大肠埃希菌的耐药分析. 中华医院感染学杂志 2011; 21: 568-569
9 Petersen A, Christensen JP, Kuhnert P, Bisgaard M, Olsen JE. Vertical transmission of a fluoroquinolone-resistant Escherichia coli within an integrated broiler operation. *Vet Microbiol* 2006; 116: 120-128 [PMID: 16650662 DOI: 10.1016/j.vetmic.2006.03.015]
10 郭美丽, 潘孝勇, 曾松芳. 大肠埃希菌中质粒介导喹诺酮类耐药基因的检测及其耐药性分析. 中华医院感染学杂志 2012; 22: 1765-1768
11 张昭勇, 张吉才, 杜毅. 尿道感染大肠埃希菌对喹诺酮耐药性及相关因素分析. 临床误诊误治 2013; 26: 90-93
12 梁海军, 崔艳慧, 杨道坤. 产ESBLs大肠埃希菌耐药性分析及qnr、gyrA、parC基因变异的检测. 中华医院感染学杂志 2011; 21: 1068-1071
13 常明向, 章晶, 陈科力. 黄连、赤芍及大黄对大肠杆菌内毒素释放的影响. 中成药 2007; 29: 752-753
14 胡文举, 宋艳画, 吴伶俐. 黄连素和黄芪多糖对鸡源大肠杆菌的体外联合抑菌作用. 中兽医学杂志 2013; 6: 8-10
15 沈先荣, 李水军, 蒋定文, 贾福星, 周菊珍, 储智勇, 祝晓辉, 郑高利. 前摄宁颗粒对SD大鼠前列腺炎的抗炎作用. 中成药杂志 2008; 30: 808-812

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年6月18日; 22(17): 2449-2455
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

组织胶联合聚桂醇治疗胃底静脉曲张的疗效

侯运萌, 向慧玲, 王凤梅, 吕洪敏, 李庭红, 李 岩, 李 隽, 高艳颖, 王 芳, 田念念

侯运萌, 田念念, 天津医科大学第三中心临床学院 天津市 300170
向慧玲, 王凤梅, 吕洪敏, 李庭红, 李岩, 李隽, 高艳颖, 王芳, 天津市第三中心医院消化内科 天津市 300170
侯运萌, 在读硕士, 主要从事肝脏相关疾病的研究.
作者贡献分布: 侯运萌与向慧玲对此文所作贡献均等; 此课题的设计由向慧玲、王凤梅、吕洪敏、李庭红、李岩、李隽、高艳颖及王芳完成; 病例采集由侯运萌与田念念完成; 数据分析与文章起草由侯运萌完成; 本论文写作由侯运萌与向慧玲完成.
通讯作者: 向慧玲, 教授, 主任医师, 300170, 天津市河东区津塘路83号, 天津市第三中心医院消化内科.
huilingxiang@163. com
电话: 022-84112324 传真: 022-24382234
收稿日期: 2014-03-11 修回日期: 2014-04-01
接受日期: 2014-04-28 在线出版日期: 2014-06-18

Efficacy of tissue adhesive combined with lauromacrogol in treatment of gastric varices

Yun-Meng Hou, Hui-Ling Xiang, Feng-Mei Wang, Hong-Min Lv, Ting-Hong Li, Yan Li, Jun Li, Yan-Ying Gao, Fang Wang, Nian-Nian Tian

Yun-Meng Hou, Nian-Nian Tian, the Third Central Clinical College of Tianjin Medical University, Tianjin 300170, China
Hui-Ling Xiang, Feng-Mei Wang, Hong-Min Lv, Ting-Hong Li, Yan Li, Jun Li, Yan-Ying Gao, Fang Wang, Department of Gastroenterology, the Third Central Hospital of Tianjin, Tianjin 300170, China
Correspondence to: Hui-Ling Xiang, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Third Central Hospital of Tianjin, 83 Jintang Road, Hedong District, Tianjin 300170, China. huilingxiang@163.com
Received: 2014-03-11 Revised: 2014-04-01
Accepted: 2014-04-28 Published online: 2014-06-18

Abstract

AIM: To assess the clinical effect of tissue adhesive combined with lauromacrogol on gastric varices.

METHODS: The clinical data of patients who had a history of gastric variceal bleeding due to liver cirrhosis and underwent endoscopic treatment from August 2010 to February 2014 were analyzed retrospectively. Tissue adhesive combined with lauromacrogol (GIS group) was performed in 101 cases, and tissue adhesive only (Histoacryl group) was used in 70 cases. The hemostatic effects, improvement of gastric varices, conditions of rebleeding and adverse reactions were compared between the two groups.

RESULTS: The hemostatic rate in both groups was 100%. The follow-up period was 1-24 mo (7.47 mo ± 6.04 mo) for the GIS group. The remission rate of gastric varices was 45.54%, the eradication rate of gastric varices was 27.72%, and the total effective rate was 73.26% in the GIS group. The follow-up period was 1-26 mo (12.17 mo ± 8.01 mo) in the Histoacryl group. The remission rate of gastric varices was 28.57%, the eradication rate of gastric varices was 24.29% and the total effective rate was 52.86% in the Histoacryl group. The efficacy was significantly better in the GIS group than in the Histoacryl group ($P < 0.01$). The mean time to remission in the GIS group (3.67 mo ± 4.24 mo) was significantly shorter than that in the Histoacryl group (7.22 mo ± 7.11 mo) ($P < 0.05$). The rebleeding rate had no statistical difference between the GIS group (22.77%) and Histoacryl group (34.29%) ($P > 0.05$). The mean time to rebleeding in the GIS group (2.50 mo ± 2.69 mo) was significantly shorter than that in the Histoacryl group (5.56 mo ± 5.26 mo) ($P < 0.05$).

CONCLUSION: Tissue adhesive combined with lauromacrogol is more effective than Histoacryl in improving gastric varices. Although the combination therapy did not increase the rebleeding rate, the mean time to rebleeding was earlier.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Gastric varices; Tissue adhesive; Lauromacrogol; Endoscopic therapy

Hou YM, Xiang HL, Wang FM, Lv HM, Li TH, Li Y, Li J, Gao YY, Wang F, Tian NN. Efficacy of tissue adhesive combined with lauromacrogol in treatment of gastric varices. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(17): 2449-2455 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2449.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i17.2449

摘要

目的: 探讨组织胶联合聚桂醇治疗对胃底静

■背景资料
胃底静脉曲张破裂出血(gastric variceal bleeding)是危及患者生命的常见急症. 目前, 组织黏合剂注射治疗已被认为是治疗的首选方法, 止血疗效确切, 但术后胃底静脉曲张(gastric variceal, GV)改善效果不佳, 复发出血的风险较高, 因此, 研究新的治疗方案改善术后GV复发出血, 进一步指导临床治疗是有必要的.

■同行评议者
孙星, 副教授, 副主任医师, 上海交通大学附属第一人民医院普外科

■研发前沿
硬化剂治疗可引起静脉的机化和消失，能有效根除曲张静脉，黏合剂联合硬化剂治疗可有效改善胃静脉曲张. 本文旨在研究组织胶联合聚桂醇治疗GV术后胃镜随访情况，以观察其改善GV、控制GV复发出血方面疗效.

脉曲张(gastric variceal, GV)的临床疗效.

方法: 回顾性分析我院2010-08/2014-02间因肝硬化伴胃底静脉曲张破裂出血行内镜下治疗的患者临床资料. 行组织胶联合聚桂醇注射治疗(GIS组)的患者101例, 行单纯组织胶治疗(Histoacryl组)的患者70例, 比较两组患者的临床止血疗效、GV改善情况、再出血情况及临床不良反应.

结果: 两组止血成功率均为100%. GIS组术后随访1-24 mo(7.47 mo±6.04 mo), GV缓解率为45.54%, 消失率为27.72%, 总体有效率为73.26%; Histoacryl组术后随访1-26 mo(12.17 mo±8.01 mo), GV缓解率为28.57%, 消失率为24.29%, 总体有效率为52.86%, GIS组GV有效率高于Histoacryl组, 有统计学意义(P<0.01). GIS组平均缓解时间(3.67 mo±4.24 mo)早于Histoacryl组(7.22 mo±7.11 mo), 有统计学意义(P<0.05). GIS组、Histoacryl组术后总体再出血率分别为22.77%、34.29%, 差异无统计学意义(P>0.05). GIS组平均再出血时间(2.50 mo±2.69 mo)早于Histoacryl组(5.56 mo±5.26 mo), 有统计学意义(P<0.05).

结论: 组织胶联合聚桂醇治疗在改善GV方面疗效优于单纯组织胶. 联合治疗并不增加术后再出血率, 但可使术后再出血时间提前.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 胃底静脉曲张; 组织胶; 聚桂醇; 内镜治疗

核心提示: 组织胶联合聚桂醇治疗胃底静脉曲张(gastric variceal, GV), 在止血成功、改善GV、控制GV复发出血方面疗效确切.

侯运萌, 向慧玲, 王凤梅, 吕洪敏, 李庭红, 李岩, 李隽, 高艳颖, 王芳, 田念念. 组织胶联合聚桂醇治疗胃底静脉曲张的疗效. 世界华人消化杂志 2014; 22(17): 2449-2455 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2449.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i17.2449

0 引言

胃底静脉曲张破裂出血(gastric variceal bleeding, GVB)是肝硬化失代偿期的常见病发症, 出血病死率高, 是危及患者生命的常见急症[1]. 目前内镜下使用组织胶治疗GVB疗效及安全性已得到肯定. 本研究将进一步探讨组织胶联合聚桂醇治疗GVB的近期及远期疗效及安全性问题, 并与单纯组织胶疗法进行比较, 为临床选择治疗方案提供依据, 现就我院171例行GV治疗的静脉曲张患者进行疗效比较.

1 材料和方法

1.1 材料 收集2010-08/2014-02我院因GVB行胃底治疗的肝硬化患者, 所有入选患者肝硬化诊断依据《2011肝硬化腹水的中西医结合诊疗共识意见》, GV诊断依据《食管胃静脉曲张及出血的内镜下诊断和治疗规范试行方案(2011年)》[2]. 患者均在签署知情同意书后行胃镜检查明确诊断GVB, 进行内镜下硬化治疗. 分组方法: 经胃镜检查, 共171例患者存在GVB(临床表现为呕血、黑便或血便症状). 收集我院自2011-12行内镜下组织胶联合聚桂醇治疗(GIS组)的患者101例, 同前期应用单纯组织胶治疗(Histoacryl组)的70例患者进行比较.

食管胃静脉曲张(gastroesophageal varices, GOV)是食管静脉曲张的延伸, 可分为3型: GOV1型: 静脉曲张沿胃小弯延伸至胃食管交界处以下2-5 cm, 这种静脉曲张较直, 被认为是食管静脉的延伸. GOV2型: 静脉曲张沿胃底大弯延伸, 超过胃食管结合部, 通常更长、更迂曲或呈贲门部结节样隆起. GOV3型: 静脉曲张既向小弯侧延伸, 又向胃底延伸. 孤立的胃静脉曲张(isolated gastric varices, IGV)不伴食管静脉曲张, 分为2型: IGV1型: 位于胃底, 迂曲交织, 呈串珠样、瘤样、结节样等. IGV2型: 位于胃底、胃窦或幽门周围. 出现IGV1型GV时, 需除外腹腔、脾静脉栓塞. 胃镜型号为Olympus GIF-Q150, 注射针为奥林巴斯内镜专用注射针. 康派特组织胶黏合剂(α-cyanoacrylate, α-氰基丙烯酸正丁酯, 北京瞬康医用胶有限公司), 0.5 mL/支, 法国产碘化油(lipiodol), 10 mL/支, 聚桂醇为国产聚桂醇注射液(陕西天宇制药有限公司).

1.2 方法

1.2.1 手术: (1)术前准备: 术前告知患者及家属可能的手术风险及术后并发症, 取得患者家属知情同意, 待患者生命体征稳定后嘱患者禁食、水, 必备三腔两囊管, 心肺复苏相关设备, 备血充足, 常规建立静脉通路; (2)操作: 胃镜前口服二甲硅油以消除胃内气泡, 提高视野清晰度, 盐酸丁卡因胶浆局麻咽部, 减轻进镜时咽部反应. 一般患者采用左侧卧位, 弯曲腿部. 患者含上牙垫, 轻轻咬住, 嘱患者以鼻深呼吸, 头不能动, 全身放松, 胃镜在直视下从口腔开始循腔进镜, 依

次经咽部、食管、贲门、胃体、胃窦、经幽门进入十二指肠. 在退镜时依反方向全面观察有无GVB征象, 检查发现GV, 根据我国GOV分类方法进行分型.

联合治疗注射方法采用“改良三明治夹心法”静脉内注射, 进镜前于内镜活检通道内注射碘化油1-2 mL以防止组织胶在钳道内凝固, 注射针预充碘油1 mL; 于内镜下选取静脉曲张最隆起点或有明显红色征或白色血栓或活动出血点附近作为注射点, 提前出针, 快速刺入静脉内, 确保穿刺针进入血管内后快速依次注入聚桂醇、组织胶、碘油, 根据曲张静脉瘤体大小决定聚桂醇的用量, 一般每点注射硬化剂10-20 mL为宜, 每次1-3点, 每次硬化剂使用总量<40 mL; 每点注入组织胶0.5-3.0 mL封堵注射部位, 进而推注碘化油2 mL, 将注射针管内的混合液推入, 然后由助手退针, 最后10%葡萄糖液冲洗管道, 预防注射针堵塞, 注射完成后用注射针前段钝部检查注射部位血管是否变硬, 如果仍有血管没有完全变硬, 选择合适部位, 重复第2次注射, 直到目标血管完全变硬为止.

组织胶注射方法基本同前, 只是采用经典三明治夹心法依次注射注入碘油、组织胶、碘油. 每次注入医用组织胶0.5-3.0 mL/点(根据曲张静脉的容积选择组织胶注射量), 根据注射后血管的硬度可以重复上述步骤行第2点注射, 每次注射1-3点; (3)术后处理: 术后卧床、禁食水1 d, 床头抬高45度. 术后予抑酸及降低门脉压的药物持续静滴2-3, 并根据个体病情充分补充液体入量; (4)术后随访: 术后1 wk、2 wk、1 mo、3 mo进行随访, 以后每隔3 mo随访1次. 比较治疗后两组内镜下胃静脉曲张改善情况、再出血情况、术后不良反应.

1.2.2 *疗效判定*: (1)止血成功标准: 治疗72 h内无活动性出血; (2)GV改善标准: 无效: GV较治疗前未见明显改善; 有效: GV较治疗前明显缓解(肉眼可见胃底静脉曲张明显缩小, 无红色征)或胃底静脉曲张消失; (3)术后再出血: 首次治疗血止后, 患者再次以呕血和/或黑便入院. 再次出血的征象: 出血控制后再次有活动性出血的表现(呕血或黑便; 收缩压降低>20 mmHg或心率增加>20次/min; 在没有输血的情况下血红蛋白含量下降>30 g/L); (4)再出血原因判断: 排胶出血: 复查胃镜, 可见原注射部位排胶改变或排胶部位残留鲜血、咖啡样液体或血痂. 胃底静脉曲张破裂再出血: 复查胃镜, 可见GV仍然存在, RC(+)或胃底残留鲜血或咖啡样液体, 但无明显排胶改变.

统计学处理 采用SPSS19.0软件包, 计量资料采用mean±SD表示, 计数资料分析采用χ^2检验或*t*检验, 等级资料采用Mann-Whitney *U*秩和检验、或Fisher确切概率法. *P*<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 *病例资料* GIS组101例, Histoacryl组70例. 组间一般资料、病因、合并症、Child-pugh分级等比较, 差异无统计学意义(表1). 组间GV分型比较, 差异无统计学意义(表2).

2.2 *GV内镜下治疗情况* GIS组101例患者, 每例患者注射1-3次, 平均1.23次±0.55次, 每次注射1-3点, 平均1.24点±0.53点. 每例患者组织胶总用量1-5 mL, 平均2.51 mL±1.05 mL, 每点注射1-5 mL, 平均2.02 mL±0.71 mL, 聚桂醇总用量5-40 mL, 平均12.17 mL±6.63 mL, 每点注射5-20 mL, 平均9.29 mL±2.51 mL. GV合并EV者76例, 同时行食道静脉曲张套扎者41例, 同时行食道静脉曲张硬化治疗者6例.

Histoacryl组70例患者, 每例患者注射1-3次, 平均1.19次±0.43次, 每次注射1-3点, 平均1.19点±0.43点, 每例患者组织胶总用量1-6 mL, 平均2.34 mL±1.18 mL, 每点注射1.0-5.5 mL, 平均1.92 mL±0.90 mL, GV合并EV共54例, 同时行食道静脉曲张套扎者18例, 无1例行食道静脉曲张硬化治疗.

两组患者平均组织胶总量、平均治疗点数、每点组织胶平均用量、同时行食道静脉曲张治疗情况比较, 结果均无明显差异.

2.3 *止血成功率* 两组患者均于出血停止后72 h内行内镜下注射治疗, 术后72 h内均无活动性出血, 止血成功率100%.

2.4 *治疗术后GV改善情况*

2.4.1 *术后GV总体有效率比较*: GIS组101例患者, 随访1-24 mo, 平均7.47 mo±6.04 mo, GV缓解46例(45.54%), 消失28例(27.72%), 总体有效率为73.26%. Histoacryl组70例患者, 随访1-26 mo, 平均12.17 mo±8.01 mo, GV缓解20例(28.57%), 消失17例(24.29%), 总体有效率为52.86%. 经秩和检验, 两组在缓解及消除GV瘤体方面存在明显差异(*P*<0.01), GIS组优于Histo-

■相关报道

史琲等研究表明, 黏合剂联合硬化剂治疗瘤状孤立性1型胃静脉曲张取得了紧急止血、消除和缩小曲张静脉瘤体的疗效, 有望减少再出血概率.

■创新盘点

本研究通过术后胃镜随访，观察比较GIS组、Histoacryl组，发现联合治疗可有效改善GV，且改善时间较早. 但术后再出血时间提前，考虑为应用硬化剂导致排胶时间提前所致，为术后随访时间提供依据.

表 1 两治疗组胃底静脉曲张患者临床资料比较

项目	分组		P值
	GIS组	Histoacryl组	
性别			0.614
男	67	49	
女	34	21	
平均年龄(岁)	56.54 ± 12.29	56.75 ± 11.98	0.615
年龄范围(岁)	18–80	29–82	
肝硬化原因			0.813
肝炎性	52	41	
酒精性	18	11	
原发性胆汁性	10	5	
其他	21	13	
合并其他疾病			
合并肝癌	10	14	0.062
合并门静脉血栓	23	13	0.508
Child–pugh分级			0.707
A级	45	30	
B级	49	37	
C级	7	3	
Child–pugh评分(分)	6.81 ± 1.53	7.04 ± 1.55	0.336

表 2 内镜下胃底静脉曲张分型比较

	分组		P值
	GIS组	Histoacryl组	
GV分型			0.909
GOV–1	28	23	
GOV–2	38	25	
GOV3	10	6	
IGV–1	25	16	
伴食道静脉曲张(EV)情况			0.414
不伴EV	25	16	
伴EV轻度	23	24	
伴EV中度	10	6	
伴EV重度	43	24	

GV: 胃底静脉曲张.

acryl组(表3).

2.4.2 术后GV缓解时间比较: GIS组GV缓解时间0.5-18.0 mo, 平均3.67 mo±4.24 mo, GV消失时间2-16 mo, 平均8.54 mo±4.39 mo. Histoacryl组GV缓解时间0.5-24.0 mo, 平均7.22 mo±7.11 mo, GV消失时间1-12 mo, 平均9.94 mo±5.93 mo. 组间GV缓解时间比较差异有统计学意义(P<0.05), 联合治疗能更快使GV得到缓解. 组间消失时间比较, 结果无明显差异.

2.4.3 术后各型GV有效率比较: GIS组GOV1型28例(27.7%), GOV2型38例(37.6%), GOV3型10例(9.9%), IGV1型25例(24.8%), Histoacryl组GOV1型23例(32.9%), GOV2型25例(35.7%), GOV3型6例(8.6%), IGV1型16(22.9%). 分别对组间各型GV改善情况比较, 经秩和检验, GIS组GOV2及GOV3型胃底静脉曲张改善总体有效率高于Histoacryl组(P<0.05). 其余两型GV改善情况比较, 差异不明显.

2.5 两组治疗后再出血情况

2.5.1 治疗术后再出血率比较: GIS组术后再出血23例, 再出血率22.77%(23/101), Histoacryl组再出血24例, 总体再出血率34.29%(24/70), 组间总体再出血率比较, 结果无明显差异.

2.5.2 治疗术后再出血时间比较: GIS组再出血时间0.5-9.0 mo, 平均2.50 mo±2.69 mo, Histoacryl组再出血时间0.5-19.0 mo, 平均5.56 mo±5.26 mo. 组间总体再出血时间比较, 差异明显(P<0.05), GIS组患者发生再出血的时间早于Histoacryl组.

2.5.3 治疗术后再出血原因: 再出血患者在生命体征稳定后行胃镜检查明确再出血原因, 排除食道静脉曲张对术后再出血原因及部位的影响. GIS组23例再出血患者中排胶出血9例(8.91%), 胃底静脉曲张破裂再出血6例(5.96%), 其他8例未行胃镜检查, 出血原因不明. 23例

表 3 两组胃底静脉曲张治疗后有效率比较 *n*(%)

GV消退情况	GIS组	Histoacryl组	*P*值
消失	28(27.72)	17(24.29)	
缓解	46(45.54)	20(28.57)	
无效	27(26.73)	33(47.14)	
秩和	7360	7346	<0.01

GV: 胃底静脉曲张.

患者中大出血死亡4例, 再出血死亡率3.96%(4/101), 4例死亡患者再出血分别发生于首次治疗后14、28、42、68 d. Histoacryl组24例再出血患者中排胶出血5例(7.14%), 胃底静脉曲张破裂再出血12例(17.14%), 其他7例未行胃镜检查, 出血原因不明. 24例患者中大出血死亡1例, 再出血死亡率1.42%(1/70), 死亡患者再出血发生于首次治疗后32 d. 组间胃底静脉曲张破裂再出血率比较, GIS组低于Histoacryl组, 差异有统计学意义(P<0.05), 两组间总体再出血率、再出血死亡率、排胶出血率比较, 结果无明显差异.

GIS组再出血时间0.5-9.0 mo, 平均2.50 mo±2.69 mo. Histoacryl组再出血时间1-19 mo, 平均5.56 mo±5.26 mo. 组间总体再出血时间比较, GIS组患者发生再出血的时间早于Histoacryl组, 差异有统计学意义(P<0.05). GIS组9例排胶出血分别发生在治疗后14、21、24、26、30、52、56、63、84 d, 平均41.11 d±23.57 d. Histoacryl组排胶出血时间分别发生在治疗后 54、56、59、98、98 d, 平均69.80 d±26.67 d. 组间排胶出血时间比较有统计学差异(P<0.05), GIS组早于Histoacryl组.

2.6 治疗相关不良反应 GIS组术后随访期间出现发热3例, 胃镜下发现胃底注射部位溃疡43例, 巨大溃疡1例, Histoacryl组术后随访发热2例, 胃镜下观察发现注射部位溃疡22例. 两治疗组均无严重过敏反应、异位栓塞及肝肾功能恶化情况, 两组并发症发生率比较, 结果无明显差异.

3 讨论

GV是肝硬化伴门脉高压症的严重并发症, 其多见于5%-33%的门脉高压症的患者, GVB的发生率较食道静脉曲张破裂出血的发生率低, 但其出血量往往比较大, 病情比较严重, 病死率高达45%. 目前, 套扎、硬化剂和组织黏合剂治疗均是治疗食管静脉曲张出血的一线疗法[3-5]. 内镜下使用组织胶急诊治疗胃底曲张静脉出血成为首选方案, 与内镜下套扎及硬化剂相比, 组织胶能更好控制GVB. 胃底腔是一含有气体的空腔, 曲张静脉直径可能很粗、单腔, 局部不存在胃腔本身的压迫止血作用, 组织胶能够迅速填塞血管腔, 阻断血流, 达到快速止血的目的. 在许多国家组织胶已被用于治疗GV, 有效止血率达88%-100%[6-8]. 我们的资料显示, 内镜下行组织胶联用聚桂醇治疗的101例患者及单纯组织胶治疗的70例患者均获得成功止血, 止血成功率100%. 本研究表明, 组织胶联合聚桂醇能迅速有效控制GVB.

组织胶治疗GV主要起到闭塞GV的作用, 目前常用的组织胶是氰基丙烯酸盐, 注射到血管里接触到血液时会在数秒内发生聚合反应, 形成固体, 并在固体的黏合剂外面形成一层膜, 使黏合剂与血管完全隔离开, 从而闭塞血管. 内镜诊疗规范推荐GV组织胶注射治疗一般进行1次, 在疗效不满意时可以重复治疗. 组织胶本身也存在缺点, 其不引起局部炎症及血管纤维化, GV不易消失, 不能阻止产生新的曲张静脉, 仍有胃底静脉曲张出血的风险. 组织黏合剂治疗术后胃底静脉曲张再出血率8%-37%[9,10]. 我院既往研究[11]表明, 应用组织胶治疗术后胃底静脉曲张再出血率为34.6%. 同时, 组织胶治疗术后易出现排胶出血及局部黏膜坏死、异位栓塞. 已有研究表明, 86.1%的患者在术后1 mo内排胶, 排胶出血率为6.2%[12]. 本研究中, 两组排胶出血率为8.91%、7.14%, 与文献报道接近. GV血管直径增大、血流速度加快均会导致组织胶闭合血管的效应下降[13].

硬化剂是一类在静脉注射后损伤血管内皮, 引起静脉内膜炎并导致内膜肿胀、血栓形成, 最终引起静脉的机化和消失[14]. 临床常用的硬化剂包括1%乙氧硬化醇、5%鱼肝油酸钠、5%油酸氨基乙酸等. 重复硬化剂治疗能有效根除曲张静脉, 从而明显减少致命性大出血的发生. 硬化剂的优点在于能被机体吸收, 不会像组织胶作为异物进入人体(组织胶排胶出血, 是其常见并发症). Cheng等[5]应用硬化剂治疗食道静脉曲张, 平均注射3.2次±1.1次, 曲张静脉完全消失率、基本消失率达84.1%. 由于GV直径较大, 出血量大, 出血速度快, 局部不

■应用要点

本研究应用组织胶联合聚桂醇治疗GV的方法, 在止血成功、改善GV、控制GV复发出血方面疗效确切, 为临床提供治疗依据.

■同行评价
本文写作思路清晰，样本量较大，具有一定临床指导意义.

存在胃腔本身的压迫止血作用，单独应用硬化剂不能很好地闭塞胃曲张静脉血管，拔针后穿刺点有出血现象. 因此，GV很少单独应用硬化剂治疗. 当加用组织胶后，可见曲张静脉向注射部位两侧增粗、发白，拔针后组织胶封堵穿刺点而无渗血. 在组织胶治疗GV的同时加用硬化剂，可有效增加GV内镜下治疗疗效，减少术后再出血发生率.

本研究联合应用组织胶、聚桂醇治疗GV，曲张静脉内先注入的硬化剂对血管产生局部炎症、纤维化乃至完全固化作用；注入的黏合剂快速形成固体聚合物，有效封堵瘤体及注射针孔，可避免和减少即时注射针孔出血概率. 两者联用可起到闭塞和消退曲张静脉的作用[15]. 本研究结果显示，GIS组、Histoacryl组治疗胃底曲张静脉的总体有效率分别为73.26%、52.86%，平均缓解时间分别为3.67 mo±4.24 mo、7.22 mo±7.11 mo，GIS组在改善GV方面疗效优于Histoacryl组，且GV更快发生缓解. 两组在改善GOV2型GV方面比较，GIS组疗效优于Histoacryl组. GOV2型GV以胃底大弯侧为主，曲张静脉多有迂曲分支，分流静脉广泛，说明在治疗广泛型GV方面，联合治疗疗效更优. 这主要取决于硬化剂的血管内皮损伤作用，使静脉内膜炎形成，最终导致血管机化及消退，根据瘤体大小注入合适剂量硬化剂，保证静脉曲张血管完全变硬是治疗的关键.

本研究中，GIS组、Histoacryl组总体再出血率分别为22.77%、34.29%，再出血死亡率为3.96%、1.42%，比较均无明显差异. 组间胃底静脉曲张复发破裂再出血率比较，GIS组低于Histoacryl组，说明组织胶联合聚桂醇可有效缓解GV，从而降低静脉曲张再出血的风险. 联合治疗在减少复发出血方面优于单纯应用组织胶治疗组. GIS组、Histoacryl组排胶出血时间平均为41.11 d±23.57 d、69.80 d±26.67 d，GIS组排胶出血时间早于Histoacryl组. 人体不吸收黏合剂，内镜下黏合剂注射后脱胶发生在术后2 wk-1 mo，可引起曲张静脉表面溃疡. 此外，硬化剂治疗在局部发生炎症反应，亦可导致黏膜溃疡. 组织胶联合聚桂醇局部注射使治疗后溃疡发生率大大提高. 本研究中GIS组再出血时间及排胶出血时间较早考虑与应用硬化剂导致GV注射部位出现溃疡有关，术后应加强应用质子泵抑制剂抑制胃酸并保护胃黏膜治疗达3 mo以上，并保持右侧卧位，尽量减少胃酸对黏膜面的腐蚀，减少溃疡出血.

本研究应用组织胶联合聚桂醇治疗GV的方法，在急诊止血、改善GV、控制GV复发出血方面疗效确切. 两组GV患者治疗后，随访期间均未发生过敏反应及异位栓塞，未发生肝肾功能恶化情况，联合治疗并未增加治疗危险性. 但是目前随访时间较短，联合治疗是否可提高患者生存率方面尚不明确，仍需对接受联合治疗的患者进行跟踪随访，获得更大量的样本资料，以此开展进一步研究.

4 参考文献

1 中华医学会消化病学分会，中华医学会肝病学分会，中华医学会内镜学分会. 肝硬化门静脉高压食管胃静脉曲张出血的防治共识(2008，杭州). 中华保健医学杂志 2008; 10: 241-248
2 中华医学会消化内镜学分会食管胃静脉曲张学组. 消化道静脉曲张及出血的内镜诊断和治疗规范试行方案(2009年). 中华消化内镜杂志 2010; 27: 1-4
3 Li L, Yu C, Li Y. Endoscopic band ligation versus pharmacological therapy for variceal bleeding in cirrhosis: a meta-analysis. *Can J Gastroenterol* 2011; 25: 147-155 [PMID: 21499579]
4 Triantos CK, Goulis J, Patch D, Papatheodoridis GV, Leandro G, Samonakis D, Cholongitas E, Burroughs AK. An evaluation of emergency sclerotherapy of varices in randomized trials: looking the needle in the eye. *Endoscopy* 2006; 38: 797-807 [PMID: 17001564 DOI: 10.1055/s-2006-944566]
5 Cheng L, Wang Z, Li C, Cai F, Linghu E, Mao Y, Huang Q. Experience in sclerotherapy for esophagogastric variceal bleeding. *Chin Med J* (Engl) 2002; 115: 919-922 [PMID: 12123566]
6 Al-Ali J, Pawlowska M, Coss A, Svarta S, Byrne M, Enns R. Endoscopic management of gastric variceal bleeding with cyanoacrylate glue injection: safety and efficacy in a Canadian population. *Can J Gastroenterol* 2010; 24: 593-596 [PMID: 21037987]
7 Rajoriya N, Forrest EH, Gray J, Stuart RC, Carter RC, McKay CJ, Gaya DR, Morris AJ, Stanley AJ. Long-term follow-up of endoscopic Histoacryl glue injection for the management of gastric variceal bleeding. *QJM* 2011; 104: 41-47 [PMID: 20871126]
8 Kang EJ, Jeong SW, Jang JY, Cho JY, Lee SH, Kim HG, Kim SG, Kim YS, Cheon YK, Cho YD, Kim HS, Kim BS. Long-term result of endoscopic Histoacryl (N-butyl-2-cyanoacrylate) injection for treatment of gastric varices. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 1494-1500 [PMID: 21472110]
9 Chang YJ, Park JJ, Joo MK, Lee BJ, Yun JW, Yoon DW, Kim JH, Yeon JE, Kim JS, Byun KS, Bak YT. Long-term outcomes of prophylactic endoscopic histoacryl injection for gastric varices with a high risk of bleeding. *Dig Dis Sci* 2010; 55: 2391-2397 [PMID: 19911276]
10 Mosca I, Ligorría R, Tufare F, Villaverde A, Baldoni F, Martínez H, Chopita N. [N-butyl-2-cyanoacrylate for the treatment of gastric varices]. *Acta Gastroenterol Latinoam* 2012; 42: 27-32 [PMID: 22616494]

11 田念念, 向慧玲, 吕洪敏, 王芳, 聂新华. 组织黏合剂治疗胃底静脉曲张术后再出血的相关因素. 世界华人消化杂志 2013; 21: 908-914
12 王艳梅, 程留芳, 李楠, 吴凯, 翟俊山, 王雅文. 内镜下注射组织粘合剂治疗胃静脉曲张出血的排胶规律研究. 中国内镜杂志 2010; 16: 9-13
13 王艳梅, 程留芳, 李楠. 组织黏合剂闭合血管影响因素的血液流变学研究. 中华消化内镜杂志 2006; 23: 263-266
14 罗红彬, 胡中伟, 郭家伟. 胃底静脉曲张破裂出血急诊内镜下治疗97例. 世界华人消化杂志 2009; 17: 508-511
15 史琲, 吴云林, 吕婵, 朱晖. 粘合剂联合硬化剂治疗瘤状孤立性1型胃静脉曲张. 肝脏 2008; 13: 287-291

编辑 田滢 电编 都珍珍

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版)

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

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

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

世界华人消化杂志 2014年6月18日; 22(17): 2456-2462
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

紫杉醇联合卡培他滨一线治疗晚期胃癌后卡培他滨维持治疗的疗效和安全性

周 然, 王 峰, 曹 蕾, 庞丽娜, 樊青霞

■背景资料
胃癌是全球第4大常见恶性肿瘤及第2位肿瘤相关死亡原因, 早期症状不典型, 大多数患者已处于进展期, 以联合化疗为主的综合治疗被视为标准治疗, 但进展期胃癌的化疗至今缺少世界公认的一线化疗"金方案".

周然, 王峰, 曹蕾, 庞丽娜, 樊青霞, 郑州大学第一附属医院肿瘤科 河南省郑州市 450052
周然, 在读硕士, 主要从事恶性肿瘤的综合治疗.
作者贡献分布: 该课题由樊青霞负责; 研究过程由周然、曹蕾及庞丽娜完成; 数据整理由周然完成; 数据分析由王峰完成; 论文的写作由樊青霞与周然完成.
通讯作者: 樊青霞, 教授, 主任医师, 博士生导师, 450052, 河南省郑州市二七区, 郑州大学第一附属医院肿瘤科.
fqx2243@126.com
收稿日期: 2014-03-14 修回日期:2014-04-08
接受日期: 2014-04-20 在线出版日期: 2014-06-18

Efficacy and safety of capecitabine maintenance therapy after first-line paclitaxel/capecitabine chemotherapy in patients with advanced gastric cancer

Ran Zhou, Feng Wang, Lei Cao, Li-Na Pang, Qing-Xia Fan

Ran Zhou, Feng Wang, Lei Cao, Li-Na Pang, Qing-Xia Fan, Department of Oncology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, He'nan Province, China
Correspondence to: Qing-Xia Fan, Professor, Chief Physician, Department of Medical Oncology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Erqi District, Zhengzhou 450052, He'nan Province, China. fqx2243@126.com
Received: 2014-03-14 Revised: 2014-04-08
Accepted: 2014-04-20 Published online: 2014-06-18

Abstract

AIM: To evaluate the efficacy and safety of paclitaxel plus capecitabine (PACX) with subsequent capecitabine maintenance as first-line chemotherapy for patients with advanced gastric cancer.

METHODS: Seventy-six eligible patients were randomly assigned to either group A or group B. In group A, 36 patient were treated with the paclitaxel/capecitabine (PACX) regimen, with 21 days as a cycle. Patients who responded to the therapy after 4 cycles were given capecitabine maintenance (1000 mg/m^2, *bid*, d1-14, *q3w*) therapy until disease progression or intolerable toxicity. In group B, 40 patients were treated with the cisplatin/capecitabine (XP) regimen. A maximum of six cycles was given.

RESULTS: There was no significant difference in remission rate (RR) or disease control rate (DCR) between groups A and B (52.78% *vs* 45.00%, 80.56% *vs* 75.00%, P = 0.42). The RR and DCR were 17.24% and 72.4% in the maintenance group, and 0.00% and 46.67% in the follow-up group (P = 0.024, 0.043). The median progression free survival time (mPFS) in the maintenance group was 1.3 mo longer than that in the follow-up group (8.10 mo *vs* 6.86 mo, P = 0.021). The median overall survival time (mOS) and one-year survival rate were 2.41 mo longer (14.74 mo *vs* 12.33 mo) and 21.08% higher (69.23% *vs* 48.15%) than those in the follow-up group, but the differences were not statistically significant (P = 0.081, 0.118). Compared with the XP regimen, the incidence rates of alopecia and peripheral neurotoxicity associated with the PACX regimen were significantly higher, although most of them were mild (grade Ⅰ/Ⅱ). The incidence rate of nausea and vomiting was lower in patients receiving the PACX regimen. In the maintenance group, only the incidence rate of hand-foot syndrome was raised, and the other toxicities were reduced obviously. No treatment-related death was found.

CONCLUSION: Paclitaxel plus capecitabine with subsequent capecitabine maintenance therapy can increase the RR and DCR, prolong the PFS and OS and improve one-year survival rate, with good tolerance and safety.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Paclitaxel; Capecitabine; Gastric cancer

Zhou R, Wang F, Cao L, Pang LN, Fan QX. Efficacy and safety of capecitabine maintenance therapy after first-line paclitaxel/capecitabine chemotherapy in patients with advanced gastric cancer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(17): 2456-2462 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2456.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i17.2456

■同行评议者
潘阳林, 副教授, 副主任医师, 第四军医大学西京医院消化病医院消化六科

摘要

目的: 评价紫杉醇联合卡培他滨一线治疗晚期胃癌后卡培他滨维持治疗的疗效及安全性.

方法: 将76例符合标准的晚期胃癌患者随机分为A、B两组. A组36例给予紫杉醇联合卡培他滨(paclitaxel/xeloda, PACX)化疗, 21 d为1周期, 4周期后无进展者行卡培他滨维持治疗(1000 mg/m^2, *bid*, d1-14, *q3w*)直至疾病进展或出现不能耐受的不良反应; B组40例给予卡培他滨联合顺铂(xeloda/cisplatin, XP)化疗, 21 d为1周期, 最多6周期后单纯观察.

结果: PACX方案和XP方案的缓解率(remission rate, RR)分别为52.78%(19/36)和45.00%(18/40), 疾病控制率(disease control rate, DCR)分别为80.56%(29/36)和75.00%(30/40), 两者比较差异无统计学意义(P = 0.42); 维持组和随访组的缓解率(RR)分别为17.24%(5/29)和0.00%(0/30), DCR分别为72.4%(21/29)和46.67%(14/30), 两者比较有明显差异(P = 0.024, P = 0.043). 维持组中位无疾病进展时间(median progression free survival time, mPFS)比随访组提高了1.23 mo(8.10 mo *vs* 6.86 mo, P = 0.021), 中位总生存时间(median overall survival time, mOS)和1年生存率分别提高了2.41 mo(14.74 mo *vs* 12.33 mo)和21.08%(69.23% *vs* 48.15%), 但无统计学意义(P = 0.081, P = 0.118). PACX方案脱发及周围神经毒性的发生率较XP方案明显增高, 但多为Ⅰ/Ⅱ度, 而恶心呕吐的发生率则显著降低; 维持组除手足综合症的发生率增高之外, 余不良反应的发生率明显减少, 无治疗相关性死亡.

结论: 紫杉醇联合卡培他滨一线治疗晚期胃癌后卡培他滨维持治疗的方案能增加缓解率和疾病控制率, 延长无疾病进展时间, 总生存时间和1年生存率有提高趋势, 耐受性良好, 较为经济和安全, 值得进一步研究和临床应用.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 紫杉醇; 卡培他滨; 胃癌

核心提示: 紫杉醇/卡培他滨联合化疗4周期后卡培他滨维持的化疗方案一线治疗进展期胃癌, 近期疗效和远期无疾病进展时间(progression free survival time)得到显著性提高、生存时间(overall survival time)和1年生存率有提高趋势, 不良反应轻, 经济方便, 是治疗进展期胃癌的新选择, 值得更深入的临床研究.

周然, 王峰, 曹蕾, 庞丽娜, 樊青霞. 紫杉醇联合卡培他滨一线治疗晚期胃癌后卡培他滨维持治疗的疗效和安全性. 世界华人消化杂志 2014; 22(17): 2456-2462 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2456.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i17.2456

■研发前沿
紫杉醇和卡培他滨为新一代胃癌化疗药物, 维持治疗是近几年新提出的治疗模式, 本研究将新药与新的治疗模式相结合, 以寻求进展期胃癌更佳的一线化疗方案.

0 引言

胃癌是全球排名第4位的常见恶性肿瘤及第2位肿瘤相关死亡原因[1], 其发病率居我国恶性肿瘤第2位, 同期死亡率居恶性肿瘤死因第3位[2]. 因早期症状不典型, 确诊时60%以上的患者失去手术根治的机会, 或者部分患者术后复发、转移. 分析研究表明, 化疗与最佳支持治疗相比, 能提高晚期胃癌患者的中位生存期(HR = 0.37)和生活质量, 且联合方案较单药方案更具有生存优势(HR = 0.82)[3], 因此对于这些患者以联合化疗为主的综合治疗被视为标准治疗. 几十余年来, 胃癌的化疗方案经过FAM、FAMTX、EAP、ELF、ECF、DCF等一系列的演变, 21世纪新药出现后又有EOX、XP、S-1/CDDP、IF、FOLFOX、XELOX等化疗方案的提出, 使晚期胃癌的治疗效果有了进一步的提高, 化疗的总有效率在20%-58%, 但仍未得到有明显生存优势的治疗方案. 如何合理的选用并联合应用化疗药物从而找出高效低毒的治疗方法, 一直是目前研究的热点. 本篇报道为紫杉醇联合卡培他滨后序贯卡培他滨维持治疗对比卡培他滨联合顺铂一线治疗晚期胃癌的Ⅲ期临床研究(ML22697)的分中心结果, 现报到如下.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2009-11/2012-06郑州大学第一附属医院收治的晚期胃癌患者. 入组标准: 均经病理学或组织学证实为胃癌; 评估为不能手术的局部进展期、复发或转移的初治晚期胃癌患者; 至少有一个可测量病灶; 未接受过放疗或放疗结束>4 wk(放疗部位位于本实验评估部位之外); 预计寿命≥3 mo; ECOG评分为0-2分; 入组前血常规及生化指标无化疗禁忌; 心肺功能基本正常; 年龄≥18岁; 签署书面知情同意书. 排除标准: 孕妇及哺乳期妇女; 对氟尿嘧啶类、顺铂或紫杉类药物过敏, 或代谢障碍; 曾长期接受全身类固醇治疗; 存在外周神经系统或中枢神经系统障碍或明显精神障碍; 伴有吞咽困难、完全或不全消化道梗阻、消化系活动性出血或穿孔等至口服卡培他滨有困难者; 患有其他恶性肿

■相关报道
潘战和、Qiu等肯定了奥沙利铂与卡培他滨联合一线治疗进展期胃癌后卡培他滨维持治疗的效果和安全性, Gong等确定了紫杉醇/卡培他滨一线化疗6周期后卡培他滨维持治疗的可行性.

表 1 76例晚期胃腺癌患者临床资料 *n*(%)

临床资料	A组	B组	*P*值
n	36	40	
性别			0.241
男	25	22	
女	11	18	
分期			0.316
IIIb期	12	9	
Ⅳ期	24	31	
ECOG(分)			0.499
0	11	13	
1	18	23	
2	7	4	
年龄(岁)			0.092
＜65	22	24	
≥65	14	16	
肿瘤位置			0.590
胃食管结合部	10	8	
非胃食管结合部	26	32	
病理类型			0.454
高分化腺	1	3	
中低分化腺	29	27	
黏液腺	3	5	
印戒	1	0	
其他	2	5	
体质量减轻			0.342
是	21	28	
否	15	12	
原发病灶切除			0.324
是	9	15	
否	27	25	
受累器官数(个)			0.423
≤2	27	33	
＞2	9	7	

瘤. 共入组76例患者, 其中男47例、女29例, 年龄为37-77岁, 平均年龄为62.5岁±10.7岁, 中位年龄为61岁. 随机分为A、B两组, 其中A组36例, B组40例, 两组患者的一般资料无明显差异, 具有可比性(*P*>0.05)(表1). 紫杉醇(paclitaxel, PTX, 海南海药股份有限公司, 批号: H10980170); 卡培他滨(希罗达, capecitabine/xeloda, 上海罗氏公司, 批号: H20073024); 顺铂(cisplatin, DDP, 江苏豪森药业股份有限公司, 批号: H20010743);

1.2 方法

1.2.1 给药: A组患者接受PACX方案治疗: 紫杉醇80 mg/m^2, 加入250 mL NS中静滴3 h, d1、8, *q3w*; 卡培他滨, 1000 mg/m^2, *bid*, 餐后30 min口服, d1-14, *q3w*; B组患者接受XP方案治疗: 顺铂80 mg/m^2, 加入500 mL的NS中静滴2 h, d1, *q3w*; 卡培他滨1000 mg/m^2, *bid*, 餐后30 min口服, d1-14, *q3w*. 所用方案至少连续应用2周期, 可根据血液学及非血液学的不良反应进行剂量的调整. A组应用PACX方案4周期治疗未进展者, 继续卡培他滨1000 mg/m^2, *bid*, d1-14, *q3w*的维持治疗至疾病进展或不能耐受的不良反应; B组接受XP方案治疗最多6周期, 若未进展则定期随访观察.

1.2.2 合并用药: 注射紫杉醇12 h前给予地塞米松10 mg肌注, 30 min前给予地塞米松10 mg肌注、西咪替丁400 mg静滴; 注射顺铂前给予生理盐水或葡萄糖盐水1000 mL滴注, 顺铂给药后一次给予20%甘露醇250 mL, 一般每日液体总量3000 mL左右, 输液中根据尿量每次给速尿20-40 mg静脉冲入; 所有患者化疗前常规给予托烷司琼5 mg静推、苯海拉明20 mg肌注、泮托拉唑80 mg静滴, 化疗后常规给予托烷司琼5 mg静推. 化疗周期中如需服用氢氧化铝或氢氧化镁制剂, 需在卡培他滨2 h之后, 出现骨髓抑制给予相应的升血药物, 恶心、呕吐、腹泻可对症治疗, 出现手足综合症者给予维生素B_6口服, 禁冷食、冷水并注意手脚保暖.

1.2.3 观察指标: (1)近期疗效: 按实体瘤疗效评价标准(response evaluation criteria in solid tumors 1.0, RECIST 1.0), 每2周期进行一次影像学(病灶部位的增强CT、浅表淋巴结彩超、胸片、视情况行骨扫描等)肿瘤评估, 分为完全缓解(complete remission, CR)、部分缓解(partial remission, PR)、稳定(stable disease, SD)和进展(progressive disease, PD), 缓解率(remission rate RR)为(CR+PR)/总例数×100%, 疾病控制率(disease control rate, DCR)为(RR+SD)/总例数×100%; (2)远期疗效: 远期疗效的主要研究终点为无疾病进展时间(progression free survival time, PFS), 次要研究终点为生存时间(overall survival time, OS). PFS指从化疗开始至疾病进展的时间, OS指从化疗开始至死亡或末次随访时间; (3)不良反应: 化疗前后复查血常规、生化(肝肾功、血脂、电解质)、血凝、心电图, 每天观察患者的症状、体征, 及时记录并判断与研究用药的关系, 按抗肿瘤药物毒性反应分级标准分级(National Cancer Institute-Common Toxicity Criteria 3.0, NCI-CTC3.0). 手足综合症分为Ⅰ-Ⅲ度; Ⅰ度为麻木、瘙痒、无痛性红肿和肿胀, 但不影

表 2 每次复查间期内各组患者疾病进展人数 (n)

疗效评价	第1次	第2次	第3次
C组	0	3	5
D组	0	6	10

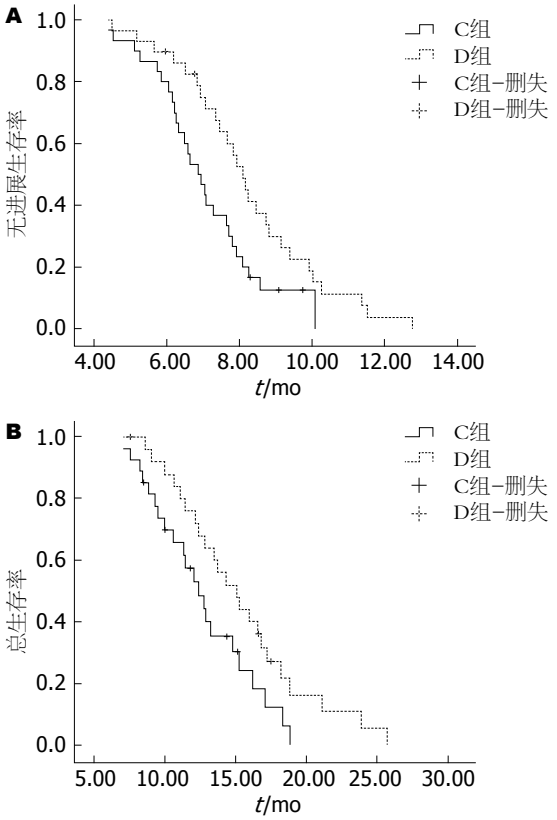


图 1 两组无进展生存曲线和总生存曲线比较. A: 无进展生存率; B: 总生存率.

响正常生活; Ⅱ度为疼痛性红斑和肿胀, 影响患者的日常生活; Ⅲ度为潮湿性蜕皮、溃疡、水泡和重度疼痛, 致患者不能工作和日常生活严重不适.

统计学处理 采用SPSS16.0统计软件进行分析. 无序分类资料采用χ^2检验和Fisher精确概率检验、分级资料采用Kruskal Wallis *H*检验、生存资料分析采用Kaplan-Meier法(Log-rank检验). $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 联合化疗近期疗效 76例患者均完成了4周期化疗. A组CR 5.56%(2/36)、PR 47.22%(17/36)、SD 27.78%(10/36)、PD 19.44%(7/36), B组CR 2.50%(1/40)、PR 42.50%(17/40)、SD 30.00%(12/40)、PD 25.00%(10/40), 两组比较差异无统计学意义($\chi^2=0.65, P=0.42$).

2.2 维持化疗近期疗效 将A组中完成了4周期PACX方案未进展的患者定义为C亚组, 共29例; B组中完成了4周期XP方案化疗的患者定义为D亚组, 共30例. C、D组患者最长每隔2周期复查(表2). C组接受单药卡培他滨化疗, 进展8例, DCR为72.4%, 其中5例缓解, RR为17.24%; D组接受2周期XP方案化疗后定期复查, 进展22例, DCR为46.67%, 无1例缓解. 两组的RR和DCR比较均有统计学差异($P=0.024, P=0.043$).

2.3 远期疗效 末次随访时间为2014-01-21, 仅评价进入卡培他滨维持治疗患者(C组)29例和进入随访观察患者(D组)30例患者的远期疗效. C组中位无进展生存时间(median PFS, mPFS)为8.10 mo(95%CI: 7.51-8.68), 中位总生存时间(median OS, mOS)为14.74 mo(95%CI: 12.14-17.33), 1年总生存率为69.23%; D组mPFS为6.87 mo(95%CI: 6.23-7.51), mOS为12.33 mo(95%CI: 10.31-14.34), 1年总生存率为48.15%. 两组比较, mPFS有明显差异($P=0.021$), 而mOS和1年总生存率差异无统计学意义, *P*值分别为0.081和0.118. 生存曲线如图1.

2.3 不良反应 76例患者均可评价不良反应, 主要为恶心、呕吐、手足综合症、脱发、腹泻、骨髓抑制等, 多为轻中度且经对症处理后均好转, 未发生化疗相关性死亡. PACX组患者脱发的发生率高达97.22%, 明显高于XP组(5.00%), 但均为Ⅰ/Ⅱ度, 停用紫杉醇后头发均可再生; 周围神经毒性的发生率为75.00%, 其中有1例为Ⅲ度, 表现为感觉异常、肢端麻木、疼痛, 给予止痛、营养神经及紫杉醇减量治疗后好转; 恶心呕吐的发生率明显低于XP组(36.11% *vs* 70%), 且无Ⅲ/Ⅳ度不良反应发生; 余常见不良反应两组发生率无明显差异($P>0.05$)(表3). 接受卡培他滨单药维持治疗(29例)或是随访观察(30例)的患者Ⅰ/Ⅱ度不良反应的发生率明显减少, 其中维持组骨髓抑制共4例(3例白细胞Ⅰ度降低、4例血红蛋白Ⅰ度降低)、恶心呕吐5例(17.24%)、腹泻3例(10.34%)、口腔炎2例(6.90%)、神经症状10例(34.48%). 维持组仅手足综合症的发生率增高(62.09%), 其中发生Ⅲ/Ⅳ度不良反应者10例(34.48%), 在适当减少卡培他滨用量及对症治疗后改善, 未影响后续的治疗.

3 讨论

卡培他滨是一种新型口服氟尿嘧啶氨甲酸酯类抗肿瘤药, 口服后完整地通过胃肠壁, 经肝脏羧

■创新盘点
本研究实验组的两药不良反应谱无交叉, 而且紫杉醇对卡培他滨有增敏作用; 在给予4周期的联合化疗后即行维持治疗, 联合化疗周期数减少.

■应用要点
该研究方案减少了多周期化疗带来的较高的不良反应发生率, 紫杉醇的价格相对较低, 而卡培他滨口服给药方便、可随时调整剂量、维持治疗时不良反应发生率低, 不仅降低了静脉穿刺的风险及并发症, 同时减少住院的天数及次数, 临床上值得应用.

表 3 PACX组与XP组常见不良反应比较 *n*(%)

分组	*n*	中性粒细胞降低	血红蛋白降低	血小板降低	恶心呕吐	腹泻	口腔炎	手足综合症	周围神经毒性	脱发
PACX组	36									
Ⅰ/Ⅱ度		11(30.56)	30(83.33)	3(19.44)	13(36.11)	12(33.33)	10(27.78)	15(41.67)	26(72.22)	35(97.22)
Ⅲ/Ⅳ度		7(19.44)	1(2.78)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	3(8.33)	1(2.78)	0(0.00)
XP组	40									
Ⅰ/Ⅱ度		13(32.5)	26(65.00)	10(25.00)	25(62.50)	15(37.50)	8(20.00)	17(42.50)	2(5.00)	2(5.00)
Ⅲ/Ⅳ度		3(7.50)	1(2.50)	0(0.00)	3(7.50)	4(10.00)	2(5.00)	1(2.50)	0(0.00)	0(0.00)
χ^2值		1.384	3.214	3.660	9.670	2.298	0.018	0.405	38.678	63.654
*P*值		0.239	0.073	0.056	0.002	0.13	0.892	0.525	0.00	0.00

酸酯酶催化为5-脱氧-5-氟胞苷, 再经肝脏和肿瘤细胞中的胞苷脱氨酶催化为5-脱氧-氟尿嘧啶, 后经胸苷酸磷酸化酶(TP, 在肿瘤组织中浓度较高)催化为有活性的5-Fu而发挥抗肿瘤作用, 主要作用于S期细胞, 但对其他期的肿瘤细胞也有抑制作用, 具有明显的细胞靶向性且能模拟5-Fu持续静脉滴注的效果, 单药用于胃癌治疗的客观缓解率(objective response rate, ORR)为19%-34%, 联合应用时达30%-50%, mOS为9.0-11.0 mo[4-6]. Okines等[7]对著名的REAL-2研究和ML17032研究进行了多因素分析, 结果显示卡培他滨组的ORR明显高于5-Fu(45.6% *vs* 38.4%)、mOS也显著延长(322 d *vs* 285 d)、死亡风险下降了13%, 而且卡培他滨显示出的明显生存优势(P = 0.02)与年龄大小、体力状况、病变范围无关. 多亚组分析显示, 卡培他滨为基础的联合化疗, 无论两药或是三药, 在ORR和生存期方面都有明显优势; 而不良反应方面, 除了手足综合症以外其他均优于5-Fu. Kang等[8]将316例首次治疗的进展期或复发性胃癌患者随机分为XP(卡培他滨/顺铂)和FP(氟尿嘧啶/顺铂)组, 结果XP组的ORR、mPFS、mOS分别为46%、5.6、10.5 mo, 均高于FP组. Yamaguchi等[9]对AVAGAST研究和ToGA 研究进行了亚组分析, 两研究中日本人群应用XP方案的有效率分别为58.5%和49.2%, mPFS和mOS分别为5.7、14.2和5.6、17.7 mo, 且耐受性良好. 因此, 卡培他滨替代5-Fu的XP方案被推荐为晚期胃癌的一线治疗方案.

Van Cutsem等[10]研究确立了多西他赛在治疗转移或局部进展期胃癌中的疗效, 但其较高的治疗相关不良反应, 尤其是血液毒性, 限制了他的应用. 紫杉醇与多西他赛同属于紫杉类, 他通过促进微管蛋白聚集使纺锤体失去正常功能、诱导细胞的凋亡、诱导肿瘤坏死因子-α基因的表达[11]而导致胃癌细胞死亡, 是细胞周期特异性药物, 主要作用于G期和M期, 与多西他赛不良反应谱及疗效不完全相同. Chon等[12]对126例进展期胃癌患者中进行了DFL方案和PFL方案的临床比较, 结果显示紫杉醇组RR、PFS均较多西他赛组有轻微优势且其血液学毒性低于多西他赛(62% *vs* 71%), 国内刘丽琴等[13]也有相似的报道. 另外, 紫杉醇能够上调肿瘤组织内的TP酶表达, 与卡培他滨联合治疗胃癌有协同作用且不良反应无交叉, 英国的一项Ⅱ期临床研究结果显示紫杉醇与卡培他滨联合一线治疗晚期胃癌的有效率为48.9%, 其中2例获得CR, mPFS为5.6 mo, mOS 为11.3 mo, 耐受性良好[14]. 一系列证据表明紫杉醇可代替多西他赛与氟尿嘧啶类联合作为晚期胃癌一线化疗的新选择.

尽管晚期胃癌的治疗效果通过不同药物间的联合稍有提高, 但临床意义不显著. 近年来“维持治疗”概念的提出, 给晚期胃癌的治疗带来了新的希望. 这一治疗模式是基于Goldie等[15]假说及Jacobs等[16]模型, 目前已应用于结直肠癌、非小细胞肺癌等疾病的治疗, 并取得了较好的效果, 但关于胃癌维持治疗的研究较少. 潘战和等[17]和Qiu等[18]均对奥沙利铂联合卡培他滨6周期化疗后卡培他滨维持治疗进展期胃癌进行了研究. Qiu报道了64例进入维持化疗的患者血液学毒性发生率低于5%且程度轻、余Ⅲ/Ⅳ度不良反应不常见, 维持治疗的mPFS比对照组提高了4.3 mo(11.4 mo *vs* 7.1 mo), 且多因素分析表明维持治疗是进展期胃癌预后的独立因素; 潘报道了32例进入维持化疗, 其RR和DCR均好于随访观察组、mPFS提高了2.2 mo(7.9 mo *vs*

5.7 mo), 两个研究都初步肯定了卡培他滨维持治疗的效果及安全性. 关于紫杉醇联合卡培他滨一线治疗进展期胃癌后卡培他滨维持治疗的化疗模式, 有一项前瞻性的Ⅱ期临床研究[19]. 共入组175例患者, 均接受紫杉醇/卡培他滨方案化疗, 其中45例在6周期后进入卡培他滨维持治疗, 结果维持治疗组的mOS比未接受组延长了531 d, 但多因素COX回归分析却并未得到维持治疗是OS的独立预测因素. 因此在此基础上, 我们进行了该化疗模式与经典XP方案对比的Ⅲ期临床研究, 为确保疗效并降低多周期的联合化疗所带来的较高的不良反应, 实验组给予紫杉醇联合卡培他滨治疗4周期后即序贯卡培他滨维持治疗, 与对照组经典的XP方案对比, 近期的RR和DCR无显著差异(52.78% *vs* 45.00%, 80.56% *vs* 75.00%), 而后期维持治疗的RR和DCR明显高于单纯观察治疗(17.24% *vs* 0.00%, 72.4% *vs* 46.67%). 实验组mPFS为8.10 mo, 较对照组6.87 mo提高了1.23 mo; 虽然两组mOS和1年总生存率的差异无统计学意义, 但都有提高趋势(14.74 mo *vs* 12.33 mo, 69.23% *vs* 48.15%). 不良反应方面, PACX方案脱发及周围神经毒性的发生率较XP方案明显增高, 但多为Ⅰ/Ⅱ度, 而恶心呕吐的发生率则显著降低; 后续的维持治疗中除手足综合症的发生率(62.09%)增高之外, 余不良反应的发生率则明显减少. 该试验将实验组的联合化疗减至4周期, 仍得到有统计学差异的治疗效果, 提示可能4周期后即给予单药的维持治疗是个更好的化疗模式. 在生存时间的分析时维持治疗组因医保、经济、依从性等原因共失访了8例患者, 失访率相对较高(27.59% *vs* 16.67%), 可能会使得到的mOS和1年生存率的值比实际偏小, 从而影响统计结果, 但本试验提示两者有提高的趋势.

总之, 紫杉醇联合卡培他滨后序贯卡培他滨维持治疗的方案一线用于晚期胃癌治疗时, 显示出较高的疗效及良好的安全性. 考虑到紫杉醇的价格相对较低, 而卡培他滨口服给药方便、可随时调整剂量、维持治疗时不良反应发生率低, 不仅降低了静脉穿刺的风险及并发症, 同时减少住院的天数及次数, 因此该方案依从性更高、更经济, 临床上值得应用. 有报道紫杉醇在HER-2阳性的患者[20]中疗效更高, 而本研究并未对实验组及对照组患者进行HER-2的检测及差异比较, 且本实验的研究例数较少、失访比例较大, 这些因素都会干扰实验结果, 为进一步确定疗效及安全性尚需样本量更大、分层更细的研究.

■同行评价
本文具有一定指导意义.

4 参考文献

1 Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int J Cancer* 2010; 127: 2893-2917 [PMID: 21351269 DOI: 10.1002/ijc.25516]

2 邹小农, 孙喜斌, 陈万青, 郑荣寿, 张思维, 代珍, 刘卫东, 赵德利. 2003-2007年中国胃癌发病与死亡情况分析. 肿瘤 2012; 2: 109-114

3 Wagner AD, Unverzagt S, Grothe W, Kleber G, Grothey A, Haerting J, Fleig WE. Chemotherapy for advanced gastric cancer. *Cochrane Database Syst Rev* 2010; (3): CD004064 [PMID: 20238327 DOI: 10.1002/14651858.CD004064]

4 Barthel W, Markwardt F. Aggregation of blood platelets by adrenaline and its uptake. *Biochem Pharmacol* 1975; 24: 1903-1904 [PMID: 20 DOI: 10.1159/000305256]

5 Lo SS, Khorana AA, Javle M, Simon S, Kiefer G, Rajasenan K, Wang H, Hantel A, Shayne M, Hwang J, Schmotzer A, Ramanathan RK. A phase II study of weekly docetaxel in combination with capecitabine in advanced gastric and gastroesophageal adenocarcinomas. *Oncology* 2010; 78: 125-129 [PMID: 20389134 DOI: 10.1159/000312654]

6 Salah-Eldin MA, Ebrahim MA, AL-Ashry MS. Phase II study of capecitabine plus cisplatin in patients with gastric cancer. *Anticancer Drugs* 2009; 20: 191-196 [PMID: 19396018 DOI: 10.1097/CAD.0b013e328325a9ec]

7 Okines AF, Norman AR, McCloud P, Kang YK, Cunningham D. Meta-analysis of the REAL-2 and ML17032 trials: evaluating capecitabine-based combination chemotherapy and infused 5-fluorouracil-based combination chemotherapy for the treatment of advanced oesophago-gastric cancer. *Ann Oncol* 2009; 20: 1529-1534 [PMID: 19474114 DOI: 10.1093/annonc/mdp047]

8 Kang YK, Kang WK, Shin DB, Chen J, Xiong J, Wang J, Lichinitser M, Guan Z, Khasanov R, Zheng L, Philco-Salas M, Suarez T, Santamaria J, Forster G, McCloud PI. Capecitabine/cisplatin versus 5-fluorouracil/cisplatin as first-line therapy in patients with advanced gastric cancer: a randomised phase III noninferiority trial. *Ann Oncol* 2009; 20: 666-673 [PMID: 19153121 DOI: 10.1093/annonc/mdn717]

9 Yamaguchi K, Sawaki A, Doi T, Satoh T, Yamada Y, Omuro Y, Nishina T, Boku N, Chin K, Hamamoto Y, Takiuchi H, Komatsu Y, Saji S, Koizumi W, Miyata Y, Sato A, Baba E, Tamura T, Abe T, Ohtsu A. Efficacy and safety of capecitabine plus cisplatin in Japanese patients with advanced or metastatic gastric cancer: subset analyses of the AVAGAST study and the ToGA study. *Gastric Cancer* 2013; 16: 175-182 [PMID: 22782463 DOI: 10.1007/s10120-012-0167-0]

10 Van Cutsem E, Moiseyenko VM, Tjulandin S, Majlis A, Constenla M, Boni C, Rodrigues A, Fodor M, Chao Y, Voznyi E, Risse ML, Ajani JA. Phase III study of docetaxel and cisplatin plus fluorouracil compared with cisplatin and fluorouracil as first-line therapy for advanced gastric cancer: a report of the V325 Study Group. *J Clin Oncol* 2006; 24: 4991-4997 [PMID: 17075117]

11 Emi Y, Yamamoto M, Takahashi I, Orita H, Kakeji Y, Kohnoe S, Maehara Y. Phase II study of weekly paclitaxel by one-hour infusion for advanced gastric cancer. *Surg Today* 2008; 38: 1013-1020 [PMID: 18958560 DOI: 10.1007/s00595-008-3769-8]

12 Chon HJ, Rha SY, Im CK, Kim C, Hong MH, Kim HR, An JR, Noh SH, Chung HC, Jeung HC. Docetaxel versus paclitaxel combined with 5-Fu and leucovorin in advanced gastric cancer: combined analysis of two phase II trials. *Cancer Res Treat* 2009; 41: 196-204 [PMID: 20057964 DOI: 10.4143/crt.2009.41]

13 刘丽琴, 张西志, 蒋亚齐. 紫杉醇与多西紫杉醇分别联合顺铂及氟脲嘧啶治疗晚期胃癌的疗效比较. 实用癌症杂志 2010; 25: 621-623

14 Kang HJ, Chang HM, Kim TW, Ryu MH, Sohn HJ, Yook JH, Oh ST, Kim BS, Lee JS, Kang YK. A phase II study of paclitaxel and capecitabine as a first-line combination chemotherapy for advanced gastric cancer. *Br J Cancer* 2008; 98: 316-322 [PMID: 18219288 DOI: 10.1038/sj.bjc.6604186]

15 Goldie JH, Coldman AJ. A mathematic model for relating the drug sensitivity of tumors to their spontaneous mutation rate. *Cancer Treat Rep* 1979; 63: 1727-1733 [PMID: 526911]

16 Jacobs JA, Dellarco AJ, Manfredi RA, Harclerode J. The effects of delta 9-tetrahydrocannabinol, cannabidiol, and shock on plasma corticosterone concentrations in rats. *J Pharm Pharmacol* 1979; 31: 341-342 [PMID: 37310]

17 潘战和, 苏安, 王馨, 蔡清清, 高岩, 卜庆, 吕霞. 草酸铂联合卡培他滨一线化疗后卡培他滨维持治疗晚期胃癌. 中国肿瘤临床 2012; 20: 1552-1555

18 Qiu MZ, Wei XL, Zhang DS, Jin Y, Zhou YX, Wang DS, Ren C, Bai L, Luo HY, Wang ZQ, Wang FH, Li YH, Yang DJ, Xu RH. Efficacy and safety of capecitabine as maintenance treatment after first-line chemotherapy using oxaliplatin and capecitabine in advanced gastric adenocarcinoma patients: a prospective observation. *Tumour Biol* 2014; 35: 4369-4375 [PMID: 24515655]

19 Gong J, Hu B, Zhang X, Zhang F, Zhang J, Xu N, Fan Q, Bai Y, Jiao S, Wang J, Bai C, Zheng L, Shi Y, Liu Y, Liang J, Hu G, Cheng Y, Xu R, Bai Y, Shen L. The multicenter, phase II prospective study of paclitaxel plus capecitabine as first-line chemotherapy in advanced gastric carcinoma. *Oncologist* 2014; 19: 173-174 [PMID: 24457378 DOI: 10.1634/theoncologist.2013-0137]

20 肖莉, 任建林, 王馨, 张秋华, 吕霞. 不同HER-2状态的进展期胃癌行紫杉醇联合希罗达的疗效分析. 中国肿瘤临床 2012; 15: 1108-1110

编辑 田滢 电编 鲁亚静



世界华人消化杂志 2014年6月18日; 22(17): 2463-2466
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

2009-2013年浙江省常山地区新生儿接种乙型肝炎疫苗的流行病学效果评价

徐祥梅, 毛水仙

徐祥梅, 毛水仙, 浙江省常山县人民医院 浙江省衢州市 324200
徐祥梅, 主治医师, 主要从事新生儿的临床工作与研究.
作者贡献分布: 本研究由徐祥梅与毛水仙共同协作完成.
通讯作者: 徐祥梅, 主治医师, 324200, 浙江省衢州市常山县, 常山县人民医院. xuxiangmei110@163.com
电话: 0570-5016517
收稿日期: 2014-05-05 修回日期: 2014-05-15
接受日期: 2014-05-21 在线出版日期: 2014-06-18

Epidemiological impact of vaccination against hepatitis B in neonates in Changshan, Zhejiang between 2009 and 2013

Xiang-Mei Xu, Shui-Xian Mao

Xiang-Mei Xu, Shui-Xian Mao, the People's Hospital of Changshan County, Quzhou 324200, Zhejiang Province, China
Correspondence to: Xiang-Mei Xu, Attending Physician, the People's Hospital of Changshan County, Changshan County, Quzhou 324200, Zhejiang Province, China. xuxiangmei110@163.com
Received: 2014-05-05 Revised: 2014-05-15
Accepted: 2014-05-21 Published online: 2014-06-18

Abstract

AIM: To evaluate the epidemiological impact of vaccination against hepatitis B in neonates in Changshan, Zhejiang between 2009 and 2013.

METHODS: The hepatitis B vaccination status, the incidence of hepatitis B and serological monitoring results for newborns at our hospital from January 2009 to December 2013 were analyzed retrospectively.

RESULTS: The vaccination rate gradually increased over the period between 2009 and 2013, reaching 97.4% in 2013. The incidence of hepatitis B in 2013 was significantly decreased compared to that in 2009 ($P < 0.05$). No HBsAg carrier was found in the ≤ 4 age group, and the percentages of HBsAg carriers in the 5-8 and 9-12 age groups were 0.77% and 1.69%, respectively. In the ≤ 4, 5-8 and 9-12 age groups, anti-HBc positive rates were 2.45%, 7.67% and 17.48%, respectively. The anti-HBc and HBsAg positive rates were significantly higher in the 9-12 age group than in the ≤ 4 and 5-8 age groups ($P < 0.05$). The HBsAg positive rate was significantly higher in children vaccinated in 2009 than in those vaccinated vaccinated in 2013 (2.66% *vs* 0.24%, $P < 0.05$).

CONCLUSION: Vaccination against hepatitis B vaccine in neonates is effective in preventing hepatitis B virus infection.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Newborns; Hepatitis; Vaccination; Epidemiology

Xu XM, Mao SX. Epidemiological impact of vaccination against hepatitis B in neonates in Changshan, Zhejiang between 2009 and 2013. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(17): 2463-2466
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2463.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i17.2463

摘要

目的: 评价临床中新生儿接种乙型肝炎疫苗的流行病学效果.

方法: 采取回顾性方法分析我院2009-01/2013-12间新生儿乙型肝炎接种状况、乙型肝炎发病状况、乙型肝炎病毒血清监测状况以及与接种初期新生儿HBsAg.

结果: 2009-2013年接种率逐渐的增加, 2013年接种率达到了97.4%. 2013年乙型肝炎发病率明显的较2009年乙型肝炎发病率下降, 且数据的比较差异有统计学意义($P<0.05$). ≤4岁组未发现有HBsAg携带, 而5-8岁组和9-12岁组HBsAg携带率为0.77%、1.69%. 而≤4岁组, 5-8岁组, 9-12岁组, 抗-HBc阳性率分别为2.45%、7.67%、17.48%. 9-12岁组抗-HBc阳性率和HBsAg携带率均明显的高于≤4岁

■背景资料
乙型肝炎是我国常见的疾病之一, 在临床中具有较高的发病率, 如何有效的降低该病的发生率是医生们关注的重点. 疫苗接种是临床中一种有效的控制相关疾病发生的重要方法, 新生儿接种对降低乙型肝炎病毒感染具有重要的意义.

■同行评议者
吴君, 主任医师, 贵阳医学院附属医院感染科

组和5-8岁组, 数据的比较差异有统计学意义(P<0.05). 2009年接种儿童HBsAg携带率为2.66%, 2013年接种儿童HBsAg携带率为0.24%, 2009年接种儿童HBsAg携带率明显的高于2013年接种儿童HBsAg携带率, 数据的比较差异有统计学意义(P<0.05).

结论: 临床中新生儿接种乙型肝炎疫苗能够有效的预防乙型肝炎病毒的感染.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 新生儿; 乙型肝炎; 接种疫苗; 流行病学

核心提示: 新生儿接种乙型肝炎疫苗能够有效的预防乙型肝炎病毒的感染, 接种的过程中, 应合理的掌握接种方法和种类, 从而更好地起到预防的作用. 一般在新生儿早期主要是接种乙型肝炎免疫球蛋白, 在其儿童期主要是接种乙型肝炎基因疫苗, 更好地预防乙型肝炎病毒感染.

徐祥梅, 毛水仙. 2009-2013年浙江省常山地区新生儿接种乙型肝炎疫苗的流行病学效果评价. 世界华人消化杂志 2014; 22(17): 2463-2466 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2463.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i17.2463

0 引言

新生儿接种乙型肝炎疫苗在临床中比较常见, 能够有效的预防乙型肝炎的发生, 对控制乙型肝炎具有重大意义[1,2]. 为了进一步的了解新生儿接种乙型肝炎与乙型肝炎病毒的感染之间关系, 本研究重点对我院新生儿接种乙型肝炎之后的乙型肝炎发病状况和乙型肝炎表面抗原携带状况进行调查分析, 进一步评价其流行病学效果, 具体调查如下.

1 材料和方法

1.1 材料 本次研究选取我院2009-01/2013-12接种乙型肝炎疫苗的新生儿为研究对象. 共调查1759例, 其中接种1550例, 男性904例, 女性646例.

1.2 方法

1.2.1 新生儿乙型肝炎疫苗接种收集: 新生儿乙型肝炎疫苗接种率主要是通过历年接种的报告进行分析, 而儿童乙型肝炎疫苗现场接种率主要是依据WHO推荐多阶段整群抽样法进行调查分析.

1.2.2 儿童乙型肝炎发病状况: 主要是依据历年传染病情况进行分析.

1.2.3 乙型肝炎血清学监测状况: 主要是采取多阶段随机抽样法进行采集其血清, 主要包括抗-HBs与抗-HBc以及HBsAg, 并且采取放射免疫法进行测定, 抗-HBs≥10.0 U/L为阳性.

1.2.4 乙型肝炎疫苗与免疫程序: 临床中新生儿主要是采取血源乙型肝炎疫苗接种, 经过筛查产妇HBsAg和HBeAg双阳性所生的新生儿, 按照年龄进行接种, 0和1月龄各接种一支乙型肝炎免疫球蛋白(≥100.0 U/mL), 而2、3和5月龄需要各接种一支乙型肝炎免疫球蛋白(≥20.0 U/mL). HBsAg单阳性产妇所生的新生儿, 按照0、1和6月龄各接种一支乙型肝炎免疫球蛋白(20.0、20.0、20.0 U/mL). 而HBsAg阴性产妇所生的新生儿, 按照0、1和6月龄接种一支乙型肝炎免疫球蛋白(30.0、10.0、10.0 U/mL). 儿童主要是在新生儿基础上加强免疫, 12岁时接种乙型肝炎基因疫苗(5.0 U/mL), 免疫程序为0、1、6 mo. 每次注射1支, 1 mo及6 mo时注射第2、3针. 而对于从未接种的儿童需要按照10.0、5.0、5.0 U/mL的方案进行接种[3].

统计学处理 此次研究的数据资料均采取SPSS19.0的统计学软件进行数据分析, 计数资料采取百分比(%)进行表示, 组间数据比较采取χ^2进行检验, P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 接种状况观察 通过对近5年接种状况的观察, 2009-2013年接种率逐渐的增加, 2013年接种率达到了97.4%(表1).

2.2 乙型肝炎发病状况观察 2009年乙型肝炎发病率为0.75%(2/268), 而2013年乙型肝炎发病率为0.23%(1/422), 2013年乙型肝炎发病率明显的较2009年乙型肝炎发病率下降, 差异有统计学意义(χ^2 = 5.152, P<0.05).

2.3 乙型肝炎病毒血清学监测结果 通过对1-12岁年龄段的儿童进行乙型肝炎病毒血清学监测分析, 主要分为≤4岁组, 5-8岁组, 9-12岁组, 共计652例. ≤4岁组未发现有HBsAg携带, 而5-8岁组和9-12岁组HBsAg携带率为0.77%(5/652), 1.69%(11/652). 而≤4岁组, 5-8岁组, 9-12岁组, 抗-HBc阳性率分别为2.45%(16/652)、7.67%(50/652)、17.48%(114/652). 9-12岁组抗-HBc阳性率和HBsAg携带率均明显的高于≤4岁组和5-8岁组, 差异有统计学意义(P<0.05).

2.4 与初期接种儿童HBsAg携带率比较 通过对2013年与2009年接种儿童HBsAg携带率比较,

■研发前沿
疫苗接种是临床中的一个重要方法, 对控制疾病的感染具有重要的意义. 而临床中乙型肝炎的疫苗接种已经在临床中具有较久的发展, 且对控制乙型肝炎病毒的感染具有重要的意义. 研究显示, 乙型肝炎接种应多数在新生儿, 从而提高整体效果.

■相关报道
临床研究显示, 乙型肝炎病毒能够通过母婴传播, 且年龄越小的人群其感染乙型肝炎病毒之后转化为携带者的几率会增加. 多数的学者提出, 加强对新生儿实施乙型肝炎疫苗接种能够有效地降低HBsAg携带率, 并且预防乙型肝炎的发生.

表 1 2009–2013年接种率观察

时间	调查(n)	接种(n)	接种率(%)
2009年	268	188	70.1
2010年	312	250	80.1
2011年	355	321	90.4
2012年	402	380	94.5
2013年	422	411	97.4

2009年接种儿童HBsAg携带率为2.66%(5/188), 2013年接种儿童HBsAg携带率为0.24%(1/411), 2009年接种儿童HBsAg携带率明显高于2013年接种儿童HBsAg携带率, 差异有统计学意义(χ^2 = 6.415, P<0.05).

3 讨论

乙型肝炎是我国中比较常见的传染性疾病之一, 在临床中具有较高的发病率, 严重的影响患者的身体健康, 临床中常常采取药物进行控制病情的发展, 提高患者的生活质量[4,5]. 但是, 乙型肝炎病毒能够通过母婴传播, 且年龄越小的人群其感染乙型肝炎病毒之后转化为携带者的几率会增加[6,7]. 临床中加强对新生儿实施乙型肝炎疫苗接种能够有效地降低HBsAg携带率, 并且预防乙型肝炎的发生[8-10]. 临床研究显示, 新生儿和3岁以下的幼儿在感染乙型肝炎病毒之后, 多数的患者逐渐的转变为慢性HBsAg或者乙型肝炎病毒携带者, 甚至有的逐渐发展为肝硬化和肝癌[11,12]. 因此, 在新生儿阶段加强乙型肝炎的接种工作很有必要, 对降低日后乙型肝炎病毒感染具有重要的意义. 同时, 进一步促进接种工作的更好开展.

经过此次的调查研究分析, 发现对新生儿实施乙型肝炎疫苗接种能够有效的降低HBsAg携带率, 对预防乙型肝炎发生具有重要的作用. 数据研究显示, 从2009-2013年乙型肝炎疫苗接种的人数逐渐的增加, 甚至达到97.4%. 可见人们对乙型肝炎的认识和重视, 从而提高新生儿乙型肝炎接种率[13]. 数据还显示, 2013年乙型肝炎发病率明显的较2009年乙型肝炎发病率下降, 且数据的比较差异有统计学意义(P<0.05). 主要是由于接种乙型肝炎疫苗能够有效的降低HBsAg携带, 从而更加地降低乙型肝炎的发生. 通过对新生儿病毒血清学的监测, 9-12岁组抗-HBc阳性率和HBsAg携带率均明显的高于≤4岁组和5-8岁组, 差异有统计学意义(P<0.05). 进一步分析, 乙型肝炎疫苗在预防的乙型肝炎发生的过程中具有重要的作用, 尤其在降低接种儿童HBsAg携带方面具有明显的优势[14,15]. 此外, 经过调查的研究分析, 对于新生儿实施乙型肝炎疫苗接种的过程中, 应合理的掌握接种方法和种类, 从而更好地起到预防的作用. 通过对本次的调查分析, 新生儿早期主要是接种乙型肝炎免疫球蛋白, 在其儿童期主要是接种乙型肝炎基因疫苗, 在接种过程中应掌握其接种的方法, 预防乙型肝炎病毒感染.

因此, 新生儿接种乙型肝炎疫苗能够有效的预防乙型肝炎病毒的感染.

■**创新盘点**

本次研究重点评估临床中新生儿接种乙型肝炎疫苗的流行病学效果, 通过调查的方式分析新生儿接种乙型肝炎疫苗的情况. 同时, 对后期乙型肝炎病毒感染状况进行分析, 了解新生儿接种乙型肝炎疫苗与预后的相关性, 从而阐述新生儿接种乙型肝炎疫苗的重要性.

■**应用要点**

临床中新生儿接种乙型肝炎疫苗能够有效的预防乙型肝炎病毒的感染, 并且阐述新生儿接种乙型肝炎疫苗的重要性. 随着临床中疫苗的不断发展, 一些新型的疫苗逐渐的得到临床中应用, 并且能够提高临床应用效果. 因此, 在未来的发展中应引入一些新型的疫苗, 提高应用价值.

4 参考文献

1 封秀红, 刘倩, 李光伟, 蒋红丽, 郭勇豪, 郭万申. 2010年河南省5岁以下儿童乙型肝炎血清流行病学分析. 河南预防医学杂志 2012; 23: 448-449
2 刘灿磊. 玉环县儿童乙肝疫苗加强免疫效果评价. 杭州: 浙江大学, 2011
3 薛小妩, 蔡立强. 乙型肝炎疫苗免疫接种率及影响因素调查. 临床合理用药杂志 2014; 7: 102-103
4 芦珂, 卢庆乐, 田玫玲, 吴殿水, 蔡德建, 韩其政. 新生儿乙型肝炎疫苗免疫接种效果分析. 中华医院感染学杂志 2013; 23: 4193-4197
5 沈立萍, 龚晓红, 王锋, 张爽, 崔富强, 王富珍, 尹文娇, 张勇, 梁晓峰. 乙型肝炎疫苗长期免疫效果评价及免疫持久性研究. 中华微生物学和免疫学杂志 2013; 33: 6-10
6 杨玉洁, 王雷. 新生儿乙肝疫苗的研究与发展. 中国医药指南 2013; 11: 445-446
7 Chaves SS, Daniels D, Cooper BW, Malo-Schlegel S, Macarthur S, Robbins KC, Kobetitsch JF, McDaniel A, D'Avella JF, Alter MJ. Immunogenicity of hepatitis B vaccine among hemodialysis patients: effect of revaccination of non-responders and duration of protection. *Vaccine* 2011; 29: 9618-9623 [PMID: 22044739 DOI: 10.1016/j.vaccine.2011.10.057]
8 邓顺连. 新生儿乙型肝炎疫苗接种后长期免疫效果. 中国医药指南 2013; 7: 139-140
9 王平贵, 高丽, 安婧, 王旭霞, 张宁静, 唐宇, 邓琳, 李慧. 甘肃省新生儿乙肝疫苗首针及时接种率试点项目评价. 中国公共卫生 2013; 29: 1199-1202
10 Payne BA, Medhi M, Ijaz S, Valappil M, Savage EJ, Gill ON, Tedder R, Schwab U. Hepatitis E virus seroprevalence among men who have sex with men, United Kingdom. *Emerg Infect Dis* 2013; 19: 333-335 [PMID: 23460994 DOI: 10.3201/eid1902.121174]
11 罗宏伟, 周玉蕾, 孟光辉. 乙型肝炎疫苗应用20年乙型肝炎病毒感染状况调查分析. 中国儿童保健杂志 2013; 21: 431-433
12 Magnarelli LA, Williams SC, Norris SJ, Fikrig E. Serum antibodies to Borrelia burgdorferi, Anaplasma phagocytophilum, and Babesia microti in recaptured white-footed mice. *J Wildl Dis* 2013; 49: 294-302 [PMID: 23568904 DOI: 10.7589/2012-06-172]
13 何捷. 探讨乙型肝炎疫苗预防接种的效果分析. 世界最新医学信息文摘(电子版) 2013; 7: 418-418
14 Chatfield J, Milleson M, Stoddard R, Bui DM, Galloway R. Serosurvey of leptospirosis in feral hogs (Sus scrofa) in Florida. *J Zoo Wildl Med* 2013; 44: 404-407

■同行评价
本次研究采取的是调查方法进行分析, 整体性强; 同时, 也是来自基层医院的一篇总结性文章.

[PMID: 23805559]
15 刘幼平, 黄贵彪, 黄仕灿, 赵洪, 李翠芳, 刘叶杏. 广西梧州市1999-2009年新生儿乙型肝炎免疫效果监测分析. 广西医学 2013; 7: 1078-1079

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

• 消息 •

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

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

世界华人消化杂志 2014年6月18日; 22(17): 2467-2472
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

胆囊结石患者结石成分及微生物群落结构的多样性

黄 洁, 丁绍晖, 孙 敏, 许丁伟, 张 捷

黄洁, 孙敏, 许丁伟, 张捷, 昆明医科大学第二附属医院肝胆胰外科三病区 云南省昆明市 650101
丁绍晖, 昆明市西山区环境保护监测站 云南省昆明市 650011
黄洁, 主治医师, 主要从事肝胆胰外科的基础与临床研究.
云南省应用基础研究计划重点基金资助项目, No. 2006C008Z
作者贡献分布: 黄洁与张捷对此文所作贡献均等; 此课题由张捷设计; 研究过程由黄洁、孙敏、许丁伟及张捷操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由丁绍晖提供; 数据分析由黄洁、丁绍晖及张捷完成; 本论文写作由黄洁、孙敏及张捷完成.
通讯作者: 张捷, 教授, 博士生导师, 650101, 云南省昆明市滇缅大道360号, 昆明医科大学第二附属医院肝胆胰外科三病区.
huangjietdg@126.com
电话: 0871-65351281
收稿日期: 2014-02-25 修回日期: 2014-04-18
接受日期: 2014-04-28 在线出版日期: 2014-06-18

Gallstone composition and microbial community structure in gallstones

Jie Huang, Shao-Hui Ding, Min Sun, Ding-Wei Xu, Jie Zhang

Jie Huang, Min Sun, Ding-Wei Xu, Jie Zhang, the Third Department of Hepato-Biliary-Pancreatic Surgery, the Second Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650101, Yunnan Province, China
Shao-Hui Ding, the Environmental Monitoring Station of Xishan, Kunming 650011, Yunnan Province, China
Supported by: Key Applied Basic Research Program of Yunnan Province, No. 2006C008Z
Correspondence to: Jie Zhang, Professor, the Third Department of Hepato-Biliary-Pancreatic Surgery, the Second Affiliated Hospital of Kunming Medical University, 360 Dianmian Dadao, Kunming 650101, Yunnan Province, China. huangjietdg@126.com
Received: 2014-02-25 Revised: 2014-04-18
Accepted: 2014-04-28 Published online: 2014-06-18

Abstract

AIM: To analyze the gallstone composition and microbial community structure in gallstones.

METHODS: The composition of gallstones and microbial community structure in gallstones from patients with cholecystolithiasis were investigated by terminal restriction fragment length polymorphism and clone library approaches. Small subunit rRNA gene (16S rDNA) was analyzed in 62 patients with cholecystolithiasis and negative bile culture.

RESULTS: According to the percentage of cholesterol, the 62 patients with cholecystolithiasis were divided into three groups: 11 in the cholesterol group (cholesterol content ≥ 90%), 26 in the pigment group (cholesterol content < 70%) and 25 in the mixed group (cholesterol content between 70% and 89%). The positive rates of 16S rDNA on stone surface in the cholesterol group, pigment group and mixed group were 18.1% (2/11), 42.3% (11/26) and 36.0% (9/25), respectively. The positive rates of 16S rDNA in stone core in the cholesterol group, pigment group and mixed group were 24.3% (3/11), 53.8% (14/26) and 64.0% (16/25), respectively.

CONCLUSION: The structure of the bacterial community is different in gallstones with different cholesterol contents.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Cholesterol gallstone; 16S rDNA; Enterobacteriaceae; Mircrococcaceae; *Salmonella typhi*

Huang J, Ding SH, Sun M, Xu DW, Zhang J. Gallstone composition and microbial community structure in gallstones. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(17): 2467-2472 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2467.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i17.2467

摘要

目的: 探讨不同胆固醇含量结石的微生物群落差异.

方法: 应用末端标记限制性片段长度多态性(terminal restriction fragment length polymorphism, T-RFLP)和克隆文库分析, 以微生物群落16S rRNA基因(16S rDNA)为目标, 对62例细菌常规培养为阴性的胆囊结石患者中的结石成分及微生物群落结构进行了解析和比较.

■背景资料
自建立Small三角学说以来, 医学界始终认为胆囊结石的发病机制以非生理性胆固醇过饱和、胆汁促抗成核失调以及胆囊局部因素为基础, 但随着近年来大量的研究表明, 在胆囊结石患者的胆汁和结石中发现并确定幽门螺杆菌DNA的存在, 细菌参与结石形成的研究逐步开展起来. 研究的关键是首先揭示胆囊结石中细菌的成分和多样性以及它们确切的起源. 目前的研究受限于研究的条件和培养的灵敏度, 使培养得到的微生物在种类、数量和功能上都无法反映自然状态下微生物群落的真实情况. 所以, 很有必要研究不依赖微生物培养来进行环境微生物群落分析的方法.

■同行评议者
陈海龙, 教授, 大连医科大学附属第一医院院办

■研发前沿
目前, 在国外已有学者利用T-RFLP方法对人体阴道的微生物群落进行了分析, 但是, 尚未见利用分子微生物生态学方法对胆结石患者胆囊微生物群落进行分析的报道. 在国内, 对于分子微生物生态学的研究刚刚起步.

结果: (1)根据结石所含胆固醇的不同, 分为胆固醇结石组(胆固醇含量≥90%)11例、胆色素结石组(胆固醇含量<70%)26例和混合性结石组(胆固醇含量70%-89%)25例; (2)胆固醇组结石表面细菌16S rDNA阳性率为18.1%(2/11), 结石核心细菌16S rDNA阳性率为24.3%(3/11). 胆色素组结石表面细菌16S rDNA阳性率为42.3%(11/26), 结石核心细菌16S rDNA阳性率为53.8%(14/26). 混合性结石组结石表面细菌16S rDNA阳性率为36.0%(9/25), 结石核心细菌16S rDNA阳性率为64.0%(16/25).

结论: 胆固醇含量不同的结石中优势菌有所差别, 但以肠杆菌科和微球菌科为主. 其中肠杆菌科(*Enterobacteriaceae*)的沙门氏菌属(*Salmonella*)伤寒沙门氏菌可能在结石形成过程中有重要作用.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 16S rDNA; **胆囊结石; 肠杆菌科; 微球菌科; 伤寒沙门氏菌**

核心提示: 本研究中在常规细菌培养阴性的胆囊结石患者标本中确有较高的细菌16S rDNA检出率, 随着结石中胆固醇含量不同, 细菌微生物群落16S rDNA基因的检出率也不同, 这些微生物群落在较高的分类学水平(例如科)的群落多样性并不很高, 而在属水平表现出了不同的多样性以肠杆菌科和微球菌科为主.

黄洁, 丁绍晖, 孙敏, 许丁伟, 张捷. 胆囊结石患者结石成分及微生物群落结构的多样性. 世界华人消化杂志 2014; 22(17): 2467-2472 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2467.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i17.2467

0 引言

自建立Small三角学说以来, 医学界始终认为胆囊结石的发病机制以非生理性胆固醇过饱和、胆汁促抗成核失调以及胆囊局部因素为基础, 但随着近年来大量的研究[1-3]表明, 在胆囊结石患者的胆汁和结石中发现并确定幽门螺杆菌DNA的存在, 细菌参与结石形成的研究逐步开展起来. 研究的关键是首先揭示胆囊结石中细菌的成分和多样性以及他们确切的起源. 目前的研究受限于研究的条件[4]和培养的灵敏度[5,6], 使培养得到的微生物在种类、数量和功能上都无法反映自然状态下微生物群落的真实情况, 所以, 很有必要研究不依赖微生物培养来进行环境微生物群落分析的方法. 本研究为探讨胆囊结石成分与细菌微生物群落之间的关系, 采用T-RFLP技术对胆囊结石微生物群落16S rDNA基因序列进行分析研究.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2012-09/2013-03在我科接受择期胆囊切除术的胆囊结石患者, 术前3 mo内无急性胆道感染症状, HBsAg阴性. 完成腹腔镜胆囊切除术, 无菌注射器穿刺取胆囊内胆汁3-5 mL置于无菌试管内, 同时收集胆囊结石, 记录其大小、数目, 用生理盐水冲洗干净. 标本放在无菌容器内-20 ℃保存. 应用红外光谱法分析胆石化学成分(溴化钾压片法), 并对其分类. Ⅰ纯胆固醇结石(cholesterol stone, CS), 胆固醇含量≥90%; Ⅱ胆色素结石: 胆固醇含量<70%; Ⅲ混合性结石: 胆固醇含量70%-89%. 该步骤委托云南省昆明市西山区环境监测站完成. 胆汁细菌常规培养和厌氧培养阳性的病例被剔除.

1.2 方法

1.2.1 结石微生物群落DNA提取: 从每位患者取出的结石(直径≥1.0 cm), 收集核心部分(核心部分距结石表面≥0.5 cm)和结石表面, 37 ℃烘干至恒重后粉碎取150 mg结石粉末, 加入1%SDS 700 μL在5 mL聚丙烯试管内, 室温培养过夜. 依据标准方法[7]提取, -20 ℃保存.

1.2.2 结石微生物16S rDNA基因扩增: 对样品DNA进行适当稀释之后, 利用TaKaRa公司的微生物16S rDNA的PCR试剂盒进行扩增. 微生物的扩增引物采用8F(5'-AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG-3')和1492R(5'-GGT TAC CTT GTT ACG ACT T-3'), 在引物8 F的5'端标记荧光物质(6-FAM). 用于构建克隆文库的PCR 则采用不带荧光标记的引物. PCR产物利用ChargeSwitch纯化试剂盒(Invitrogen, USA)纯化.

1.2.3 克隆文库的构建、测序和系统发育分析: 利用非荧光标记的引物对微生物的16S rDNA片段进行PCR扩增, 采用pGEM-T easy载体(Promega, USA)和大肠杆菌(*Escherichia coli*, *E. coli*) DH5α菌株建立微生物的16S rDNA文库. 利用PCR-T-RFLP分析对微生物克隆文库中随机挑选的46个阳性克隆进行分型筛选, 挑选代表克隆进行测序(北方诺塞基因公司), 获得微生物的16S rDNA部分序列. 对这些序列利用Blast分析与GenBank中核酸数据进行序列比对(http://



图 1 结石微生物16S rDNA电泳图. 1, 23: DNA marker, 由上至下为2000、1500、1000、600、300和150 bp; 4、8、9、15、16、22: 阳性对照. 目的条带大小约380 bp.

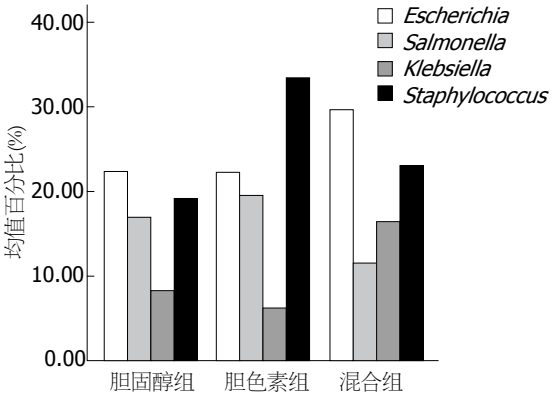


图 2 三组结石优势菌属的比较.

www.ncbi.nlm.nih.gov/blast).

统计学处理 应用SPSS17.0软件包分析, 统计学方法采用χ^2和Fisher的精确检验. P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 *结石胆固醇含量* 胆固醇含量≥90%者11例, 为胆固醇结石组. 胆固醇含量<70%者26例, 为胆色素结石组. 胆固醇含量70%-89%者25例, 为混合性结石组.

2.2 *三组结石表面及核心细菌16S rDNA检测* PCR扩增结石微生物16S rDNA的条带灰度均匀一致, 扩增片段长度相等(图1). 胆固醇组结石表面细菌16S rDNA阳性率为18.1%(2/11), 结石核心细菌16S rDNA阳性率为24.3%(3/11); 胆色素组结石表面细菌16S rDNA阳性率为42.3%(11/26), 结石核心细菌16S rDNA阳性率为53.8%(14/26); 混合性结石组结石表面细菌16S rDNA阳性率为36.0%(9/25), 结石核心细菌16S rDNA阳性率为64.0%(16/25)(表1). 胆固醇组结石表面与核心细菌16S rDNA阳性率比较(18.1% *vs* 24.3%, P = 0.500)无统计学差异; 胆色素组结石表面与核心细菌16S rDNA阳性率比较(42.3% *vs* 53.8%, P = 0.405)无统计学差异; 混合性组结石表面与核心细菌16S rDNA阳性率比较(36.0% *vs* 64.0%, P = 0.048)差异有统计学意义; 胆固醇组结石表面与胆色素组结石表面细菌16S rDNA阳性率比较(18.1% *vs* 42.3%, P = 0.152)无统计学差异; 胆固醇组结石表面与混合性组结石表面细菌16S rDNA阳性率比较(18.1% *vs* 36.0%, P = 0.254)无统计学差异; 胆色素组结石表面细菌与混合性组结石表面细菌16S rDNA阳性率比较(42.3% *vs* 36.0%, P = 0.645)无统计学差异; 胆固醇组结石核心与胆色素组结石核心细菌16S rDNA阳性率比较(24.3% *vs* 53.8%, P = 0.138)无统计学差异; 胆固醇组结石核心与混合性组结石核心细菌16S rDNA阳性率比较(24.3% *vs* 64.0%, P = 0.042)差异有统计学意义; 胆色素组结石核心细菌与混合性组结石核心细菌16S rDNA阳性率比较(53.8% *vs* 64.0%, P = 0.461)无统计学差异.

表 1 3组结石表面及核心细菌16S rDNA检测结果 (%)

分组	结石表面细菌16S rDNA检出率	结石核心细菌16S rDNA检出率
胆固醇组	18.1	24.3
胆色素组	42.3	53.8
混合性结石组	36.0	64.0

2.3 *三组结石微生物克隆测序分析* 利用PCR-T-RFLP分析对微生物克隆文库中随机挑选的的27个阳性克隆进行分型筛选, 挑选代表克隆进行测序(北方诺塞基因公司), 获得微生物的16S rDNA部分序列. 对这些序列利用Blast分析与GenBank中核酸数据进行序列比对. 测序结果表明胆固醇结石中细菌主要为*Enterobacteriaceae*科和*Mircrococcaccas*科的微生物, 分布在*Entero-*

■创新盘点
本论文属于微生态学、分子生物学技术和医学的新型交叉学科. 以分子微生物生态学的原理和手段分析人体胆囊结石微生物群落, 采用T-RFLP技术进行结石形成的细菌学研究, 与传统的16S rRNA基因克隆文库构建和Sanger测序法相结合的方法相比, 通量增加2-4个数量级, 成本降低约50-100倍.

■应用要点
本研究将首次较为全面地探明胆囊结石的微生物群落特征为更深刻地揭示胆结石的病因, 研发具有自主知识产权的防治胆囊炎、胆囊结石的微生物制剂, 制备出具有自主知识产权可快速检测胆囊微生物的一系列产品奠定重要的研究基础.

*bacteriaceae*的*Escherichia*属、*Salmonella*属和*Klebsiella*属, *Mircrococcaccs*科的*Staphylococcus*属. 胆色素结石中细菌分布较胆固醇结石更为广泛, 主要为*Enterobacteriaceae*科、*Mircrococcaccas*科、*Streptococcuceae*科、*Peptococcaceae*科和*Propinibactericeae*科的微生物, 分布在*Enterobacteriaceae*的*Proteus*属、*Klebsiella*属、*Escherichia*属和*Salmonella*属; *Peptococcaceae*的*Peptococcus*属和*Peptostreptoroccus*属; *Streptococcuceae*的*Streptococcus*属、*Neisseriaceae*的*Acinetobacter*属、*Mircrococcaccas*的*Staphylococcus*属和*Propinibactericeae*的*Propinibacterium*属. 混合性结石中细菌分布与胆色素结石中细菌分布相类似, 主要为*Enterobacteriaceae*、*Mircrococcaccas*、*Streptococcuceae*、*Spirillaccac*、*Peptococcaceae*、*Corynebacterium*和*Propinibactericeae*的微生物. 这些微生物群落在较高的分类学水平(例如科)的群落多样性并不很高, 而在属水平表现出了不同的多样性如图2. 特别指出本研究在三组胆固醇含量不同的结石中均检测到肠杆菌科(*Enterobacteriaceae*)的沙门氏菌属(*Salmonella*).

3 讨论

16S rDNA是编码原核生物核糖体小亚基rRNA(16S rDNA)的基因, 长度约为1500 bp, 是细菌分类学研究中最常用、最有用的“分子钟”, 其序列包含10个可变区(variable region)和与之相间的11个恒定区(constant region), 可变区因细菌而异, 且变异程度与细菌的系统发育密切相关. 因此, 16S rDNA可以作为细菌菌落结构分析最常用的系统进化标记分子[8]. 利用16S rDNA可变区与恒定区的特性, 可以进行不同种属细菌的分类和鉴定[8,9]. 本研究中在常规细菌培养阴性的胆囊结石患者标本中确有较高的细菌16S rDNA检出率, 特别是在纯胆固醇结石、胆色素结石及混合性结石中均可检测到丰富的细菌16S rDNA, 表明无论特异性还是灵敏性, 16S rDNA PCR扩增技术均优于细菌培养, 并且其耗时仅为几小时.

本研究表明随着结石中胆固醇含量不同, 细菌微生物群落16S rDNA基因的检出率也不同, 纯胆固醇组细菌16S rDNA阳性率为30.0%(3/10), 胆色素组细菌16S rDNA阳性率为40.0%(4/10), 混合性结石组细菌16S rDNA阳性率为70.0%(7/10). 以利用T-RFLP技术对胆囊结石患者的结石细菌微生物群落16S rDNA基因序列进行分析表明, 胆囊结石的细菌群落主要为肠杆菌科(*Enterobacteriaceae*)、微球菌科(*Mircrococcaccas*)、螺菌科(*Spirillaccac*)、链球菌科(*Streptococcus*)、棒状菌群(*Corynebacterium*)、消化球菌科(*Peptococcaceae*)和丙酸杆菌科(*Propinibactericeae*)的微生物, 这些微生物群落在较高的分类学水平(例如科)的群落多样性并不很高, 而在属水平表现出了不同的多样性. 各组的优势菌群也有所不同, 但以肠杆菌科(*Enterobacteriaceae*)和微球菌科(*Mircrococcaceae*)为主. 这与已知的肠道菌群有较高的相似性, 由此推断定植于肠道的正常菌群或条件致病菌细菌在某种因素的影响下可以突破机体的防御系统通过Oddi氏括约肌进入胆道到达胆囊定植, 通过细菌本身和/或其代谢产物参与胆囊结石的形成. 细菌群落随胆固醇变化有较为显著的改变, 胆色素结石组和混合性结石组的细菌群落比纯胆固醇结石组中的细菌群落复杂, 并且胆色素结石组和混合性结石组的优势菌群与纯胆固醇结石组相比也发生了明显的变化, 胆色素结石组和混合性结石组的优势菌群与链球菌科和消化球菌科的细菌同源性最高, 而纯胆固醇结石组的优势菌群则是肠杆菌科的细菌同源性最高, 但是胆色素结石组和混合性结石组的细菌群落变化却并不显著, 能否由此推断由于结石胆固醇含量的不同而导致细菌群落发生多样性的改变这一结论有待进一步证实, 而目前唯一能够肯定的是由于胆囊对胆汁的浓缩功能, 胆汁中含有一些物质, 如胆汁酸盐、胆固醇和微量元素, 可作为电子受体或营养物质支持细菌生长代谢, 并使结石细菌群落表现出多样性.

特别指出本研究在三组胆固醇含量不同的结石中均检测到肠杆菌科(*Enterobacteriaceae*)的沙门氏菌属(*Salmonella*). 目前在体外研究发现[10-12], *Salmonella*能够形成生物被膜, 抵御胆盐的侵袭, 通过生物被膜与其他定植于胆囊的细菌相连接, 共同构成一个相对稳定的细菌群落, 将其生物被膜不断扩展以保护整个群落不受外界物质侵袭, 而胆汁恰恰是生物被膜形成的最佳刺激信号. 同时发现, *Salmonella*必须首先要在结石表面定植才能形成被膜, 而且成膜时间

平均为10-14 d, 而其他能够成膜的细菌平均成膜时间为几秒钟至几小时不等. 本研究在三组实验组中均发现该细菌的16S rDNA片段绝非偶然, 但在体内*Salmonella*能否也能形成生物被膜有待证实, 并且胆囊内环境极为复杂, 胆囊的排空功能在体外难以模拟, 对此结论应审慎.

总之, 对于胆囊结石的形成, 我们可以提出一个综合作用假说. 首先, 必须存在胆固醇的高分泌和胆汁胆固醇过饱和状态. 当机体受到感染时, 细菌可通过胆道逆行扩散或通过门静脉系统侵入胆囊, 若其浓度不足以引起胆囊炎症时, 细菌便以低浓度的形式隐伏下来, 一方面产生促成核的代谢产物, 同其他促成核因子一起导致促/抗成核因子失衡[13-15], 并形成一个色素核心, 吸附沉积的钙盐和胆固醇; 另一方面, 细菌感染破坏胆囊功能, 造成胆囊动力减低, 粘液分泌增加, 促进成石, 而胆囊功能受损又利于细菌的侵袭, 上述几方面综合作用的结果导致形成胆囊结石.

本研究表明三组中混合性组的结石表面与结石核心细菌的16S rDNA检出率有统计学差异, 而胆固醇组、胆色素组结石表面与结石核心细菌的16S rDNA检出率无统计学意义, 胆固醇组与混合性结石组的结石核心细菌的16S rDNA检出率有统计学差异, 根据以上结果能否说明由于混合性结石组胆固醇含量为70%-89%, 在这个范围内细菌容易以低浓度的形式隐伏下来形成结石核心, 在结石形成中不断地参与结石的增大尚未肯定, 但能够说明细菌在混合性结石的形成中有重大的意义. 然而本研究由于种种原因, 并未涉及到对细菌代谢产物、胆囊结石患者胆汁、胆囊黏膜以及整个胆道系统细菌群落的同步研究. 推测对可疑致病菌的筛选、研究其生物学行为以及建立细菌的胆结石模型是今后的研究方向. 通过对胆道系统细菌的进一步研究, 深层次地探讨细菌在胆结石的发生、发展所起的作用, 有可能为胆石病的预防和治疗提供新的思路和方法.

4 参考文献

1 Toller IM, Neelsen KJ, Steger M, Hartung ML, Hottiger MO, Stucki M, Kalali B, Gerhard M, Sartori AA, Lopes M, Müller A. Carcinogenic bacterial pathogen Helicobacter pylori triggers DNA double-strand breaks and a DNA damage response in its host cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011; 108: 14944-14949 [PMID: 21896770 DOI: 10.1073/pnas.1100959108]

2 Salama NR, Hartung ML, Müller A. Life in the human stomach: persistence strategies of the bacterial pathogen Helicobacter pylori. *Nat Rev Microbiol* 2013; 11: 385-399 [PMID: 23652324 DOI: 10.1038/nrmicro3016]

3 Polk DB, Peek RM. Helicobacter pylori: gastric cancer and beyond. *Nat Rev Cancer* 2010; 10: 403-414 [PMID: 20495574 DOI: 10.1038/nrc2857]

4 Masella AP, Bartram AK, Truszkowski JM, Brown DG, Neufeld JD. PANDAseq: paired-end assembler for illumina sequences. *BMC Bioinformatics* 2012; 13: 31 [PMID: 22333067 DOI: 10.1128/AEM.02772-10]

5 Cariati A, Cetta F. Re: Kawai et al.--Bacteria are not important in the formation of pure cholesterol stones. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 2921-2922; author reply 2921-2922; [PMID: 12425573]

6 Denaro R, D'Auria G, Di Marco G, Genovese M, Troussellier M, Yakimov MM, Giuliano L. Assessing terminal restriction fragment length polymorphism suitability for the description of bacterial community structure and dynamics in hydrocarbon-polluted marine environments. *Environ Microbiol* 2005; 7: 78-87 [PMID: 15643938]

7 McGuinness LM, Salganik M, Vega L, Pickering KD, Kerkhof LJ. Replicability of bacterial communities in denitrifying bioreactors as measured by PCR/T-RFLP analysis. *Environ Sci Technol* 2006; 40: 509-515 [PMID: 16468396]

8 Hayashi H, Takahashi R, Nishi T, Sakamoto M, Benno Y. Molecular analysis of jejunal, ileal, caecal and rectosigmoidal human colonic microbiota using 16SrRNA gene libraries and terminal restriction fragment length polymorphism. *J Med Microbiol* 2005; 54(Pt 11): 1093-1101 [PMID: 16192442 DOI : 10.1099/jmm.0.45935-0]

9 Thies FL, König W, König B. Rapid characterization of the normal and disturbed vaginal microbiota by application of 16S rRNA gene terminal RFLP fingerprinting. *J Med Microbiol* 2007; 56: 755-761 [PMID: 17510259 DOI: 10.1099/jmm.0.46562-0]

10 Prouty AM, Schwesinger WH, Gunn JS. Biofilm formation and interaction with the surfaces of gallstones by Salmonella spp. *Infect Immun* 2002; 70: 2640-2649 [PMID: 11953406]

11 Crawford RW, Gibson DL, Kay WW, Gunn JS. Identification of a bile-induced exopolysaccharide required for Salmonella biofilm formation on gallstone surfaces. *Infect Immun* 2008; 76: 5341-5349 [PMID: 18794278 DOI: 10.1128/IAI.00786-08]

12 Nordentoft S, Mølbak L, Bjerrum L, De Vylder J, Van Immerseel F, Pedersen K. The influence of the cage system and colonisation of Salmonella Enteritidis on the microbial gut flora of laying hens studied by T-RFLP and 454 pyrosequencing. *BMC Microbiol* 2011; 11: 187 [PMID: 21859465 DOI: 10.1128/1471-2180-11-187]

13 Safaeian M, Gao YT, Sakoda LC, Quraishi SM, Rashid A, Wang BS, Chen J, Pruckler J, Mintz E, Hsing AW. Chronic typhoid infection and the risk of biliary tract cancer and stones in Shanghai, China. *Infect Agent Cancer* 2011; 6: 6 [PMID: 21535882 DOI: 10.1186/1750-9378-6-6]

14 Di Ciaula A, Wang DQ, Bonfrate L, Portincasa P. Current views on genetics and epigenetics of cholesterol gallstone disease. *Cholesterol* 2013; 2013: 298421 [PMID: 23691293 DOI: 10.1155/2013/298421]

■同行评价

本研究采用T-RFLP技术对胆囊结石微生物群落16S rDNA基因序列进行分析来探讨胆囊结石成分与细菌微生物群落之间的关系, 探讨细菌在胆结石的发生发展所起的作用, 对胆结石形成机制的研究具有较好的科学意义和实际应用价值.

15 Lee JW, Lee DH, Lee JI, Jeong S, Kwon KS, Kim HG, Shin YW, Kim YS, Choi MS, Song SY. Identification of Helicobacter pylori in Gallstone, Bile, and Other Hepatobiliary Tissues of Patients with Cholecystitis. *Gut Liver* 2010; 4: 60-67 [PMID: 20479914 DOI: 10.5009/gnl.2010.4.1.60]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费

本刊讯 为了方便作者来稿, 保证稿件尽快公平、公正的处理, 《世界华人消化杂志》编辑部研究决定, 从2011年开始对所有来稿不再收取审稿费. 审稿周期及发表周期不变. (《世界华人消化杂志》编辑部)

世界华人消化杂志 2014年6月18日; 22(17): 2473-2476
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

常规胆道探查术与纤维胆道镜治疗胆道结石的临床效果比较

孙冰强, 沈继荣

孙冰强, 湖州德清县第三人民医院普通外科 浙江省湖州市 313200
沈继荣, 湖州长兴国泰医院 浙江省湖州市 313100
孙冰强, 主治医师, 主要从事普通外科的工作.
作者贡献分布: 本研究由孙冰强与沈继荣共同完成; 孙冰强撰写文章.
通讯作者: 沈继荣, 副主任医师, 313100, 浙江省湖州市长兴县迎宾大道498号, 湖州长兴国泰医院. 583039381@qq.com
收稿日期: 2014-05-06 修回日期: 2014-06-02
接受日期: 2014-06-03 在线出版日期: 2014-06-18

Clinical effect of conventional choledochotomy *vs* fiber choledochoscopy in treatment of biliary calculi

Bing-Qiang Sun, Ji-Rong Shen

Bing-Qiang Sun, Department of General Surgery, the Third People's Hospital of Huzhou Deqing County, Huzhou 313200, Zhejiang Province, China
Ji-Rong Shen, Changxing Guotai Hospital, Huzhou 313100, Zhejiang Province, China
Correspondence to: Ji-Rong Shen, Associate Chief Physician, Changxing Guotai Hospital, 498 Yingbin Road, Changxing County, Huzhou 313100, Zhejiang Province, China. 583039381@qq.com
Received: 2014-05-06 Revised: 2014-06-02
Accepted: 2014-06-03 Published online: 2014-06-18

Abstract

AIM: To compare the clinical efficacy and complications of conventional choledochotomy *vs* fiber choledochoscopy in the treatment of biliary calculi.

METHODS: Ninety patients with biliary calculi treated at our hospital from January 2008 to June 2013 were included in this study, of whom 40 received conventional choledochotomy (control group) and 50 received fiber choledochoscopy (observation group). The clinical efficacy and postoperative complications were compared between the two groups.

RESULTS: The surgical procedures were successful in all patients of the two groups. The amount of bleeding, anal exhaust time and hospital stay time were significantly lower in the observation group than in the control group (123.56 mL ± 9.45 mL *vs* 210.14 mL ± 10.26 mL, 29.63 h ± 2.35 h *vs* 46.20 h ± 2.18 h, 9.41 d ± 1.17 d *vs* 13.93 d ± 1.64 d, $P < 0.05$ for all). The rates of residual stones and recurrence were also significantly lower in the observation group than in the control group (2.00% *vs* 17.50%, 2.00% *vs* 15.00%, $P < 0.05$ for both).

CONCLUSION: Fiber choledochoscopy has advantages over conventional choledochotomy in treating biliary calculi in terms of lower bleeding, postoperative exhaust time, hospitalization time as well as reduced rates of residual stones and recurrence.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Conventional choledochotomy; Fiber choledochoscopy; Biliary calculi

Sun BQ, Shen JR. Clinical effect of conventional choledochotomy *vs* fiber choledochoscopy in treatment of biliary calculi. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(17): 2473-2476 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2473.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i17.2473

摘要

目的: 探讨常规胆道探查术与纤维胆道镜治疗胆道结石的临床治疗效果, 为临床提供参考依据.

方法: 选择2008-01/2013-06我院收治的胆道结石患者90例, 其中40例患者接受常规胆道探查术, 为对照组; 50例应用纤维胆道镜, 为观察组. 观察两组患者手术基本情况及术后并发症.

结果: 两组患者手术均获成功, 观察组出血量、肛门排气时间和住院时间分别为123.56 mL±9.45 mL、29.63 h±2.35 h和9.41 d±1.17 d, 均低于对照组210.14 mL±10.26 mL、46.20

■背景资料
胆道结石是胆道系统中最常见的疾病, 胆道探查术是诊断和治疗肝内外胆道结石的常规手术, 但术后胆管残石和再手术率较高. 纤维胆道镜是随着纤维光学的发展而出现的一种诊断胆道疾病的新器械, 可在直视下观察胆管、肝管、处理病变, 对胆道疾病进行诊断, 并可了解病变的部位及性质, 是否有残余结石等, 并在降低手术残余结石发生率和术后处理残余结石方面发挥了很大作用.

■同行评议者
王刚, 副研究员, 哈尔滨医科大学附属第一医院胰胆外科(普外二科)

■研发前沿
胆管术后残余结石是胆道手术较常见的并发症，纤维胆道镜的出现对胆道结石的诊治开辟了一条新的途径，特别是为治疗胆道手术后残余结石向前迈进了一大步，使患者避免了再次手术带来的痛苦及危险性.

h±2.18 h和13.93 d±1.64d, 差异具有显著性(*P*<0.05); 观察组残余结石率和结石复发率为2.00%(1/50)和2.00%(1/50), 均低于对照组17.50%(7/40)和15.00%(6/50), 两组差异具有统计学意义(*P*<0.05).

结论: 纤维胆道镜治疗胆道结石术中出血少、术后排气时间早、住院时间短等优点, 术后胆管残石和复发率较低, 疗效可靠.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 常规胆道探查术; 纤维胆道镜; 胆道结石

核心提示: 本次调查结果显示观察组出血量、肛门排气时间和住院时间, 且观察组残余结石率和结石复发均低于对照组, 差异具有显著性(*P*<0.05). 提示传统的胆道探查术容易引起胆管、胆道损伤、出血等并发症, 术后残石率高. 纤维胆道镜的应用可明显降低术后残石率和再手术率.

孙冰强, 沈继荣. 常规胆道探查术与纤维胆道镜治疗胆道结石的临床效果比较. 世界华人消化杂志 2014; 22(17): 2473-2476
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2473.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i17.2473

0 引言

胆道结石是胆道系统中最常见的疾病, 胆道探查术是诊断和治疗肝内外胆道结石的常规手术, 但术后胆管残石和再手术率较高[1,2]. 纤维胆道镜是随着纤维光学的发展而出现的一种诊断胆道疾病的新器械, 可在直视下观察胆管、肝管、处理病变, 对胆道疾病进行诊断, 并可了解病变的部位及性质, 是否有残余结石等, 并在降低手术残余结石发生率和术后处理残余结石方面发挥了很大的作用[3-5]. 为了解常规胆道探查术与纤维胆道镜治疗胆道结石临床效果, 对两种治疗胆道结石患者进行观察和分析, 为临床合理治疗提供依据和参考.

1 材料和方法

1.1 材料 选择2008-01/2013-06我院收治的胆道结石患者90例, 男性41例, 女性49例, 年龄35-69岁, 平均年龄53.48岁±4.61岁, 平均病程5.92年±1.37年. 所有患者均经超声、CT或经内镜逆行胆胰管造影(endoscopic retrograde cholan-gio-pancreatography, ERCP)确诊, 胆囊结石32例、胆总管结石30例和肝内胆道结石患者26例. 结石直径0.3-1.5 cm, 平均结石直径0.90 cm±0.13 cm. 其中单发结石39例, 多发结石51例, 其中40例患者接受常规胆道探查术, 为对照组, 其中男性18例, 女性22例, 平均年龄52.93岁±6.04岁, 50例应用纤维胆道镜, 为观察组, 男性23例, 女性27例, 平均年龄54.01岁±6.22岁, 两组患者性别、年龄、结石等方面比较差异无显著性意义(*P*>0.05), 具有可比性.

1.2 方法 常规胆道探查术: 行胆总管切开后, 用传统器械探查并取石, 依据术中探查情况, 行肝胆管切开取石或肝叶切除、肝表面切开取石, 胆道探查后常规放置T形管引流. 常规开腹后先行胆囊切除, 解剖胆总管、穿刺确认后, 缝支持线, 切开胆总管, 应用Richard-woif奥林巴斯软性胆道镜经胆总管切口进入, 探查肝总管、左右肝管及分支, 然后检查胆总管. 发现有结石时用取石网篮取石, 然后再探查各级胆管腔有无残余结石、扩张及狭窄, 发现残石并确定其位置, 直视下张开网篮取石, 并观察黏膜表面有无充血、出血等, 操作过程中, 向胆道持续滴注生理盐水, 充盈胆管腔保持视野清晰. 主要观察指标为两组患者手术基本情况及手术时间、出血量、肛门排气时间和住院时间, 并观察两组患者术后并发症[6-8].

统计学处理 应用SPSS13.0数据统计软件分析数据, 计数资料采用χ^2检验, 计量资料采用mean±SD表示, 采用*t*检验. *P*<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 两组患者基本手术情况 两组患者手术均获成功, 无死亡病例. 对照组中19例术中胆总管结石患者经胆道镜取净结石, 肝内、外胆道结石10例患者经术中胆道镜取净结石, 4例患者结石位于肝左外叶且合并肝内胆管狭窄, 行肝左外叶切除术, 7例患者于术后6-8 wk经胆道镜T管窦道取净结石.

2.2 两组患者手术基本情况结果比较 本次调查结果显示, 观察组出血量、肛门排气时间和住院时间分别为123.56 mL±9.45 mL、29.63 h±2.35 h和9.41 d±1.17 d, 均低于对照组210.14 mL±10.26 mL、46.20 h±2.18 h和13.93 d±1.64 d, 差异有统计学意义(*P*<0.05); 两组手术时间结果比较, 经统计学检验, 差异无统计学意义(*P*>0.05)(表1).

2.3 两组患者术后并发症结果比较 本次调查结果显示, 观察组残余结石率和结石复发率

表 1 两组患者手术基本情况结果比较 (mean ± SD)

分组	n	出血量(mL)	手术时间(min)	肛门排气时间(h)	住院时间(d)
对照组	40	210.14 ± 10.26	121.38 ± 11.47	46.20 ± 2.18	13.93 ± 1.64
观察组	50	123.56 ± 9.45[a]	120.71 ± 10.36	29.63 ± 2.35[a]	9.41 ± 1.17[a]

[a]P<0.05 *vs* 对照组.

表 2 两组患者术后并发症结果比较 n(%)

分组	n	切口感染	残余结石	胆漏	结石复发
对照组	40	2(5.00)	7(17.50)	3(7.50)	6(15.00)
观察组	50	3(6.00)[a]	1(2.00)[a]	1(2.00)	1(2.00)

[a]P<0.05 *vs* 对照组.

为2.00%(1/50)和2.00%(1/50), 均低于对照组17.50%(7/40)和15.00%(6/50), 经统计学检验, 两组差异具有显著性(P<0.05); 两组切口感染和胆漏结果比较, 差异无显著性(P>0.05)(表2).

3 讨论

胆道结石是外科的常见疾病之一, 近年来胆道结石在临床上愈加常见, 传统的胆道探查术取石根据手术医生手感取石, 存在较大的盲目性和局限性, 可以引起漏诊, 或导致胆总管下端、十二指肠乳头壶腹部损伤或穿孔及结石残留[9,10]. 胆管术后残余结石是胆道手术较常见的并发症, 纤维胆道镜的出现对胆道结石的诊治开辟了一条新的途径, 特别是为治疗胆道手术后残余结石向前迈进了一大步, 使患者避免了再次手术带来的痛苦及危险性.

纤维胆道镜在直视下取石, 对胆总管下端或胆道口壶腹较大嵌顿性结石可以用取石钳钳碎后再利用取石网取出, 难取结石可扩张乳头部后用胆道镜将其推入十二指肠. 对小结石合并大量絮状物, 可加压冲洗使胆道净化后再套网取出成形结石[11,12]. 纤维胆道镜可选择多种路径置镜, 一般情况下, 进入二级肝内胆管, 使用超细纤维胆道镜可置入三级或以上肝内胆管, 镜下直接观察肝内外胆管病变情况, 了解胆管狭窄的程度和位置, 结石部位和直径, 同时可发现胆道蛔虫和肿瘤等疾病, 避免因盲目探查、取石所带来的漏诊、结石残存、胆道出血等. 纤维胆道镜在取石和碎石同时对狭窄的胆管进行扩张治疗, 降低胆管残余结石率及再手术率, 有文献报道, 术中使用纤维胆道镜残余结石率可降至2%-4%[13-15].

本次调查结果显示观察组出血量、肛门排气时间和住院时间, 且观察组残余结石率和结石复均低于对照组, 差异具有显著性(P<0.05). 提示传统的胆道探查术容易引起胆管、胆道损伤、出血等并发症, 术后残石率高. 纤维胆道镜的应用可明显降低术后残石率和再手术率. 主要由于纤维胆道镜镜身细软, 弯曲度大, 可直接插入肝内外胆管及其分支, 能够在胆道手术中或胆道术后(“T”管者中)窦道中直视下直接观察, 可明确结石的形态、大小、部位和数量, 胆道内肿瘤或赘生物可直接钳取活检. 因此, 诊断价值居第1位. 因此, 可根据检查结果术中可以最终确定合适的手术方式, 减少手术时间. 并进行冲洗、取石、止血、造影、取活检等, 对发现的残石经网篮等及时处理去除, 清除结石时需要耐心、有序, 较大易取的结石用取石网篮套取, 较小不易套取的结石可用高压冲洗排出, 嵌顿于胆道内的结石用咬石钳碎后用取石网篮取出, 对胆管内壁的损伤小, 从而减少了后期胆管的炎性狭窄. 文献报道纤维胆道镜治疗不仅可降低胆管残石发生率, 又能避免胆总管切开探查、T管引流所引起的并发症[16].

总之, 纤维胆道镜可用于术中及术后肝内胆管取石治疗, 具有患者痛苦小, 并发症少等优点, 取石成功率较高, 能够降低胆道残石率及术后复发率, 是胆道内肿瘤或赘生物早期诊断的一种操作简单、安全、有效的方法.

4 参考文献

1 黄健, 王宁, 王彦铭, 唐和平, 王雨龙. 腹腔镜、胆道镜

■相关报道

纤维胆道镜在取石和碎石同时对狭窄的胆管进行扩张治疗, 降低胆管残余结石率及再手术率, 有文献报道, 术中使用纤维胆道镜残余结石率可降至2%-4%.

■同行评价
本研究选题一般, 结论准确, 作为基层医院医师参与研究值得鼓励.

联合经胆囊管行胆道探查术的临床研究. 中国医药导报 2011; 8: 163-165

2 Koc B, Karahan S, Adas G, Tutal F, Guven H, Ozsoy A. Comparison of laparoscopic common bile duct exploration and endoscopic retrograde cholangiopancreatography plus laparoscopic cholecystectomy for choledocholithiasis: a prospective randomized study. *Am J Surg* 2013; 206: 457-463 [PMID: 23871320 DOI: 10.1016/j.amjsurg.2013.02.004]

3 李其焕, 王群伟. 腹腔镜联合纤维胆道镜治疗胆囊结石合并胆总管结石172例临床分析. 中国现代手术学志 2010, 14: 99-100

4 王忠振. 胆道探查术中及术后纤维胆道镜应用的评价. 中国普外基础与临床杂志 2010; 17: 849-850

5 操海舟, 孙振芝, 李少伟, 杨晓波. 腹腔镜辅助胆道镜保胆取石55例临床分析. 中国医药导报 2013; 10: 149-150

6 Stevens T. Role of endoscopic ultrasonography in the diagnosis of acute and chronic pancreatitis. *Gastrointest Endosc Clin N Am* 2013; 23: 735-747 [PMID: 24079787 DOI: 10.1016/j.giec.2013.06.001]

7 陈盛, 郑江华, 区应亮, 陈伟, 江寅, 简志祥, 王卫东. 两种微创方式治疗胆囊结石合并胆总管结石的临床疗效比较. 中国普外基础与临床杂志 2012; 19: 1213-11217

8 Wybourn CA, Kitsis RM, Baker TA, Degner B, Sarker S, Luchette FA. Laparoscopic cholecystectomy for biliary dyskinesia: Which patients have long term benefit? *Surgery* 2013; 154: 761-767; discussion 761-767 [PMID: 24074413 DOI: 10.1016/j.surg.2013.04.044]

9 王行雁, 徐智, 王立新, 侯纯升, 凌晓锋, 修典荣. 胆囊结石合并胆总管结石的外科微创治疗. 中国微创外科杂志 2012; 12: 515-517

10 Nychytaĭlo MIu, Zahriĭchuk MS, Bulyk II, Masiuk IuI, Homan AV, Kondratiuk VA. [Simultant laparoscopic operations for biliary calculi disease and hernia of the anterior abdominal wall]. *Klin Khir* 2013; (5): 21-23 [PMID: 23888803]

11 曹建华, 苏文智. 胆道术中术后应用纤维胆道镜152例分析. 宁夏医学杂志 2004; 26: 564- 565

12 Chen XM, Zhang Y, Cai HH, Sun DL, Liu SY, Duan YF, Yang C, Jiang Y, Wu HR. Transcystic approach with micro-incision of the cystic duct and its confluence part in laparoscopic common bile duct exploration. *J Laparoendosc Adv Surg Tech A* 2013; 23: 977-981 [PMID: 24138388 DOI: 10.1089/lap.2013.0309]

13 Fujimoto A, Osuga Y, Sakurabashi A, Hisatomi S, Kaneko J, Hasegawa K, Yano T, Kokudo N, Kozuma S. Laparoendoscopic single-site concomitant surgery for gallstones and a giant ovarian teratoma. *Asian J Endosc Surg* 2013; 6: 223-225 [PMID: 23879416 DOI: 10.1111/ases.12019]

14 董剑宏. 纤维胆道镜的临床应用(附96例报告). 中国内镜杂志 2002; 8: 92

15 张海涛. 纤维胆道镜在胆总管探查术中应用127例临床分析. 中国实用医药 2013; 8: 62-63

16 谢金敏, 高毅, 师龙生, 唐增杰. 胆道探查术中及术后纤维胆道镜的应用体会. 肝胆胰外科杂志 2003; 15: 250-251

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年6月18日; 22(17): 2477-2480
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

CT引导下的经皮穿刺引流术治疗内镜后胰腺炎继发胰周脓肿16例

王 帅, 秦鸣放, 郝文立

王帅, 秦鸣放, 天津市南开医院微创外科中心 天津市 300100
郝文立, 天津中医药研究院附属医院普外科 天津市 300021
王帅, 住院医师, 主要从事腹部微创外科的研究.
作者贡献分布: 本研究由王帅搜集资料; 王帅与郝文立负责完成; 秦鸣放指导.
通讯作者: 秦鸣放, 主任医师, 300100, 天津市南开区长江道6号, 天津市南开医院微创外科中心. tjws08@163.com
收稿日期: 2014-03-03 修回日期: 2014-04-16
接受日期: 2014-04-20 在线出版日期: 2014-06-18

CT-guided percutaneous catheter drainage for treatment of pancreatic abscess after post-ERCP pancreatitis

Shuai Wang, Ming-Fang Qin, Wen-Li Hao

Shuai Wang, Ming-Fang Qin, Department of Minimally Invasive Surgery, Tianjin Nankai Hospital, Tianjin 300100, China
Wen-Li Hao, Department of General Surgery, Affiliated Hospital of Tianjin Academy of TCM, Tianjin 300021, China
Correspondence to: Ming-Fang Qin, Chief Physician, Department of Minimally Invasive Surgery, Tianjin Nankai Hospital, 6 Changjiang Road, Nankai District, Tianjin 300100, China. tjws08@163.com
Received: 2014-03-03 Revised: 2014-04-16
Accepted: 2014-04-20 Published online: 2014-06-18

Abstract

AIM: To evaluate the feasibility and effectiveness of CT-guided percutaneous catheter drainage for treatment of pancreatic abscess after post-endoscopic retrograde cholangiopancreatography (ERCP) pancreatitis.

METHODS: Sixteen patients underwent CT-guided percutaneous catheter drainage for pancreatic abscess after post-ERCP pancreatitis at our hospital from January 2006 to May 2013. All of them received 24 h continuous irrigation through the catheter.

RESULTS: CT-guided percutaneous catheter drainage was successful in all patients, and they all recovered. No death occurred, and no surgery was required. The average number of punctures was 1.88, and the mean time of catheter placement was 24.12 d.

CONCLUSION: CT-guided percutaneous catheter drainage is minimally invasive, safe and highly effective in the treatment of pancreatic abscess after post-ERCP pancreatitis. However, it is just a complementary therapy and cannot replace the surgical treatment completely.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Post-ERCP pancreatitis; Pancreatic abscess; CT; Percutaneous catheter drainage

Wang S, Qin MF, Hao WL. CT-guided percutaneous catheter drainage for treatment of pancreatic abscess after post- ERCP pancreatitis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(17): 2477-2480 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2477.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i17.2477

摘要

目的: 评价电子计算机X射线断层扫描技术(electronic computer X-ray tomography technique, CT)引导下的穿刺引流术治疗内镜后胰腺炎(post-endoscopic retrograde cholangiopancreatography pancreatitis, PEP)继发胰周脓肿的可行性和有效性.

方法: 选择2006-01/2013-05我科因胆总管结石行内镜治疗出现术后PEP继发胰周脓肿的16例患者, 在CT引导下的行穿刺引流术并放置引流管, 同时给与24 h持续冲洗治疗.

结果: 16例患者愈后良好, 无死亡或外科手术病例. 平均穿刺次数为1.88次, 平均带管时间为24.12 d.

结论: CT引导下的穿刺引流术治疗PEP继发胰周脓肿是有效和可行的, 可以减少术后并发症的发生率, 提高患者的生活质量. 但是不能完

■背景资料
内镜下逆行胰胆管造影术(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)被广泛应用于胆道和胰腺外科多种疾病的诊断和治疗中, 但是内镜后胰腺炎仍是ERCP后的主要并发症, 如果不能早期有效地阻止内镜后胰腺炎(post-ERCP pancreatitis, PEP)的发展, 势必会继发胰腺坏死和胰腺周围感染, 形成胰腺脓肿, 增加患者的死亡率. 但是外科手术却存在手术创伤大、清创面积大, 而且不能多次操作的局限, 加之患者往往长期处于感染和慢性消耗状态, 难以承受手术打击, 甚至会导致患者死亡. 因此, 影像学指导下的微创治疗观念逐渐被广大外科医生所接受.

■同行评议者
薛东波, 教授, 哈尔滨医科大学附属第一医院

■应用要点
本文采用电子计算机X射线断层扫描技术(electronic com-puter X-ray tomography technique, CT)引导下的穿刺引流术治疗因胆总管结石行内镜治疗出现PEP并继发胰周脓肿的16例患者, 取得良好的治疗效果, 可以减少术后并发症的发生率,同时提高患者的生活质量, 并且符合“损伤控制”的理论.

全作为外科手术的替代治疗, 手术时机的把握仍然非常重要.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 内镜后胰腺炎; 胰腺脓肿; CT; 穿刺引流术

核心提示: 采用电子计算机X射线断层扫描技术引导下的穿刺引流术治疗内镜后胰腺炎(post-ERCP pancreatitis)继发胰周脓肿的患者具有创伤小, 可重复, 操作性强, 手术风险低, 患者术后恢复快, 并发症少等优势, 能够有效地提高患者的生活质量, 同时符合“损伤控制”的理论.

王帅, 秦鸣放, 郝文章. CT引导下的经皮穿刺引流术治疗内镜后胰腺炎继发胰周脓肿16例. 世界华人消化杂志 2014; 22(17): 2477-2480 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2477.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i17.2477

0 引言

内镜下逆行胰胆管造影术(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)被广泛应用于胆道和胰腺外科多种疾病的诊断和治疗中. 随着技术的发展, 与ERCP相关操作内容, 如内镜下乳头括约肌切开术(endoscopic sphincterotomy)、经内镜胆管内引流术(endoscopic retrograde biliary drainage)、经内镜鼻胆管外引流术(endoscopic retrograde biliary drainage)、经内镜胰管引流术(endoscopic retrograde pancreatodrainage)、经内镜金属支架置入术(endoscopic metal biliary endoprothesis)、球囊扩张等, 也日渐成熟和丰富. 虽然腹部超声、磁共振胰胆管造影术(magnetic resonance cholangiopancreatography)、电子计算机X射线断层扫描技术(electronic computer X-ray tomography technique, CT)、强化CT等无创检查技术可部分替代诊断性ERCP, 但是治疗性ERCP在胆汁的收集、胰胆管组织的活检、Oddi括约肌功能测定、胰管造影、支架植入等方面仍有着不可替代的作用. 但无论是诊断性还是治疗性ERCP均为有创性技术, 具有一定的并发症发生率. 综合各家报道, 目前认为内镜后胰腺炎(post-ERCP pancreatitis, PEP)是内镜术后最常见的并发症[1], 部分患者会发展成为重型胰腺炎, 甚至需要外科介入或手术的干预. 针对于内镜后急性重型胰腺炎继发胰腺脓肿的患者, 由于外科手术创伤大、恢复慢的缺点已逐渐被部分微创治疗所替代, 其中包括超声或者CT引导下的穿刺引流术. 总结我科2006-01/2013-05通过CT引导下穿刺引流术治疗内镜后胰腺炎继发胰周感染的16例病例, 取得良好的治疗效果, 现报告如下.

1 材料和方法

1.1 材料 本组患者16例, 男性6例, 女性10例. 年龄31-62岁, 平均42.1岁, 均为PEP伴有胰腺脓肿的患者, 诊断标准均符合重症急性胰腺炎诊治指南[2].

1.2 方法

1.2.1 手术: 患者术前常规行血常规、凝血功能及生化检查对全身情况进行评估. 穿刺仰卧位或者侧卧位. 常规CT扫描定位, 明确腹腔内部情况, 确定穿刺引流的部位及周围解剖关系. 可考虑采用薄层扫描(2 mm), 以便于选择最佳穿刺层面、进针点、穿刺角度和深度. 常规消毒、铺巾, 局麻满意后, 避开重要脏器, 穿刺进入脓肿, 置入导丝后沿导丝用扩张器逐步扩张, 最后置入穿刺引流管. 一般根据脓肿的大小或数量放置多根引流管, 以便形成冲洗回路.

1.2.2 术后处理: 置管成功后进行24 h连续滴注冲洗, 每4 h采用20 mL注射器手动脉冲式抽吸, 避免脱落坏死组织堵塞引流管. 每天记录冲洗的出入量, 每3 d评价1次血常规和生化指标. 3-7 d复查1次彩超, 明确脓腔的变化情况, 如发现腹腔残余脓肿, 立即在CT引导下再次行穿刺治疗.

1.2.3 拔管标准: (1)体温正常; (2)查体无阳性体征; (3)血常规正常; (4)超声或CT证实脓肿消失; (5)引流量减少且连续3 d小于10 mL, 性质为清亮渗出液.

2 结果

16例患者共引流28次. 1例引流管出血, 考虑为胃十二指肠血管分支出血, 行血管栓塞治疗. 1例因脓肿压迫不能进食而放置肠内营养管. 8例穿刺≥2次, 平均1.88次. 带管时间11-47 d, 平均24.12 d. 无再次手术或者死亡病例.

3 讨论

PEP是ERCP术后常见的并发症[3], 一般患者的发生率在1%-10%, 但是伴有危险因素的患者, 其发生率会超过20%[4-6]. Maranki[7]将内镜后胰腺炎的危险因素分为3类, 分别是: (1)患者相关的危险因素, 包括性别、年龄、可能存在的Oddi

括约肌的功能紊乱等; (2)操作相关的危险因素, 包括反复插管、胰管显影、不伴有胆管括约肌切开的胰管括约肌切开; (3)操作者的水平和经验. 其中胰管显影被认为是PEP的重要的独立危险因素[8,9]. 如果不能早期有效地阻止PEP的发展, 势必会继发胰腺坏死和胰腺周围感染, 形成胰腺脓肿, 增加患者的死亡率. 针对于胰腺周围脓肿, 过去通常会采用外科开腹手术方法清除感染坏死组织, 其主要目的就是开放引流、减少毒素吸收和清除坏死组织. 但是外科手术却存在手术创伤大、清创面积大, 且不能多次操作的局限, 加之患者往往长期处于感染和慢性消耗状态, 难以承受手术打击, 甚至会导致患者死亡. 因此, 影像学指导下的微创治疗观念逐渐被广大外科医生所接受[10]. 目前多项临床研究发现, 微创治疗方式在治愈率、降低死亡率方面均有明显的优势[11,12]. 我国的徐东升[13]也在2009年提出了微创化的治疗原则, 即采用“创伤递进式”的外科干预方式治疗腹腔脓肿, 取得了良好的治疗效果. 目前常见的影像学引导方法主要包括超声、CT、腹腔镜和内镜(包括超声内镜)等. 后两种技术要求较高, 目前仅限于部分医院开展. 由于CT引导下的经皮穿刺置管引流的方法不会像超声一样存在肠道气体干扰的局限性而逐渐成为脓肿穿刺的首选.

一般情况下, PEP患者如果出现感染征象或者出现胃肠功能障碍, 就要考虑到存在胰腺及周围感染的可能, 此过程一般符合急性胰腺炎的发病规律, 多在PEP发病后的2-4 wk出现, 可考虑行强化CT进一步确诊. 如果胰周脓肿一旦明确, 应及时采取外科介入治疗. 此时包裹局限的感染病灶容易通过一次引流奏效. 我科的16例患者, 穿刺时间均选择在发病后的3-5 wk, 主要考虑到: (1)液体局限, 脓肿壁形成, 易于穿刺和冲洗; (2)经CT证实坏死灶已经液化相对完全, 有利于充分引流; (3)患者度过急性炎症期的打击, 内部稳态建立, 有利于术后恢复.

另外, 选择何种粗细的引流管目前尚没有统一的标准. 早在1998年, Freeny[14]就报道了34例采用28 Fr粗细的引流管治疗急性坏死性胰腺炎. van Baal等[11]和Fotoohi等[15]认为8-28 Fr的引流管径都是可以接受的. 我们选择的管径为10-14 Fr, 主要考虑到较粗的引流管会加重患者术后的疼痛, 不利于固定且增加出血的风险. 另外, 我们一般会同时放置多根, 形成冲洗回路, 术后给于24 h的持续滴注冲洗, 从而保证坏死组织能够及时的排出体外, 同时减少穿刺管堵塞的机会. 即使如此, 早期大块坏死组织的脱落仍会不断造成引流管的堵塞, 因此需要及时采用导丝通管, 或者采用逐级扩张方法, 更换较粗的引流管.

对于是否在冲洗液中使用抗生素的问题目前尚无定论, 但是我们认为一旦冲洗通路建立, 随着脓性坏死组织的排出, 感染自然能够得到控制, 反而长期使用抗生素会导致耐药菌和真菌感染的出现, 增加治疗的难度. 虽然CT引导下的穿刺引流置管符合“损伤控制”的理论, 即早期先行穿刺引流, 以缓解严重感染症状, 改善全身情况, 为进一步确定性治疗创造条件. 但是如何握好适应证, 正确的应用这项技术, 仍需要进一步探讨. 尽管穿刺引流与传统开腹手术相比具有极大的优越性, 但其仅能作为外科手术的替代治疗, 而不能完全取代外科手术, 就像Prochazka[12]所认为, 穿刺引流可避免科干预但并不妨碍后续的必要时的外科干预. 因此, 我们认为手术时机的把握仍然非常重要.

■同行评价
本文学术价值较高, 对临床具有一定指导意义.

4 参考文献

1 Kerr SE, Kahaleh M, LeGallo RD, Stelow EB. Death after endoscopic retrograde cholangiopancreatography: findings at autopsy. *Hum Pathol* 2010; 41: 1138-1144 [PMID: 20381117 DOI: 10.1016/j.humpath.2010.01.009]

2 Group of Pancreas Surgery, Chinese Society of Surgery, Chinese Medical Association. [The guideline of diagnosis and treatment of severe acute pancreatitis]. *Zhonghua Waike Zazhi* 2007; 45: 727-729 [PMID: 17825190]

3 Tammaro S, Caruso R, Pallone F, Monteleone G. Post-endoscopic retrograde cholangio-pancreatography pancreatitis: is time for a new preventive approach? *World J Gastroenterol* 2012; 18: 4635-4638 [PMID: 23002332 DOI: 10.3748/wjg.v18.i34.4635]

4 Fogel EL, Eversman D, Jamidar P, Sherman S, Lehman GA. Sphincter of Oddi dysfunction: pancreaticobiliary sphincterotomy with pancreatic stent placement has a lower rate of pancreatitis than biliary sphincterotomy alone. *Endoscopy* 2002; 34: 280-285 [PMID: 11932782 DOI: 10.1055/s-2002-23629]

5 Sotoudehmanesh R, Khatibian M, Kolahdoozan S, Ainechi S, Malboosbaf R, Nouraie M. Indomethacin may reduce the incidence and severity of acute pancreatitis after ERCP. *Am J Gastroenterol* 2007; 102: 978-983 [PMID: 17355281 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2007.01165.x]

6 Wagh MS, Sherman S. Indomethacin for post-ERCP pancreatitis prophylaxis: another attempt at the Holy Grail. *Am J Gastroenterol* 2007; 102: 984-986 [PMID: 17489783 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2007.01163.x]

7 Maranki J, Yeaton P. Prevention of post-ERCP pancreatitis. *Curr Gastroenterol Rep* 2013; 15: 352 [PMID:

24193373 DOI: 10.1007/s11894-013-0352-2]
8 Cheon YK, Cho KB, Watkins JL, McHenry L, Fogel EL, Sherman S, Lehman GA. Frequency and severity of post-ERCP pancreatitis correlated with extent of pancreatic ductal opacification. *Gastrointest Endosc* 2007; 65: 385-393 [PMID: 17321236 DOI: 10.1016/j.gie.2006.10.021]
9 张春, 王立新, 徐智, 侯纯升, 凌晓峰, 周孝思. 内镜下逆行胰胆管造影后胰腺炎危险因素的多因素分析. 中国内镜杂志 2010; 16: 564-567
10 童智慧, 李维勤, 虞文魁, 王新颖, 叶向红, 聂垚, 柯路, 徐晓帆, 鲁俊, 倪海滨, 孙加奎, 李宁, 黎介寿. 经皮穿刺置管引流与直接开腹手术引流治疗胰腺坏死组织感染的疗效比较. 中华外科杂志 2010; 48: 1387-1391
11 van Baal MC, van Santvoort HC, Bollen TL, Bakker OJ, Besselink MG, Gooszen HG. Systematic review of percutaneous catheter drainage as primary treatment for necrotizing pancreatitis. *Br J Surg* 2011; 98: 18-27 [PMID: 21136562 DOI: 10.1002/bjs.7304]
12 Prochazka V, Al-Eryani S, Herman M. Endoscopic treatment of multiple pancreatic abscesses case report and review of the literature. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub* 2009; 153: 27-30 [PMID: 19365522 DOI: 10.5507/bp.2009.004]
13 徐东升, 孙备, 姜洪池, 张羽, 杨秀华, 李军, 王秀云, 孟庆辉, 刘杰, 武林枫. 超声引导下经皮穿刺置管引流在重症急性胰腺炎治疗中的应用. 中华肝胆外科杂志 2009; 15: 173-175
14 Freeny PC, Hauptmann E, Althaus SJ, Traverso LW, Sinanan M. Percutaneous CT-guided catheter drainage of infected acute necrotizing pancreatitis: techniques and results. *AJR Am J Roentgenol* 1998; 170: 969-975 [PMID: 9530046 DOI: 10.2214/ajr.170.4.9530046]
15 Fotoohi M, D'Agostino HB, Wollman B, Chon K, Shahrokni S, vanSonnenberg E. Persistent pancreatocutaneous fistula after percutaneous drainage of pancreatic fluid collections: role of cause and severity of pancreatitis. *Radiology* 1999; 213: 573-578 [PMID: 10551244 DOI: 10.1148/radiology.213.2.r99nv19573]

编辑 田滢 电编 都珍珍

世界华人消化杂志 2014年6月18日; 22(17): 2481-2485
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

新生儿胃肠穿孔的主要死亡原因

张艳丽, 汪天英, 胡安丽

张艳丽, 温州医科大学附属第三医院儿科 浙江省瑞安市 325200
汪天英, 上海中医药大学 上海市浦东新区三林社区卫生服务中心全科医学 上海市 200124
胡安丽, 安徽医科大学第四附属医院统计室 安徽省合肥市 230000
张艳丽, 主治医师, 主要从事儿童保健的研究.
上海市浦东新区卫生系统优秀青年医学人才培养计划基金资助项目, No. PWRq2011-37
上海市青年医师培养基金资助项目, No. 2012-114
浙江省瑞安市科技局基金资助项目, No. 201204029
作者贡献分布: 张艳丽负责论文写作; 汪天英负责论文写作与审查; 胡安丽负责数据统计.
通讯作者: 汪天英, 主治医师, 200124, 上海市浦东新区三林路375号, 上海中医药大学, 上海市浦东新区三林社区卫生服务中心全科医学. yktjw2008@163.com
收稿日期: 2014-05-14 修回日期: 2014-06-02
接受日期: 2014-06-03 在线出版日期: 2014-06-18

Neonatal gastric perforation: Etiology and causes of death

Yan-Li Zhang, Tian-Ying Wang, An-Li Hu

Yan-Li Zhang, Department of Pediatrics, the Third Affiliated Hospital of Wenzhou Medical University, Ruian 325200, Zhejiang Province, China
Tian-Ying Wang, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai Pudong New Area Sanlin Community Health Service Center Family Medicine, Shanghai 200124, China
An-Li Hu, Department of Statistics, the Fourth Affiliated Hospital of Medical University of Anhui, Hefei 230000, Anhui Province, China
Supported by: the Training Program for Outstanding Young Medical Talents in Pudong New Area, Shanghai, No. PWRq2011-37; the Shanghai City Youth Physician Training Project, No. 2012-114; the Zhejiang Province Bureau of Ruian City Science and Technology Funding, No. 201204029
Correspondence to: Tian-Ying Wang, Attending Physician, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai Pudong New Area Sanlin Community Health Service Center Family Medicine, 375 Sanlin Road, Pudong Xinqu, Shanghai 200124, China. yktjw2008@163.com
Received: 2014-05-14 Revised: 2014-06-02
Accepted: 2014-06-03 Published online: 2014-06-18

Abstract

AIM: To explore the etiology and causes of death in neonatal gastric perforation.

METHODS: Clinical data for 104 children with neonatal gastrointestinal perforation treated at our hospital from March 2012 to September 2013 were analyzed retrospectively. The causes of the disease and death, treatment methods and prognostic factors were analyzed.

RESULTS: The mean onset age was 7.7 d ± 1.1 d. The main causes of the disease were necrotizing enterocolitis and gastric muscular wall defect. Compared with full-term infants, the incidence of preterm shock, difficulty breathing, DIC and hypoactive bowel sounds was significantly higher in premature infants ($P < 0.05$). The main causes of the disease were gastric muscular wall defect (65.85%) and necrotizing enterocolitis (19.51%) in premature infants, and gastric muscular wall defect (20.63%), necrotizing enterocolitis (12.70%) and congenital megacolon (12.70%) in full-term infants. There were 25 (24.04%) cases of postoperative death, including 13 (31.71%) cases in the premature group and 12 (19.05%) in the full-term group 12. There was a significant difference in the rate of death between the two groups ($\chi^2 = 4.232$, $P = 0.040$). The main causes of death were sepsis (11 cases, 10.58%) and infection (7 cases, 6.73%).

CONCLUSION: Sepsis and infection are the main causes of death in children with neonatal gastric perforation. Early diagnosis and treatment can significantly improve the prognosis.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Gastrointestinal perforation; Newborn; Clinical characteristics; Prognosis

Zhang YL, Wang TY, Hu AL. Neonatal gastric perforation: Etiology and causes of death. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(17): 2481-2485 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2481.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i17.2481

摘要

目的: 探讨新生儿胃肠穿孔的特点以及预后的影响因素.

方法: 回顾性分析2012-03/2013-09我院收治的104例新生儿胃肠穿孔病例的临床资料, 对患

■背景资料
新生儿胃肠穿孔为小儿外科急腹症, 一般发病于新生儿出生1 wk内. 虽然近年来因新生儿外科及麻醉技术的发展, 该病死亡率已有显著下降, 但是依然严重威胁新生儿的生命健康.

■同行评议者
崔清波, 副教授, 副主任医师, 哈尔滨医科大学附属第二医院儿外科

■研发前沿
对于高度怀疑胃肠穿孔的患儿, 需要定期对腹部行X线检查, 一旦发现腹腔游离气体可以认为是穿孔.

儿的发病原因、死亡原因、治疗方法和预后因素进行分析.

结果: 患儿发病日龄7.7 d±1.1 d; 发病原因主要有坏死性小肠结肠炎、胃壁肌层缺损等. 与足月儿相比, 早产儿休克、呼吸困难、弥散性血管内凝血(disseminated intravascular coagulation, DIC)和肠鸣音减弱发生率更高, 两组间相比差异具有统计学意义(P<0.05). 导致早产儿发病原因主要有胃壁肌层缺损(65.85%)、坏死性小肠结肠炎(19.51%); 导致足月儿发病原因主要有胃壁肌层缺损(20.63%)、坏死性小肠结肠炎(12.70%)和先天性巨结肠(12.70%)等. 术后患儿中死亡25例, 为24.04%, 其中早产组死亡13例, 占31.71%, 足月组死亡12例, 占19.05%, 两组相比差异具有统计学意义(χ^2 = 4.232, P = 0.040); 死亡原因主要为败血症(11例, 10.58%), 其次为感染(7例, 6.73%).

结论: 败血症和感染是新生儿胃肠穿孔的主要死亡原因, 早期诊断治疗可以显著提高患儿的预后.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 胃肠穿孔; 新生儿; 临床特点; 预后

核心提示: 本研究中简单修补缝合35例, Ⅰ期切除吻合38例, 肠造瘘28例, 腹腔引流3例, 取得较好的疗效. 早产组死亡13例, 占31.71%, 足月组死亡12例, 占19.05%, 死亡原因主要为败血症, 其次为感染; 因此在围手术期控制感染时降低死亡率的主要手段.

张艳丽, 汪天英, 胡安丽. 新生儿胃肠穿孔的主要死亡原因. 世界华人消化杂志 2014; 22(17): 2481-2485 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2481.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i17.2481

0 引言

新生儿胃肠穿孔(neonatal gastric perforation)为小儿外科急腹症, 一般发病于新生儿出生1 wk内[1-3]. 虽然近年来因新生儿外科及麻醉技术的发展, 该病死亡率已有显著下降, 但是依然严重威胁新生儿的生命健康. 大量报道[4,5]称术后存活率与患儿的体质量和及时的诊断有直接关系. 赵萍等[6]报道胃穿孔12 h内进行手术者存活率45%, 超过12 h则存活率为25%, 提示早期诊断及手术治疗的重要性. 为了提高对本病的认识, 本文对我院收治的100余例胃肠穿孔的新生儿临床表现、发病原因以及预后进行分析, 以期为临床治疗提供依据, 现报道如下.

1 材料和方法

1.1 材料 回顾性分析2012-03/2013-09我院收治的104例新生儿胃肠穿孔病例的临床资料, 男71例, 女33例; 胎龄32-43 wk, 平均37.1 wk±4.2 wk; 出生时体质量1.2-4.7 kg, 平均2.9 kg±1.1 kg. 按照新生儿胎龄将104例患儿分为早产组(胎龄<37 wk)41例和足月组63例.

1.2 方法

1.2.1 诊疗: 所有患儿治疗方法以手术为主, 术前行腹部X线常规检查, 根据穿孔部位、腹膜炎和肠坏死程度、肠管功能选择具体手术方法. 术后给予患儿营养支持治疗, 并按照药敏试验选择合理抗生素治疗; 术后常规病理检查.

1.2.2 分析: 回顾性分析104例患儿的临床资料、治疗和预后, 并比较早产组和足月组发病原因、临床表现发生率.

统计学处理 采用SPSS17.0统计学软件进行检验, 率的比较采用χ^2检验, α = 0.05, P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 104例患儿临床表现 患儿发病日龄1-21 d, 平均7.7 d±1.1 d; 患儿临床表现为腹胀、便血、呕吐和呼吸困难等; 严重时有血小板和白细胞计数异常、心率加快、发热等感染性症状; 经X线检查有86例(82.69%)出现腹腔游离气体; 本组患儿中死亡25例(24.04%)(表1).

2.2 早产组和足月组临床表现发生率比较 所有患儿均有腹胀发生, 其中50%以上患儿伴有呕吐症状; 而肠鸣音减弱、腹壁静脉曲张是新生儿胃肠穿孔的主要体征; 与足月儿相比, 早产儿休克、呼吸困难、DIC和肠鸣音减弱发生率更高, 两组间相比差异具有统计学意义(P<0.05)(表2).

2.3 早产组和足月组发病原因比较 导致早产儿发病原因主要有胃壁肌层缺损(65.85%)、坏死性小肠结肠炎(19.51%); 导致足月儿发病原因主要有胃壁肌层缺损(20.63%)、坏死性小肠结肠炎(12.70%)和先天性巨结肠(12.70%)等(表3).

2.4 治疗与预后 所有患儿均行手术治疗, 其中简单修补缝合35例, Ⅰ期切除吻合38例, 肠造瘘28例, 腹腔引流3例. 术前所有患儿均禁食、胃肠减压、常规抗生素预防, 必要时给予机械通气和气

表 1 104例患儿临床资料 *n*(%)

发病原因	发病率[*n*(%)]	穿孔部位(*n*)			死亡[*n*(%)]
		小肠	结肠	胃	
n		62	42	21	
坏死性小肠结肠炎	35(33.65)	23	12	0	7(6.74)
胃壁肌层缺损	21(20.19)	0	0	21	4(3.85)
特发性穿孔	11(10.58)	7	4	0	4(3.85)
先天性巨结肠	10(9.62)	4	6	0	3(2.88)
胎粪性腹膜炎	7(6.73)	7	0	0	2(1.92)
Meckel憩室	5(4.81)	5	0	0	2(1.92)
肛门直肠畸形	5(4.81)	0	5	0	2(1.92)
肠壁肌层缺损	4(3.85)	1	3	0	1(0.96)
肠扭转	3(2.88)	2	1	0	0
嵌顿性腹股沟疝	2(1.92)	1	1	0	0
肠闭锁	1(0.96)	1	0	0	0
合计	104(100)	51	32	21	25(24.04)

表 2 早产组和足月组临床表现发生率比较 *n*(%)

临床表现	早产组	足月组	χ^2值	*P*值
n	41	63		
呕吐	22(53.66)	41(65.08)	2.703	0.100
休克	26(63.41)	11(17.46)	43.832	0.000
呼吸困难	15(36.59)	7(11.11)	17.874	0.000
弥散性血管内凝血(DIC)	13(31.71)	4(6.35)	20.869	0.000
肠鸣音减弱	28(68.29)	33(52.38)	5.289	0.021
腹壁静脉曲张	20(48.78)	38(60.31)	2.681	0.102

表 3 早产组和足月组发病原因比较 *n*(%)

发病原因	早产组	足月组	χ^2值	*P*值
n	41	63		
胃壁肌层缺损	27(65.85)	8(12.70)	59.223	0.000
坏死性小肠结肠炎	8(19.51)	13(20.63)	0.039	0.843
特发性穿孔	4(9.76)	7(11.11)	0.098	0.755
先天性巨结肠	2(4.88)	8(12.70)	3.814	0.051
胎粪性腹膜炎	1(2.44)	6(9.52)	4.578	0.035
Meckel憩室	2(4.88)	3(4.76)	0.002	0.968
肛门直肠畸形	1(2.44)	4(6.35)	1.819	0.177
肠壁肌层缺损	1(2.44)	4(6.35)	1.819	0.177
肠扭转	1(2.44)	2(3.17)	0.098	0.755
嵌顿性腹股沟疝	0	2(3.17)	3.221	0.073
肠闭锁	0	1(1.59)	1.603	0.206

管插管等; 若患儿禁食超过3 d则给予肠外营养治疗. 其中早产组存活患儿术后开奶时间11.5 d±2.1 d, 术后住院时间21.5 d±4.1 d; 足月组存活患儿术后开奶时间10.7 d±1.9 d, 术后住院时间22.1 d±3.7 d. 术后有43例(41.35%)患儿发生败血症, 34例(32.69%)出现切口感染; 早产组死亡13例, 占31.71%, 足月组死亡12例, 占19.05%, 两组相比差异具有统计学意义(χ^2 = 4.232, *P* = 0.040), 死亡原因主要为败血症, 其次为感染(表4).

3 讨论

3.1 特点 导致新生儿胃肠穿孔的原因较多, 如坏

■同行评价

本文选题紧密结合临床, 结果客观, 具有一定临床参考价值.

表 4 早产组和足月组死亡原因比较 *n*(%)

分组	*n*	败血症	感染	休克	弥散性血管内凝血
早产组	41	5(12.20)	4(9.76)	1(2.44)	3(7.32)
足月组	64	6(9.52)	3(4.76)	1(1.59)	2(3.17)
χ^2值		0.371	1.857	0.183	1.733
*P*值		0.542	0.173	0.669	0.188

死性小肠结肠炎、胃壁肌层缺损、先天性巨结肠等. 有国外报道[7]称在发达国家引起新生儿胃肠穿孔主要原因是坏死性肠炎, 而其他相关因素较少. 在本研究中本组患儿的发病原因主要为胃壁肌层缺损, 其次为坏死性小肠结肠炎, 我们推测这可能与并发坏死性肠炎患儿多数放弃治疗或未及时就诊有关, 因而相对比例降低. 潘征夏等[8]报道称87%的新生儿消化系穿孔发生于喂养后, 日龄为生后3-18 d, 本组患儿平均发病日龄7.7 d±1.1 d; 两者结论相近. 在本组研究中所有患儿均有进行性腹胀发生, 其中50%以上患儿伴有呕吐症状; 而肠鸣音减弱、腹壁静脉曲张是新生儿胃肠穿孔的主要体征, 这提示一旦新生儿出现上述体征说明患儿存在消化系穿孔的可能. 对于高度怀疑胃肠穿孔的患儿, 需要定期对腹部行X线检查, 一旦发现腹腔游离气体可以认为是穿孔; 龙腾河等[9]研究也证实腹腔游离气体是胃肠穿孔的最佳诊断标准. 本组中早产儿休克、呼吸困难、DIC和肠鸣音减弱发生率较高, 我们推测可能与早产儿多数器官发育不完全、机体免疫功能低下等有关[10]; 因此对于早产儿需要密切观察患儿是否有气腹、腹水或肠梗阻等表现, 这些均对早期诊断本病提供了有用的参考信息. 对早产儿和足月儿发病原因分析后发现, 导致早产儿和足月儿发病原因主要有胃壁肌层缺损和坏死性小肠结肠炎, 这是因为新生儿胃肠功能较差、局部免疫应答能力较低, 容易发生肠腔压力增加、肠梗阻和肠管腔扩张等[11,12], 导致胃粘膜损伤和肠壁血流减少. 另外新生儿肠道产物分解不完全, 导致大量细菌滋生, 容易产生各种毒素, 进而破坏肠壁组织的完整性, 引起坏死性肠炎和穿孔.

3.2 治疗 对于新生儿胃肠穿孔的治疗主要以手术为主, 并联合内科综合治疗; 刘云峰等[13]报道气腹是新生儿胃肠穿孔手术治疗的主要适应症, 内科治疗多数无效. 而临床上手术方式主要有修补穿孔、坏死性肠断切除; 对于患儿炎症反应不明显或病灶较小为累及远端肠管者, 可以在初次手术时同时行肠吻合. 在本研究中简单修补缝合35例, Ⅰ期切除吻合38例, 肠造瘘28例, 腹腔引流3例, 取得较好的疗效. 早产组死亡13例, 占31.71%, 足月组死亡12例, 占19.05%, 死亡原因主要为败血症, 其次为感染; 因此在围手术期控制感染时降低死亡率的主要手段.

3.3 预后 在本研究中, 影响新生儿胃肠穿孔预后的主要因素有早产、坏死性肠炎、败血症、切口感染等; 因此我们认为提高预后的主要方法是早期诊断并给与积极治疗. 在发病早期给与患者积极的治疗能够缓解肠管扩张和毒素的吸收[14]; 患儿最佳手术时机为发病24 h内[15]. 此外做好产前诊断工作可以使新生儿的治愈率显著提高.

4 参考文献

1 Terui K, Iwai J, Yamada S, Takenouchi A, Nakata M, Komatsu S, Yoshida H. Etiology of neonatal gastric perforation: a review of 20 years' experience. *Pediatr Surg Int* 2012; 28: 9-14 [PMID: 22009207 DOI: 10.1007/s00383-011-3003-4]

2 Aydin M, Zenciroğlu A, Hakan N, Erdoğan D, Okumuş N, Ipek MS. Gastric perforation in an extremely low birth weight infant recovered with percutaneous peritoneal drainage. *Turk J Pediatr* 2011; 53: 467-470 [PMID: 21980855]

3 唐维兵, 徐小群, 耿其明, 张杰, 陈焕. 新生儿胃肠穿孔的临床特点和预后分析. 中华胃肠外科杂志 2009; 12: 423-424

4 陈快, 戴康临, 罗鸣, 邓庆强, 陶强, 黄金狮. 新生儿胃肠穿孔78例诊治分析. 临床小儿外科杂志 2010; 9: 209-210

5 Tytgat SH, Zwaveling S, Kramer WL, van der Zee DC. Laparoscopic treatment of gastric and duodenal perforation in children after blunt abdominal trauma. *Injury* 2012; 43: 1442-1444 [PMID: 21129741 DOI: 10.1016/j.injury.2010.11.002]

6 赵萍, 刘翔, 左伟, 高威, 张燕敏, 陈晓莉, 沈浩. 新生儿消化道穿孔55例临床分析. 临床小儿外科杂志 2011; 10: 470-471

7 Yoo JH, Shin SJ, Lee KM, Choi JM, Wi JO, Kim DH, Lim SG, Hwang JC, Cheong JY, Yoo BM, Lee KJ, Kim JH, Cho SW. Risk factors for perforations associated with endoscopic submucosal dissection in gastric lesions: emphasis on perforation type. *Surg Endosc* 2012; 26: 2456-2464 [PMID: 22398962 DOI: 10.1007/s00464-012-2211-x]

8 潘征, 夏吴春, 李洪波, 王刚, 李勇刚, 代江涛, 安永, 杨杰先. 新生儿食管闭锁的外科治疗. 中华小儿外科杂志 2011; 32: 275-277

9 龙腾河, 覃程. CT扫描在显示胃肠穿孔中气体的价值. 重庆医科大学学报 2009; 34: 1771-1772
10 Toyokawa T, Inaba T, Omote S, Okamoto A, Miyasaka R, Watanabe K, Izumikawa K, Horii J, Fujita I, Ishikawa S, Morikawa T, Murakami T, Tomoda J. Risk factors for perforation and delayed bleeding associated with endoscopic submucosal dissection for early gastric neoplasms: analysis of 1123 lesions. *J Gastroenterol Hepatol* 2012; 27: 907-912 [PMID: 22142449 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2011.07039.x]
11 许志玉. 新生儿消化道穿孔围手术期的护理. 护士进修杂志 2013; 28: 1767-1768
12 陈智华, 汪健. 新生儿消化道穿孔的早期诊断与治疗. 中国血液流变学杂志 2009; 19: 456-457, 476
13 刘云峰, 李在玲, 刘丽娟, 童笑梅, 朴梅花, 马继东. 早产儿消化道穿孔早期临床诊断的初步探讨. 中国儿童保健杂志 2012; 20: 211-213, 217
14 李杨. 特发性结肠坏死穿孔32例. 世界华人消化杂志 2010; 18: 1178-1181
15 Sammut SJ, Majid S, Shoab S. Phytobezoar: a rare cause of late upper gastrointestinal perforation following gastric bypass surgery. *Ann R Coll Surg Engl* 2012; 94: e85-e87 [PMID: 22391365 DOI: 10.1308/003588412X13171221588938]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年6月18日; 22(17): 2486-2492
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

Nucleobindin-2/nesfatin-1在人胃肠道组织中的表达

杨博瑜, 田字彬, 单信芝, 李晓宇, 魏良洲, 赵清喜, 孙桂荣

■背景资料
当今社会肥胖引起广泛关注, 肥胖可以给机体带来生理、病理改变, 严重影响人类健康, 摄食调节肽在调节机体生理稳态上具有重要意义. Nesfatin-1作为一种新发现的摄食调节肽, 在调节摄食和能量稳态中具有生理性作用.

杨博瑜, 田字彬, 单信芝, 李晓宇, 魏良洲, 赵清喜, 青岛大学附属医院消化内科 山东省青岛市 266003
孙桂荣, 青岛大学附属医院检验科 山东省青岛市 266003
杨博瑜, 硕士, 主要从事消化系统胃动力方面的研究.
国家自然科学基金资助项目, Nos. 81070305, 30470642
山东省自然科学基金资助项目, No. zr2010hm066
作者贡献分布: 杨博瑜与田字彬对本文所作贡献均等; 此课题由杨博瑜、田字彬、单信芝、李晓宇及魏良洲设计; 研究过程、数据统计分析由杨博瑜完成; 研究所用工具由赵清喜与孙桂荣提供; 论文写作由杨博瑜与田字彬完成.
通讯作者: 田字彬, 教授, 主任医师, 266003, 山东省青岛市江苏路16号, 青岛大学附属医院消化内科. tianzb@qdumh.qd.sd.cn
电话: 0532-82911302
收稿日期: 2014-03-18 修回日期: 2014-04-01
接受日期: 2014-04-20 在线出版日期: 2014-06-18

Expression of nucleobindin-2/nesfatin-1 in gastrointestinal tissues of people

Bo-Yu Yang, Zi-Bin Tian, Xin-Zhi Shan, Xiao-Yu Li, Liang-Zhou Wei, Qing-Xi Zhao, Gui-Rong Sun

Bo-Yu Yang, Zi-Bin Tian, Xin-Zhi Shan, Xiao-Yu Li, Liang-Zhou Wei, Qing-Xi Zhao, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao 266003, Shandong Province, China
Gui-Rong Sun, Department of Laboratory Medicine, Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao 266003, Shandong Province, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, Nos. 81070305 and 30470642; the Natural Science Foundation of Shandong Province, No. zr2010hm066
Correspondence to: Zi-Bin Tian, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Qingdao University, 16 Jiangsu Road, Qingdao 266003, Shandong Province, China. tianzb@qdumh.qd.sd.cn
Received: 2014-03-18 Revised: 2014-04-01
Accepted: 2014-04-20 Published online: 2014-06-18

Abstract

AIM: To detect the expression of nucleobindin-2 (NUCB2)/nesfatin-1 protein in gastric fundus, body, antrum and colonic mucosa of simple obese people and normal-weight people, and to analyze the differences in the distribution of nesfatin-1 positive immune cells between different gastric areas and between gastric areas and the colon.

METHODS: A total of 191 specimens were obtained from 96 obese people and 95 normal-weight people without chronic diseases, who received gastroscopy or enteroscopy. The specimens were collected from gastric fundus, body, antrum and colonic mucosa. The expression of NUCB2 mRNA was detected by real-time RT-PCR. The expression of NUCB2/nesfatin-1 protein in the normal mucosa specimens from 48 patients with gastric cancer and 16 with colon cancer after surgical treatment was detected by immunohistochemistry.

RESULTS: The expression levels of NUCB2 mRNA in the gastric fundus, body and antrum of simple obese people were 2.04, 2.17, and 1.83 times higher than those in the normal controls (P = 0.015, 0.006, 0.009). However, the expression levels of NUCB2 mRNA in the colonic mucosa showed no significant difference between the two groups (P = 0.069). The expression levels of NUCB2 mRNA in the gastric fundus, body and antrum mucosa of normal people were 2.64, 2.73, and 1.57 times higher than those in the colonic mucosa (P = 0.013, 0.005, 0.018), while the expression levels of NUCB2 mRNA in the gastric fundus, body and antrum mucosa of simple obese people were 2.76, 2.79, and 1.74 times higher than those in the colonic mucosa (P = 0.015, 0.009, 0.025). However, the expression level of NUCB2 mRNA in the gastric fundus and body showed no significant differences between simple obese people and normal people. Immunohistochemical analysis revealed the similar distribution pattern of NUCB2/nesfatin-1 in the lower 1/3 to 2/3 of the gastric mucosal glands. The expression levels of NUCB2/nesfatin-1 protein in gastric fundus, body and antrum were significantly increased in simple obese people compared with normal people.

CONCLUSION: NUCB2/nesfatin-1 is widely expressed in gastrointestinal tissues of people, and the expression of NUCB2 mRNA and NUCB2/nesfatin-1 protein is up-regulated in simple obese people. The expression of NUCB2 mRNA in the gastric fundus and body is higher than that in the antrum.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

■同行评议者
汤华, 研究员, 博士生导师, 重庆医科大学感染性疾病分子生物学重点实验室

Key Words: Nesfatin-1; NUCB2; Obesity; Gastrointestinal tract; Endocrine cells

Yang BY, Tian ZB, Shan XZ, Li XY, Wei LZ, Zhao QX, Sun GR. Expression of nucleobindin-2/nesfatin-1 in gastrointestinal tissues of people. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(17): 2486-2492 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2486.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i17.2486

摘要

目的: 检测摄食调节肽nucleobindin-2(NUCB2)/nesfatin-1在正常人与单纯性肥胖人的胃底、胃体、胃窦和结肠黏膜的表达. 分析nesfatin-1免疫细胞在不同胃区和肠区的分布差异及其在胃肠道的作用.

方法: 对正常与肥胖(体质量指数>30)志愿者行胃镜或肠镜检查后, 取胃底、胃体、胃窦、结肠四个位置的活检标本共计191个组织标本, 采用RT-PCR方法检测NUCB2 mRNA的表达; 采用免疫组织化学化学方法检测48例胃癌术后及16例结肠癌术后切除的癌旁正常组织NUCB2/nesfatin-1蛋白的表达.

结果: (1)肥胖组人胃底、胃体、胃窦NUCB2 mRNA表达量分别是正常组的2.04, 2.17, 1.83倍, 差异具有统计学意义(P分别为0.015、0.006和0.009); 两组结肠NUCB2 mRNA表达无统计学意义(P = 0.069); (2)正常组人胃底、胃体、胃窦NUCB2 mRNA相对表达量分别是结肠的2.64、2.73和1.57倍, 差异具有统计学意义(P分别为0.013、0.005和0.018). 肥胖组人胃底、胃体、胃窦NUCB2 mRNA表达量分别是结肠的2.76倍、2.79倍、1.74倍, 差异具有统计学意义(P分别为0.015、 0.009和0.025). 正常组胃底、胃体组织之间和肥胖组胃底、胃体组织之间NUCB2 mRNA表达差异均无统计学意义(P分别为0.091, 0.078); (3)人胃底、胃体、胃窦黏膜下1/3至2/3处内分泌细胞内均可检测到NUCB2/nesfatin-1蛋白的表达, 且在单纯性肥胖组阳性表达明显高于正常组, 差异具有统计学意义(P分别为0.021、0.011和0.016).

结论: NUCB2 mRNA在人胃肠道中都有广泛分布, 肥胖者较正常者胃黏膜组织NUCB2 mRNA及NUCB2/nesfatin-1蛋白表达上调, 且胃底、胃体均较胃窦黏膜组织NUCB2 mRNA相对表达量增多.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: Nesfatin-1; NUCB2; 肥胖; 胃肠道; 分泌细胞

核心提示: 本文通过研究单纯性肥胖和非肥胖正常人胃底、胃体、胃窦及结肠中nucleobindin-2(NUCB2) mRNA及NUCB2/nesfatin-1蛋白的分布特点及不同部位的表达差异, 为nesfatin-1与胃黏膜内分泌细胞相关性及其在胃肠道的作用提供理论依据.

杨博瑜, 田宇彬, 单信芝, 李晓宇, 魏良洲, 赵清喜, 孙桂荣. Nucleobindin-2/nesfatin-1在人胃肠道组织中的表达. 世界华人消化杂志 2014; 22(17): 2486-2492 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2486.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i17.2486

■研发前沿
Nesfatin-1在人胃底、胃体、胃窦及肠道表达研究较少, 尤其在不同胃区的表达差异的原因及其作用机制有待进一步研究.

0 引言

肥胖是食物摄入过多或机体代谢改变而导致体内脂肪尤其是甘油三脂的过多积聚从而造成体重过度增长并引起机体生理、病理改变的慢性代谢性疾病, 严重影响人类健康, 引起广泛关注[1-3]. 近年来发现的摄食调节肽nesfatin-1, 其前体是*NEFA*基因编码的420个氨基酸组成的多肽nucleobindin-2(NUCB2)[4], 广泛分布于调节摄食的中枢核团上及参与食物消化的胃肠道系统中[5,6], 特别在胃泌酸的内分泌细胞上有丰富的表达[7]. 实验研究表明在SD大鼠侧脑室中注射nesfatin-1能够减少其摄食和体质量, 禁食24 h后胃黏膜内分泌细胞NUCB2 mRNA表达减少[8]. 而NUCB2的氨基酸序列在人、大鼠和小鼠高度同源[9], 因此推测: (1)在肥胖和正常人消化系统中NUCB2 mRNA及NUCB2/nesfatin-1蛋白表达可能存在差异; (2)人胃黏膜中NUCB2 mRNA在不同胃区表达量可能不同. 本实验通过分子生物学及免疫组织化学的方法检测正常及肥胖人胃肠组织中NUCB2 mRNA及NUCB2/nesfatin-1蛋白的表达分布特点及不同部位的表达差异, 探讨nesfatin-1与机体体质量指数(body mass index, BMI)和身体脂肪的相关性及其在胃肠道的作用.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2012-11/2013-05于青岛大学附属医院行胃镜、结肠镜临床及病理诊断仅为慢性轻度浅表性胃炎、结肠未见明显异常、排除其他慢性疾病(甲状腺疾病、糖尿病、癌症及感染等)及相关基础疾病的体检志愿者191例研究对象, 其中男93例, 女98例, 年龄40岁±10岁, 分为

■相关报道
Goebel等的实验显示nesfatin-1水平在人血浆中也与BMI呈正相关; Shimizu实验证实, 在小鼠腹腔内注射nesfatin-1可延缓胃排空.

非肥胖组95例, BMI 21.58 kg/m^2±2.03 kg/m^2, 年龄36岁±7岁; 肥胖组96例, BMI 32.07 kg/m^2±1.46 kg/m^2, 年龄40岁±10岁. 通过内镜活检钳取相对固定位置的黏膜组织(胃底、胃体、胃窦及结肠)标本(为避免对志愿者重复损伤,每位志愿者仅选取一个部位作为样本), 采用Rt-PCR方法检测NUCB2 mRNA的表达. 另选取同期住院的胃癌、结肠癌, 且尚未进行放化疗方案的64例患者, 男35例, 女29例, 年龄: 50岁±20岁, 分为非肥胖组32例, BMI: 21.58 kg/m^2±2.15 kg/m^2, 年龄50岁±18岁; 肥胖组32例, BMI: 32.07 kg/m^2±2.09 kg/m^2, 年龄50岁±20岁. 选取切除相对正常的黏膜组织(距离肿瘤距离≥5 cm), 采用免疫组织化学方法检测NUCB2/nesfatin-1蛋白的表达. 所有志愿者在实验前均知情所做检查及相关检测, 同意并签署知情同意书, 所进行实验操作遵守赫尔辛基宣传守则, 且通过青岛大学附属医院伦理委员会审批. 逆转录试剂盒(DRR047A)、荧光染料试剂盒(DRR081A)及引物的设计合成(上海生工生物工程股份有限公司); 兔抗人nesfatin-1多克隆抗体(bs-3552R, 北京奥博森生物技术有限公司); 二步法免疫组织化学检测试剂(PV-6000, 北京中杉金桥生物技术有限公司); 实时荧光定量PCR仪(Rotor Gene 3000, 澳大利亚Corbett Research公司); 紫外线分光光度仪(NanoDrop 2000c, 美国Thermo公司); 显微镜(BX51TPHD-J11型, 日本Olympus公司); 多功能真彩色细胞图象分析系统(Image-Pro Plus, 美国Media Cybernetics公司).

1.2 方法

1.2.1 实时荧光定量RT-PCR检测NUCB2 mRNA的表达: 经内镜获取的胃底、胃体、胃窦及结肠黏膜取出后立即置于液氮冻存, 并迅速移至-80 ℃冰箱保存. 采用TRIzol常规方法分别取5 mg提取总RNA, 并于核酸定量仪对RNA进行定量分析, 根据$A_{260/280}$测定所提取RNA的纯度. 取1 μg总RNA为模版, 按逆转录说明书反转录合成cDNA, 并以cDNA为模版进行实时荧光定量PCR, 内参序列如下: 5'-CACCAGGGCTGCTTTTAACTC-3'(上游), 5'-TGGAAGATGGTGATGGGATTT-3'(下游); 引物序列如下: 5'-CTAATCAAAGCGGCAACAAGT-3'(上游), 5'-TCCATCAGTCTCTTCCCATAC-3'(下游). 反应条件为: 95 ℃预变性30 s, 95 ℃变性5 s, 60 ℃退火30 s, 72 ℃延伸30 s, 共计40个循环. 反应结束后分析融解曲线, 由扩增曲线得到各产物Ct值, 以$2^{-\Delta\Delta Ct}$表示样本中NUCB2 mRNA的相对表达量.

1.2.2 免疫组织化学检测NUCB2/nesfatin-1蛋白的表达: 术后迅速取病变远端正常组织经常规固定、包埋、切片、脱蜡、水化后, 用枸橼酸盐缓冲液(pH = 6.0)加热修复后, 经3%过氧化氢去离子水孵育5 min, 滴加一抗为兔抗人nesfatin-1多克隆抗体, 4 ℃孵育过夜, 滴加山羊抗兔二抗37 ℃孵育15 min, 并用PBS代替一抗做阴性对照试验, DAB显色后经蒸馏水冲洗、复染、脱水、透明封片后, 于显微镜下观察. 在组织切片中, NUCB2/nesfatin-1阳性细胞表现为染色为棕黄色. 按(1)按Image-Pro Plus图象分析系统计数阳性细胞的百分比记分: 阳性细胞数<5%计0分, 6%-24%计1分, 25%-49%计2分, 50%-74%计3分, ≥75%计4分; (2)按染色强度记分: 未染色或染色不清为0分, 淡黄色为1分, 棕黄色为2分, 深棕色或褐色为3分. 每张切片记分等于以上两项记分的乘积: 0分为阴性(-), l-3分为弱阳性(+), 4-7分为阳性(++), 8-12分为强阳性(+++).

统计学处理 采用SPSS19.0统计学软件进行数据分析. 计量资料经正态性及方差齐性检验, 采用非配对*t*检验分析各组间差异; 计数资料采用等级秩和检验(Mann-Whitney法); $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 NUCB2 mRNA在人胃肠组织中检测 单纯性肥胖组人胃底、胃体及胃窦NUCB2 mRNA相对表达量增多, 均高于非肥胖正常组, 分别是正常组的2.04(0.86-3.87)倍、2.17(0.97-3.90)倍及1.83(0.87-3.10)倍, 差异具有统计学意义(P分别为0.015、0.006、0.009), 两组人结肠NUCB2 mRNA表达无统计学意义($P = 0.069$)(图1A-D).

两组人胃底、胃体都较同组胃窦NUCB2 mRNA相对表达量增多, 结肠NUCB2 mRNA相对表达量最少. 非肥胖正常组人胃底、胃体及胃窦NUCB2 mRNA相对表达量分别是结肠的2.64(1.24-4.42)倍、2.73(1.40-4.41)倍及1.57(0.82-2.77)倍, 差异具有统计学意义(P分别为0.013、0.005、0.018). 肥胖组人胃底、胃体及胃窦NUCB2 mRNA表达量分别是结肠的2.76(1.51-4.42)倍、2.79(1.54-4.47)倍及1.74(0.85-2.86)倍, 差异具有统计学意义(P分别为0.015、0.009、0.025). 非肥胖正常组胃底、胃体组织之间NUCB2 mRNA表达差异与肥胖组胃底、胃体组织之间NUCB2 mRNA表达差异都无

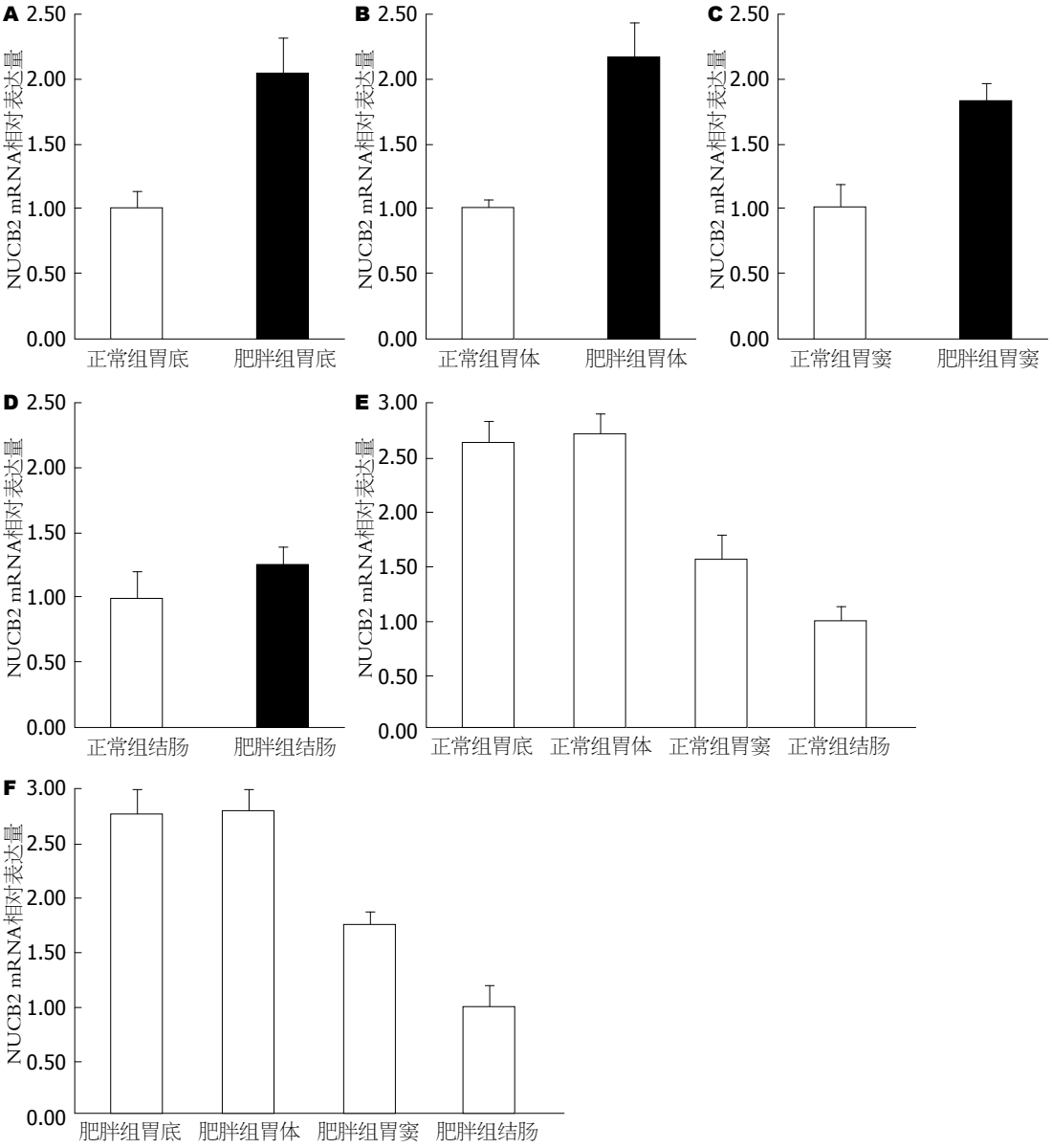


图 1 NUCB2 mRNA在正常组及肥胖组胃肠组织中的表达. A-C: 分别为NUCB2 mRNA在单纯性肥胖组人与非肥胖正常组的胃底、胃体及胃窦的相对表达量; D: 单纯性肥胖组人与非肥胖正常组的结肠NUCB2 mRNA相对表达量; E: NUCB2 mRNA在正常组人胃底、胃体、胃窦、结肠的相对表达量; F: NUCB2 mRNA在肥胖组人胃底、胃体、胃窦、结肠的相对表达量.

■创新盘点

本文首次从胃底、胃体及胃窦三个胃区研究nesfatin-1的表达差异, 提示nesfatin-1的表达量与胃内分泌细胞在胃黏膜的分布差异有关, 提示可能在外周组织中直接通过胃肠道参与摄食行为、胃肠动力及胃酸分泌的调节.

统计学意义(*P*分别为0.091、0.078)(图1E, F).

2.2 NUCB2/nesfatin-1蛋白在人胃肠组织的表达 NUCB2/nesfatin-1免疫阳性物质为暗棕色颗粒, 在正常组和单纯性肥胖组人胃黏膜下1/3至2/3处内分泌细胞内均可检测到NUCB2/nesfatin-1蛋白的表达, 其在肥胖组阳性表达明显高于正常组, 且在胃底、胃体、胃窦中阳性表达有统计学意义(*P*分别为0.021、0.011和0.016). 而在结肠中未检测到其分布(图2).

3 讨论

NUCB2是*NEFA*基因编码的420个氨基酸组成的多肽(nucleobindinⅡ), NUCB2上有与DNA和Ca^{2+}结合的位点, 在激素原转换酶的作用下, NUCB2裂解为N-末端的82个氨基酸称之为nesfatin-1(除信号肽以外的第1-82位氨基酸), nesfatin-2(由79个氨基酸组成: 第85-163位氨基酸)和nesfatin-3(由231个氨基酸组成: 第166-396位氨基酸)三个片断[10], 在大鼠侧脑室中注入此三个片段, 结果显示只有nesfatin-1使大鼠摄食呈剂量依赖性减少并持续6 h, 而nesfatin-2和nesfatin-3均未见明显效应[4]. 另一项实验研究将nesfatin-1的特异性抗体Ab-24注入侧脑室后大鼠摄食量明显增多, 而注射nesfatin-3的特异

■应用要点
本文研究nesfatin-1在单纯性肥胖与非肥胖正常人胃肠道表达差异, 使nesfatin-1成为与肥胖相关的疾病在临床诊治提供理论依据.

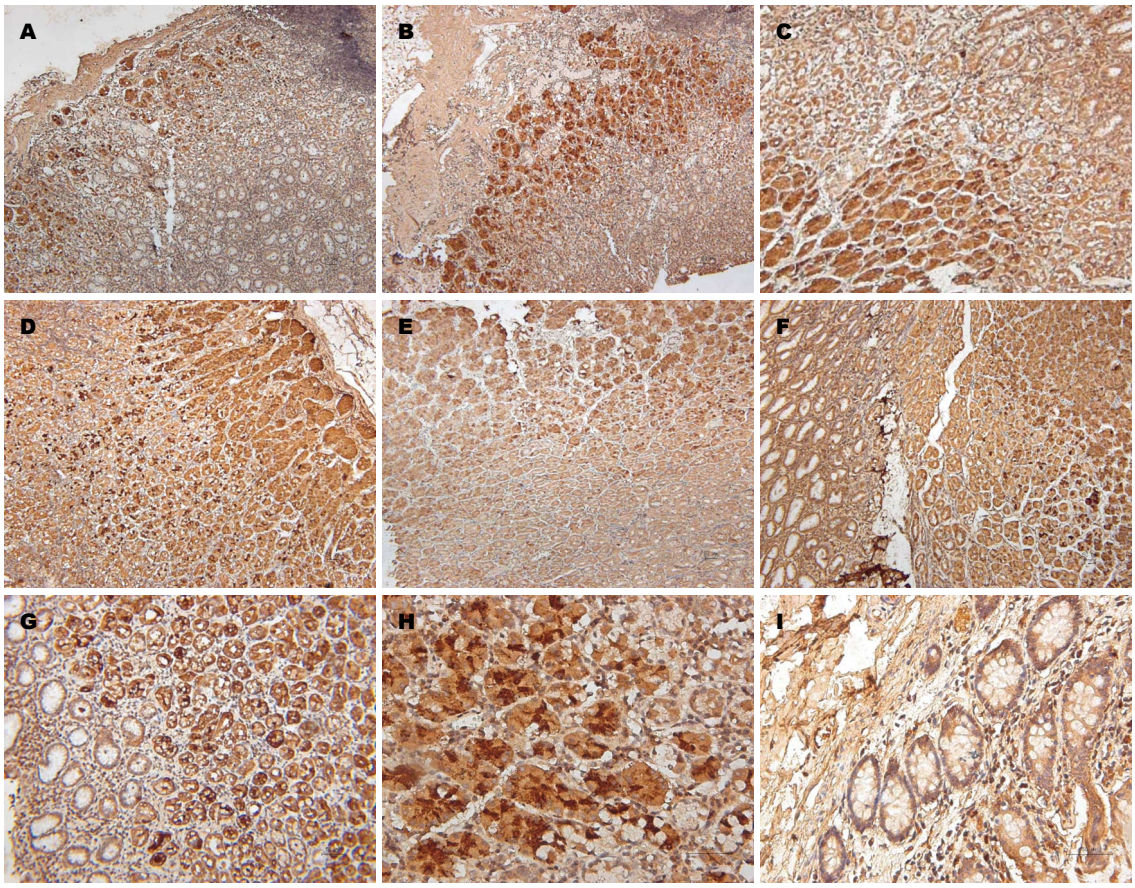


图 2 NUCB2/nesfatin-1蛋白在人胃肠道的表达. A, B: 正常组和肥胖组NUCB2/nesfatin-1蛋白在胃底组织中的表达(×100); C, D: 正常组和肥胖组NUCB2/nesfatin-1蛋白在胃体组织中的表达(×100); E, F: 正常组和肥胖组NUCB2/nesfatin-1蛋白在胃窦组织中的表达(×100); G: 为NUCB2/nesfatin-1蛋白在人的胃黏膜下1/3至2/3处内分泌细胞内表达(×200); H: NUCB2/nesfatin-1蛋白在人的胃黏膜下1/3至2/3处内分泌细胞内表达(×400); I: 为NUCB2/nesfatin-1蛋白在人的结肠阴性对照(×400).

性抗体Ab-301后大鼠摄食量未见明显改变. 另外, nesfatin-1分子量约为9.7 kDa. 比较人和大鼠的nesfatin-1只有11个氨基酸不相同. 由此可见, nesfatin-1是一种抑制食欲的多肽, 并且他的氨基酸序列在人类和鼠类之间有高度的保守性.

众所周知, 下丘脑室旁核、弓状核和下丘脑外侧区均是摄食调节中枢. 大多数摄食调节分子不仅存在于中枢也常分布于外周, 特别是消化系统[11]. 最新研究显示, nesfatin-1的神经元主要分布于下丘脑室旁核(paraventricular nucleus of hypothalamus, PVN)、视上核(supraoptic nucleus, SON)、下丘脑外侧区(lateral hypothalamic area, LHA)、弓状核(arcuatenucleus, ARC)和孤束核(nucleusofsolitarytract, NTS), 动眼神经副交感核、迷走神经背核、大鼠的尾脊核等, 而以室旁核NUCB2 mRNA表达最高, 其他位置的分布较少[7,12-14]. 由于nesfatin-1是可以自由通过血脑屏障的[15,16], 提示nesfatin-1在外周可能也有分布. Stengel等[6]研究发现, 大鼠胃黏膜NUCB2 mRNA含量较脑组织和心脏约高10倍, 主要分布于胃黏膜泌酸腺下1/3至中1/2的内分泌细胞, 胃窦部分布较少, 壁细胞基本不表达nesfatin-1, 且大部分存在于X/A细胞的囊泡中, 少部分与生长抑素或组氨酸脱羧酶共存, 而且胃黏膜NUCB2 mRNA的表达比脑组织高十几倍. 相关动物实验研究显示, 大鼠禁食24 h后, 胃内NUCB2 mRNA含量明显下降, 提示NUCB2及其相关肽可能参与胃肠功能的生理调节, 且*NUCB2*基因表达可能受营养状态的调控. 这些结果提示nesfatin-1不仅仅在下丘脑进行调节, 而且在食物抵达胃之后, 胃黏膜的nesfatin-1在调节摄食和能量稳态中可能具有生理性作用.

本实验证实人胃体、胃底、胃窦黏膜组织中NUCB2 mRNA及NUCB2/nesfatin-1蛋白均有表达, 且肥胖人群中上述部位中NUCB2 mRNA及NUCB2/nesfatin-1蛋白表达均增多, 推测nesfatin-1在人胃组织的表达与人营养状态关系密切. 当人摄食过多和营养过度时, 由于负反馈机

制, 使饱食分子nesfatin-1反馈性的表达上调, 从而表现出抑制摄食和减轻体质量的作用. 但摄食这种复杂的生理活动涉及中枢核团、神经通路、外周胃肠道、多种内分泌因子、运动及周围环境的改变等因素的共同调节. 因此, nesfatin-1在人消化系组织中的表达量是否呈剂量依赖性抑制摄食活动影响食欲, 还需进一步研究NUCB2/nesfatin-1在中枢及外周的分布特点, 从而明确nesfatin-1影响摄食调节的作用通路及具体机制. 另有研究显示, 中枢注射α-促黑素细胞激素能提高下丘脑室旁核NUCB2/nesfatin-1的基因表达[8], 考虑nesfatin-1信号作用通路可能与下丘脑黑皮激素信号通路有相关联系. 已有研究证实, NUCB2/nesfatin-1及NUCB2 mRNA在肥胖大鼠胃组织表达增加, 并与大鼠Lee's指数呈正相关[17], 同时nesfatin-1水平在人血浆中也与BMI呈正相关[18-20], 这和单纯性肥胖人胃黏膜组织中表达增多基本一致, 从而可以进一步证实血浆中nesfatin-1来源于胃组织内分泌细胞. 而NUCB2/nesfatin-1可以通过血脑屏障, 可以考虑在中枢及外周产生的NUCB2/nesfatin-1同时对机体的摄食活动及食欲产生抑制作用从而调节机体体质量.

本次实验我们发现, NUCB2/nesfatin-1在正常及肥胖人的胃黏膜下1/3至2/3处内分泌细胞内, 而Wistar大鼠NUCB2/nesfatin-1表达于胃黏膜下2/3[20], ICR小鼠NUCB2/nesfatin-1表达于胃黏膜下1/3[5], 这种NUCB2/nesfatin-1在人、Wistar大鼠及ICR小鼠胃黏膜中的表达分布的细微差别, 提示其在胃的分布存在种属差异. 实验结果还发现NUCB2/nesfatin-1在人胃体、胃底的表达均多于胃窦, 考虑可能与内分泌细胞在胃黏膜的分布差异有关. 众所周知, 胃黏膜上皮、肠上皮及腺上皮弥散分布多种内分泌细胞, 协调胃肠运动及分泌功能, 但不同部位内分泌细胞的种类与数量也存在较为明显的区别, 胃泌酸区(体底)黏膜可见ECL细胞, P细胞, EC细胞, X细胞, 偶见D细胞; 胃窦黏膜可见G细胞, D细胞, EC细胞. 这些细胞的活动中绝大多数细胞(开放型)受胃腔内的食物和pH的刺激而分泌激素, 少数细胞(闭合性)受胃肠运动的机械刺激或其他激素调节而改变其内分泌活动[21]. 这也进一步证实了胃组织内分泌细胞中大量存在NUCB2/nesfatin-1的推论. 尽管在人结肠组织中检测到NUCB2 mRNA的表达, 但免疫组织化学方法并未检测到结肠组织NUCB2/nesfatin-1蛋白的表达, 这可能与结肠组织中NUCB2/nesfatin-1蛋白含量较低有关. Shimizu实验证实, 腹腔内注射nesfatin-1可延缓胃排空[22], 同时nesfatin-1可以抑制正常及肥胖大鼠在体及离体平滑肌的收缩[23,24]. 根据报道胃黏膜有大量的激素原转换酶(PC-1/3、PC-2)的mRNA[17], 提示存在NUCB2/nesfatin-1在胃组织中被进一步加工剪切处理形成nesfatin-1的可能性, 进而在外周组织中nesfatin-1可以直接通过胃肠道参与摄食行为、胃肠动力及胃酸分泌的调节.

此外, 本次实验采用实时荧光定量RT-PCR检测NUCB2 mRNA在胃底、胃体、胃窦及结肠的表达量中所取的样本是在内镜下活检钳取出的相对健康志愿者黏膜表面组织, 而免疫组织化学检测NUCB2/nesfatin-1蛋白在胃底、胃体、胃窦及结肠表达所取样本是有消化系肿瘤状态下无明显恶病质及代谢性疾病(糖尿病、甲亢)的志愿者手术切除后癌旁相对正常的全黏膜组织, 虽然有实验检测出禁食12 h下的正常人、消化系肿瘤患者血浆中nesfatin-1水平并无明显差异[25], 但NUCB2/nesfatin-1在相对健康的人与患有消化系统肿瘤患者的胃肠道组织中的表达差异有待进一步完善研究.

总之, 本实验研究显示NUCB2/nesfatin-1这种功能复杂的内分泌因子广泛分布在人消化系统, 其为摄食行为、能量平衡、糖脂代谢及胃肠动力的调节起到了重要作用, 并为其通过外周组织参与生理活动的调节提供了理论依据. 所以, NUCB2/nesfatin-1与人类某些疾病关系密切, 有待于进一步积极探索和研究.

■同行评价
本文具有一定临床指导意义.

4 参考文献

1 Djärv T, Wikman A, Nordenstedt H, Johar A, Lagergren J, Lagergren P. Physical activity, obesity and gastroesophageal reflux disease in the general population. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 3710-3714 [PMID: 22851863 DOI: 10.3748/wjg.v18.i28.371]

2 Kim MC, Kim CS, Chung TH, Park HO, Yoo CI. Metabolic syndrome, lifestyle risk factors, and distal colon adenoma: a retrospective cohort study. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 4031-4037 [PMID: 22046093 DOI: 10.3748/wjg.v17.i35.4031]

3 Pałasz A, Krzystanek M, Worthington J, Czajkowska B, Kostro K, Wiaderkiewicz R, Bajor G. Nesfatin-1, a unique regulatory neuropeptide of the brain. *Neuropeptides* 2012; 46: 105-112 [PMID: 22225987 DOI: 10.1016/j.npep.2011.12.002]

4 Oh-I S, Shimizu H, Satoh T, Okada S, Adachi S, Inoue K, Eguchi H, Yamamoto M, Imaki T, Hashimoto K, Tsuchiya T, Monden T, Horiguchi K, Yamada M, Mori M. Identification of nesfatin-1 as a satiety molecule in the hypothalamus. *Nature* 2006;

443: 709-712 [PMID: 17036007 DOI: 10.1038/nature05162]
5 Zhang AQ, Li XL, Jiang CY, Lin L, Shi RH, Chen JD, Oomura Y. Expression of nesfatin-1/NUCB2 in rodent digestive system. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 1735-1741 [PMID: 20380005 DOI: 10.3748/wjg.v16.i14.1735]
6 Stengel A, Goebel M, Yakubov I, Wang L, Witcher D, Coskun T, Taché Y, Sachs G, Lambrecht NW. Identification and characterization of nesfatin-1 immunoreactivity in endocrine cell types of the rat gastric oxyntic mucosa. *Endocrinology* 2009; 150: 232-238 [PMID: 18818289 DOI: 10.1210/en.2008-0747]
7 Kohno D, Nakata M, Maejima Y, Shimizu H, Sedbazar U, Yoshida N, Dezaki K, Onaka T, Mori M, Yada T. Nesfatin-1 neurons in paraventricular and supraoptic nuclei of the rat hypothalamus coexpress oxytocin and vasopressin and are activated by refeeding. *Endocrinology* 2008; 149: 1295-1301 [PMID: 18048495 DOI: 10.1210/en.2007-1276]
8 Shimizu H, Oh-I S, Hashimoto K, Nakata M, Yamamoto S, Yoshida N, Eguchi H, Kato I, Inoue K, Satoh T, Okada S, Yamada M, Yada T, Mori M. Peripheral administration of nesfatin-1 reduces food intake in mice: the leptin-independent mechanism. *Endocrinology* 2009; 150: 662-671 [PMID: 19176321 DOI: 10.1210/en.2008-0598]
9 Fort P, Salvert D, Hanriot L, Jego S, Shimizu H, Hashimoto K, Mori M, Luppi PH. The satiety molecule nesfatin-1 is co-expressed with melanin concentrating hormone in tuberal hypothalamic neurons of the rat. *Neuroscience* 2008; 155: 174-181 [PMID: 18573315 DOI: 10.1016/j.neuroscience.2008.05.035]
10 Stengel A, Taché Y. Nesfatin-1--role as possible new potent regulator of food intake. *Regul Pept* 2010; 163: 18-23 [PMID: 20580651 DOI: 10.1016/j.regpep.2010.05.002]
11 Skibicka KP, Dickson SL. Enteroendocrine hormones - central effects on behavior. *Curr Opin Pharmacol* 2013; 13: 977-982 [PMID: 24091195 DOI: 10.1016/j.coph.2013.09.004]
12 Saper CB, Chou TC, Elmquist JK. The need to feed: homeostatic and hedonic control of eating. *Neuron* 2002; 36: 199-211 [PMID: 12383777]
13 Inhoff T, Stengel A, Peter L, Goebel M, Taché Y, Bannert N, Wiedenmann B, Klapp BF, Mönnikes H, Kobelt P. Novel insight in distribution of nesfatin-1 and phospho-mTOR in the arcuate nucleus of the hypothalamus of rats. *Peptides* 2010; 31: 257-262 [PMID: 19961888 DOI: 10.1016/j.peptides.2009.11.024]
14 Brailoiu GC, Dun SL, Brailoiu E, Inan S, Yang J, Chang JK, Dun NJ. Nesfatin-1: distribution and interaction with a G protein-coupled receptor in the rat brain. *Endocrinology* 2007; 148: 5088-5094 [PMID: 17627999]
15 Pan W, Hsuchou H, Kastin AJ. Nesfatin-1 crosses the blood-brain barrier without saturation. *Peptides* 2007; 28: 2223-2228 [PMID: 17950952]
16 Price TO, Samson WK, Niehoff ML, Banks WA. Permeability of the blood-brain barrier to a novel satiety molecule nesfatin-1. *Peptides* 2007; 28: 2372-2381 [PMID: 18006117 DOI: 10.1016/j.peptides.2007.10.008]
17 李伟娜, 田字彬, 魏良洲, 孙桂荣, 张翠萍, 葛银林, 徐珞. Nesfatin-1/NUCB2在肥胖大鼠胃肠道组织中的表达. 世界华人消化杂志 2013; 21: 320-326
18 Atsuchi K, Asakawa A, Ushikai M, Ataka K, Tsai M, Koyama K, Sato Y, Kato I, Fujimiya M, Inui A. Centrally administered nesfatin-1 inhibits feeding behaviour and gastroduodenal motility in mice. *Neuroreport* 2010; 21: 1008-1011 [PMID: 20827224 DOI: 10.1097/WNR.0b013e32833f7b96]
19 Gonzalez R, Kerbel B, Chun A, Unniappan S. Molecular, cellular and physiological evidences for the anorexigenic actions of nesfatin-1 in goldfish. *PLoS One* 2010; 5: e15201 [PMID: 21151928 DOI: 10.1371/journal.pone.0015201]
20 Goebel M, Stengel A, Wang L, Lambrecht NW, Taché Y. Nesfatin-1 immunoreactivity in rat brain and spinal cord autonomic nuclei. *Neurosci Lett* 2009; 452: 241-246 [PMID: 19348732 DOI: 10.1016/j.neulet.2009.01.064]
21 邹仲之, 李继承, 曾园山, 周莉. 组织学与胚胎学. 第8版. 北京: 人民卫生出版社, 2013, 145-148
22 Shimizu H, Oh-I S, Okada S, Mori M. Nesfatin-1: an overview and future clinical application. *Endocr J* 2009; 56: 537-543 [PMID: 19461159]
23 王百惠, 田字彬, 孙桂荣, 徐珞, 李娜, 魏良洲, 孔心涓. Nesfatin-1对大鼠胃平滑肌收缩活动及胃排空的影响. 中华消化杂志 2012; 32: 417-419
24 李娜, 田字彬, 孙桂荣, 魏良洲, 徐珞, 王百惠, 孔心涓, 丁雪丽, 崔铭娟. Nesfatin-1对肥胖大鼠胃排空及胃平滑肌条收缩性的影响. 世界华人消化杂志 2012; 20: 631-637
25 Macro JA, Dimaline R, Dockray GJ. Identification and expression of prohormone-converting enzymes in the rat stomach. *Am J Physiol* 1996; 270: G87-G93 [PMID: 8772505]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com
世界华人消化杂志 2014年6月18日; 22(17): 2493-2497
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

序贯肠内营养对高血压脑室出血患者营养指标和预后的影响

刘晓峰, 周子伟, 张建宁

刘晓峰, 周子伟, 张建宁, 天津医科大学总医院神经外科 天津市 300052
刘晓峰, 主要从事神经外科疾病的相关研究.
作者贡献分布: 此课题由刘晓峰、周子伟及张建宁设计; 研究过程由刘晓峰与周子伟操作完成; 研究所用试剂由张建宁提供; 本论文写作与数据分析由刘晓峰完成.
通讯作者: 张建宁, 教授, 主任医师, 300052, 天津市和平区鞍山道154号, 天津医科大学总医院神经外科.
fengneurosurgery@gmail.com
收稿日期: 2014-04-06 修回日期: 2014-05-04
接受日期: 2014-05-06 在线出版日期: 2014-06-18

Effect of sequential enteral nutrition on nutritional status and prognosis in patients with hypertensive intraventricular hemorrhage

Xiao-Feng Liu, Zi-Wei Zhou, Jian-Ning Zhang

Xiao-Feng Liu, Zi-Wei Zhou, Jian-Ning Zhang, Department of Neurosurgery, Tianjin Medical University General Hospital, Tianjin 300052, China
Correspondence to: Jian-Ning Zhang, Professor, Chief Physician, Department of Neurosurgery, Tianjin Medical University General Hospital, 154 Anshan Road, Heping District, Tianjin 300052, China. fengneurosurgery@gmail.com
Received: 2014-04-06 Revised: 2014-05-04
Accepted: 2014-05-06 Published online: 2014-06-18

Abstract

AIM: To investigate the effect of sequential enteral nutrition on nutritional status and prognosis in patients with hypertensive intraventricular hemorrhage.

METHODS: A retrospective analysis of 54 patients with hypertensive intraventricular hemorrhage treated at our hospital from September 2011 to September 2013 was performed. Depending on the mode of nutrition, the patients were divided into either an experimental group (n = 29) or a control group (n = 25). The experimental group received sequential enteral nutrition from the third day after admission, while the control group received isocaloric amount of liquid diet and parenteral nutrition. On the 2nd and 16th d after admission, neurological scores were tested using the National Institutes of Health Stroke Scale (NIHSS), and hemoglobin, albumin, transferrin and lymphocyte count were recorded. The incidences of diarrhea, gastric retention, stress-induced gastrointestinal bleeding and pulmonary infection were observed. The hospitalization time of each patient was counted.

RESULTS: On the 2nd d after admission, there were no significant differences in hemoglobin, albumin, transferrin or lymphocyte count between the experimental group and the control group. On the 16th d, hemoglobin, albumin, transferrin and lymphocyte count in the experimental group were significantly higher than those in the control group (132.15 g/L ± 14.39 g/L *vs* 117.69 g/L ± 10.73 g/L, 39.65 g/L ± 7.88 g/L *vs* 32.15 g/L ± 5.48 g/L, 2.14 g/L ± 0.21 g/L *vs* 1.80 g/L ± 0.45 g/L, 2.13 × 10^9 ± 0.39 × 10^9 *vs* 1.79 × 10^9 ± 0.33 × 10^9, P < 0.05 for all). The incidences of diarrhea and gastric retention showed no significant differences between the experimental group and the control group. The incidences of stress-induced gastrointestinal bleeding and pulmonary infection in the experimental group were significantly lower than those in the control group (3.45% *vs* 24.00%, 6.90% *vs* 32.00%, P < 0.05 for all). The hospitalization time in the experimental group was significantly less than that in the control group (23.92 d ± 3.76 d *vs* 26.96 d ± 5.53 d, P < 0.05).

CONCLUSION: Sequential enteral nutrition can effectively improve nutritional status, reduce the incidences of stress-induced gastrointestinal bleeding and pulmonary infection, promote neural function recovery, and reduce hospitalization in patients with hypertensive intraventricular hemorrhage.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Intraventricular hemorrhage; Sequen-

■背景资料
高血压脑室出血易发生全身性代谢紊乱, 37%-78%的患者合并吞咽困难, 极易发生营养不良和应激性胃肠道出血. 故在治疗过程中选择合适和营养支持治疗, 可能有利于患者的康复.

■同行评议者
郝丽萍, 副教授, 华中科技大学同济医学院公共卫生学院营养与食品卫生学系

■研发前沿
营养支持治疗是危重患者不可缺少的治疗措施. 序贯肠内营养由于更接近生理、更安全, 可有效改善营养状态, 保护胃肠道屏障, 增强机体免疫功能. 在危重症患者的治疗中越来越受重视. 目前, 针对序贯肠内营养的研究较少, 值得广大临床医生关注和研究.

tial enteral nutrition; Stress-induced gastrointestinal bleeding; Pulmonary infection

Liu XF, Zhou ZW, Zhang JN. Effect of sequential enteral nutrition on nutritional status and prognosis in patients with hypertensive intraventricular hemorrhage. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(17): 2493-2497 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2493.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i17.2493

摘要

目的: 探讨序贯肠内营养(sequential enteral nutrition, SEN)支持对高血压脑室出血患者营养指标和预后的影响.

方法: 回顾性分析我院2011-09/2013-09收治的高血压脑室出血患者54例, 根据治疗方法不同分为两组. 试验组(n = 29)入院第3天通过鼻胃管开始予以肠内营养(enteral nutrition, EN)制剂百普力, 2-3 d后予以EN制剂能全力, 共计14 d. 对照组(n = 25)予以等热卡量鼻饲流质及肠外营养支持. 入院后2和16 d的进行美国国立卫生研究院卒中量表评分, 进行血红蛋白(hemoglobin, Hb)、血清白蛋白(albumin, ALB)、转铁蛋白(transferrin, TF)含量测定和含量, 进行淋巴细胞计数(total lymphocyte count, TLC). 统计腹泻、胃潴留、应激性胃肠道出血、肺感染发生率以及住院时间.

结果: 试验组入院第2天Hb、ALB、TF含量测定和TLC与对照组无统计学差异. 试验组第16天Hb、ALB、TF含量测定和TLC均高于对照组(132.15 g/L±14.39 g/L *vs* 117.69 g/L±10.73 g/L, 39.65 g/L±7.88 g/L *vs* 32.15 g/L±5.48 g/L, 2.14 g/L±0.21 g/L *vs* 1.80 g/L±0.45 g/L, $2.13\times10^9\pm0.39\times10^9$ *vs* $1.79\times10^9\pm0.33\times10^9$, 均$P$<0.05). 试验组腹泻和胃潴留发生率和对照组无统计学差异. 试验组应激性胃肠道出血、肺感染发生率显著低于对照组(3.45% *vs* 24.00%, 6.90% *vs* 32.00%, 均P<0.05), 住院时间明显低于对照组(23.92 d±3.76 d *vs* 26.96 d±5.53 d, P<0.05).

结论: SEN能有效改善高血压脑室出血患者的营养状况, 降低应激性胃肠道出血和肺感染的发生率, 促进神经功能的恢复, 减少住院时间.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 脑室出血; 序贯肠内营养; 应激性胃肠道出血; 肺感染

核心提示: 对高血压脑室出血患者采用序贯肠内营养(sequential enteral nutrition)治疗, 能够改善患者的营养状况, 降低肠内营养并发症发生率, 预防应激性胃肠道出血, 降低肺部感染发生率, 改善神经功能, 缩短住院时间.

刘晓峰, 周子伟, 张建宁. 序贯肠内营养对高血压脑室出血患者营养指标和预后的影响. 世界华人消化杂志 2014; 22(17): 2493-2497 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2493.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i17.2493

0 引言

脑室出血是临床常见的危重症, 最常见的原因是高血压性脑室出血[1], 高血压性脑室出血由高血压脑出血破入脑室引起, 其出血量大, 脑损伤重, 往往合并严重的意识障碍、吞咽功能障碍和神经内分泌紊乱, 患者发生营养不良和应激性胃肠道出血的发生率远高于其他脑出血患者. 2007年我国颁布的《中国卒中患者营养管理专家共识》[2], 推荐卒中患者使用“序贯肠内营养(sequential enteral nutrition, SEN)”方式. 近些年来, SEN在脑出血患者中的应用受到越来越多的重视[3]. 然而, 对病情更重的高血压脑室出血患者的营养支持治疗, 国内研究甚少. 我们对54例高血压脑出血破入脑室患者进行SEN支持治疗, 分析SEN支持对患者营养指标和预后的影响, 为高血压脑室出血的治疗提供参考. 现报告如下.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2011-09/2013-09天津医科大学总医院神经外科、ICU病房治疗的高血压脑室出血患者54例. 入组标准: (1)所有病例均符合1995年第4届全国脑血管学术会议制订的脑出血诊断标准, 并经头颅CT证实; (2)患者均发病12 h内入院, 均为自发性基底节脑出血破入脑室, 出血量为中度出血(30-60 mL); (3)所有病例发病前均无消化性溃疡、慢性肝病、出血性疾病史; (4)观察期间无死亡和自动出院, 终止研究者. 排除标准: (1)脑疝晚期(双瞳孔散大)、小脑出血、脑干出血及脑干功能衰竭, 明确的脑动脉瘤、脑血管畸形、动静脉畸形、外伤、肿瘤卒中所致的出血; (2)已知服用肾上腺皮质激素、非甾体抗炎药史. 根据治疗方法不同, 患者分为两组: 试验组(n = 29)和对照组(n = 25). 两组患者除营养支持外均采用相似药物治疗. 本研究遵守医院伦理委员会的相关规定.

1.2 方法

1.2.1 常规治疗: 患者均于入院后均常规脱水、

■相关报道
目前针对脑出血后营养支持的相关文章多集中于早期肠内营养, 而对肠内营养时机和方式的研究较少. 故本文把研究点放在序贯肠内营养上, 着重探讨序贯肠内营养对患者营养状况改善以及并发症的影响.

■创新盘点
首次关注序贯肠内营养支持对高血压脑室出血患者营养指标和预后的影响.

表 1 两组患者基本资料比较

分组	n	性别		平均年龄(岁)	出血量(mL)	GCS昏迷评分
		男	女			
试验组	29	21	8	57.08 ± 13.14	38.77 ± 5.67	7.76 ± 1.92
对照组	25	18	7	56.84 ± 11.76	39.04 ± 5.80	7.65 ± 1.90
统计量		χ^2 = 0.001		t = 0.0702	t = 0.1726	t = 0.2109
		P = 0.973		P = 0.9443	P = 0.8636	P = 0.8338

表 2 两组患者血清营养变化指标比较 (mean ± SD)

分组	n	血红蛋白(g/L)		血清白蛋白(g/L)		转铁蛋白(g/L)		淋巴细胞计数(x10^9)	
		2 d	16 d	2 d	16 d	2 d	16 d	2 d	16 d
试验组	29	131.85 ± 10.54	132.15 ± 14.39[a]	40.15 ± 5.86	39.65 ± 7.88[a]	2.21 ± 0.36	2.14 ± 0.21[a]	1.74 ± 0.34	2.13 ± 0.39[a]
对照组	25	132.04 ± 8.52	117.69 ± 10.73	39.42 ± 4.39	32.15 ± 5.48	2.22 ± 0.37	1.80 ± 0.45	1.73 ± 0.57	1.79 ± 0.33
t值		0.0721	4.129	0.5111	3.996	0.1005	3.639	0.0795	3.427
P值		0.9428	0.0001	0.6114	0.0002	0.9203	0.0006	0.9369	0.0012

[a]P<0.05 *vs* 对照组.

控制血压、抗感染及应用神经营养药物. 留置鼻胃管行胃肠减压, 并应用抑酸药物奥美拉唑预防应激性胃肠道出血的发生.

1.2.2 营养支持: SEN支持选用百普力和能全力两种肠内营养(enteral nutrition, EN)制剂(荷兰纽迪希亚公司生产). 百普力为低脂, 短肽类EN制剂, 每500 mL总热量2090 kJ, 其中蛋白质、脂肪、碳水化合物的比例分别为16%、9%、75%. 能全力为含多种膳食纤维的整蛋白型EN剂, 每500 mL总热量2090 kJ, 含纤维素7.5 g, 不含乳糖, 渗透压为250 mmol/L, 其中蛋白质、脂肪、碳水化合物的比例分别为16%、35%和49%. 治疗组患者于入院后第3天开始先给予即用型液体EN制剂百普力, 2-3 d后逐渐过渡为能全力. EN经鼻胃管通过输液泵给予, 先从低浓度、低热量开始, 逐渐加致全量至35 kcal/(kg•d), 即104.6 kJ/(kg•d), 14 d为一个疗程. 对照组患者入院后第3天给予等热卡的能量支持, 鼻饲普通流质饮食, 能量不足部分由肠外营养静脉补充.

1.2.3 观察指标: 两组患者分别于入院后第2和16天(治疗2 wk后)采用美国国立卫生研究院卒中量表(NIH stroke scale, NIHSS)进行神经功能评分; 抽取肘静脉血检测血红蛋白(hemoglobin, Hb)、血清白蛋白(albumin, ALB)、转铁蛋白(transferrin, TF)含量, 进行淋巴细胞计数(total lymphocyte count, TLC). 营养支持期间密切观察不良反应, 统计腹泻、胃潴留、应激性胃肠道出血、肺部感染发生率和患者住院时间. 应激性胃肠道出血判断标准: 出现呕血、便血或胃内可抽取出新鲜血液或咖啡样物, 胃内抽取物或大便潜血试验结果为阳性[4].

统计学处理 运用统计学原理, 采用SPSS18.0统计软件进行数据计算与分析. 计量资料以mean±SD表示, 采用独立样本间均数差异的t检验, 计数资料组间采用χ^2检验. P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 基本资料 两组患者的年龄、性别、出血量、意识状态(GCS昏迷评分)比较均无显著性差异, 具有可比性(表1).

2.2 两组患者入院2 d和16 d血清营养指标 入院后2 d, 两组患者Hb、ALB、TF、TLC等营养指标无显著性差异(均P>0.05). 入院后16 d, 治疗组患者Hb、ALB、TF、TLC均明显高于对照组(均P<0.05). 入院后第16天, 治疗组患者Hb、ALB、TF较第2天变化不显著. 淋巴细胞计数较第2天明显升高(P = 0.0002), 对照组患者Hb、ALB、TF、TLC较入院第2天明显下降(P<0.05)(表2).

2.3 两组患者神经功能评分 入院第2天, 两组

■应用要点
高血压脑室出血患者宜在发病24-48 h后, 进行肠内营养治疗. 早期宜提供短肽型肠内营养制剂, 逐步过渡到提供含多种膳食纤维的整蛋白型肠内营养制剂, 能降低肠内营养并发症, 降低应激性胃肠出血和肺感染发生率, 缩短住院时间.

表 3 两组患者入院后NIHSS评分的比较 (mean ± SD)

分组	*n*	第2天	第16天
试验组	29	29.46 ± 4.68	23.65 ± 3.89
对照组	25	28.65 ± 3.89	25.31 ± 4.25
*t*值		0.6849	2.401
*P*值		0.4964	0.0200

表 4 两组患者并发症比较

项目	实验组		对照组		χ^2值	*P*值
	n	发生率(%)	*n*	发生率(%)		
腹泻	4	13.79	3	12.00	0.309	0.578
胃潴留	3	10.34	2	8.00	0.260	0.610
应激性胃肠道出血	1	3.45	6	24.00	5.927	0.015
肺感染	2	6.90	8	32.00	5.242	0.022

患者NIHSS评分无显著性差异($P>0.05$). 入院后第16天, 两组患者NIHSS评分均低于第2天(均$P<0.05$). 第16天治疗组患者NIHSS评分明显低于对照组, 差异有统计学意义($P<0.05$)(表3).

2.4 并发症与住院时间 治疗组患者的腹泻、胃潴留发生率与对照组无显著性差异($P>0.05$). 对照组患者应激性溃疡发生率均高于治疗组($P<0.05$). 治疗组患者的肺部感染发生率低于对照组, 差异有统计学意义($P<0.05$). 治疗组患者平均住院时间为23.92 d±3.76 d, 对照组为26.96 d±5.53 d, 治疗组明显低于对照组, 差异有统计学意义($t = 2.390$, $P = 0.0205$)(表4).

3 讨论

脑出血破入脑室是神经外科常见的危重症, 其起病急, 病情重, 死亡率和致残率高. 脑出血发生后, 机体产生应激反应, 胰高血糖素、糖皮质激素、儿茶酚胺以及生长激素分泌增加, 脂肪和蛋白分解增强, 机体负氮平衡. 同时导致体内的乳酸、丙酮酸和甘油大量增加, 脂蛋白代谢障碍, 造成严重的电解质紊乱和营养不良[5]. 脑出血急性期的患者吞咽障碍发生率可达37%-78%[6], 导致误吸和摄入减少. 高分解代谢和严重的摄入不足引发严重的机体组织消耗, 造成免疫力低下. 长时间的禁食会导致肠道运动功能的衰竭, 影响肠黏膜的屏障功能, 导致细菌、毒素的侵入和易位, 加剧病情的恶化. 机体发生应激反应, 交感神经兴奋性增强, 造成胃黏膜缺血, 导致胃黏膜屏障功能受损[7]. 与此同时, 血液破入脑室系统流入第四脑室, 可兴奋迷走神经而使胃酸分泌增加. 这些因素造成脑出血破入脑室发生应激性溃疡和消化系出血的几率远高于普通脑出血[8]. 有数据显示, 脑室出血是脑出血预后不良的独立危险因子[9].

随着人们对营养支持理念的深入研究, 发现EN能够改善患者营养状况, 减少危重症患者的能量储备和组织的消耗[10], 维护肠道结构和功能的完整性, 可有效促进胃肠功能的恢复, 减轻继发性损害[11,12]. 2007年我国颁布的《中国卒中患者营养管理专家共识》, 推荐使用“序贯肠内营养”方式[2], 即首先提供短肽型EN制剂, 逐步过渡到提供含多种膳食纤维的整蛋白型EN制剂. 这种科学的EN方式支持能够使患者的肠道功能尽快得到回复, 改善营养状况, 提高高血压脑出血患者的预后[13].

本研究中, 经过SEN支持治疗, 患者在入院第16天的Hb、ALB、TF、TLC明显高于对照组, 治疗组第16天的HB、ALB、TF与第2天相比, 差异无统计学意义, 而对照组第14天HB、ALB、TF水平, 明显低于第2天. 说明传统鼻饲流质饮食的能量无法满足脑出血破入脑室患者患者高代谢的需求, 而早期EN治疗能够显著改善脑出血破入脑室患者的营养状态, 稳定ALB水平, 有利于减少内脏蛋白的消耗, 增强机体的免疫功能, 促进神经功能的恢复, 改善患者的预后.

腹泻和胃潴留是肠内营养常见的并发症. 在脑出血破入脑室发病早期, 血流动力学不稳定, 胃肠道功能尚未脱离应激状态, 胃肠动力尚未恢复, 此时进行过早的EN支持会增加肠道负担, 极易出现腹泻、胃潴留等不耐受的表现. 刘晓林等证实[14], 脑出血后24-48 h后, 患者的呼吸、循环、水电解质、酸碱平衡趋于稳定, 此时进行肠内营养治疗, 并发症发生率最低. 本研究中采用百普力+能全力SEN支持治疗, EN组患者腹胀和胃潴留的发生率和鼻饲流质+肠外营养组相比, 差异无统计学意义(分别$P = 0.578$, 0.610). 这说明在脑室出血患者中, 相对于鼻饲流质+肠外营养支持患者, SEN并不增加腹泻和胃潴留不良反应的发生率.

本研究中, 肠内营养组患者的应激性胃肠道出血发生率低于对照组, 表明肠内序贯营养支持能够有效地防止应激性溃疡的发生. 一方面, 适量的胃内容可以刺激胃肠蠕动的形成和加强, 从而胃黏膜血流, 增加了对黏膜的保护

和修复, 亦增加了胃黏膜的防御作用. 另一方面, 肠内营养提高了血清白蛋白的水平, 于防止低蛋白血症的发生, 减轻胃黏膜水肿, 维持胃肠黏膜的完整性[15]. 此外, 肠内营养的应用尚可以中和兴奋迷走神经引起的胃酸分泌, 升高胃液的pH, 促进溃疡愈合, 预防应激性胃肠道出血发生.

脑室出血患者由于长期卧床, 肺感染发生率高, 是引起住院时间延长的重要原因. 试验组的肺感染发生率明显低于对照组, 差异有统计学意义(P<0.05). 这说明, SEN能够降低降低肺感染发生率, 缩短住院时间. 其可能的机制是: (1)改善机体营养状况, 提高淋巴细胞水平, 提高免疫力; (2)科学的序贯式肠内营养降低了胃潴留的发生率, 减少了误吸性肺炎的发生; (3)能全力中含有的膳食纤维能够有利于肠道功能的恢复促进胃肠功能的恢复, 维护肠道的屏障功能, 减少细菌和内毒素的易位, 降低肠源性感染的发生率[16]; (4)肠内营养液中的谷氨酰胺(Gln)能够维持和增强肠道相关淋巴组织的功能, 有利于肠道免疫功能及全身免疫功能的改善. 提高患者外周T淋巴细胞亚群和白介素-2水平, 增强其免疫功能, 降低肺感染率[17,18].

总之, 对高血压脑室出血患者采用SEN治疗, 能够改善患者的营养状况, 增强机体的营养贮备, 同时让胃肠功能逐渐适应并恢复正常功能, 维护肠黏膜的屏障功能, 预防应激性胃肠道出血和肠源性感染的发生. 降低肺部感染发生率, 改善神经功能, 缩短住院时间.

4 参考文献

1 Andrews CO, Engelhard HH. Fibrinolytic therapy in intraventricular hemorrhage. *Ann Pharmacother* 2001; 35: 1435-1448 [PMID: 11724097 DOI: 10.1111/j.1468-1331.2008.02070.x]
2 中国卒中患者营养管理专家共识组. 中国卒中患者营养管理专家共识. 中华内科杂志 2007; 46: 428-429
3 陈艳鸿, 黎婉明, 陈丽珠. 序贯肠内营养治疗对老年危重症患者的营养支持效果. 肠外与肠内营养 2013; 20: 341-344
4 方学文, 常顺, 赵建华, 钱希颖. 重型颅脑损伤后应激性胃肠道出血的预防及临床治疗效果评价. 世界华人消化杂志 2014; 22: 404-408
5 Martino R, Foley N, Bhogal S, Diamant N, Speechley M, Teasell R. Dysphagia after stroke: incidence, diagnosis, and pulmonary complications. *Stroke* 2005; 36: 2756-2763 [PMID: 16269630 DOI: 10.1161/01.STR.0000190056.76543.eb]
6 卒中患者吞咽障碍和营养管理中国专家组. 卒中患者吞咽障碍和营养管理的中国专家共识(2013版). 中国卒中杂志 2013; 8: 973-983
7 张爽, 刘海峰, 张成岗. 应激性胃黏膜损伤发病机制的研究进展. 世界华人消化杂志 2009; 17: 1697-1701
8 毛伯镛, 刘艳辉, 蔡晓东. 高血压脑出血并发消化道出血高危因素分析. 中国神经精神疾病杂志 1997; 23: 324-326
9 Togha M, Bakhtavar K. Factors associated with in-hospital mortality following intracerebral hemorrhage: a three-year study in Tehran, Iran. *BMC Neurol* 2004; 4: 9 [PMID: 15193159 DOI: 10.1186/1471-2377-4-9]
10 孙晋洁, 徐旭娟. 肠内营养的研究进展. 世界华人消化杂志 2014; 22: 1525-1530
11 Rincon F, Mayer SA. Clinical review: Critical care management of spontaneous intracerebral hemorrhage. *Crit Care* 2008; 12: 237 [PMID: 19108704 DOI: 10.1186/cc7092]
12 仲桂英, 李源化, 马丽萍, 黄成萍. 早期肠内营养及护理支持对危重症脑血管疾病并发症的治疗作用. 世界华人消化杂志 2014; 22: 1612-1615
13 Lee JS, Jwa CS, Yi HJ, Chun HJ. Impact of early enteral nutrition on in-hospital mortality in patients with hypertensive intracerebral hemorrhage. *J Korean Neurosurg Soc* 2010; 48: 99-104 [PMID: 20856655 DOI: 10.3340/jkns.2010.48.2.99]
14 刘晓林, 陈侣林, 宋俊梅, 李卉, 朱俊臣, 尧娟. 关于高血压脑出血患者建立肠内营养最佳时机的临床研究. 华西医学 2013; 28: 664-668
15 黄恩伟. 早期肠道营养联合奥美拉唑预防重型颅脑损伤并发应激性溃疡出血的效果. 实用心脑肺血管病杂志 2013; 21: 102-103
16 Braga M, Gianotti L, Gentilini O, Parisi V, Salis C, Di Carlo V. Early postoperative enteral nutrition improves gut oxygenation and reduces costs compared with total parenteral nutrition. *Crit Care Med* 2001; 29: 242-248 [PMID: 11246300 DOI: 10.1097/00003246-200102000-00003]
17 Yu G, Chen G, Huang B, Shao W, Zeng G. Effect of early enteral nutrition on postoperative nutritional status and immune function in elderly patients with esophageal cancer or cardiac cancer. *Chin J Cancer Res* 2013; 25: 299-305 [PMID: 23825906 DOI: 10.3978/j.issn.1000-9604.2013.06.01]
18 周志刚. 早期肠内营养对患者免疫与营养状态及术后感染的影响观察. 中华医院感染学杂志 2013; 23: 2638-2640

编辑 田滢 电编 都珍珍

■同行评价

本课题研究序贯肠内营养对高血压脑室出血患者营养指标和预后的影响, 对于临床上此类疾病患者的治疗具有一定指导意义.

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com
世界华人消化杂志 2014年6月18日; 22(17): 2498-2502
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

香砂六君子汤对多器官功能障碍综合征之胃肠功能障碍的疗效

祝未名, 祝建斌

■背景资料
多器官功能障碍综合征又称为多系统器官功能衰竭或称多器官衰竭, 是指患者在严重感染、创伤或大手术等急性疾病过程中, 同时或相继并发一个或一个以上系统或/和器官的急性功能障碍或衰竭的综合征. 临床上, 在器官功能障碍综合征中的胃肠功能紊乱是极易发生的. 在危重病发展过程中, 患者常以腹胀不能进食以至以并发应激性溃疡出血为主要临床表现.

祝未名, 临海市中医院药剂科 浙江省临海市 317000
祝建斌, 温岭东方医院内科 浙江省温岭市 317525
祝未名, 主管中药师, 主要从事中药的相关研究.
作者贡献分布: 本研究设计由祝未名完成; 研究过程由祝未名与祝建斌完成;文章撰写由祝未名完成.
通讯作者: 祝未名, 主管中药师, 317000, 浙江省临海市回浦路61号, 临海市中医院药剂科. wujianli_120848868@sina.com
收稿日期: 2014-05-17 修回日期: 2014-06-01
接受日期: 2014-06-02 在线出版日期: 2014-06-18

Effect of Xiangsha Liujunzi decoction on gastrointestinal dysfunction in patients with multiple organ dysfunction syndrome

Wei-Ming Zhu, Jian-Bin Zhu

Wei-Ming Zhu, Department of Pharmacy, Linhai Traditional Chinese Medicine Hospital, Linhai 317000, Zhejiang Province, China
Jian-Bin Zhu, Department of Internal Medicine, Oriental Hospital of Zhejiang Province, Wenling 317525, Zhejiang Province, China
Correspondence to: Wei-Ming Zhu, Department of Pharmacy, Linhai Traditional Chinese Medicine Hospital, 61 Huipu Road, Linhai 317000, Zhejiang Province, China. wujianli_120848868@sina.com
Received: 2014-05-17 Revised: 2014-06-01
Accepted: 2014-06-02 Published online: 2014-06-18

Abstract

AIM: To assess the effect of Xiangsha Liujunzi decoction on gastrointestinal dysfunction in patients with multiple organ dysfunction syndrome.

METHODS: Patients with multiple organ dysfunction syndrome who had gastrointestinal dysfunction and were treated at our hospital in the past three years were divided into either a control group (n = 52) or an observation group (n = 52) based on clinical treatment received. All patients received conventional Western medicine treatment, while the observation group was additionally given Xiangsha Liujunzi on the basis of conventional Western medicine treatment. Improvement of gastric pH, motilin, interleukin-6 (IL-6) and other indicators and clinical symptoms were observed and compared.

RESULTS: Before treatment, the differences in symptom score, gastric pH, motilin, IL-6 and other indicators between the two groups were not statistically significant (P > 0.05). On the 3rd day of the treatment, gastric pH, motilin, IL-6 and other indicators were improved significantly (P < 0.05). On day 7, the symptom score, gastric pH, motilin, IL-6 and other indicators were significantly better than those before treatment and on day 3 (P < 0.05). On day 3, the indicators showed no significant differences between the two groups (P < 0.05), although a better positive trend could be seen for each indicator in the observation group than in the control group. On day 7, all indicators in the observation group were significantly better than those in the control group (10.8 ± 0.8 *vs* 13.0 ± 1.0, 49.8 pg/mL ± 6.7 pg/mL *vs* 61.4 pg/mL ± 8.8 pg/mL, 333.9 pg/mL ± 12.9 pg/mL *vs* 277.1 pg/mL ± 13.1 pg/mL, 7.37 ± 0.02 *vs* 7.32 ± 0.03, P < 0.05).

CONCLUSION: Xiangsha Liujunzi decoction can effectively improve gastric pH, motilin, IL-6 and other indicators as well as clinical symptoms of gastrointestinal dysfunction in patients with multiple organ dysfunction syndrome.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Xiangsha Liujunzi decoction; Multiple organ dysfunction syndrome; Gastrointestinal dysfunction; Clinical efficacy

Zhu WM, Zhu JB. Effect of Xiangsha Liujunzi decoction on gastrointestinal dysfunction in patients with multiple organ dysfunction syndrome. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(17): 2498-2502 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2498.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i17.2498

摘要

目的: 探索香砂六君子汤对多器官功能障碍

■同行评议者
郑培永, 副教授, 上海中医药大学脾胃病研究所,上海中医药大学附属龙华医院消化内科

综合征之胃肠功能障碍的影响和临床疗效.

方法: 对我院近3年来所治疗多器官功能障碍综合征之胃肠功能障碍患者进行研究, 依据临床治疗方法分为常规治疗组(52例)和观察组(52例). 两组患者均给予常规西医治疗, 观察组在常规治疗的方法基础上加用香砂六君子汤治疗, 观察两组患者胃黏膜pH、胃动素、白介素-6(interleukin-6, IL-6)等指标和临床症状的改善情况.

结果: 两组治疗前症状积分、胃黏膜pH、胃动素、IL-6等指标比较, 差异无统计学意义(P>0.05). 组内比较, 治疗3 d与治疗前比较症状积分、胃黏膜pH、胃动素、IL-6明显改善, 差异有统计学意义(P<0.05); 治疗7 d后症状积分、胃黏膜pH、胃动素、IL-6等指标明显优于治疗前和治疗3 d, 差异有统计学意义(P<0.05). 组间比较, 治疗3 d时各指标组间差异无统计学意义(P<0.05), 但观察组较常规治疗组有一定程度改善; 治疗7 d时观察组症状积分、IL-6、胃动素、胃黏膜pH明显优于常规治疗组, 且组间比较差异有统计学意义(10.8±0.8 *vs* 13.0±1.0, 49.8 pg/mL±6.7 pg/mL *vs* 61.4 pg/mL±8.8 pg/mL, 333.9 pg/mL±12.9 *vs* 277.1 pg/mL±13.1 pg/mL, 7.37±0.02 *vs* 7.32±0.03, P<0.05).

结论: 香砂六君子汤能有效改善多器官功能障碍综合征之胃肠功能障碍患者胃黏膜pH、胃动素、IL-6等指标和临床症状, 值得临床上广泛应用.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 香砂六君子汤; 多器官功能障碍综合征; 胃肠功能障碍; 临床疗效

核心提示: 本研究针对胃肠功能障碍患者给予香砂六君子汤治疗, 其结果十分明显. 因此, 在香砂六君子汤治疗3 d与治疗前比较积分、胃黏膜pH、胃动素、白介素-6(interleukin-6, IL-6)等指标明显改善, 治疗7 d后, 胃肠功能障碍患者症状积分、胃黏膜pH、胃动素、IL-6等指标明显优于治疗前和治疗3 d. 说明香砂六君子汤改善多功能障碍综合征之胃肠功能障碍的机制可能与改善患者、胃黏膜pH、胃动素、IL-6有关.

祝未名, 祝建斌. 香砂六君子汤对多器官功能障碍综合征之胃肠功能障碍的疗效. 世界华人消化杂志 2014; 22(17): 2498-2502
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2498.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i17.2498

0 引言

多器官功能障碍综合征又称为多系统器官功能衰竭或称多器官衰竭, 是指患者在严重感染、创伤或大手术等急性疾病过程中, 同时或相继并发一个或一个以上系统或/和器官的急性功能障碍或衰竭的综合征[1]. 临床上, 在器官功能障碍综合征中的胃肠功能紊乱是极易发生的. 在危重病发展过程中, 患者常以腹胀不能进食以至以并发应激性溃疡出血为主要临床表现[2-4]. 因此, 本研究针对患者出现胃肠功能障碍的多器官功能障碍综合征患者进行研究, 采用西医改善患者急性器官功能障碍症状, 并应用中药方剂香砂六君子汤对患者胃肠功能进行治疗, 有很好的临床疗效, 现将治疗结果报道如下.

1 材料和方法

1.1 材料 选择2011-12/2014-04我院收治并确诊的多器官功能障碍综合征之胃肠功能障碍患者106例. 其中, 常规治疗组患者54例, 男性患者29例, 女性患者25例; 年龄62-78岁, 平均年龄67.9岁±9.5岁; 观察组患者52例, 男性患者28例, 女性患者24例; 年龄为61-79岁, 平均年龄69.3岁±8.7岁. 两组患者一般资料比较, 差异无统计学意义(P>0.05), 具有可比性. 诊断标准: 上述患者均采用相关文献中对中医诊断标准和西医诊断标准相结合的方式对患者进行诊断[5]. 其中, 中医诊断标准采用《中药新药临床研究指导原则》中关于胃肠功能障碍性疾病进行诊断, 西医诊断标准采用20世纪修订的Fry-mods的诊断标准进行诊断. 满足上述两种诊断标准患者为本研究的诊断标准.

1.2 方法

1.2.1 治疗: 上述患者均给与常规西医治疗, 常规西医治疗方法主要依据患者病情采用相应的治疗措施, 包括脏器支持、化痰、抗感染、原发病等的常规治疗. 如: 患者以感染性疾病为主导致的功能障碍者以抗感染治疗为主; 患者以肺部功能障碍为主者以祛痰、豁痰治疗为主; 兼有血糖高者以控制血糖为主等等. 常规治疗组兼以营养支持、维持水、电解质以及酸碱平衡等治疗方法予以辅助治疗. 观察组在常规治疗的方法基础上加用香砂六君子汤治疗. 香砂六君子汤: 人参3 g、白术6 g、茯苓6 g、甘草2 g、陈皮2.5 g、半夏3 g、砂仁2.5 g、木香2 g, 水煎服. 两组患者治疗7 d对上述患者进行临床

■相关报道
白介素-6(interleukin-6, IL-6)是体内主要的炎性因子之一, 对于患者体内炎性感染引起的相应疾病有着十分敏感的反应, 是诊断疾病和疾病恶化、向愈的重要检测指标之一. 相关研究认为IL-6水平的升高能够有效抑制细菌感染, 有效地保护机体.

■应用要点
香砂六君子汤能有效改善多功能障碍综合征之胃肠功能障碍患者的胃黏膜pH、胃动素、白介素-6等指标和临床症状, 值得临床应用.

表 1 两组患者中医症候改善比较 (n = 52, mean ± SD, 分)

分组	治疗前积分	治疗3 d积分	治疗7 d积分
观察组	18.8 ± 1.2	13.9 ± 0.9[a]	10.8 ± 0.8[ace]
常规治疗组	18.9 ± 1.1	15.9 ± 1.1[a]	13.0 ± 1.0[ac]

[a]P<0.05 *vs* 同组治疗前; [c]P<0.05 *vs* 同组治疗3 d; [e]P<0.05 *vs* 同期常规治疗组.

疗效评价, 并对相应指标进行检测和评价.

1.2.2 检测指标和评价: 本研究针对患者进行相应的检测和评价, 检测指标主要为血IL-6水平、血胃动素水平和血胃肠黏膜pH水平, 以及患者临床疗效. 检测方法: 分别于治疗的第3和7天对患者进行血液采集, 检测血IL-6水平和血胃动素水平; 采用胃管法对患者进行血胃肠黏膜pH水平检测[5]. 临床疗效评价方法主要参考《中药新药临床研究指导原则》和文献对患者患者临床症状体征进行评价[5], 观察患者治疗前、后症候积分改变情况.

统计学处理 采用SPSS19.0进行统计分析, 定计量资料数据采用mean±SD表示, 计量资料组间比较采用两独立样本t检验, 组内不同时间段的比较采用方差分析, 两两时间段比较采用LSD-t检验, 计数资料用χ^2检验. P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

106例多器官功能障碍综合症之胃功能障碍患者中, 有2例患者出现急性病情恶化, 而终止观察. 最终常规治疗组患者52例, 观察组52例完成了本次研究.

2.1 两组患者中医症候改善比较 两组患者经过上述治疗方法治疗3、7 d后, 整体积分均有不同程度的改善, 其详细结果如表1. 其中, 两组治疗前积分比较, 差异无统计学意义(P>0.05); 组内比较, 治疗7 d后症状积分明显低于治疗前和治疗3 d, 差异有统计学意义(P<0.05); 治疗3 d与治疗前比较积分明显改善, 差异有统计学意义(P<0.05). 两组患者组间比较, 治疗3 d比较, 观察组优于对照组, 但是组间比较差异无统计学意义(P>0.05); 治疗7 d比较, 观察组明显优于对照组, 组间比较差异有统计学意义(P<0.05)(表1).

2.2 两组患者治疗前后IL-6、胃动素改变比较 两组患者经过上述治疗方法治疗3、7 d后, IL-6、胃动素均有不同程度的改善. 其中, 两组患者治疗前IL-6、胃动素比较, 差异无统计学意义(P>0.05); 组内比较, 治疗3 d与治疗前比较白介素-6、胃动素明显改善, 与治疗前比较差异有统计学意义(P<0.05); 治疗7 d后IL-6、胃动素明显优于治疗前和治疗3 d, 差异有统计学意义(P<0.05). 两组患者组间比较, 治疗3 d时观察组优于对照组, 但是组间比较差异无统计学意义(P>0.05); 治疗7 d时察组明显优于对照组, 且组间比较差异有统计学意义(P<0.05)(表2).

2.3 两组患者治疗前后胃黏膜pH比较 两组患者治疗前胃黏膜PH水平比较, 差异无统计学意义(P>0.05); 两组患者治疗3、7 d后, 胃黏膜pH水平有不同程度的改善. 组内比较, 治疗3 d与治疗前比较胃黏膜pH水平明显改善, 差异有统计学意义(P<0.05); 治疗7 d后胃黏膜pH水平明显高于治疗前和治疗3 d, 差异有统计学意义(P<0.05). 两组患者组间比较, 治疗3 d比较, 观察组低于对照组, 但是组间比较差异无统计学意义(P>0.05). 治疗7 d比较, 观察组明显低于对照组, 且组间比较差异有统计学意义(P<0.05)(表3).

3 讨论

多功能障碍综合征之胃肠功能障碍患者临床主要表现以腹胀、腹痛、消化道出血、腹膜炎以及肠源性感染等[6]. 其发病的主要因素以肠蠕动减弱或消失, 致肠胀气、肠内容物积聚, 肠麻痹使消化吸收功能障碍为主, 胃肠黏膜炎症、坏死导致消化道出血[7]. 此时患者会出现呕血、便血, 甚至会出现大量出血性休克和贫血等临床症状. 更有甚者患者会因为持续性腹胀导致弥漫性腹膜炎, 以急腹症、腹膜刺激征为临床表现为主[8]. 因此, 在治疗的过程中, 以积极有效地处理原发病, 加强对患者出现的休克、创伤、感染等急性症状和表现. 在处理过程中, 以防治机体内内源性感染, 以维持胃肠道内菌群生态平衡. 尽量缩短恢复肠内营养时间, 并选用相应药物以保护胃、肠黏膜, 使其免受损害[9].

本研究采用常规西医治疗, 观察组在常规治疗的方法基础上加用香砂六君子汤治疗, 观察两组患者胃黏膜pH、胃动素、IL-6等指标和临床症状的改善情况. 其中, IL-6是体内主要的炎性因子之一, 对于患者体内炎性感染引起的相应疾病有着十分敏感的反应, 是诊断疾病和疾病恶化、向愈的重要检测指标之一. 相关研究认为IL-6水平的升高能够有效扼制细菌感染, 有

表 2 两组治疗前后白介素-6水平、胃动素改变比较 (n = 52, mean ± SD, pg/mL)

分组	白介素-6水平			胃动素		
	治疗前	治疗3 d	治疗7 d	治疗前	治疗3 d	治疗7 d
观察组	81.2 ± 10.8	61.2 ± 8.3[a]	49.8 ± 6.7[ace]	228.9 ± 8.9	329.7 ± 11.2[a]	333.9 ± 12.9[ace]
常规治疗组	82.4 ± 10.1	71.2 ± 9.9[a]	61.4 ± 8.8[ac]	232.5 ± 9.2	257.8 ± 13.9[a]	277.1 ± 13.1[ac]

[a]P<0.05 *vs* 同组治疗前; [c]P<0.05 *vs* 同组治疗3 d; [e]P<0.05 *vs* 同期常规治疗组.

表 3 两组患者治疗前后胃黏膜pH比较 (n = 52, mean ± SD)

分组	治疗前	治疗3 d	治疗7 d
观察组	7.11 ± 0.03	7.27 ± 0.03[a]	7.37 ± 0.02[ace]
常规治疗组	7.12 ± 0.02	7.23 ± 0.03[a]	7.32 ± 0.03[ac]

[a]P<0.05 *vs* 同组治疗前; [c]P<0.05 *vs* 同组治疗3 d; [e]P<0.05 *vs* 同期常规治疗组.

效地保护机体[10]. 胃黏膜pH和胃动素对胃肠功能的影响主要体现在水和电解质运输上, 能够促进胃, 给予强力的收缩并给予小肠一定的蠕动功能. 此二者在体内具有很强的改善胃肠功能作用[11-13]. 因此, 本研究针对患者出现的主要中医症状给予香砂六君子汤进行治疗.

香砂六君子汤的主要组成药物有如下几种: 人参、白术、茯苓、甘草、陈皮、半夏、砂仁和木香. 其中, 人参、白术、茯苓、甘草为四君子汤主药, 人参甘温, 益气补中为君; 白术健脾燥湿, 合人参以益气健脾为臣; 茯苓渗湿健脾为佐; 炙甘草甘缓和中为使[14]. 四味皆为平和之品, 温而不燥, 补而不峻; 陈皮和半夏二者为临床常用理气化痰药. 陈皮为芸香科植物橘及其同属植物的干燥成熟果皮, 性温味辛苦, 具有理气健脾、燥湿化痰之功效; 砂仁和木香主要以理气宽中, 化湿和脾, 通三焦之气, 尤其能善行胃肠之气, 兼有健脾消食之功效[15]. 上述药物组合在一起, 能有效改善患者胃肠功能. 本研究针对胃肠功能障碍患者给予香砂六君子汤治疗, 其结果十分明显. 因此, 在香砂六君子汤治疗3天与治疗前比较积分、胃黏膜pH、胃动素、IL-6等指标明显改善, 治疗7天后, 胃肠功能障碍患者症状积分、胃黏膜pH、胃动素、IL-6等指标明显优于治疗前和治疗3 d. 说明香砂六君子汤改善多功能障碍综合征之胃肠功能障碍的机制可能与改善患者、胃黏膜pH、胃动素、IL-6有关.

总之, 香砂六君子汤能有效改善多功能障碍综合征之胃肠功能障碍患者的胃黏膜pH、胃动素、IL-6等指标和临床症状, 值得临床上广泛应用.

■同行评价
本文选题实用, 结果有一定的参考价值, 值得鼓励深入研究.

4 参考文献

1 Schouver ED, Moceri P, Chiche O, Havet J, Lanfranchi P, Ferrari E. Multiple organ dysfunction syndrome 2weeks after radiofrequency ablation of atrial fibrillation. *Int J Cardiol* 2014 Apr 16. *[Epub ahead of print]* [PMID: 24767766 DOI: 10.1016/j.ijcard.2014.04.081]

2 蒋冀, 陈羽. 莫沙必利治疗精神病人胃肠功能障碍的疗效观察. 临床消化病杂志 2013; 25: 212-213

3 邱方, 李志强, 安媛. 卡巴胆碱治疗创伤和感染后胃肠功能障碍78例. 世界华人消化杂志 2009; 17: 2091-2095

4 付跃峰, 刘清泉, 蔡阳平, 王兰, 赵红芳, 江其敏. AECOPD呼吸衰竭中医证素、证候的分布及与胃肠功能障碍相关研究. 世界中药 2014; (3): 265-269, 274

5 童永忠. 香砂六君子汤治疗胃肠功能障碍的临床研究. 南京: 南京中医药大学, 2011

6 Akiho H, Tokita Y, Nakamura K, Satoh K, Nishiyama M, Tsuchiya N, Tsuchiya K, Ohbuchi K, Iwakura Y, Ihara E, Takayanagi R, Yamamoto M. Involvement of Interleukin-17A-Induced Hypercontractility of Intestinal Smooth Muscle Cells in Persistent Gut Motor Dysfunction. *PLoS One* 2014; 9: e92960 [PMID: 24796324 DOI: 10.1371/journal]

7 李玉洁, 刘柏炎, 易健, 阚晓原, 蔡光先. 四磨汤治疗非胃肠术后胃肠功能障碍的Meta分析. 中国实验方剂学杂志 2012; 18: 255-260

8 苗木, 刘迪, 张艳娜, 范晓艳, 张晓娟, 黄纳纳. 理中汤合六君子汤加减治疗胃癌术后胃肠功能障碍35例. 中国中医急症 2014; 23: 106

9 杜业勤, 张双燕, 尹双红, 王海江. 降气和胃通腑法对胃癌术后患者生活质量的影响. 世界华人消化杂志 2010; 18: 1890-1894

10 Guimarães da Costa A, do Valle Antonelli LR, Augusto Carvalho Costa P, Paulo Diniz Pimentel J, Garcia NP, Monteiro Tarragô A, Socorro Lopes Dos Santos Mdo P, Nogueira PA, Hekcmann MI, Sadahiro A, Teixeira-Carvalho A, Martins-Filho OA, Malheiro A. The Robust and Modulated Biomarker Network Elicited by the Plasmodium vivax Infection Is Mainly Mediated by the IL-6/IL-10 Axis and Is Associated with the Parasite Load. *J Immunol Res* 2014; 2014: 318250 [PMID: 24741587 DOI: 10.1155/2014/318250]

11 Xin-Xin C, Yu-Xian C. [Effects of Xingpi Yang'er granule on serum gastrin, plasma motilin, and somatostatin contents in children patients with pneumonia induced diarrhea]. *Zhongguo Zhongxiyi Jiehe Zazhi* 2013; 33: 155-158 [PMID: 23646465]

12 Ozturk AS, Guzel M, Askar TK, Aytekin I. Evaluation of the hormones responsible for the gastrointestinal motility in cattle with displacement of the abomasum; ghrelin, motilin and gastrin. *Vet Rec* 2013; 172: 636 [PMID: 23723101 DOI: 10.1136/vr.101322]
13 谭康联, 陈志强. 胃动素用于胃肠功能评价的研究进展. 世界华人消化杂志 2011; 19: 156-160
14 张仲林, 钟玲, 臧志和, 辛志伟. 参苓白术散对动物胃肠动力影响的实验研究. 时珍国医国药 2009; 20: 3151-3152
15 邓增. 香砂六君子汤对行机械通气的老年患者胃肠功能障碍防治作用的研究. 中国中医急症 2012; 21: 1493-1494

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年6月18日; 22(17): 2503-2507
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

*HTR3E*基因多态性与中国女性IBS-D的发生及肠道症状的关联

张 瑜, 廖月霞, 陶文华, 李瑶瑶, 郝臻凤, 卜 平

张瑜, 廖月霞, 陶文华, 李瑶瑶, 郝臻凤, 卜平, 扬州大学医学院中西医结合研究所 江苏省扬州市 2005001
张瑜, 在读博士, 主要从事功能性胃肠病的研究.
国家自然科学基金资助项目, No. 81173392
江苏省研究生创新工程基金资助项目, No. CXZZ12_0918
作者贡献分布: 此课题由张瑜与卜平设计; 研究过程由张瑜、廖月霞、陶文华、李瑶瑶及郝臻凤操作完成; 数据分析与本论文写作由张瑜完成; 论文由卜平审阅.
通讯作者: 卜平, 教授, 博士生导师, 225001, 江苏省扬州市淮海路11号, 扬州大学医学院中西医结合研究所. boping@yzu.edu.cn
电话: 0514-87978872
收稿日期: 2014-02-28 修回日期: 2014-04-08
接受日期: 2014-04-17 在线出版日期: 2014-06-18

Association between *HTR3E* gene polymorphism and intestinal symptoms of diarrhea-predominant irritable bowel syndrome in Chinese women

Yu Zhang, Yue-Xia Liao, Wen-Hua Tao, Yao-Yao Li, Zheng-Feng Hao, Ping Bo

Yu Zhang,Yue-Xia Liao, Wen-Hua Tao, Yao-Yao Li, Zheng-Feng Hao, Ping Bo, Department of Traditional Chinese and Western Medicine, Yangzhou University, Yangzhou 225001, Jiangsu Province, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81173392; Graduate Student Innovation Project in Jiangsu Province, No. CXZZ12_0918
Correspondence to: Ping Bo, Professor, Department of Traditional Chinese and Western Medicine, 11 Huaihai Road, Yangzhou 225001, China. boping@yzu.edu.cn
Received: 2014-02-28 Revised: 2014-04-08
Accepted: 2014-04-17 Published online: 2014-06-18

Abstract

AIM: To investigate the relationship between 5-hydroxytryptamine-3 E receptor (*HTR3E*) gene polymorphism and intestinal symptoms of diarrhea-predominant irritable bowel syndrome (IBS-D) in Chinese women.

METHODS: Polymerase chain reaction (PCR)-restriction fragment length polymorphism (RFLP) technique was used to detect the 3′UTR variant c.*76G>A of the *HTR3E* gene in 300 healthy female subjects and 294 female IBS-D patients.

RESULTS: There were significant differences between the IBS-D patients and controls in the frequencies of the GA genotype (χ^2 = 6.362, P = 0.012) and the A allele (χ^2 = 5.970, P = 0.015). Compared with the GG genotype of HTR3E, the patients with GA genotype had a higher frequency of defecation (χ^2 = 7.68, P = 0.021) and more serious stool form (χ^2 = 6.225, P = 0.044).

CONCLUSION: The GA genetype of *HTR3E* might be an important predisposing factor for IBS-D in Chinese females and might contribute to the deterioration of the intestinal symptoms.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Diarrhea-predominant irritable bowel syndrome; HTR3E; Polymorphism; Intestinal symptoms

Zhang Y, Liao YX, Tao WH, Li YY, Hao ZF, Bo P. Association between *HTR3E* gene polymorphism and intestinal symptoms of diarrhea-predominant irritable bowel syndrome in Chinese women. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(17): 2503-2507 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2503.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i17.2503

摘要

目的: 探讨五羟色胺受体3(5-hydroxytryptamine-3 receptor, 5-HTR3)的亚型*HTR3E*基因非翻译区多态性与中国女性IBS-D的发生及肠道症状的关联.

方法: 采用聚合酶链反应-限制性片段长度多态性分析(polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism, PCR-RFLP)对294例IBS-D女性患者与300例健康对照者*HTR3E*基因3'端非翻译区c.*76G>A(rs62625044)进行研究.

结果: 女性患者c.*76G>A多态性位点GA基因型(χ^2 = 6.362, P = 0.012)和A等位基因(χ^2 = 5.970, P = 0.015)的频率较正常对照均显著升

■背景资料
五羟色胺3E受体亚型(5-hydroxytryptamine-3 E receptor, HTR3E)作为五羟色胺受体3(5-hydroxytryptamine-3 receptor, 5-HTR3)的亚型之一只在胃肠组织中表达, 英国遗传研究发现HTR3E基因的c.*76G>A(rs62625044)可能与女性腹泻型肠易激综合征(diarrhea-predominant irritable bowel syndrome, IBS-D)的易感性有关, 但其与我国IBS-D的关联尚未见报道. 作者主要研究该单核苷酸的多态性(single nucleotide polymorphisms, SNP)与中国女性IBS-D的关联以及对患者肠道症状影响.

■同行评议者
袁建业, 副研究员, 上海中医药大学附属龙华医院/脾胃病研究所

■研发前沿
在IBS-D的机制研究中, 5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)及其受体是研究的热点. 近年5-HT3受体的五种亚型的分布和功能的研究日趋热门.

高(P<0.05), GA基因型患者较GG基因型排便频率更高(χ^2 = 7.68, P = 0.021), 两组患者排便性状也存在很大差异(χ^2 = 6.225, P = 0.044).

结论: *HTR3E*的GA基因型和A等位基因可能是中国IBS-D女性患者的易感因素之一; GA基因型的患者较GG基因型肠道症状更加严重.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 腹泻型肠易激综合征; HTR3E; 多态性; 肠道症状

核心提示: 五羟色胺3E受体亚型(5-hydroxytryptamine-3 E receptor)的GA基因型和A等位基因可能是我国腹泻型肠易激综合征(diarrhea-predominant irritable bowel syndrome)女性患者的易感因素之一; GA基因型的患者较GG基因型肠道症状更加严重. 可能与等位基因A所引起的与microRNA-510结合障碍而导致的靶基因的蛋白表达增高有关.

张瑜, 廖月霞, 陶文华, 李瑶瑶, 郝臻凤, 卜平. *HTR3E*基因多态性与中国女性IBS-D的发生及肠道症状的关联. 世界华人消化杂志 2014; 22(17): 2503-2507 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2503.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i17.2503

0 引言

肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)是一种常见的, 以慢性腹痛、腹胀和肠道习惯改变为特征的功能性胃肠病[1]. 文献资料显示欧洲IBS的发病率为2.5%-22%, 美国为7%-15%, 亚洲和其他发展中国家的发病率也普遍上升[2,3]. 周小玲等[4]报道, 中国青少年IBS的发生率约为6.7%. 在所有的IBS亚型中, IBS-D为最常见的一种[5]. 在IBS-D的机制研究中, 5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)及其受体是研究的热点, 5-HTR3作为5-HT的受体之一已经被证实在肠道感觉功能中发挥重要的作用[6]. 目前研究表明HTR3E作为5-HTR3的5种亚型之一只在胃肠组织中表达[7,8], 表明HTR3E受体亚型可能在人胃肠道5-HT3受体的形成和功能中起特殊作用. 英国遗传研究发现*HTR3E*基因的c.*76G>A(rs62625044)可能与女性IBS-D的易感性有关[9], 但HTR3E(rs62625044)与我国IBS-D患者的关联尚未见报道. 作者主要研究该SNP与中国女性IBS-D的关联以及对患者肠道症状的影响.

1 材料和方法

1.1 材料 收集2010-04/2012-03扬州大学医学院附属苏北人民医院等5家医院门诊女性病例294例, 年龄18-71岁. 所有患者均常规抽血检测生化未见异常; 肠道内镜检查未见异常. 健康对照选自上述医院的健康体检女性300例. 对照组年龄、性别、体型等一般资料与病例组相匹配, 所有入组对象进行问卷调查并且抽血前未服用任何药物. IBS-D诊断标准: 采用罗马III标准[10].

1.2 方法

1.2.1 问卷调查: 根据疾病的特点结合文献资料自制量表, 包括一般情况: 年龄、民族、职业等. 肠道症状特点: 通常的排便频率(3-4次/d, 5-6次/d, ≥6次/d)、排便时间(≤10 min、10-20 min、≥20 min)、通常的排便形式(水样便、片状或糊状、成形软便)、排便急迫感和不完全感(没有或偶尔、经常、总是)以及腹痛程度(没有或偶尔、经常、总是).

1.2.2 DNA的提取: 所有参与者入组当天抽取5 mL全血于15 mL的含有EDTA-Na_2抗凝剂的离心管中混匀, 置于-20 ℃的冰箱内保存, 1 wk内提取基因组DNA, 采用的是TIANGEN公司血液基因组DNA提取试剂盒.

1.2.3 基因分型: 设计*HTR3E* 3'UTR引物, 上游: 5'-CGT CATATG CCT CTG GAA CA-3', 下游: 5'-ATA GGC GTG AAC CAC TGC AC-3', 交由上海生工生物工程公司合成, 浓度5 μmol/L. 加2×Taq PCR Master Mix 10 μL, 上下游引物各1 μL, 取模板DNA 2 μL, 最后加ddH_2O至PCR反应总体积为20 μL. 采用降式PCR, 条件为94 ℃预变性2 min, (94 ℃ 30 s, 68 ℃ 30 s, 72 ℃ 30 s)×5 cycle, (94 ℃ 30 s, 64 ℃ 30 s, 72 ℃ 30 s)×5 cycle, (94 ℃ 30 s, 60 ℃ 30 s, 72 ℃ 30 s)×25 cycle, 72 ℃延伸5 min进入4 ℃. 产物检测用1.5%琼脂糖凝胶, 90 V电压电泳40 min, 溴乙锭染色, 凝胶成像仪照相, 目的基因的片段为397 bp. 后用限制性内切酶*Hpy*188III进行酶切分型, 体系20 μL, 其中10×NEB 2 μL, 酶0.5 μL, 100×BSA 0.2 μL, PCR产物3 μL, 最后加ddH_2O至20 μL, 37 ℃消化12 h. 取10 μL酶切产物电泳, 用2.5%琼脂糖凝胶, 70 V电压, 80 min. 随机抽取送测序验证.

统计学处理 所有数据采用SPSS11.0软件处理. 所有研究对象的人口学资料的分析用χ^2检验, Hardy-Weinberg(H-W)平衡检验采用χ^2检验,

表 1 IBS-D患者和健康对照者一般资料分析 [*n*(%)]

分组	*n*	年龄(岁)				职业		种族	
		18-30	31-45	46-60	61-71	脑力	体力	汉族	其他
IBS-D	294	115(39.1)	92(31.3)	78(26.5)	9(3.1)	202(68.7)	92(31.3)	287(97.6)	7(2.4)
对照	300	111(37.0)	89(29.7)	88(29.3)	12(4.0)	222(74.0)	78(26.0)	294(98.0)	6(2.0)
χ^2		1.091				2.036		0.101	
*P*值		0.779				0.154		0.751	

表 2 女性IBS-D患者*HTR3E*基因c.*76G>A多态性位点基因型分布和等位基因频率分析 [*n*(%)]

分组	*n*	女性基因型		女性等位基因		
		G/G	G/A	A/A	G	A
IBS-D	294	250(85)	44(15)	0(0)	544(93)	44(7)
对照	300	275(93)	25(7)	0(0)	575(96)	25(4)
χ^2		6.362			5.970	
*P*值		0.012			0.015	

表 3 不同基因型女性IBS-D患者肠道症状分析 [*n*(%)]

分组/基因型	HTR3E		χ^2	*P*值
	GA	GG		
n	44	250		
排便频率(次/d)			7.68	0.021
3-4	9(20.5)	97(38.8)		
5-6	25(56.8)	125(50)		
≥6	10(22.7)	28(11.2)		
排便时间(min)			2.481	0.289
≤10	27(61.4)	122(48.8)		
10-20	9(20.5)	74(29.6)		
≥20	8(18.1)	54(21.6)		
排便形状			6.225	0.044
水样便	14(31.8)	70(28)		
片状、糊状便	20(45.5)	76(30.4)		
成形软便	10(22.7)	104(41.6)		
排便急迫感和不尽感			4.623	0.099
没有或偶尔	6(13.6)	51(47.8)		
经常	21(47.7)	140(22.2)		
总是	17(38.6)	59(30)		
腹痛程度			0.644	0.725
没有或偶尔	13(29.5)	79(31.6)		
经常	23(52.3)	13(54.8)		
总是	8(18.2)	34(13.6)		

■相关报道
Kapeller等研究证实5-HT3受体亚型HTR3A受体变异型基因c.-42C>T (rsl062613)和HTR3E受体变异型基因c.*76G>A(rs62625044)可能与英国女性IBS-D的易感性有关.

基因型和等位基因片段频率以%表示, 差异显著性比较用χ^2检验. *P*<0.05为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 IBS-D患者和健康对照者一般资料分析 统计结果表明在年龄、职业和种族分布等一般资料上IBS-D组和健康对照组无显著性差异(*P*>0.05)(表1).

2.2 *HTR3E*基因3'端非翻译区c.*76G>A多态性分析 经过酶切电泳, HTR3E分为GG型(298 bp)

■创新盘点

本研究国内首次运用PCR-RFLP方法证实*HTR3E*的GA基因型和A等位基因可能是我国IBS-D女性患者的易感因素之一; GA基因型的患者较GG基因型肠道症状更加严重, 为IBS-D的机制研究提供了新的思路与方向.

和GA型(344, 298 bp), 经测序验证后对*HTR3E*基因3'UTR c.*76G>A多态性位点基因型分布和等位基因频率进行分析如表2. 结果表明, IBS-D组GA基因型频率较对照组显著升高(P<0.01), IBS-D患者A等位基因的频率较对照组显著升高(P<0.05).

2.3 H-W平衡分析 应用拟合优度χ^2检验, 病例组和对照组的基因型频率分布均符合H-W遗传平衡(P>0.05).

2.4 不同基因型女性IBS-D患者肠道症状分析 从统计结果来看, GA组的患者排便频率较GG组更高(χ^2 = 7.68, P = 0.021), 79.5%的GA型患者每天排便达5次以上; GA组患者较GG组排便性状也存在很大差异(χ^2 = 6.225, P = 0.044), 31.8%和45.5%的GA型患者排便性状都成水样便或糊状便, 而GG型患者大便不成形, 成水样或糊状的分别只占28%和30.4%. 在排便时间的长短, 排便急迫感和不尽感以及腹痛程度上来看, 两者无显著性差异(P>0.05)(表3).

3 讨论

IBS是一种常见的功能性胃肠病, 在英国, IBS-D影响了3%的普通人群的正常生活, 并且占据了胃肠病门诊量的20%[11]. 虽然IBS-D不会导致像肠癌一样的严重疾病, 但是多数罹患人群必须通过应激的管理、饮食的控制等等来避免腹泻、腹痛的发生, 使得生活质量严重下降, 失业率严重上升, 增加了巨额医疗花费. 但目前病因和发病机制尚未明确, 成为有待解决的问题[12-14].

5-HT3受体目前分为5种亚型, HTR3A作为其中的一种亚型在5-HT3受体功能的形成中起关键性的作用, 他与HTR3B、HTR3C一样广泛表达于外周和中枢神经系统, 而HTR3D少量表达于中枢, 主要在胃肠道表达[15], 只有HTR3E只在胃肠道中表达[7,8], 这表明HTR3E受体亚型可能在人胃肠道5-HT3受体的形成和功能中起着特殊的作用. 英国遗传研究发现, 5-HT3受体亚型HTR3A受体变异型基因c.-42C>T (rsl062613)和HTR3E受体变异型基因c.*76G>A(rs62625044)可能与女性IBS-D的易感性有关[9], 但在德国人群中HTR3A(rsl062613)与IBS-D易感性的关联没有得到证实, 可能与种族和遗传特性不同有关. 在中国女性人群中, 这种受体变异性基因与IBS及其亚型是否存在关联目前尚未见报道. 我们的研究与Kapeller等[9]对英国人群的研究结果相似, 与英国人群相比, 我国IBS-D女性患者GA基因型与IBS-D的相关性更加密切, 说明我国女性IBS-D的发生和流行可能与HTR3E的3'UTR(rs62625044)多态性位点等位基因A所决定的遗传易感素质密切相关.

从不同基因型女性IBS-D患者肠道症状的分析结果来看, GA基因型的患者排便频率较GG组更高, 两组人群排便性状也存在很大差异, 但在排便时间的长短, 排便急迫感和不尽感以及腹痛程度上来看, 两组人群无显著性差异. 也就是说GA基因型患者较GG基因型患者可能有更加严重的肠道症状, 但仍然需要大样本的统计数据来验证, 而GA基因型的这种肠道现象可能与GA基因型患者的等位基因A所引起的与microRNA-510结合障碍而导致的靶基因的蛋白表达增高有关[9], 但具体的机制还需要进一步的实验验证.

4 参考文献

1 Agrawal A, Whorwell PJ. Irritable bowel syndrome: diagnosis and management. *BMJ* 2006; 332: 280-283 [PMID: 16455728 DOI: 10.1136/bmj.332.7536.280]

2 Scanu AM, Bull TJ, Cannas S, Sanderson JD, Sechi LA, Dettori G, Zanetti S, Hermon-Taylor J. Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis infection in cases of irritable bowel syndrome and comparison with Crohn's disease and Johne's disease: common neural and immune pathogenicities. *J Clin Microbiol* 2007; 45: 3883-3890 [PMID: 17913930 DOI: 10.1128/JCM.01371-07]

3 Lee OY. Prevalence and risk factors of irritable bowel syndrome in Asia. *J Neurogastroenterol Motil* 2010; 16: 5-7 [PMID: 20535320 DOI: 10.5056/jnm.2010.16.1.5]

4 周小玲, 周立平, 蔡文智. 肠易激综合征的流行病学调查. 中医药导报 2010; 16: 98-100

5 Olden KW. Targeted therapies for diarrhea-predominant irritable bowel syndrome. *Clin Exp Gastroenterol* 2012; 5: 69-100 [PMID: 22754282 DOI: 10.2147/CEG.S290]

6 Gershon MD. Nerves, reflexes, and the enteric nervous system: pathogenesis of the irritable bowel syndrome. *J Clin Gastroenterol* 2005; 39: S184-S193 [PMID: 15798484 DOI: 10.1097/01.mcg.0000156403.37240.30]

7 Niesler B, Frank B, Kapeller J, Rappold GA. Cloning, physical mapping and expression analysis of the human 5-HT3 serotonin receptor-like genes HTR3C, HTR3D and HTR3E. *Gene* 2003; 310: 101-111 [PMID: 12801637]

8 Karnovsky AM, Gotow LF, McKinley DD, Piechan JL, Ruble CL, Mills CJ, Schellin KA, Slightom JL, Fitzgerald LR, Benjamin CW, Roberds SL. A cluster of novel serotonin receptor 3-like genes on human chromosome 3. *Gene* 2003; 319: 137-148 [PMID: 14597179 DOI: 10.1016/S0378-1119(03)00803-5]

9 Kapeller J, Houghton LA, Mönnikes H, Walstab J, Möller D, Bönisch H, Burwinkel B, Autschbach F, Funke B, Lasitschka F, Gassler N, Fischer C, Whor-

well PJ, Atkinson W, Fell C, Büchner KJ, Schmidtmann M, van der Voort I, Wisser AS, Berg T, Rappold G, Niesler B. First evidence for an association of a functional variant in the microRNA-510 target site of the serotonin receptor-type 3E gene with diarrhea predominant irritable bowel syndrome. *Hum Mol Genet* 2008; 17: 2967-2977 [PMID: 18614545 DOI: 10.1093/hmg/ddn195]

10 Drossman DA. The functional gastrointestinal disorders and the Rome III process. *Gastroenterology* 2006; 130: 1377-1390 [PMID: 16678553 DOI: 10.1053/j.gastro.2006]

11 Tillisch K, Labus JS, Naliboff BD, Bolus R, Shetzline M, Mayer EA, Chang L. Characterization of the alternating bowel habit subtype in patients with irritable bowel syndrome. *Am J Gastroenterol* 2005; 100: 896-904 [PMID: 15784038 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2005.41211.x]

12 Camilleri M, Williams DE. Economic burden of irritable bowel syndrome. Proposed strategies to control expenditures. *Pharmacoeconomics* 2000; 17: 331-338 [PMID: 10947488 DOI: 10.2165/00019053-200017040-00003]

13 De Giorgio R, Barbara G, Stanghellini V, Cremon C, Salvioli B, De Ponti F, Corinaldesi R. Diagnosis and therapy of irritable bowel syndrome. *Aliment Pharmacol Ther* 2004; 20 Suppl 2: 10-22 [PMID: 15335409 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2004.020]

14 Garsed K, Chernova J, Hastings M, Lam C, Marciani L, Singh G, Henry A, Hall I, Whorwell P, Spiller R. A randomised trial of ondansetron for the treatment of irritable bowel syndrome with diarrhoea. *Gut* 2013 Dec 12. *[Epub ahead of print]* [PMID: 24334242 DOI: 10.1136/gutjnl-2013-305989]

15 Niesler B, Walstab J, Combrink S, Möller D, Kapeller J, Rietdorf J, Bönisch H, Göthert M, Rappold G, Brüss M. Characterization of the novel human serotonin receptor subunits 5-HT3C,5-HT3D, and 5-HT3E. *Mol Pharmacol* 2007; 72: 8-17 [PMID: 17392525 DOI: 10.1124/mol.106.032144]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

■同行评价

先前未见关于中国女性HTR3Ec.*76G>A(rs6262 5044)基因多态性与IBS-D关系的文献报道, 本研究进行了有益的探索.

世界华人消化杂志 2014年6月18日; 22(17): 2508-2512
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

广西籍炎症性肠病的临床流行病学特点分析325例

周晓雪, 农 辉, 黄婧渝, 黄 雪, 梁志海, 覃蒙斌

■背景资料
炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是消化系常见病多发病, 近年我国IBD发病率有增高趋势, 本文回顾性统计资料提供了广西地区IBD的流行病学和临床特征, 有利于IBD的临床诊治和深入研究.

周晓雪, 农辉, 黄婧渝, 黄雪, 梁志海, 覃蒙斌, 广西医科大学第一附属医院消化内科 广西壮族自治区南宁市 530021
周晓雪, 在读硕士, 主要从事炎症性肠病的研究.
作者贡献分布: 本文主要数据分析与文章起草由周晓雪完成; 病例选择、临床资料整理、由农辉与黄婧渝完成; 课题设计、文章修改和审阅由黄雪、梁志海及覃蒙斌完成.
通讯作者: 黄雪, 主任医师, 硕士生导师, 530021, 广西壮族自治区南宁市青秀区双拥路6号, 广西医科大学第一附属医院消化内科. hb960305@163.com
电话: 0771-5356501
收稿日期: 2014-05-03 修回日期: 2014-05-19
接受日期: 2014-05-29 在线出版日期: 2014-06-18

Clinical and epidemiological characteristics of inflammatory bowel disease in Guangxi: Analysis of 325 cases

Xiao-Xue Zhou, Hui Nong, Jing-Yu Huang, Xue Huang, Zhi-Hai Liang, Meng-Bin Qin

Xiao-Xue Zhou, Hui Nong, Jing-Yu Huang, Xue Huang, Zhi-Hai Liang, Meng-Bin Qin, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China
Correspondence to: Xue Huang, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, 6 Shuangyong Road, Qingxiu District, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. hb960305@163.com
Received: 2014-05-03 Revised: 2014-05-19
Accepted: 2014-05-29 Published online: 2014-06-18

Abstract

AIM: To explore the clinical and epidemiological characteristics of inflammatory bowel disease (IBD) in Guangxi.

METHODS: A total of 325 patients with IBD treated at the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University from May 2003 to May 2013 were analyzed retrospectively.

RESULTS: Among the 325 patients, 266 had ulcerative colitis (UC) and 59 had Crohn's disease (CD). The sex ratio of the entire group was 1.3:1. The high-risk age ranged from 30 to 39 years, and the average age was 39.62 years ± 18.09 years. Patients with IBD were diagnosed mainly in brain workers (64.9%). The incidence of smoking habit, alcohol abuse, or appendix operation was higher in CD patients than in UC patients ($P < 0.05$). The extensive colon was the most common site affected by UC, while the terminal ileum was the most commonly affected site in CD. According to the severity of disease activity, severe activity (53.1%) was the most common in UC, while moderate activity (54.2%) was predominant in CD. The incidence of CD disease was significantly higher ($P < 0.05$) in the last 5 years, especially in male patients.

CONCLUSION: The number of IBD patients in Guangxi Zhuang Autonomous region is on a rise, especially CD patients. Males have a higher incidence than females, and during the recent 5 years, the number of male CD patients has increased significantly. The IBD patients in Guangxi are mainly brain workers. Patients with smoking habit, alcohol abuse or appendix operation may be more susceptible to CD.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Inflammatory bowel disease; Ulcerative colitis; Crohn's disease; Epidemiological characteristics

Zhou XX, Nong H, Huang JY, Huang X, Liang ZH, Qin MB. Clinical and epidemiological characteristics of inflammatory bowel disease in Guangxi: Analysis of 325 cases. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(17): 2508-2512 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2508.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i17.2508

摘要

目的: 探讨广西籍炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)患者的流行病学特征、临床特点.

方法: 回顾性分析2003-05/2013-05广西医科大学第一附属医院广西籍IBD住院患者325例的流行病学及临床资料.

结果: (1)325例IBD患者中, 溃疡性结肠炎

■同行评议者
潘秀珍, 教授, 主任医师, 福建省立医院消化科

(ulcerative colitis, UC)266例, 克罗恩病(Crohn's disease, CD)59例; IBD患者男女比为1.3∶1, 高峰年龄段为30-39岁(20.92%), 平均发病年龄39.62岁±18.09岁. IBD患者职业构成以脑力工作者(64.9%)为主. CD患者中吸烟(52.5%)、饮酒(32.2%)、阑尾手术(10.2%)的比例均高于UC(P<0.05); (2)发病部位: UC以广泛结肠(E3)(46.2%)发生例数最多; CD以回肠末段(L1)(37.5%)最为常见; (3)疾病活动性严重程度: UC以重度活动期患者(53.1%)为主; CD以中度活动期患者(54.2%)为主; (4)前、后5年患病组比较, CD后5年在IBD中所占的比例增加(P<0.05), 前5年11例(8.8%), 后5年48例(24.0%). 后5年CD男性患者比例增多(P<0.05), 前5年5例(45.5%), 后5年37例(77.1%).

结论: (1)IBD患者的发病人数呈上升趋势, CD的增幅较UC明显, 男性发病多于女性, 且以近5年CD男性患者增多的特征较为明显; (2)IBD患者以脑力工作者高发, 吸烟、饮酒、阑尾手术可能会增加患CD的风险.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 炎症性肠病; 溃疡性结肠炎; 克罗恩病; 临床流行病学特点

核心提示: 近年我国炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)发病率有增高趋势, 已经成为主要的肠道疾病, 是慢性腹泻、血便的重要病因之一. 本文回顾性统计资料提供了广西地区IBD的流行病学和临床特征, 有利于IBD的临床诊治和深入研究, 国内关于IBD临床流行病学特点的文章较少.

周晓雪, 农辉, 黄婧渝, 黄雪, 梁志海, 覃蒙斌. 广西籍炎症性肠病的临床流行病学特点分析325例. 世界华人消化杂志 2014; 22(17): 2508-2512 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2508.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i17.2508

0 引言

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是一组病因尚不明确、难以治愈的慢性非特异性肠道炎症性疾病, 具有终身复发倾向, 包括溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)和克罗恩病(Crohn's disease, CD).

IBD的病因和发病机制复杂, 受遗传、环境、免疫、感染、精神压力等诸多因素影响; 临床表现多种多样, 缺乏特异性; 诊断需结合临床表现、影像学、内镜及组织病理等综合分析; 且该病具有难以治愈、反复发作的特点, 严重影响患者的生活质量. 因此重视IBD不断变化的人口学及临床特征, 对及时发现IBD高危个体、早期诊断和治疗, 改善其预后、提高生活质量有着重要作用. 本文回顾性分析了广西医科大学第一附属医院2003-05/2013-05广西籍IBD住院患者的流行病学及临床资料, 目的在于探讨炎症性肠病的流行病学特征、临床特点, 从而为IBD的预防和早期诊断提供帮助.

■研发前沿
IBD的病因和发病机制复杂. 临床表现多种多样, 缺乏特异性. 诊断需结合临床表现、影像学、内镜及组织病理等综合分析. 且该病具有难以治愈、反复发作的特点, 严重影响患者的生活质量. 因此重视IBD不断变化的人口学及临床特征, 对及时发现IBD高危个体、早期诊断和治疗, 改善其预后、提高生活质量有着重要作用.

1 材料和方法

1.1 材料 收集2003-05/2013-05在广西医科大学第一附属医院住院的325例广西籍IBD患者的流行病学及临床资料. 诊断标准、临床类型、病变范围、病情分期均依据2012年中华医学会消化病学分会炎症性肠病学组提出的“炎症性肠病诊断与治疗的共识意见[1]”.

1.2 方法 将266例UC患者及59例CD患者的性别、发病年龄、吸烟、饮酒及阑尾手术情况、病变范围、病情分期进行统计分析, 比较UC及CD患者上述内容的异同, 同时将UC及CD患者上述内容进行前后5年的比较, 以总结广西籍IBD患者的临床流行病学特点.

统计学处理 使用SPSS13.0软件, 采用χ^2检验. P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 一般资料

2.1.1 性别分布: 325例广西籍IBD患者(以下简称IBD患者), 广西籍UC患者(以下简称UC患者)266例(81.8%)广西籍CD患者(以下简称CD患者)59例(18.2%). IBD患者男女比为1.3∶1, 其中男性184例(56.6%), 女性141例(43.4%). 266例UC患者男女比为1.15∶1, 其中, 男性142例(53.4%), 女性124例(46.6%); 59例CD患者男女比为2.47∶1, 其中男性42例(71.2%),女性17例(28.8%). 经χ^2检验, UC组与CD组的性别分布, 差异有统计学意义(P<0.05).

2.1.2 年龄分布: IBD患者中发病年龄最大为89岁, 最小为1岁7个月. IBD高发年龄为30-39岁, 平均发病年龄39.62岁±18.09岁. UC高发年龄为32-44岁, 平均发病年龄41.20岁±18.11岁. CD高发年龄为20-34岁,平均发病年龄32.54岁±16.30岁. 266例UC患者, 脑力工作者169例(63.5%), 非脑力工作者97例(36.5%); 59例CD患者脑力工作

■创新盛点
IBD是消化系常见病多发病, 近年我国IBD发病率有增高趋势, 本文回顾性统计资料提供了广西地区IBD的流行病学和临床特征, 有利于IBD的临床诊治和深入研究, 国内类似文章不多.

者42例(71.2%), 非脑力工作者17例(28.8%). 经卡方检验, UC组与CD组的职业分布, 差异无统计学意义(P>0.05).

2.1.3 吸烟、饮酒史及阑尾手术史: 266例UC患者有吸烟史34例(12.8%), 有饮酒史25例(9.4%), 有阑尾手术切除史3例(1.1%); 59例CD患者有吸烟史31例(52.5%), 有饮酒史19例(32.2%), 有阑尾手术切除史6例(10.2%). 经卡方检验, UC组与CD组比较, 吸烟、饮酒、阑尾手术, 差异均有统计学意义(P<0.05).

2.1.4 病变范围、病情分期: UC病变范围: 除外43例未行内镜检查者(院外/既往已确诊, 此次入院未行肠镜检查), 223例UC患者, 病变累及最大范围: 直肠(E1)者21例(9.4%), 左半结肠(E2)99例(44.4%), 广泛结肠(E3)103例(46.2%). 266例UC患者, 病情分期: 缓解期10例(3.8%), 活动期256例(96.2%); 256例活动期UC患者按疾病严重程度分为: 轻度78例(30.5%), 中度42例(16.4%), 重度136例(53.1%). CD患者按疾病活动性严重程度: 缓解期24例(40.7%), 中度活动期32例(54.2%), 重度活动期3例(5.1%); 除外3例未行肠镜者(院外/既往已确诊, 此次入院未行肠镜检查), 56例CD患者, 按病变部位(L)分为: 回肠末段(L1)21例(37.5%), 结肠(L2)12例(21.4%), 回结肠(L3)15例(26.8%), 上消化道(L4)2例(3.6%), 回肠末段+上消化道(L1+L4)5例(8.9%), 结肠+上消化道(L2+L4)1例(1.8%).

2.2 IBD前后5年临床流行病学变化特点

2.2.1 IBD患病人数: 将325例IBD患者按住院时间分为两组, 2003-05/2008-04为前5年患病组, 2008-05/2013-05为后5年患病组. 前5年患病组共125例, 其中UC患者114例(91.2%), CD患者11例(8.8%); 后5年患病组200例, 其中UC患者152例(76.0%), CD患者48例(24.0%). 经卡方检验, 前后5年IBD患者的患病人数, 差异有统计学意义(P<0.05).

2.2.2 IBD前后5年临床流行病学变化特征: (1)性别分布: 前5年患病的114例UC患者中, 男性58例(50.9%), 女性56例(49.1%); 后5年患病的152例UC患者中, 男性84例(55.3%), 女性68例(44.7%). 经卡方检验, 前后5年UC的性别分布, 差异无统计学意义(P>0.05). 前5年患病的11例CD患者中, 男性5例(45.5%), 女性6例(54.5%); 后5年患病的48例CD患者中, 男性37例(77.1%), 女性11例(22.9%). 经卡方检验, 前后5年CD的性别分布, 差异有统计学意义(P<0.05); (2)职业分布: 前5年患病的114例UC患者中, 脑力工作者76例(66.7%), 非脑力工作者38例(33.3%); 后5年患病的152例UC患者中, 脑力工作者93例(61.2%), 非脑力工作者59例(38.8%). 经卡方检验, 前后5年UC的职业分布, 差异无统计学意义(P>0.05). 前5年患病的11例CD患者中, 脑力工作者10例(90.9%), 非脑力工作者1例(9.1%); 后5年患病的48例CD患者中, 脑力工作者32例(66.7%), 非脑力工作者16例(33.3%). 经卡方检验, 前后5年CD的职业分布, 差异无统计学意义(P>0.05); (3)发病部位: 前5年患病的96例UC患者(已除外18例未行内镜检查者), 病变累及最大范围: 直肠(E1)者5例(5.2%), 左半结肠(E2) 50例(52.1%), 广泛结肠(E3)41例(42.7%); 后5年患病的127例UC患者(已除外25例未行内镜检查者), 病变累及最大范围: 直肠(E1)者16例(12.6%), 左半结肠(E2)49例(38.6%), 广泛结肠(E3)62例(48.8%). 经卡方检验, 前后5年UC的发病部位, 差异无统计学意义(P>0.05). 前5年患病的11例CD患者中, 回肠末段(L1)3例(27.3%), 结肠(L2)2例(18.2%), 回结肠(L3)3例(27.3%), 回肠末段+上消化道(L1+L4)2例(18.2%), 结肠+上消化道(L2+L4) 1例(9%); 后5年患病的45例CD患者(已除外3例未行内镜检查者), 回肠末段(L1)18例(40.0%), 结肠(L2)10例(22.2%), 回结肠(L3)12例(26.7%), 上消化道(L4)2例(4.4%); 回肠末段+上消化道(L1+L4)3例(6.7%). 经卡方检验, 前后5年CD的发病部位, 差异无统计学意义(P>0.05); (4)病情分期: 前5年患病的114例UC患者中, 缓解期4例(3.5%), 轻度活动期41例(36.0%), 中度活动期18例(15.8%), 重度活动期51例(44.7%); 后5年患病的152例UC患者中, 缓解期6例(3.9%), 轻度活动期37例(24.4%), 中度活动期24例(15.8%), 重度活动期85例(55.9%). 经卡方检验, 前后5年UC的疾病分期, 差异无统计学意义(P>0.05). 前5年患病的11例CD患者中, 缓解期6例(54.5%), 中度活动期5例(45.5%); 后5年患病的48例CD患者中, 缓解期18例(37.5%), 中度活动期27例(56.3%), 重度活动期3例(6.2%). 经卡方检验, 前后5年CD的病情分期, 差异无统计学意义(P>0.05).

3 讨论

IBD包括UC和CD. 近年来IBD, 尤其是UC已经成为我国主要的肠道疾病, 是慢性腹泻、血便的重要病因之一.

3.1 患病人数 IBD在工业较发达的地区如欧洲、

北美发病率偏高, 而非洲、亚洲发病率偏低, 这可能与诊断意识低、感染性腹泻的发病率高与IBD重叠发病有关. 有报道目前欧洲、北美洲的发病率分别为24.3/10万和19.2/10万, 亚洲发病率为6.3/10万[2]. 目前国内尚缺乏大规模的流行病学调查, 有研究推测国内UC的患病率为11.6/10万[3], CD的患病率为2.29/10万[4]. 国内有报道上海地区2002-2011年IBD的新发病例数呈明显上升趋势, 且CD的增幅明显大于UC[5]. 一项关于广东中山市IBD发病率的前瞻性研究发现,中山市UC发病率为2.05/10万, CD发病率为1.09/10万[6]. 另有研究昆明市1998-2007年IBD的发病状况发现, 昆明市近10年间IBD住院患者呈逐年增加趋势, 以UC升高为主[7]. 本研究发现, 广西籍UC的患病人数明显高于CD, 与国内外报道一致; 近5年IBD的患病人数升高, 且CD所占IBD的比例较前增加, 这可能与工业化进程的发展、人民生活水平的西化、医疗卫生条件的改善及临床医师对IBD认识的不断提高有关.

3.2 性别、年龄 西方国家UC男女比为1∶1, CD男女比为1∶1.46-1∶1.6[8,9]. 国内UC男女比为1.34∶1, CD男女比为1.67∶1[3,10]. 本研究中, 广西籍UC患者男女比相似, CD患者男性明显多于女性, 经比较发现CD男性患病率比UC高, 以近5年升高明显, 提示IBD患者男性多于女性, 尤以近5年CD男性患者增多的特征较为明显. 吸烟在CD男性中的比例明显高于女性, 本研究中有30例(71.4%)男性患者吸烟, 而仅有1例女性患者吸烟, 这个危险因素可能是导致CD患者男女性别差异的原因之一.

西方国家IBD的高发年龄呈双峰分布, 分别为20-40岁和60-79岁, UC以中年患者常见(30-40岁), CD以中青年患者常见(20-30岁)[11-13]. 我国UC多发于青壮年期, 发病高峰年龄为20-49岁, CD多发于青年期,发病高峰年龄为18-35岁[14,15]. 本研究中, 广西籍IBD高峰年龄为30-39岁, 未呈现明显的双峰分布, UC高峰年龄为32-44岁, CD高峰年龄为20-34岁, CD的高发年龄较UC提前约10年, 基本与国内外报道相符.

3.3 职业 西方国家IBD患者的职业构成中, 以脑力工作者为主, 我国也有相似的报道[15]. 本研究中发现, 广西籍IBD患者职业构成中以脑力工作者为主, UC及CD职业构成比无差异. 脑力工作者为IBD的高发人群, 可能与其所处环境污染、生活压力、饮食结构改变及脑力工作者多处于较高的社会经济地位, 从而拥有更多获得诊治的机会有关.

3.4 吸烟、饮酒、阑尾手术史 国外的一篇系统评价指出吸烟为CD的危险因素, 且与加重病情进展、增加手术机会、增加疾病复发率有关; 但对UC而言, 吸烟却为保护因素, 能降低复发率, 减少结肠切除的风险[16]. 这是因为在CD患者中, 慢性尼古丁刺激T细胞表面的烟碱受体产生辅助性T细胞因子(如: γ-干扰素等)从而参与疾病的发生、发展, 而在UC患者中, 尼古丁增加肠黏膜血流量、减少肠黏膜通透性起到对黏膜的保护作用, 至于尼古丁在CD和UC中作用不同的原因尚不明确[17]. 普遍认为阑尾炎手术将降低UC风险, 增加CD风险. 这可能与阑尾切除影响肠道黏膜免疫系统功能有关, 但具体机制尚不明确. 而目前关于饮酒对IBD的影响尚无定论. 本研究中发现广西籍CD患者中吸烟、饮酒、阑尾手术者的比例均明显高于UC组, 提示吸烟、饮酒及阑尾手术可能会增加患CD的风险.

3.5 病变范围、病情分期 我国与西方国家关于IBD病变范围的分型方法基本一致, 均为依据蒙特利尔分型, 将UC分为直肠型(E1)、左半结肠型(E2)和广泛结肠型(E3), CD分为回肠末段型(L1)、结肠型(L2)、回结肠型(L3)、上消化道型(L4)、回肠末段+上消化道型(L1+L4)、结肠+上消化道型(L2+L4)、回结肠+上消化道型(L3+L4). 我国及西方国家IBD发病部位相似, UC病变位于直肠、左半结肠、广泛结肠约各占1/3. 本研究发现, 广西籍UC患者, 发病部位以广泛结肠103例(38.7%)为多, 较亚洲其他地区如丹麦、韩国等发生率高[18,19]. 广西籍CD患者以回肠末段发生率最高, 共21例(37.5%), 与国内报道相似[20]. 因此, 当临床疑诊CD时, 结肠镜检查应做到回肠末段, 可减少漏诊, 做到早期诊断、早期治疗, 从而提高治疗的效果、改善疾病的预后.

按改良Truelove和Witts分度标准, 活动期UC可分为轻度、中度、重度. 国内研究显示, UC轻度约占35.4%, 中度约占42.9%, 重度约占21.7%[3]. 本研究中发现, 相比于国内平均水平, 广西籍UC住院患者中处于重度活动期的例数偏多, 共136例(53.1%). 根据简化CD活动指数分度, CD分为缓解期、中度活动期、重度活动期. 本研究中发现, 广西籍CD患者以中度为主, 共32例(54.2%), 因病例数较少, 尚需大样本的临床回顾分析进一步证实.

本研究发现广西籍UC住院患者病变范围

■应用要点
本文旨在探讨炎症性肠病的流行病学特征、临床特点、治疗及预后变迁, 从而为IBD的预防和早期诊断提供帮助.

■同行评价
本文立题目的明确，纳入研究病例依据充分诊断明确，观察规范，分析科学，结果可信．研究结果对IBD的临床诊疗有一定参考意义．

大、疾病活动度重，可能与患者健康意识差、耐受性较强，未及时就诊，致病情迁延、病变范围扩大、病情加重，复发后未能及时就诊，或与本研究均为住院患者相对病情较重、病变范围较大有关．因此，如何早期发现UC的高危人群和高危因素，做好预防宣教及普及本病知识，做出早期诊断和及时治疗，仍需要做很多研究工作．

4 参考文献

1 中华医学会消化病学分会炎症性肠病学组. 炎症性肠病诊断与治疗的共识意见(2012年, 广州). 中华消化杂志 2012; 32: 796-813
2 Molodecky NA, Soon IS, Rabi DM, Ghali WA, Ferris M, Chernoff G, Benchimol EI, Panaccione R, Ghosh S, Barkema HW, Kaplan GG. Increasing incidence and prevalence of the inflammatory bowel diseases with time, based on systematic review. *Gastroenterology* 2012; 142: 46-54. e42; quiz e30 [PMID: 22001864 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.10.001]
3 Wang Y, Ouyang Q. Ulcerative colitis in China: retrospective analysis of 3100 hospitalized patients. *J Gastroenterol Hepatol* 2007; 22: 1450-1455 [PMID: 17716349 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2007.04873.x]
4 Zheng JJ, Zhu XS, Huangfu Z, Shi XH, Guo ZR. Prevalence and incidence rates of Crohn's disease in mainland China: a meta-analysis of 55 years of research. *J Dig Dis* 2010; 11: 161-166 [PMID: 20579219 DOI: 10.1111/j.1751-2980.2010.00431.x]
5 朱水津, 江石湖, 马天乐, 刘菲. 766例IBD住院患者的人口资料分析. 胃肠病学 2013; 18: 425-427
6 朱振华, 曾志荣, 彭侠彪, 彭林, 郝元涛, 黄秀娟, 陈晏湖, 胡品津. 广东省中山市炎症性肠病的发病率及临床特点. 中华消化杂志 2013; 33: 390-393
7 缪应雷, 黄华丽, 王光耀, 杜艳, 段丽平. 昆明市炎症性肠病多中心临床资料分析. 中华消化杂志 2009; 29: 90-92
8 Button LA, Roberts SE, Goldacre MJ, Akbari A, Rodgers SE, Williams JG. Hospitalized prevalence and 5-year mortality for IBD: record linkage study. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 431-438 [PMID: 20101767 DOI: 10.3748/wjg.v16.i4.431]
9 Gunesh S, Thomas GA, Williams GT, Roberts A, Hawthorne AB. The incidence of Crohn's disease in Cardiff over the last 75 years: an update for 1996-2005. *Aliment Pharmacol Ther* 2008; 27: 211-219 [PMID: 18005244 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2007.03576.x]
10 APDW2004 Chinese IBD Working Group. Retrospective analysis of 515 cases of Crohn's disease hospitalization in China: nationwide study from 1990 to 2003. *J Gastroenterol Hepatol* 2006; 21: 1009-1015 [PMID: 16724987 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2006.04140.x]
11 Sonnenberg A. Age distribution of IBD hospitalization. *Inflamm Bowel Dis* 2010; 16: 452-457 [PMID: 19714765 DOI: 10.1002/ibd.21058]
12 Loftus EV. Clinical epidemiology of inflammatory bowel disease: Incidence, prevalence, and environmental influences. *Gastroenterology* 2004; 126: 1504-1517 [PMID: 15168363]
13 Cosnes J, Gower-Rousseau C, Seksik P, Cortot A. Epidemiology and natural history of inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology* 2011; 140: 1785-1794 [PMID: 21530745 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.01.055]
14 Chow DK, Leong RW, Tsoi KK, Ng SS, Leung WK, Wu JC, Wong VW, Chan FK, Sung JJ. Long-term follow-up of ulcerative colitis in the Chinese population. *Am J Gastroenterol* 2009; 104: 647-654 [PMID: 19262521 DOI: 10.1038/ajg.2008.74]
15 Jiang L, Xia B, Li J, Ye M, Yan W, Deng C, Ding Y, Luo H, Hou W, Zhao Q, Liu N, Ren H, Hou X, Xu H. Retrospective survey of 452 patients with inflammatory bowel disease in Wuhan city, central China. *Inflamm Bowel Dis* 2006; 12: 212-217 [PMID: 16534423 DOI: 10.1097/01.MIB.0000201098.26450.ae]
16 Mahid SS, Minor KS, Soto RE, Hornung CA, Galandiuk S. Smoking and inflammatory bowel disease: a meta-analysis. *Mayo Clin Proc* 2006; 81: 1462-1471 [PMID: 17120402 DOI: 10.4065/81.11.1462]
17 Kikuchi H, Itoh J, Fukuda S. Chronic nicotine stimulation modulates the immune response of mucosal T cells to Th1-dominant pattern via nAChR by upregulation of Th1-specific transcriptional factor. *Neurosci Lett* 2008; 432: 217-221 [PMID: 18248893 DOI: 10.1016/j.neulet.2007.12.027]
18 Jess T, Riis L, Vind I, Winther KV, Borg S, Binder V, Langholz E, Thomsen OØ, Munkholm P. Changes in clinical characteristics, course, and prognosis of inflammatory bowel disease during the last 5 decades: a population-based study from Copenhagen, Denmark. *Inflamm Bowel Dis* 2007; 13: 481-489 [PMID: 17206705 DOI: 10.1002/ibd.20036]
19 Yang SK, Yun S, Kim JH, Park JY, Kim HY, Kim YH, Chang DK, Kim JS, Song IS, Park JB, Park ER, Kim KJ, Moon G, Yang SH. Epidemiology of inflammatory bowel disease in the Songpa-Kangdong district, Seoul, Korea, 1986-2005: a KASID study. *Inflamm Bowel Dis* 2008; 14: 542-549 [PMID: 17941073 DOI: 10.1002/ibd.20310]
20 Chow DK, Leong RW, Lai LH, Wong GL, Leung WK, Chan FK, Sung JJ. Changes in Crohn's disease phenotype over time in the Chinese population: validation of the Montreal classification system. *Inflamm Bowel Dis* 2008; 14: 536-541 [PMID: 18058793 DOI: 10.1002/ibd.20335]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年6月18日; 22(17): 2513-2517
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

结直肠癌肺转移患者的临床特点、转移灶表现、治疗方式及预后情况

王振贤, 郑友峰, 梁 勇, 许俊旭

王振贤, 郑友峰, 梁勇, 许俊旭, 海口市中医医院 海南省海口市 570216
王振贤, 副主任医师, 主要从事危重症的研究.
作者贡献分布: 本文由王振贤、郑友峰、梁勇及许俊旭共同完成.
通讯作者: 王振贤, 副主任医师, 570216, 海南省海口市金盘路45号, 海口市中医医院. wangzx1303490@163.com
电话: 0898-65887381
收稿日期: 2014-02-27 修回日期: 2014-04-12
接受日期: 2014-04-20 在线出版日期: 2014-06-18

Pulmonary metastases of colorectal carcinoma: Clinical characteristics, metastatic features, therapeutic methods and prognosis

Zhen-Xian Wang, You-Feng Zheng, Yong Liang, Jun-Xu Xu

Zhen-Xian Wang, You-Feng Zheng, Yong Liang, Jun-Xu Xu, Haikou City Hospital of Traditional Chinese Medicine, Haikou 570216, Hainan Province, China
Correspondence to: Zhen-Xian Wang, Associate Chief Physician, Haikou City Hospital of Traditional Chinese Medicine, 45 Jinpan Road, Haikou 570216, Hainan Province, China. wangzx1303490@163.com
Received: 2014-02-27 Revised: 2014-04-12
Accepted: 2014-04-20 Published online: 2014-06-18

Abstract

AIM: To explore the clinical characteristics, metastatic features, therapeutic methods and prognosis in patients with pulmonary metastases of colorectal carcinoma.

METHODS: The clinical data of 120 patients with pulmonary metastases of colorectal cancer were retrospectively analyzed. The clinical parameters of the patients, treatment methods and the factors affecting prognosis were analyzed.

RESULTS: In patients with pulmonary metastases of colorectal carcinoma, the 6-mo, 1-, 2-, 3-, and 5-year survival rates were 78%, 44%, 26%, 19% and 16%, respectively, with an overall median overall survival (OS) period of 18.0 mo. Pulmonary symptoms, sex, age, single or multiple pulmonary metastases, the presence or absence of liver metastases, mediastinal and/or hilar lymph node involvement were not significant prognostic factors of OS ($P > 0.05$). Univariate analysis showed that factors significantly predicting a poor prognosis included primary tumor site ($P = 0.017$), vessel invasion ($P = 0.024$) and high T stage ($P = 0.008$). However, none of these were prognostic factors on multivariate analysis. There was a trend of better survival in patients submitted to metastasectomy compared with those submitted to chemotherapy alone, although there was no statistical difference (median OS: 33.0 mo *vs* 18.0 mo, $P = 0.128$). Among 153 patients who underwent radical colorectal resection, 82 had pulmonary metastases in two years after surgery, with a median disease free interval (DFI) of 20.0 mo. The factors that affected DFI included primary tumor site, morphotype, differentiation degree, T stage and N stage ($P < 0.05$). T stage was an independent predictive factor of DFI ($P = 0.019$).

CONCLUSION: T stage is an independent predictor of DFI, showing that the tumor with strong ability of invasion tend to cause lung metastasis more commonly.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Colorectal neoplasms; Pulmonary metastasis; Prognosis

Wang ZX, Zheng YF, Liang Y, Xu JX. Pulmonary metastases of colorectal carcinoma: Clinical characteristics, metastatic features, therapeutic methods and prognosis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(17): 2513-2517
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2513.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i17.2513

摘要

目的: 探讨结直肠癌肺转移患者的临床特点、转移灶表现、治疗方式及预后情况.

方法: 回顾120例结直肠癌肺转移患者的临床

■背景资料
结直肠癌已成为临床最常见的恶性肿瘤, 在世界范围内其发病率逐年上升, 我国每年有大量患者罹患结直肠癌. 由于结直肠癌发病后易在体内发生肿瘤的转移, 给临床治疗和控制其恶化造成了极大的困难. 研究发现, 肺是结直肠癌最易转移的部位之一, 仅次于肝脏, 转移率达到了10%以上. 在结直肠癌肝转移中, 大量研究表明通过对肝脏病灶进行手术切除可获得治愈机会, 但在结直肠癌肺转移中, 采用何种治疗手段以及有哪些因素影响预后还不明确.

■同行评议者
姜相君, 主任医师, 青岛市市立医院消化科

■研发前沿
结直肠癌患者最常发生转移的部位是肝和肺，目前针对结直肠癌肝转移已有大量研究，而针对肺转移的研究也逐渐成为热点.

资料, 对患者的临床参数、治疗方法和影响预后的相关因素进行分析.

结果: 结直肠癌肺转移患者6 mo、1、2、3和5年的累积生存率分别为78%、44%、26%、19%和16%, 中位生存时间(overall survival, OS)为18 mo. 有或无特异性肺部症状、性别、年龄、伴或不伴肝转移、肺转移灶单发或多发、是否存在纵隔和/或肺门淋巴结转移均与OS无关(均P>0.05). 单因素分析发现结直肠癌原发部位(P = 0.017)、脉管浸润(P = 0.024)和T分期(P = 0.008)是影响肺转移患者中位OS的因素, 但多因素分析未发现独立预后因子. 接受肺转移灶切除术者相比单纯化学治疗者中位OS更长(分别为33和18 mo), 但因例数较少, 差异无统计学意义(P = 0.128). 153例接受结直肠癌根治术者中, 术后两年内有82例患者出现肺转移, 中位无病间期(disease-free interval, DFI)为20 mo. 中位DFI与结直肠癌原发部位、形态类型、分化程度、T分期和N分期相关(均P<0.05), 其中肿瘤浸润程度(T分期)是DFI的独立预测因子(P = 0.019).

结论: T分期是影响DFI的独立预测因子, 表明侵袭能力强的肿瘤更易发生肺转移, 在临床早期诊断时应关注肿瘤浸润程度对预后的影响.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 结直肠肿瘤; 肺转移; 预后

核心提示: 本研究通过回顾性分析结直肠癌肺转移患者的临床特点、转移灶表现、治疗方式及预后情况, 明确了肿瘤浸润程度是影响中位无病间期(disease-free interval)的独立预测因子, 为临床尽早诊断结直肠癌肺转移提供依据.

王振贤, 郑友峰, 梁勇, 许俊旭. 结直肠癌肺转移患者的临床特点、转移灶表现、治疗方式及预后情况. 世界华人消化杂志 2014; 22(17): 2513-2517 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2513.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i17.2513

0 引言

结直肠癌已成为临床最常见的恶性肿瘤, 在世界范围内其发病率逐年上升, 我国每年也有大量患者罹患结直肠癌[1-3]. 由于结直肠癌发病后易在体内发生肿瘤的转移, 给临床治疗和控制其恶化造成了极大的困难[4,5]. 研究发现, 肺是结直肠癌最易转移的部位之一, 仅次于肝脏, 转移率达到了10%以上[6]. 在结直肠癌肝转移中, 大量研究表明通过对肝脏病灶进行手术切除可获得治愈机会[7], 但在结直肠癌肺转移中, 采用何种治疗手段以及有哪些因素影响预后还不明确. 本研究通过回顾性分析结直肠癌肺转移患者的临床资料, 为临床诊疗结直肠癌肺转移及其预防提供依据.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2002-01/2012-12在我院进行诊疗的结直肠癌肺患者200例. 其中男性113例, 女性87例, 平均年龄58.7岁±15.7岁. 入选标准: (1)经纤维结直肠镜活检病理检查或手术病理检查证实为结直肠癌; (2)以X线检查、CT检查或者其他影像学检查证实肺部存在病灶; (3)肺部病灶呈球形, 表现为边缘光滑、密度均匀或呈弥漫性结节状; (4)诊断确定是肺转移性肿瘤, 排除原发性肺癌. 排除标准: (1)合并有其他部位原发性肿瘤者; (2)心、肝功能严重不全者; (3)肺部有严重疾病或肺功能不全者. 200例患者中, 原发肿瘤部位位于结肠者68例, 位于直肠者129例, 另3例无法明确病灶部位. 根据美国癌症联合会(American Joint Committee on Cancer, AJCC)结直肠癌TNM分期标准[8]对患者重新分期.

1.2 方法 回顾性分析患者门诊或住院病史登记资料, 记录原发灶手术情况、肺转移的基本情况(包括时间、部位、数目等)、治疗方法等. 采用的随访方式包括电话、门诊和电子邮件, 末次随访时间为2013-04-30. 将发现肺转移至患者死亡或末次随访结束时定义为生存时间(overall survival, OS); 自结直肠癌原发肿瘤根治术后至发现肺转移时定义为无病间期(disease-free interval, DFI).

统计学处理 采用SPSS19.0软件进行数据分析. OS和DFI的计算采用Kaplan-Meier法, 并用Logistic回归分析确定其差异性. 采用寿命表法计算累积生存率, 以COX比例风险模型进行多因素分析确定影响OS或DFI的相关因素. P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 结直肠癌肺转移的典型特征 结直肠癌肺转移患者经X线检查, 肺部病灶多呈球形, 表现为边缘光滑、密度均匀或呈弥漫性结节状(图1).

2.2 总体生存情况 200例患者中有4例失访, 剩余196例中死亡者88例. 6 mo、1、2、3和5年的累积生存率分别为78%、44%、26%、19%和16%.

表 1 脉管浸润、T分期、肿瘤原发部位与患者中位生存时间的关系

项目	n	中位生存时间(mo)	95%可信区间(mo)	P值
脉管浸润				0.024
有	39	11	3.4–17.1	
无	13	8	4.1–10.3	
T分期				0.008
T1	12	12	0.9–22.4	
T2	25	6	4.9–9.9	
T3	52	15	10.3–18.7	
T4	59	20	16.3–23.3	
肿瘤原发部位				0.017
直肠	129	17	9.9–21.8	
升结肠	22	28	10.1–47.5	
横结肠	3	8	5.4–12.3	
降结肠	13	12	3.4–18.4	
乙状结肠	25	14	7.3–18.5	
回盲部	4	15	8.7–19.9	

表 2 无病间期与结直肠癌病理特征的关系

项目	n	无病间期(mo)	95%可信区间(mo)	P值
肿瘤部位				0.022
直肠	108	20	16.8–24.8	
结肠	50	14	11.2–17.3	
形态类型				0.017
隆起型	12	45	25.9–68.7	
溃疡型	46	16	8.8–24.5	
浸润型	10	14	10.3–16.2	
分化程度				0.002
高	16	29	15.7–35.8	
中	62	16	12.4–20.9	
低	12	9	3.1–17.4	
肿瘤浸润程度				0.000
T1	13	60	38.7–80.1	
T2	26	21	17.0–27.3	
T3	48	16	11.2–18.8	
T4	33	13	8.1–18.1	
局部淋巴结转移				0.015
N0	41	23	14.6–29.2	
N1	60	17	12.3–20.0	
N2	17	15	13.8–18.7	

中位生存时间为18 mo, 95%CI: 11.8-20.1 mo.

2.3 患者临床表现与生存时间的关系 200例患者中男性113例, 女性87例, 年龄>60岁者75例, 经Logistic回归分析, 性别和年龄均不是影响生存时间的因素(*P*值分别为0.764、0.923). 观察结直肠癌肺转移患者的肺部症状, 仅有15例有特异性表现, 其中咳痰者13例, 咳血者2例, 发热者1例. 出现肺部症状者的OS为14 mo, 未出现肺部症状者的OS为16 mo, 两者相比无显著差异(P = 0.988). 200例患者中, 发现伴有肝转移者137例, OS为13 mo, 相比未出现肝转移者(OS = 19 mo)较低, 但两者相比无显著差异(P = 0.118).

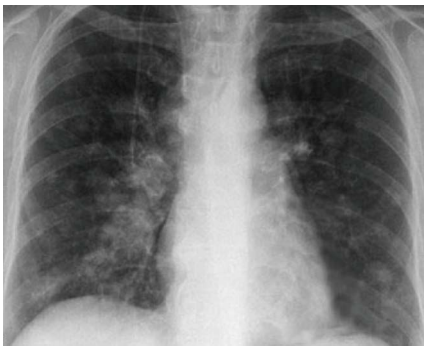


图 1 肺部弥漫性结节状病灶.

2.4 脉管浸润、T分期、肿瘤原发部位与患者中位生存时间的关系 肿瘤原发于直肠者为129例, 原发于结肠者为67例, 两者相比有显著差异(P<0.05). 肿瘤原发部位与中位生存时间有关(P<0.05). 回盲部癌、升结肠癌和直肠癌的中位OS长于降结肠癌, 横结肠癌的中位OS长于直肠癌, 差异均有统计学意义(均P<0.05). 单因素分析结果表明, 结直肠癌肺转移患者脉管浸润、T分期与中位生存时间有关(均P<0.05)(表1). 但对以上项目进行多因素分析发现, 并无任何因素是中位生存时间的独立预测因素. 另外, 200例中153例(76.5%)患者接受了结直肠癌根治术, 另有37例(18.5%)行姑息性手术.

2.5 肿瘤肺转移病灶情况 200例肿瘤肺转移患者中128例为多发病灶, OS为14 mo; 单发病灶者为72例, OS为18 mo, 两者相比无显著差异(P = 0.834). 单发病灶者中, 绝大部分的病灶部位为右肺下叶(37例/51.4%). 仅25例存在肺门淋巴结或纵膈淋巴结肿大, OS为13 mo; 淋巴结无转移者OS为18 mo, 两者相比无显著差异(P = 0.334).

2.6 肿瘤肺转移的治疗情况 在对结直肠癌肺转移患者进行的治疗中, 化疗为主要方式. 有139例患者采取单纯化疗方式进行治疗, 20例单纯肺转移患者进行了切除肺转移灶的手术治疗, 5例进行了放疗结合化疗的方式, 剩余所有患者仅采取了支持治疗. 接受肺转移灶切除术者的中位OS(33 mo)长于单纯接受化学治疗者(18 mo), 但因例数较少, 差异无统计学意义(P =

■相关报道
有大量研究表明, 切除转移病灶可明显提高病患的生存机会. 因此在结肠癌肺转移的治疗中, 针对肺转移灶进行治疗就成为常规的治疗手段.

■同行评价
本研究结果详细，结论有一定的参考价值.

表 3 多因素分析无病间期的独立预测因素

项目	β	SE	Wald值	OR	95%CI	P值
肿瘤原发部位	−0.417	0.392	1.159	0.659	0.3−1.4	0.287
病理类型	0.421	0.317	1.714	1.523	0.8−2.8	0.186
分化程度	0.468	0.273	2.826	1.597	0.9−2.7	0.090
肿瘤浸润程度	0.395	0.169	5.168	1.485	1.1−2.1	0.019
局部淋巴结转移	0.417	0.268	2.464	1.518	0.9−2.6	0.121

0.128). 行手术治疗的患者有4例在术后再次肺转移, 其中2例再次进行了手术治疗联合化疗, 另2例未再次手术治疗的患者1年后死亡.

2.7 DFI及其影响因素 进行结肠癌根治术的153例患者中, 术后第1年出现37例肺转移, 第2年出现45例, 中位DFI为19 mo. DFI<12 mo、DFI = 12-35 mo、DFI>35 mo的三组患者其DFI与OS无相关性(P = 0.589). 以单因素分析统计无病间期及其影响因素, 发现肿瘤位于直肠的患者DFI高于位于结肠部位的患者, 肿瘤为隆起型形态、分化程度高、浸润程度为T1期以及无局部淋巴结转移的患者的DFI相比其他患者均较高(表2). 将上述影响因素进行多因素分析发现, 仅肿瘤浸润程度(T分期)是DFI的独立预测因素(表3).

3 讨论

结直肠癌患者最常发生转移的部位是肝和肺, 目前针对结直肠癌肝转移已有大量研究, 而针对肺转移的研究也逐渐成为热点[9,10]. 有大量研究表明, 切除转移病灶可明显提高病患的生存机会[11,12]. 因此在结肠癌肺转移的治疗中, 针对肺转移灶进行治疗就成为常规治疗手段. 本研究回顾了结直肠癌肺转移患者的临床资料, 为其临床诊断和早期预防提供依据.

肺转移肿瘤可能发于单侧, 也可能双侧都有, 本研究中直肠癌肺转移患者占绝大多数, 这可能是由于其转移途径是经直肠静脉通过椎骨从而流入下腔静脉, 从而到达肺[13], 因此直肠癌发生肺转移的概率较结肠癌大. 在临床表现上, 结直肠癌肺转移患者大部分不会出现明显症状, 极少数会出现咳嗽、发热甚至咯血, 只有到晚期才会出现与原发肺癌相似的情况[14]. 本研究中只有15例患者出现类似的特异性表现, 与上述特点一致. 本研究发现, 回盲部癌、升结肠癌和直肠癌肺转移后中位OS长于降结肠癌, 国内外均无相关报道, 产生该结果的原因尚待继续研究. 此外, 影响肺转移患者生存时间的相关因素包括脉管浸润和T分期, 但二者均不是生存时间的独立预测因素.

结直肠癌肺转移的治疗包括手术治疗、放疗、化疗及支持辅助治疗[15]. 随着技术的发展和进步, 外科手术治疗成为主要的治疗方式[16,17]. 王锡山等[18]研究显示, 采用手术切除肺转移病灶部位, 可显著提升患者的生存率. 本研究大部分患者采用化疗方式进行肺转移的治疗, 这可能是由于大部分病患为多发病灶, 手术治疗有所不便, 仅有20例单纯肺转移患者则采用了手术治疗. 可能正因为多数患者并未行手术治疗, 化学治疗减弱了脏器转移部位对生存时间的影响, 故伴肝转移者与不伴肝转移者的OS无统计学差异. 手术切除病灶治疗的患者数量过少也导致多发病灶与单发病灶者的OS无统计学差异. 有研究表明[19], 在进行肺癌根治术时对纵膈淋巴结进行清扫的患者中, 肿瘤侵犯肺门淋巴结或纵膈淋巴结标志着不良预后. 本研究中, 25例存在肺门淋巴结或纵膈淋巴结肿大, 淋巴结转移和无转移者的OS相比并无显著差异, 这可能是由于例数较少引起的.

DFI是指接受结直肠癌根治术后到诊断出肺转移的阶段. 有研究表明[20], DFI的长短可影响肺转移患者的预后, DFI越长, 生存时间越长. 本研究中, 采用结直肠癌根治术治疗的患者, 共有82例出现了肺转移, 其中位DFI为19 mo, DFI与OS没有相关性. Olmez等[21]的研究也有类似结果. 此外, 多因素分析结果显示, 肿瘤浸润程度(T分期)是DFI的独立预测因素, 这表明, 侵袭能力较强的肿瘤更可能出现肺转移, 明确该点有助于肺转移的早期诊断.

总之, 本研究通过回顾性分析结直肠癌肺转移患者的临床特点、转移灶表现、治疗方式及预后情况, 明确了肿瘤浸润程度是影响DFI的独立预测因子, 为临床尽早诊断结直肠癌肺转移提供依据.

4 参考文献

1 万德森. 结直肠癌流行病学与预防. 中国中西医结合外科杂志 2011; 17: 3-7
2 Homan SG, Steward BR, Armer JM. Public health and cooperative group partnership: a colorectal cancer intervention. *Semin Oncol Nurs* 2014; 30: 61-73 [PMID: 24559782 DOI: 10.1016/j.soncn.2013.12.010]
3 Bettington M, Walker N, Clouston A, Brown I, Leggett B, Whitehall V. The serrated pathway to colorectal carcinoma: current concepts and challenges. *Histopathology* 2013; 62: 367-386 [PMID: 23339363 DOI: 10.1111/his.12055]
4 刘俊宝, 张育荣, 屈涛, 史书萍, 邵竹筠, 杨婷婷, 汤海舰, 王楠, 刘伟, 高春会, 崔成旭. 奥沙利铂和伊立替康治疗失败后转移性结直肠癌的化疗选择. 中国肿瘤临床 2013; 40: 1464-1467
5 Kye BH, Jung JH, Kim HJ, Kang SG, Cho HM, Kim JG. Tumor budding as a risk factor of lymph node metastasis in submucosal invasive T1 colorectal carcinoma: a retrospective study. *BMC Surg* 2012; 12: 16 [PMID: 22866826 DOI: 10.1186/1471-2482-12-16]
6 刘长江, 李龙. 帕尼单抗在治疗转移性结直肠癌中的应用. 国际免疫学杂志 2011; 34: 106-110
7 姚宏伟, 修典荣. 从循证医学角度看结直肠癌肝转移的规范化诊治. 中华胃肠外科杂志 2013; 16: 710-713
8 易呈浩, 葛维挺, 黄彦钦, 周伦, 郑树. 1368例结直肠癌TNM分期及预后分析. 中国肿瘤临床 2012; 39: 597-601
9 Kawano D, Takeo S, Tsukamoto S, Katsura M, Masuyama E, Nakaji Y. Prediction of the prognosis and surgical indications for pulmonary metastectomy from colorectal carcinoma in patients with combined hepatic metastases. *Lung Cancer* 2012; 75: 209-212 [PMID: 21821306 DOI: 10.1016/j.lungcan.2011.07.010]
10 刘斌, 皇婷, 宫爱民. 结直肠癌肺转移多学科综合治疗进展. 中国医药指南 2012; 10: 90-91
11 Inoue M, Ohta M, Iuchi K, Matsumura A, Ideguchi K, Yasumitsu T, Nakagawa K, Fukuhara K, Maeda H, Takeda S, Minami M, Ohno Y, Matsuda H. Benefits of surgery for patients with pulmonary metastases from colorectal carcinoma. *Ann Thorac Surg* 2004; 78: 238-244 [PMID: 15223436 DOI: 10.1016/j.athoracsur.2004.02.017]
12 梁立, 吕世旭, 许剑民, 王群, 钟芸诗, 任黎, 韦烨, 秦新裕. 结直肠癌肺转移外科手术疗效评价. 中华胃肠外科杂志 2010; 13: 333-336
13 张成海, 陈蕾, 崔明. 结直肠癌根治术后肺转移的危险因素分析. 中华胃肠外科杂志 2013; 16: 463-466
14 Sourrouille I, Mordant P, Maggiori L, Dokmak S, Lesèche G, Panis Y, Belghiti J, Castier Y. Long-term survival after hepatic and pulmonary resection of colorectal cancer metastases. *J Surg Oncol* 2013; 108: 220-224 [PMID: 23893480 DOI: 10.1002/jso.23385]
15 张能冲, 赵任. 结直肠癌肺转移的外科诊疗路径. 中国肿瘤外科杂志 2012; 4: 169-170
16 周逸鸣, 姜格宁, 朱余明. 结直肠癌肺转移瘤的外科治疗进展. 中华外科杂志 2013; 51: 930-932
17 梁建伟, 周志祥, 刘骞, 毕建军, 王征, 张兴茂, 赵平. 可切除结直肠癌肺转移的预后因素分析. 中华肿瘤杂志 2010; 32: 694-697
18 王锡山, 郝云鹤. 结直肠癌肺转移预后因素及治疗策略. 中华胃肠外科杂志 2012; 15: 1017-1019
19 Hornbech K, Ravn J, Steinbrüchel DA. Current status of pulmonary metastasectomy. *Eur J Cardiothorac Surg* 2011; 39: 955-962 [PMID: 21115259 DOI: 10.1016/j.ejcts.2010.10.001]
20 Nozawa H, Sunami E, Nakajima J, Nagawa H, Kitayama J. Synchronous and metachronous lung metastases in patients with colorectal cancer: A 20-year monocentric experience. *Exp Ther Med* 2012; 3: 449-456 [PMID: 22969910 DOI: 10.3892/etm.2011.443]
21 Olmez OF, Cubukcu E, Bayram AS, Akcali U, Evrensel T, Gebitekin C. Clinical outcomes of lung metastasectomy in patients with colorectal cancer. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 662-665 [PMID: 22363137 DOI: 10.3748/wjg.v18.i7.662]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年6月18日; 22(17): 2518-2521
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

不同护理方式对经腹会阴直肠切除术患者术后恢复的影响

俞冬丽, 叶建虹, 胡芝萍

■背景资料
直肠癌是我国消化系常见的恶性肿瘤之一, 且随着人们饮食结构的改变及生活质量的提升, 其发病率仍呈现上升趋势, 因此如何合理的诊疗及护理此部分患者亟需得到临床工作者的重视. 目前治疗直肠癌主要手术方式为保肛手术(Dixon术)及不保肛手术(Miles术)两类, 其中Miles术需要行结肠造口, 对患者术后生活质量的影响较大. 既往研究显示术后予以合理的护理干预可在一定程度上减少术后并发症, 有助于改善患者的生活治疗, 但目前我国对于Miles术后如何予以护理干预仍无统一的规范.

俞冬丽, 叶建虹, 胡芝萍, 浙江医院普外科 浙江省杭州市 310012
俞冬丽, 护师, 主要从事外科疾病的护理.
作者贡献分布: 本课题的设计及论文写作由俞冬丽完成; 研究过程, 数据分析由叶建虹与胡芝萍完成.
通讯作者: 俞冬丽, 护师, 310012, 浙江省杭州市西湖区灵隐路12号, 浙江医院普外科. yudongli81b@163.com
收稿日期: 2014-05-10 修回日期: 2014-05-19
接受日期: 2014-05-21 在线出版日期: 2014-06-18

Comprehensive nursing intervention in patients with rectal cancer after colostomy

Dong-Li Yu, Jian-Hong Ye, Zhi-Ping Hu

Dong-Li Yu, Jian-Hong Ye, Zhi-Ping Hu, Department of General Surgery, Zhejiang Hospital, Hangzhou 310012, Zhejiang Province, China
Correspondence to: Dong-Li Yu, Nurse, Department of General Surgery, Zhejiang Hospital, 12 Lingyin Road, Hangzhou 310012, Zhejiang Province, China. yudongli81b@163.com
Received: 2014-05-10 Revised: 2014-05-19
Accepted: 2014-05-21 Published online: 2014-06-18

Abstract

AIM: To explore the impact of comprehensive nursing intervention on quality of life in patients with rectal cancer after colostomy.

METHODS: The clinical data for 68 patients who underwent rectal colostomy for rectal cancer from April 2010 to May 2013 at our hospital were analyzed retrospectively. The patients were divided into either a conventional nursing intervention group (n = 34) or a comprehensive nursing intervention group (n = 34). The clinical efficacy was compared between the two groups.

RESULTS: The scores for knowledge and attitude regarding ostomy, ostomy environment, and postoperative recovery confidence were significantly better in the comprehensive nursing intervention group than in the conventional nursing intervention group. The incidences of anastomotic stricture, fecal impaction, and anastomotic infection were significantly lower in the comprehensive nursing intervention group (2.9% *vs* 11.8%, 5.8% *vs* 5.8%, 2.9% *vs* 8.8%, $P < 0.05$ for all).

CONCLUSION: Comprehensive nursing intervention can improve the cognitive degree of rectal cancer patients after colostomy, reduce postoperative complications, and improve the quality of nursing.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Comprehensive nursing intervention; Rectal colostomy; Quality of life

Yu DL, Ye JH, Hu ZP. Comprehensive nursing intervention in patients with rectal cancer after colostomy. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(17): 2518-2521
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2518.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i17.2518

摘要

目的: 探讨综合护理干预对直肠癌结肠造口术患者的临床意义.

方法: 选择2010-04/2013-05于我院行Miles术的患者68例, 依据术后护理方式不同分为传统护理组(34例)和综合护理组(34例), 观察两种护理方式临床疗效的差异.

结果: 综合护理组造口术治疗知识、对造口术态度、对造口术环境、对造口术后恢复信心评分均优于传统护理组患者, 综合护理组在吻合口狭窄发生率、粪嵌顿发生率以及吻合口感染发生率方面低于传统护理组患者, 差异有统计学意义(2.9% *vs* 11.8%, 5.8% *vs* 5.8%, 2.9% *vs* 8.8%, 均P<0. 05).

结论: 综合护理可应用于直肠癌结肠造口术术后的护理, 可有效降低术后并发症, 提高护理质量.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 综合护理干预; 直肠癌结肠造口术; 生存质量

核心提示: 本研究结果显示采用综合护理组的患

■同行评议者
白雪, 副主任医师, 中国人民解放军北京军区总医院普通外科

者术后结肠造口并发症的发生率低于传统护理组患者, 差异有统计学意义(P<0.05). 提示着采用综合护理有助于减少结肠造口并发症的发生. 本研究显示对直肠癌结肠造口术后患者予以综合护理, 可提升患者的自我认知能力, 有助于建立患者对生活信心, 同时可有效减少结肠造口并发症出现的机率, 值得临床合理选择运用.

俞冬丽, 叶建虹, 胡芝萍. 不同护理方式对经腹会阴直肠切除术患者术后恢复的影响. 世界华人消化杂志 2014; 22(17): 2518-2521
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2518.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i17.2518

0 引言

直肠癌是我国消化系常见的恶性肿瘤之一, 且随着人们饮食结构的改变及生活质量的提升, 其发病率仍呈现上升趋势, 因此如何合理的诊疗及护理此部分患者亟需得到临床工作者的重视[1-4]. 目前治疗直肠癌主要手术方式为保肛手术(Dixon术)及不保肛手术(Miles术)两类, 其中Miles术需要行结肠造口, 对患者术后生活质量的影响较大[5-7]. 既往研究显示术后予以合理的护理干预可在一定程度上减少术后并发症, 有助于改善患者的生活治疗, 但目前我国对于Miles术后如何予以护理干预仍无统一的规范[8], 因此本文选择2010-04/2013-05于我院行Miles术的患者68例, 术后予以传统护理或综合护理, 探讨不同护理方式对患者术后恢复的影响, 旨以为临床合理的选择护理方式提供参考.

1 材料和方法

1.1 材料 选择2010-04/2013-05于我院行Miles术的患者68例, 其中男 49例, 女19例, 平均72.9岁±7.1岁. 主要临床表现为血便、便秘以及下腹部疼痛, 分别为55例、48例以及46例. 术前均行影像学检查排除远处转移可能. 临床Ⅰ期占27.9%, Ⅱ期占50.0%, Ⅲ期占22.1%. 术后病理结果均为腺癌. 依据术后护理策略不同分为两组: 传统护理组及综合护理组, 各34例. 两组在年龄、性别构成比、临床分期等临床资料方面相比, 差异无统计学意义(P>0.05).

1.2 方法

1.2.1 护理策略: 常规护理组采用直肠癌结肠造口术后常规护理策略. 综合护理组: 除常规护理策略外, 予以补充护理策略: (1)术前心理辅导, 解除患者焦虑、恐惧心理; 术后注意观察患者心理变化, 帮其树立起战胜疾病的信心; 同时可适当安排与类似疾病的患者进行相互交流和沟通, 以助其排除孤独、无助感; (2)做好患者家属心理工作, 逐步培养患者自我护理能力; (3)饮食宣教, 嘱患者多下床活动, 同时定期扩张造瘘口; (4)注意观察造瘘口血运情况, 定期采用生理盐水清洗, 保持造瘘口处清洁; (5)定期予以腹部按摩, 促进胃肠蠕动.

1.2.2 观察指标: (1)患者认知程度情况: 包括对造口术态度、对造口术环境、对造口术后恢复信心等进行评价, 每项100分制, 分数越高, 提示认知能力越好; (2)造瘘口术后并发症发生情况(吻合口狭窄、粪嵌顿以及吻合口感染).

统计学处理 采用统计学软件SPSS12.0处理数据. 直肠癌结肠造口术患者临床资料分别通过t检验和χ^2检验分析. P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 两组患者认知程度比较 两组患者术前对造口术治疗知识、对造口术态度、对造口术环境、对造口术后恢复信心等方面差异无统计学意义(P>0.05). 术后在以上方面的认识程度差异有统计学意义, 综合护理组患者的评分明显高于传统护理组患者(P<0.05)(表1).

2.2 两组患者术后并发症发生情况比较 采用综合护理的患者在术后吻合口狭窄、粪嵌顿以及吻合口感染的发生率方面少于单纯采用传统护理的患者, 差异有统计学意义(P<0.05)(表2).

3 讨论

直肠癌为我国常见的恶性肿瘤之一, 多见于老年男性, 男女发病比例约为7∶1[6-9]. 目前发病机制仍不明确, 考虑可能与高脂饮食、吸烟以及存在肠道基础疾病等多种因素相关, 且具有家族遗传倾向[10-12]. 目前主要治疗方式为手术治疗, 且随着医疗技术的进步, 直肠癌的检出率及手术成功率较前明显提升. 但不容忽视的是手术治疗仅为整个直肠癌治疗过程一个部分, 术前以及术后护理策略的不同亦可能影响整个治疗效果[12]. 可见如何选择合理的护理策略对整个治疗过程亦比较重要. 但由于我国人口基数大, 医疗资源相对匮乏, 因此目前对于直肠癌患者术前以及术后如何采取合理的护理策略仍无统一的规范[13-15], 基于以上原因本文选择于我院行Miles术的患者68例, 分别予以不同的护理方式, 观察两种护理方式对患者术前、术后各观察指标的影响, 旨以为临床合理的选择护理方式提

■研发前沿
直肠癌为我国常见的恶性肿瘤之一, 多见于老年男性, 男女发病比例约为7:1. 目前发病机制仍不明确, 考虑可能与高脂饮食、吸烟以及存在肠道基础疾病等多种因素相关, 且具有家族遗传倾向.

■相关报道
目前认为生活质量为全面评估患者总体健康状况的一个综合指标, 主要反映患者的生活、生理变化情况.

■应用要点

目前主要治疗方式为手术治疗, 且随着医疗技术的进步, 直肠癌的检出率及手术成功率较前明显提升. 但不容忽视的是手术治疗仅为整个直肠癌治疗过程一个部分, 术前以及术后护理策略的不同亦可能影响整个治疗的效果.

表 1 两组患者认知程度比较 (n = 34, mean ± SD, 分)

分组	造口术治疗知识	对造口术态度	对造口术的接受情况	对造口术后恢复信心
传统护理组				
术前	60.9 ± 9.9	61.2 ± 8.8	61.7 ± 9.9	62.2 ± 8.7
术后	81.2 ± 10.9	71.1 ± 10.5	73.3 ± 9.2	70.1 ± 7.9
综合护理组				
术前	60.1 ± 8.8	61.5 ± 9.2	61.2 ± 9.7	61.9 ± 9.2
术后	92.3 ± 11.2[a]	84.2 ± 9.6[a]	84.4 ± 8.7[a]	86.6 ± 8.8[a]

[a]P<0.05 *vs* 传统护理组术后.

表 2 两组患者术后并发症发生情况比较 (n = 34, mean ± SD, %)

分组	吻合口狭窄发生率	粪嵌顿发生率	吻合口感染发生率
传统护理组	11.8	11.8	8.8
综合护理组	2.9	5.8	2.9
χ^2值	6.78	5.71	6.12
P值	0.032	0.045	0.036

供参考.

一般直肠癌患者术后常会存在自卑、消极、厌世等不良心理, 不利于患者恢复[16]. 本研究显示予以术前宣教的患者(综合护理组)对于术后结肠造口的认知程度明显高于传统护理组的患者, 差异有统计学意义(P<0.05), 依据两组患者认知程度评分高低的不同提示着予以综合护理的患者能够更为积极的面对疾病, 且更为乐观, 可提高患者对生活的信心, 进而在一定程度上有助于患者生活质量的提升. 目前认为生活质量为全面评估患者总体健康状况的一个综合指标, 主要反映患者的生活、生理变化情况[17,18], 暗示着心理辅导对患者预后的重要性, 这完全不同于传统的仅靠手术治疗的治疗模式. 而本研究亦特别关注对患者的心理疏导, 并取得了较好的效果, 有助于患者获得心理上的满足, 进一步突显了心理辅导在整个治疗过程中的重要性. 同时本研究综合护理组亦特别关注对患者自我护理能力提升, 通过与患者家属的合作及我们的悉心指导, 有助于患者正规的掌握自我护理技巧, 不仅提升了患者对生活热情, 亦在一定程度上减轻了患者家庭其他成员的护理压力.

本研究结果显示采用综合护理组的患者术后结肠造口并发症的发生率低于传统护理组患者, 差异有统计学意义(P<0.05). 提示着采用综合护理有助于减少结肠造口并发症的发生, 总结原因主要有: (1)定期观察结肠造口的血供情况, 有助于早期发现造口血运存在的问题, 及时发现后告知临床医师, 可及时的分析原因, 及早诊治; (2)术后患者胃肠功能活动不协调, 若肠内压差较大, 甚至可导致吻合口裂开, 而综合护理组采用定期扩张造口, 可有效降低肠内压, 有助于吻合口的愈合; 而且造口扩张可防止造口狭窄的发生[19,20], 但需注意扩张时需轻柔, 警防出现副损伤; (3)综合护理嘱患者多饮水及主食蔬菜及高纤维食物, 同时予以腹部按摩, 有助软化大便及胃肠蠕动, 可减少粪嵌顿发生率[21]; (4)定期采用生理盐水清洗, 可保持造瘘口处清洁, 而生理盐水对黏膜刺激小同时可有效防止细菌滋生, 因此可减少术后吻合口感染出现的机率; 且清洗有助于改善吻合后的血运情况, 有助于切口愈合[22]. 但不容忽视的是本研究没有对患者的院外生活情况进行进一步随访, 因此其远期临床意义有待于进一步研究.

总之, 本研究显示对直肠癌结肠造口术后患者予以综合护理, 可提升患者的自我认知能力, 有助于建立患者对生活信心, 同时可有效减少结肠造口并发症出现的机率, 值得临床合理选择运用.

4 参考文献

1 梁秀琼. 肠造口术的护理进展. 护理学杂志 2005; 20: 79-81
2 Breslau N, Koenen KC, Luo Z, Agnew-Blais J, Swanson S, Houts RM, Poulton R, Moffitt TE. Childhood maltreatment, juvenile disorders and adult post-traumatic stress disorder: a prospective investigation. *Psychol Med* 2013: 1-9 [PMID: 24168779]
3 齐玲, 刘洋. 结肠造口术后护理30例分析. 中国误诊学杂志 2012; 12: 1178-1178
4 陈美琴. 低位直肠癌病人造口心理反应与对策及护理. 国际护理学杂志 2006; 25: 282
5 季艳平, 黄歆, 周立. 永久性肠造口患者术后心理体验的质性研究. 解放军护理杂志 2013; 29: 15-17

6 段凤艳, 赵荣霞, 胡佩敏. 直肠癌结肠造口术的术后护理. 淮海医药 2012; 30: 271-272
7 Lurie P, Wolfe SM. Unethical trials of interventions to reduce perinatal transmission of the human immunodeficiency virus in developing countries. *N Engl J Med* 1997; 337: 853-856 [PMID: 9295246 DOI: 10.1056/NEJM199709183371212]
8 张艳莉. 护理干预对直肠癌肠造口患者术后生活质量的影响. 中国当代医药 2013; 20: 121-122
9 宋新明, 李欣欣. 从生存质量角度评估永久性结肠造口对直肠癌患者的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21: 2627-2632
10 黄廷芬. 护理干预对直肠癌肠造口患者生活质量的影响. 齐鲁护理杂志 2013; 19: 19-20
11 王伦英, 王晓恒, 袁小芬, 高丽超, 陈丽. 老年直肠癌患者结肠造口患者生活质量影响因素调查研究. 国际护理学杂志 2013; 32: 704-705
12 Coburn KD, Marcantonio S, Lazansky R, Keller M, Davis N. Effect of a community-based nursing intervention on mortality in chronically ill older adults: a randomized controlled trial. *PLoS Med* 2012; 9: e1001265 [PMID: 22815653 DOI: 10.1371/journal.pmed.1001265]
13 贾伟, 王利锋. 造瘘口扩张训练对减少Miles手术后人工肛门并发症的作用观察. 中国普通外科杂志 2014; 23: 136-138
14 刘丹东. 系统护理干预运用于改善直肠癌造口患者生活质量的价值分析. 现代中西医结合杂志 2013; 22: 2486-2487
15 Goedendorp MM, Peters ME, Gielissen MF, Witjes JA, Leer JW, Verhagen CA, Bleijenberg G. Is increasing physical activity necessary to diminish fatigue during cancer treatment? Comparing cognitive behavior therapy and a brief nursing intervention with usual care in a multicenter randomized controlled trial. *Oncologist* 2010; 15: 1122-1132 [PMID: 20930100]
16 刘贤团, 李连娣, 陈繁花, 吴美婷. 探讨循证护理干预对结直肠癌患者生活质量的影响. 当代医学 2013; 19: 119-121
17 李晶. 护理干预对肠造口术患者生活质量的影响. 西南军医 2011; 13: 1117-1118
18 吴珍金. 直肠癌造口患者的心理分析与术后指导. 实用临床医学(江西) 2008; 9: 120-121
19 陈芳. 护理干预对直肠癌造口患者压力应对与社会支持的影响. 湖北民族学院学报(医学版) 2013; (3): 42-45
20 Lee L, Saleem A, Landry T, Latimer E, Chaudhury P, Feldman LS. Cost effectiveness of mesh prophylaxis to prevent parastomal hernia in patients undergoing permanent colostomy for rectal cancer. *J Am Coll Surg* 2014; 218: 82-91 [PMID: 24210147 DOI: 10.1016/j.jamcollsurg.2013.09.015]
21 刘玉花, 梅元珍. 结肠癌病人术后的护理. 医学理论与实践 2008; 21: 1091-1092
22 李菊芳, 李红, 李红英. 直肠癌患者肠造口术后康复期护理指导. 中华现代临床医学杂志 2003; 1: 560-561

编辑 田滢 电编 鲁亚静

■同行评价

本文选题尚可, 方法合理, 结果可靠, 有一定的参考价值.

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2014年6月18日; 22(17): 2522-2524
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

病例报告 CASE REPORT

超声造影诊断“团块型”肝内胆管局限性发育异常1例

张明智, 凌文武, 罗 燕

■背景资料
肝内胆管发育异常的常见原因Caroli's病, 临床及超声医生并不陌生, 但成人无症状的、表现为肝脏团块的局限性肝内胆管发育异常, 临床很少见, 仅影像学检查能发现, 其病因及预后不明确, 与肝脏其他占位性病变的鉴别因关系到患者的诊断和治疗而显得尤为重要.

张明智, 凌文武, 罗燕, 四川大学华西医院超声科 四川省成都市 610041
作者贡献分布: 本文的病例资料由罗燕提供, 并指导本文的写作; 本文的资料搜集与写作由张明智完成; 超声检查由罗燕与凌文武完成.
通讯作者: 罗燕, 教授, 主任医师, 610041, 四川省成都市国学巷37号, 四川大学华西医院超声科. luoyand@hotmail.com
电话: 028-85423325
收稿日期: 2014-03-24 修回日期: 2014-04-21
接受日期: 2014-04-28 在线出版日期: 2014-06-18

Focal dysplasia of intrahepatic bile ducts diagnosed by contrast-enhanced ultrasound: A case report

Ming-Zhi Zhang, Wen-Wu Ling, Yan Luo

Ming-Zhi Zhang, Wen-Wu Ling, Yan Luo, Department of Ultrasound, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan Province, China
Correspondence to: Yan Luo, Professor, Chief Physician, Department of Ultrasound, West China Hospital, Sichuan University, 37 Guoxuexiang, Chengdu 610041, Sichuan Province, China. luoyand@hotmail.com
Received: 2014-03-24 Revised: 2014-04-21
Accepted: 2014-04-28 Published online: 2014-06-18

Abstract
Focal dysplasia, mimicking a mass, confined to intrahepatic bile ducts of a liver segment, is rare clinically. Since there are no specific symptoms, signs and laboratory findings, this disease is difficult to diagnose. It can be found only by imaging examinations. Especially, it shows some characteristics different from other liver space-occupying lesions on contrast-enhanced ultrasound.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Ultrasound; Contrast-enhanced ultrasound; Intrahepatic bile ducts; Focal dysplasia

Zhang MZ, Ling WW, Luo Y. Focal dysplasia of intrahepatic bile ducts diagnosed by contrast-enhanced ultrasound: A case report. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(17): 2522-2524 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2522.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i17.2522

■同行评议者
陈积圣, 教授, 中山大学孙逸仙纪念医院肝胆外科; 刘杰民, 副主任医师, 贵州省人民医院消化内镜科

摘要
局限于某一肝段、且表现为肝脏团块的肝内胆管的发育异常, 临床少见, 无特异性症状、体征及实验室检查结果, 仅影像学检查能发现, 超声检查尤其超声造影有一定的特征性表现, 能很好地与肝脏其他占位性病变鉴别, 但其诊断须更多地病例积累, 其治疗和预后须更多病例的观察和总结.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 超声; 超声造影; 肝内胆管; 发育异常

核心提示: 无症状的局限性肝内胆管发育异常, 发现和诊断依赖影像学检查, 超声造影有一定特征性表现, 对于三期等增强的肝脏非占位性局限性病变内观察到不增强的胆管, 要考虑“局限性肝内胆管扩张伴肝脏不均匀改变”的可能.

张明智, 凌文武, 罗燕. 超声造影诊断“团块型”肝内胆管局限性发育异常1例. 世界华人消化杂志 2014; 22(17): 2522-2524
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2522.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i17.2522

0 引言
肝内胆管发育异常常见于先天性的肝内胆管囊状扩张症, 即Caroli's病, 但表现为肝脏团块的局限于某一肝段的肝内胆管的发育异常, 文献罕有报道. 本例患者超声造影诊断局限性肝内胆管异常并经手术及病理证实, 但病因未明, 报道如下.

1 病例报告
患者女性, 33岁. 因发现肝占位2 mo入院, 症状及体征无阳性, 否认乙型肝炎及多囊肝肾病史, 5岁时患“急性黄疸型肝炎”. 2 mo前院外电子计算机X射线断层扫描技术(electronic computer X-ray tomography technique, CT)诊断为“肝血管瘤”, 大小约4.5 cm×2.6 cm. 入院后实验室检查均未见异常; 肝脏超声检查发现: 肝脏形态大小未见异常, 实质回声均匀, 右前叶下段查见范

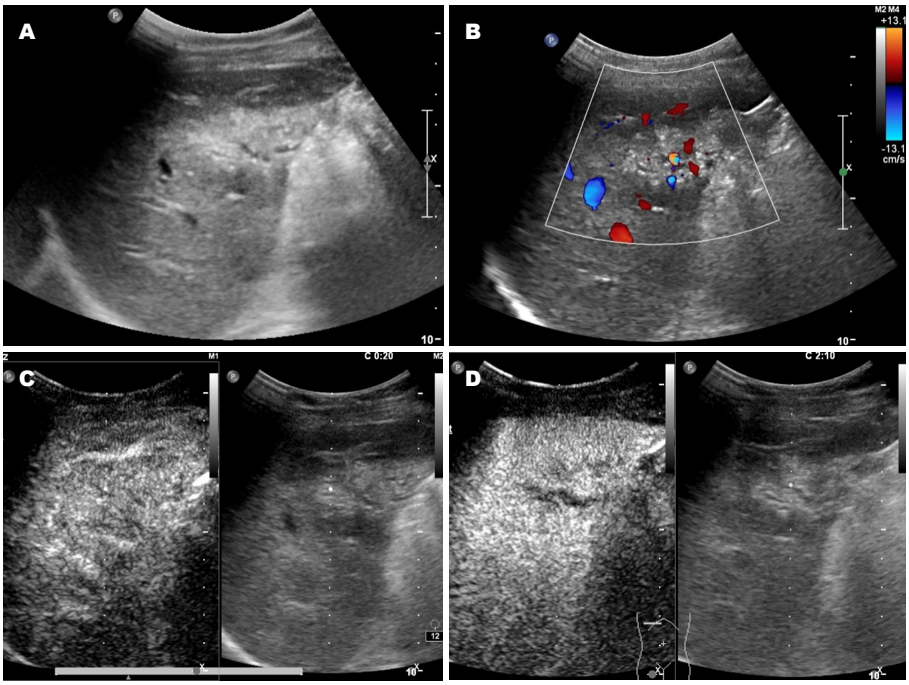


图 1 肝内胆管局限性发育异常的声像图表现. A: 灰阶超声显示肝右前叶下段杂乱回声区, 边界不清、形态不规则的稍强回声区内数支条状无回声; B: CDFI显示肝右前叶下段病变区的血流; C: 超声造影动脉期病变呈等增强; D: 超声造影病变区内条状无回声未见强化.

■相关报道
肝内胆管发育异常常见于Caroli's病, 但成人发生于单独肝段的Caroli's病罕见, 仅表现为肝内胆管非梗阻性的节段性扩张, 临床可无症状. 表现为肝脏肿块的肝脏局灶性肝胆管纤维多囊病的病例也可无症状, 病理有增生的纤维组织背景, 电子计算机X射线断层扫描技术及MR有特征性表现, 但缺乏超声在鉴别诊断上的特点.

围约5.0 cm×3.5 cm的稍强杂乱回声团, 边界不清楚, 形态不规则, 内部回声不均匀, 内可见结节样及条状无回声区, 条状无回声区内似可见点片状强回声(图1A), 彩色多普勒显示局部可见点条状的血流信号(图1B); 超声造影杂乱回声团三期均呈等增强(图1C), 内条状及结节样无回声区未见强化(图1D); 超声提示: 右肝混合回声团伴条状无回声及强回声, 结合超声造影考虑多为局限性肝内胆管扩张伴小结石及肝脏局限性不均匀改变(胆管炎所致).

全麻下行“肝占位切除术及胆囊切除术”. 术中发现肝脏大小、质地、颜色未见明显异常, 肝脏Ⅴ段见一大小约5 cm占位性病变, 剖开切除肝脏见其内胆管扩张, 增生灶. 病理诊断: 胆管局灶结构发育异常, 数量增多, 广泛扩张, 小胆管增生. 周围肝组织广泛水肿, 多灶肝细胞淤胆, 血窦内少量中性粒细胞浸润.

2 讨论

肝内胆管局灶性结构发育异常临床不多见, 文献亦罕有报道. 肝内胆管发育异常常见于先天性的肝内胆管囊状扩张症, 即Caroli's病, 是一种少见的儿童或年轻人常染色体隐性遗传性疾病, 约75%的患者为男性[1], 其确切的发病机制至今仍未阐明, 但先天性的胆管壁发育异常与胆道继发梗阻是形成本病的两个重要因素; 病变可累及段、叶或整个肝脏, 常与先天肝纤维化和先天性多囊性肾病伴发. Caroli's病分为2型: Ⅰ型即单纯型, 表现为肝内多数节段性囊状扩张或形状不规则扩张的胆管, 无肝纤维化、肝硬化及门脉高压; Ⅱ型即合并肝纤维化型, 常伴有门脉高压、脾大等. Caroli's病临床表现多样无特异性, 典型者表现为腹痛、黄疸及腹部肿块. 成人的先天性肝内胆管囊性扩张症病变部位多位于左肝/右肝/左右全肝胆管[2], 发生于单独肝段的Caroli's病罕见, 仅表现为肝内胆管非梗阻性的节段性扩张[3], 临床可表现为无症状, 或引发许多症状和体征. 结合该病例的病史, 年青女性, 无明显症状、体征及遗传家族史, 幼时有“急性黄疸型肝炎”史, 无实验室检查的异常发现, 仅影像学有肝脏局灶性病变的发现, 类似发生于单独肝段的Caroli's病, 但本例的影像学表现及病理发现又有所不同: 病灶区的胆管未见与胆道系统相通, 扩张的胆管直径<1 cm, 以小胆管扩张、增生为主, 未见纤维组织增生; 故该病例病因诊断系罕见的单独肝段的Caroli's病、或继发于幼年时肝炎的局灶性肝内胆管发育异常, 均没有更多的证据支持.

对照病理考虑, 本例肝脏呈“团块型”局灶性回声增强的实性区, 可能系局部广泛增生扩张的微小胆管所致大量的微囊性病变产生大量的回声界面所致, 类似于肝脏占位, 而增强超声三期均呈等增强则提示该区域非占位性病变, 该区域内三期均不增强的条管状结构则进一步提示病变多系局限性胆管异常所致. 因此对于肝脏局灶性病变, 是占位性病变或局限性不均

■应用要点
超声造影在肝脏占位性病变的诊断及其在良恶性鉴别上具有独特的优势, 也有助于确定肝内胆管的局限性扩张, 在这类肝脏良性病变的诊断及随访中有较广阔的应用前景.

■同行评价
局限于某一肝段的“团块型”肝内胆管的发育异常, 临床少见, 无特异性症状、体征及实验室检查结果, 超声检查尤其超声造影有一定的特征性表现, 对指导临床诊断有一定指导意义.

匀的改变, 超声造影能提供很好的鉴别. 发现无症状性的肝脏局限性病变伴囊状或条管状无回声, 要考虑到局部胆管病变所致的改变, 如胆管局灶结构发育异常的可能. Kwon等[4]报道的表现为肝脏肿块的肝脏局灶性肝胆管纤维多囊病的病例在病史方面与本例有类似之处, 其CT及MR的特征性表现为含多个大小不等的无对比增强的囊性成分的团块, 而超声表现则与本例不完全相同, 表现为含有多个大小不等的囊性成分的等回声或高回声团块.

因胆管炎、肝硬化和胆管癌是Caroli's病的潜在的并发症, 故在临床治疗方面主张积极彻底的切除病灶[5]. 但在Kwon等[4]报道的病例中有两例分别在4年及18 mo的随访中, 肝脏肿块的大小及形态未见明显变化. 故局灶性肝内胆管发育异常的病变发展、治疗及预后有待更多的病例观察和总结.

超声造影因其在肝脏占位性病变的诊断及其在良恶性鉴别上的独特的优势, 而较多应用于肝脏疾病的诊断. 局限性的肝内胆管的发育异常, 因无特异性症状、体征, 发现和诊断依赖影像学检查, 超声检查尤其超声造影有一定的特征性表现, 对于三期等增强的肝脏非占位性局限性病变, 如果在其内部观察到相互通连的不增强的胆管, 应该要考虑到“局限性肝内胆管扩张伴肝脏局限性不均匀改变”的可能.

3 参考文献

1 石怀银, 韦立新. 肝内胆管病变的诊断与鉴别诊断. 中华病理学杂志 2011; 40: 56-59
2 欧阳杰, 汤地, 李勋, 何强, 彭宝岗, 梁力建. 成人先天性肝内胆管囊性扩张症的诊断与治疗. 中华临床医师杂志(电子版) 2013; 7: 3590-3592
3 Levy AD, Rohrmann CA, Murakata LA, Lonergan GJ. Caroli's disease: radiologic spectrum with pathologic correlation. *AJR Am J Roentgenol* 2002; 179: 1053-1057 [PMID: 12239064 DOI: 10.2214/ajr.179.4.1791053]
4 Kwon JH, Kim MJ, Kim YH, Kang KJ, Kang YN, Kwon SY. Monosegmental hepatobiliary fibropolycystic disease mimicking a mass: report of three cases. *Korean J Radiol* 2014; 15: 54-60 [PMID: 24497792 DOI: 10.3348/kjr.2014.15.1.54]
5 王鸿慧, 孔瑞, 孙备. Caroli’s病的研究进展. 哈尔滨医科大学学报 2006; 40: 518-519

编辑 田滢 电编 都珍珍

世界华人消化杂志 2014年6月18日; 22(17): Ⅰ-Ⅴ
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

《世界华人消化杂志》投稿须知

《世界华人消化杂志》为保证期刊的学术质量, 对所有来稿均进行同行评议, 是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊2012年版)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》收录的学术期刊.

1 投稿总则

1.1 性质 《世界华人消化杂志(*World Chinese Journal of Digestology*, *WCJD*, ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569)》是一份同行评议和开放获取期刊(Open Access Journal, OAJ), 创始于1993-01-15, 旬刊, 每月8、18和28号出版. 《世界华人消化杂志》编辑委员会成员, 由483位专家组成, 分布在30个省市、自治区和特别行政区.

《世界华人消化杂志》的首要任务是出版胃肠病学, 肝病学, 消化系内镜学, 消化系外科学, 消化系肿瘤学, 消化系影像学, 消化系介入治疗, 消化系病理学, 消化系感染学, 消化系药理学, 消化系病理生理学, 消化系病理学, 消化系循证医学, 消化系管理学, 胰腺病学, 消化系检验医学, 消化系分子生物学, 消化系免疫学, 消化系微生物学, 消化系遗传学, 消化系转化医学, 消化系诊断学, 消化系治疗学和糖尿病等领域的原始创新性文章, 综述文章和评论性的文章. 最终目的是出版高质量的文章, 提高期刊的学术质量, 使之成为指导本领域胃肠病学和肝病学实践的重要学术性期刊, 提高消化系疾病的诊断和治疗水平.

《世界华人消化杂志》由百世登出版集团有限公司(Baishideng Publishing Group, BPG)主办和出版的一份印刷版, 电子版和网络版三种版本的学术类核心期刊, 由北京百世登生物医学科技有限公司生产制作, 所刊载的全部文章存储在《世界华人消化杂志》网站上. OAJ最大的优点是出版快捷, 一次性缴纳出版费, 不受版面和彩色图片限制, 作者文章在更大的空间内得到传播, 全球读者免费获取全文PDF版本, 网络版本和电子期刊. 论文出版后, 作者可获得高质量PDF, 包括封面、编委会成员名单、目次、正文和封底, 作为稿酬, 样刊两本. BPG拥有专业的编辑团队, 涵盖科学编辑、语言编辑和电子编辑.目前编辑和出版42种临床医学OAJ期刊, 其中英文版41种, 具备国际一流的编辑与出版水平.

《世界华人消化杂志》被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊 2012年版)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》, 《Chemical Abstracts》, 《EMBASE/Excerpta Medica》, 《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录. 《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号.《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学研究领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊.

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

2 撰稿要求

2.1 总体标准 文稿撰写应遵照国家标准GB7713科学技术报告、学位论文和学术论文的编写格式, GB6447文摘编写规则, GB7714文后参考文献著录规则, GB/T 3179科学技术期刊编排格式等要求; 同时遵照国际医学期刊编辑委员会(International Committee of Medical Journal Editors)制定的《生物医学期刊投稿的统一要求(第5版)》(Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals). 见: *Ann Intern Med* 1997; 126: 36-47.

2.2 名词术语 应标准化, 前后统一, 如原词过长且多次出现者, 可于首次出现时写出全称加括号内注简称, 以后直接用简称. 医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准, 药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准, 国家食品药品监督管理局批准的新药, 采用批准的药名; 创新性新药, 请参照我国药典委员会的“命名原则”, 新译名词应附外文. 公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称), 如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD50, HBsAg, HCV

《世界华人消化杂志》英文摘要被《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录.

RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等. 为减少排印错误, 外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上. 中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者, 直接采用原有英语词, 如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词, 如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者, 宜用汉语拼音, 如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤). 通常应小写.

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

2.4 计量单位 采用国际单位制并遵照有关国家标准, GB3100-3102-93量和单位. 原来的“分子量”应改为物质的相对分子质量. 如 30 kD改为M_r 30 000或30 kDa(M大写斜体, r小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即A_r(A大写斜体, r小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u(小写正体). 计量单位在+、－及-后列出. 在±前后均要列出, 如37.6 ℃±1.2 ℃, 45.6岁±24岁, 56.4 d±0.5 d. 3.56±0.27 pg/ml应为3.56 ng/L±0.27 ng/L. BP用kPa(mmHg), RBC数用1×10^{12}/L, WBC数用1×10^{9}/L, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L. M_r明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示. 1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸. 长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm×6 cm×4 cm. 生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO_2结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L. 年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁. 例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把1×10^{-3} g与5×10^{-7} g之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm. 国际代号不用于无数字的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d. 在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg•d), 且在整篇文章内应统一. 单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs. 半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L乙醇; 5% CO_2, 50 mL/L CO_2; 1∶1 000肾上腺素, 1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg, 改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm = 45×10^{-6}; 离心的旋转频率(原称转速)用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示.

2.5 统计学符号 (1)*t*检验用小写*t*; (2)*F*检验用英文大写*F*; (3)卡方检验用希文小写χ^2; (4)样本的

相关系数用英文小写r; (5)自由度用希文小写υ; (6)样本数用英文小写n; (7)概率用英文斜体大写P. 在统计学处理中在文字叙述时平均数±标准差表示为mean±SD, 平均数±标准误为mean±SE. 统计学显著性用$^{a}P<0.05$, $^{b}P<0.01$($P>0.05$不注). 如同一表中另有一套P值, 则$^{c}P<0.05$, $^{d}P<0.01$; 第三套为$^{e}P<0.05$, $^{f}P<0.01$等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字, 如1 000-1 500 kg, 3.5 mmol/L±0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6 347意指6 000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的mean±SD应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3 614.5 g±420.8 g, SD的1/3达一百多g, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6 kg±0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm±0.27 cm, 其SD/3 = 0.09 cm, 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位. 有效位数以后的数字是无效的, 应该舍. 末尾数字, 小于5则舍, 大于5则进, 如恰等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 末尾时只可1次完成, 不得多次完成. 例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该23.48→23.5→24. 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写. 如1985年4月12日, 可写作1985-04-12; 1985年4月, 写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止, 写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止, 写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30. 百分数的有效位数根据分母来定:分母≤100, 百分数到个位; 101≤分母≤1 000, 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1 486 800.475 65. 完整的阿拉伯数字不移行!

2.7 标点符号 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律用逗号分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末. 标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU. 外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体.

3 稿件格式

3.1 题名 简明确切地反映论文的特定内容, 鲜明而有特色, 阿拉伯数字不宜开头, 不用副题名, 一般20个字. 避免用“的研究”或“的观察”等非特定词.

3.2 作者 论文作者的署名，按照国际医学杂志编辑委员会(ICMJE, International Committee of Medical Journal Editors)作者资格标准执行. 作者标准为: (1)对研究的理念和设计、数据的获得、分析和解读做出重大贡献; (2)起草文章, 并对文章的重要的知识内容进行批评性修改; (3)接受对准备发表文章的最后一稿. 作者应符合条件1, 2, 3, 对研究工作有贡献的其他人可放入志谢中. 作者署名的次序按贡献大小排列, 多作者时姓名间用逗号, 如是单名, 则在姓与名之间空1格(正文和参考文献中不空格). 《世界华人消化杂志》要求所有署名人写清楚自己对文章的贡献. 世界华人消化杂志不设置共同第一作者和共同通信作者.

3.3 单位 作者后写单位的全称空1格后再写省市及邮政编码. 格式如: 张旭晨, 梅立新, 承德医学院病理教研室 河北省承德市 067000

3.4 第一作者简介 格式如: 张旭晨, 1994年北京中医药大学硕士, 讲师. 主要从事消化系统疾病的病理研究.

3.5 作者贡献分布 格式如: 陈湘川与庞丽娟对此文所作贡献两均等; 此课题由陈湘川、庞丽娟、陈玲、杨兰、张金芳、齐妍及李洪安设计; 研究过程由陈玲、杨兰、张金芳、蒋金芳、杨磊、李锋及曹秀峰操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由曹秀峰提供; 数据分析由陈湘川、杨兰及庞丽娟完成; 本论文写作由陈湘川、庞丽娟及李洪安完成.

3.6 同行评议者 为了确保刊出文章的质量, 本刊即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名, 职称, 机构的名称与文章一同在脚注出版. 格式如: 房静远, 教授, 上海交通大学医学院附属医院仁济医院, 上海市消化疾病研究所.

《世界华人消化杂志》编辑部, 100025, 北京市朝阳区, 东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893, Email: wcjd@wjgnet.com; http://www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》自2006-01-01起改为旬刊发行, 每月8、18、28日出版.

3.7 基金资助项目 格式如: 国家自然科学基金资助项目, No. 30224801

3.8 通讯作者 格式如: 通讯作者: 黄缘, 教授, 330006, 江西省南昌市民德路1号, 南昌大学第二附属医院消化内科, 江西省分子医学重点实验室. huang9815@yahoo.com

电话: 0351-4078656 传真: 0351-4086337

收稿日期: 修回日期:

3.9 英文摘要

题名 文章的题名应言简意赅, 方便检索, 英文题名以不超过10个实词为宜, 应与中文题名一致.

作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名, 后姓; 首字母大写, 双名之间用半字线“-”分开, 多作者时姓名间加逗号. 格式如: “潘伯荣”的汉语拼写法为“Bo-Rong Pan”.

单位 先写作者, 后写单位的全称及省市邮政编码. 例如: Xu-Chen Zhang, Li-Xin Mei, Department of Pathology, Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China

基金资助项目 格式如: Supported by National Natural Science Foundation of China, No.30224801

通讯作者 格式如: Correspondence to: Dr. Lian-Sheng Ma, Taiyuan Research and Treatment Center for Digestive Diseases, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China. wcjd@wjgnet.com

收稿及修回日期 格式如: Received: Revised:

摘要 包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致.

3.10 中文摘要 必须在300字左右, 内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的), 方法(必须包括材料或对象. 应描述课题的基本设计, 双盲、单盲还是开放性, 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度. 研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征. 如研究对象是患者, 应阐明其临床表现, 诊断标准. 如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不良反应而中途停止研究), 结果(应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确、具体, 所列数据经用何种统计学方法处理; 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值; 概率写*P*, 后应写出相应显著性检验值), 结论(全文总结, 准确无误的观点及价值).

3.11 正文标题层次 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献. 序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文. 正文内序号连排用(1), (2), (3). 以下逐条陈述.

0 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系.

1 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验. 对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可.

2 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论.

3 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾.

图表的数量要精选. 表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容. 表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出. 图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出. 同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述. 如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化. A: …; B: …; C: …; D: …; E: …; F: …; G: …. 曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号. 统计学显著性用: $^{a}P<0.05$, $^{b}P<0.01$($P>0.05$不注). 如同一表中另有一套*P*值, 则$^{c}P<0.05$, $^{d}P<0.01$; 第3套为$^{e}P<0.05$, $^{f}P<0.01$. *P*值后注明何种检验及其具体数字, 如$P<0.01$, $t = 4.56$ *vs* 对照组等, 注在表的左下方. 表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐. “空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等. 表图勿与正文内容重复. 表图的标目尽量用*t*/min, *c*/(mol/L), *p*/kPa, *V*/mL, *t*/℃表达.

志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐.

4 参考文献 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序. 提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码. 文中如列作者姓名, 则需在“Pang等”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在该论述的句末右上角注码号. 如马连生[1]报告……, 潘伯荣等[2-5]认为……;

PCR方法敏感性高[6-7]. 文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]. 所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed, 《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献. 期刊: 序号, 作者(列出全体作者). 文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID和DOI编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部),书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页.

5 网络版的发表前链接 本刊即将开始实行网络版的每篇文章上都有该文发表前纪录的链接, 包括首次提交的稿件, 同行评议人报告, 作者给审稿人回信和作者修回稿, 以PDF格式上传. 读者可以针对论文、审稿意见和作者的修改情况发表意见, 指出问题与不足; 作者也可以随时修改完善自己发表的论文, 使文章的发表成为一个编者、同行评议者、读者、作者互动的动态过程.

4 写作格式实例

4.1 述评写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/sp.asp

4.2 研究原著写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjyz.asp

4.3 焦点论坛写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/jdlt.asp

4.4 文献综述写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/wxzs.asp

4.5 研究快报写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjkb.asp

4.6 临床经验写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/lcjy.asp

4.7 病例报告写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/blbg.asp

5 投稿方式

接受在线投稿, 不接受其他方式的投稿, 如E-mail、打印稿. 在线投稿网址: http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx. 无法在线提交的通过submission@wjgnet.com, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893寻求帮助. 投稿须知下载网址http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.pdf. 审稿过程平均时间需要14-28天. 所有的来稿均经2-3位同行专家严格评审, 2位或以上通过为录用, 否则将退稿或修改后再审.

6 修回稿须知

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

6.2 稿件修改 来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删节时, 本刊编辑部将把退修稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改, 而作者必须于15天内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期寄回, 所造成的问题由作者承担责任.

6.3 版权 本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负. 作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期): 起止页码. 如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有.

《世界华人消化杂志》编辑部
北京百世登生物医学科技有限公司
100025, 北京市朝阳区东四环中路62号
远洋国际中心D座903室
电话: 010-5908-0035
传真: 010-8538-1893
E-mail: wcjd@wjgnet.com
http: //www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》坚持开放获取(open access, OA)的出版模式, 编辑出版高质量文章, 努力实现编委、作者和读者利益的最大化, 努力推进本学科的繁荣和发展, 向专业化、特色化和品牌化方向迈进.

世界华人消化杂志 2014年6月18日; 22(17): I
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

2014年国内国际会议预告

2014-03-12/15
2014年亚太肝病研究协会肝病周(APASL)
会议地点: 澳大利亚
联系方式: http://apasl2014.com/

2014-04-05/09
2014年美国癌症研究协会大会(AACR)
会议地点: 美国
联系方式: http://www.aacr.org/home/scientists/meetings--workshops/meetings--workshops-calendar.aspx

2014-04-09/13
2014年第49届欧洲肝病研究协年会(EASL)
会议地点: 英国
联系方式: http://www.easl.eu/_the-international-liver-congress/general-information

2014-04-18/05-20
2014中国超声医学学术大会
会议地点: 北京市
联系方式: http://www.cuda.org.cn/new/meeting

2014-04-26/27
中华医学会临床药学分会2014年全国学术会议
会议地点: 成都市
联系方式: http://www.cncscp.org/

2014-05-04/06
2014年美国消化疾病周(DDW)
会议地点: 美国
联系方式: http://www.ddw.org/attendees/faqs

2014-05-16/18
2014第七届世界癌症大会
会议地点: 南京市
联系方式: http://www.bitlifesciences.com/cancer2014/cn/meeting.asp

2014-05-23/24
第六届药源性疾病与安全用药中国论坛-消化系统与肝病药物专题研讨会
会议地点: 北京市
联系方式: adrhuiyi@126.com

2014-05-30/06-03
2014年美国临床肿瘤协会年会(ASCO)
会议地点: 美国
联系方式: http://www.asco.org/meetings/calendar-events

2014-06-04/07
2014年第20届国际肝移植协会年会(ILTS)
会议地点: 英国
联系方式: http://www.ilts.org/meetings/

2014-06-09/12
2014年第47届欧洲儿科胃肠病, 肝病和营养学协会大会(ESPGHAN)
会议地点: 以色列
联系方式: http://www.espghan2014.org/

2014-06-18/21
2014年欧洲胃肠与腹部放射学协会肝部成像研讨会(ESGAR)
会议地点: 奥地利
联系方式: http://www.esgar.org/files/File/ESGAR14

2014-06-25/28
2014年世界胃肠癌大会(WGIC)
会议地点: 西班牙
联系方式: http://worldgicancer.com/WCGI

2014-06-25/28
2014年第14届欧洲内窥镜手术协会国际大会(EAES)
会议地点: 法国
联系方式: hdimcs@163.com

2014-06-27/28
2014中华医学会肝病与代谢学术研讨会
会议地点: 上海市
联系方式: lilyjia@163.com

2014-07-26/31
2014年世界移植大会
会议地点: 美国
联系方式: http://www.wtc2014.org/

2014-07-28/30
第3届国际肠胃病学与泌尿学大会
会议地点: 美国
联系方式: http://www.omicsgroup.com/gastroenterology-urology-conference-2014/registration.php

2014-09-05/07
2014年第8届国际肝癌协会大会(ILCA)
会议地点: 日本
联系方式: http://www.ilca2014.org/

2014-09-26/30
2014年欧洲临床肿瘤协会年会(ESMO)
会议地点: 西班牙
联系方式: http://www.esmo.org/

2014-10-18/22
2014年第22届欧洲联合胃肠病学周(UEG)
会议地点: 奥地利
联系方式: http://www.ueg.eu/week/past-future/future-ueg-week/

世界华人消化杂志 2014年6月18日; 22(17): I
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

志谢世界华人消化杂志编委

本期文章审稿中(包括退稿), 我刊编委付出了宝贵的时间和大量的精力, 提高了《世界华人消化杂志》的学术质量, 在此表示衷心感谢!

白爱平 副教授
江西省南昌大学第一附属医院消化病研究所

崔清波 副主任医师
哈尔滨医科大学附属第二医院儿外科

戴朝六 教授
中国医科大学第二临床学院(盛京医院)肝胆外科

段义农 教授
南通大学医学院病原生物学系

樊晓明 教授
复旦大学附属金山医院消化科

葛海燕 教授
同济大学附属第十人民医院普通外科

郭永红 副主任医师
西安交通大学医学院第二附属医院感染科

何敏 教授
广西医科大学医学科学实验中心

侯风刚 副主任医师
上海中医药大学附属市中医医院肿瘤科

金瑞 教授
首都医科大学附属北京佑安医院消化科

李孟森 教授
海南医学院/海南省肿瘤发生和干预重点实验室

李苏宜 教授
东南大学附属中大医院肿瘤科

李瑜元 教授
广州市第一人民医院内科

吕云福 教授
海南省人民医院外一科

麻勇 副研究员
哈尔滨医科大学附属第一医院肝脏外科

马大烈 教授
长海医院病理科

宋振顺 教授
西京医院肝胆外科

谭学瑞 教授
汕头大学医学院第一附属医院内科

汤华 研究员
重庆医科大学感染性疾病分子生物学重点实验室

王道荣 主任医师
江苏省苏北人民医院胃肠外科

吴军 研究员
军事医学科学院生物工程研究所

肖恩华 教授
中南大学湘雅二医院放射教研室

许剑民 教授
上海市复旦大学附属中山医院普外科

许玲 主任医师
上海中医药大学附属龙华医院肿瘤科

宣世英 教授
市立医院肝病内科

杨柏霖 副主任医师
南京中医药大学附属医院

袁红霞 研究员
天津中医药大学

袁建业 副研究员
上海中医药大学附属龙华医院/脾胃病研究所

张凤春 教授
上海交通大学医学院附属仁济医院

张小晋 主任医师
北京积水潭医院

赵春玲 副教授
潍坊医学院细胞生物学教研室

郑培永 副教授
上海中医药大学附属龙华医院消化内科

世界华人消化杂志
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

《中文核心期刊要目总览》收录证书

《中文核心期刊要目总览》入编通知

尊敬的主编先生/女士：

我们谨此郑重通知：依据文献计量学的原理和方法，经研究人员对相关文献的检索、统计和分析，以及学科专家评审，贵刊《**世界华人消化杂志**》入编《中文核心期刊要目总览》2011 年版（即第六版）之 **临床医学/特种医学类** 的核心期刊。该书由北京大学出版社出版。书中按《中国图书馆分类法》的学科体系，列出了 73 个学科的核心期刊表，并逐一对核心期刊进行了著录。著录项目包括：题名、并列题名、主办单位、创刊时间、出版周期、学科分类号、ISSN 号、CN 号、邮发代号、编辑部地址、邮政编码、电话、网址、电子邮箱、内容简介等。

评选核心期刊的工作，是运用科学方法对各种刊物在一定时期内所刊载论文的学术水平和学术影响力进行综合评价的一种科研活动，研究工作量浩大。北京地区十几所高校图书馆、中国科学院国家科学图书馆、中国社会科学院文献信息中心、中国人民大学书报资料中心、中国学术期刊（光盘版）电子杂志社、中国科学技术信息研究所、北京万方数据股份有限公司、国家图书馆等相关单位的百余名专家和期刊工作者参加了研究。

课题组对核心期刊的评价理论、评价方法等问题进行了深入研究，进一步改进了核心期刊评价方法，使之更趋科学合理，力求使评价结果符合客观实际。对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被索量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web 下载量等 9 个评价指标，选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到 60 余种，统计到的文献数量共计 221177 余万篇次，涉及期刊 14400 余种。参加核心期刊评审的学科专家达 8200 多位。经过定量筛选和专家定性评审，从我国正在出版的中文期刊中评选出 1982 种核心期刊。

需要特别指出的是，该研究成果只是一种参考工具书，主要是为图书情报界、出版界等需要对期刊进行评价的用户提供参考，例如为各图书情报部门的中文期刊采购和读者导读服务提供参考帮助等，不应作为评价标准。谨此说明。

顺颂

撰安

《中文核心期刊要目总览》2011 年版编委会

代章：

2012 年 1 月

Published by **Baishideng Publishing Group Inc**
8226 Regency Drive, Pleasanton,
CA 94588, USA
Fax: +1-925-223-8242
Telephone: +1-925-223-8243
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com



ISSN 1009-3079
17>
9 771009 307056

百世登出版集团有限公司
© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

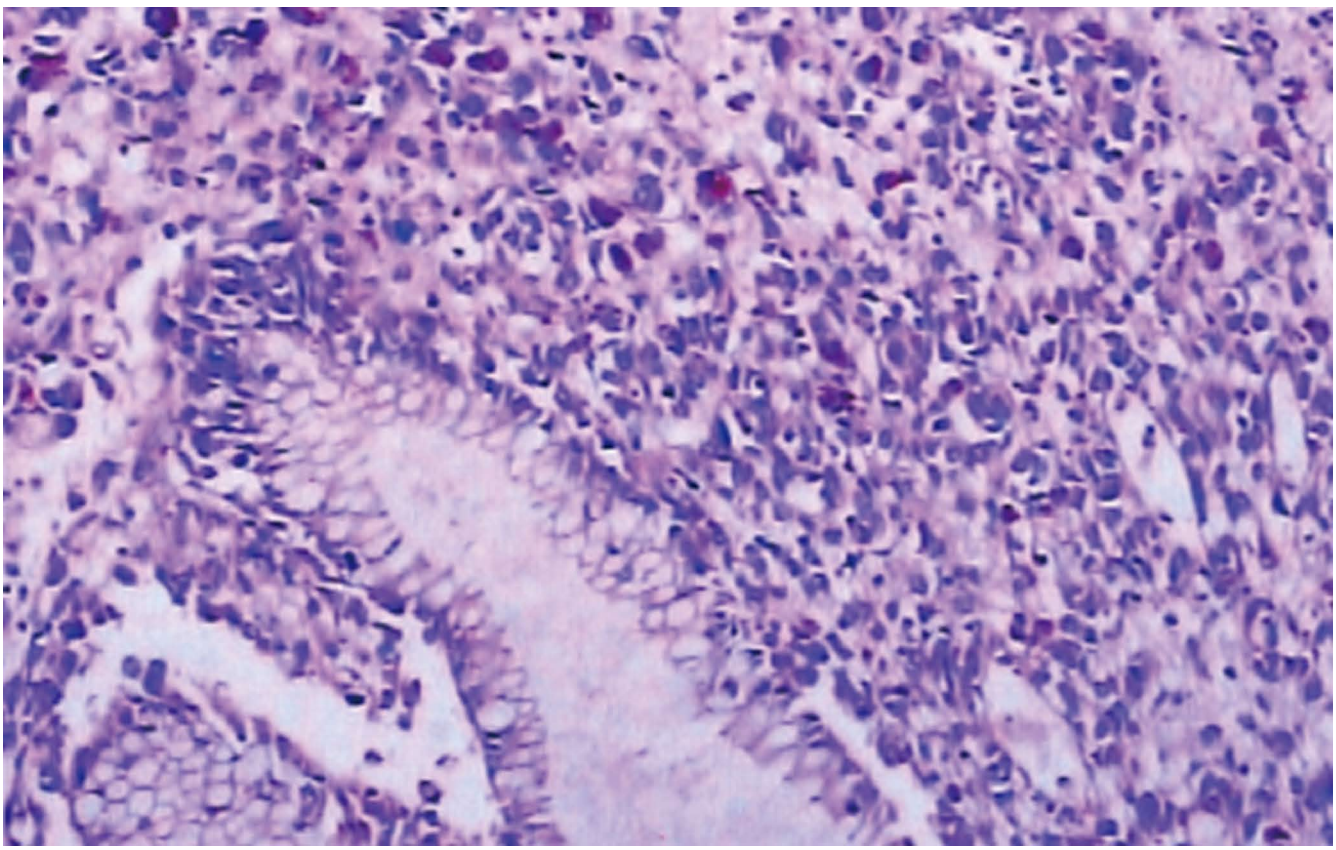
ISSN 1009-3079 (print)
ISSN 2219-2859 (online)

世界华人消化杂志®

WORLD CHINESE JOURNAL OF DIGESTOLOGY

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2014 年 6 月 28 日　第 22 卷　第 18 期　(Volume 22 Number 18)



18/2014

ISSN 1009-3079
9 771009 307056 18>

《世界华人消化杂志》是一份同行评议性的旬刊，是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊 2012年版)》和《中文核心期刊要目总览(2011年版)》收录的学术类期刊.《世界华人消化杂志》的英文摘要被《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录.

世界华人消化杂志 www.wjgnet.com 二零一四年六月二十八日 第二十二卷 第十八期

世界华人消化杂志®

编辑委员会

2012-01-01/2014-12-31

wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

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

总顾问

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

名誉主编

潘伯荣教授

主编

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

编委

消化内科学

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

消化外科学

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

世界华人消化杂志®

编辑委员会

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

消化感染病学

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

消化中医药学

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

消化肿瘤学

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

消化影像学

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

消化内镜及介入治疗学

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

消化中西医结合学

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

消化基础研究

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

消化病理学

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

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目　次 ●　2014 年 6 月 28 日　第 22 卷　第 18 期　(总第458期)

基础研究

2525 *bcl6b*基因转染对人食管癌细胞生物学行为的影响
胡随, 毛高平, 郭明洲

2532 结直肠癌中*AEG-1*对血管生成相关因子HIF-1α和miR-34a的影响
黄素军, 吴斌文, 李东风, 刘宝龙, 邓 罡, 张凯军

文献综述

2539 丁酸降低结肠癌的潜在机制
周中凯, 卜丹丹, 苏哲, 姜余梅

2547 肠道菌群与结直肠癌发病关系的研究进展
杨珍妮, 刘丹, 刘冰熔

研究快报

2553 SRPX2真核表达载体的构建及其在SW480细胞中的表达
刘揆亮, 周跃, 吴静

2559 Urantide对急性肝衰竭小鼠肝组织中IRF3表达的影响
汪小庭, 涂文娟, 刘亮明, 梁冬雨, 于芳苹, 赵亮, 叶长根, 杨志文, 高得勇

2565 姜黄素对胰腺癌细胞上皮间质转化的影响
庞慧芬, 覃华, 赵秋, 许琮, 赵慧贞, 朱亮, 黎培员, 李德民

2572 黄连素对结肠癌细胞系HT-29增殖和凋亡的影响
李湘楚, 熊建光, 程正位, 程思, 刘启胜

临床经验

2578 数字染色内镜在Barrett食管诊断中的应用
张秋瓒, 杨倩, 冯静, 张淑贤, 王秀茹

2583 酸反流与异常非酸反流性胃食管反流性咳嗽症状与诊断的临床比较
王巍, 孙艳玲, 邢丽芬, 王萍, 刘丽敏, 石硕, 许亚丽

2588 鼻饲管置入深度及鼻饲时患者体位与食物反流及并发症的关系
童丽灵, 王曙红, 王伟, 林桦, 林白浪, 苏春晓

2593 健胃消食口服液治疗儿童功能性消化不良临床症状的改善及胃电图的影响
程伟伟, 刘海峰, 胡志红, 苗芸, 顾竹珺

2598 计划、实施、检查、处理循环式护理干预对胃溃疡患者生活质量的影响
陈咏敏, 沈丽芬, 孙景华

2602 微创胃十二指肠穿孔修补术与传统开腹术治疗胃穿孔患者临床效果的比较
张东红, 叶文婧, 任瑞芳

2607 不同部位胃癌组织临床病理特点和生物学行为的差异
周思宁, 周小兰

2612 门冬氨酸鸟氨酸联合纳洛酮对肝性脑病患者认知功能和预后及其神经肽类水平的影响
丰化微, 惠凯, 孙庆文, 于宁

2617 综合护理干预对慢性丙型肝炎并发糖尿病患者的临床效果
石慧芬, 傅旭丹

2622 临床中肝硬化患者胃肠道状态与血氨水平的相关性
曹月琴, 陈晓敏, 范海波, 董燕, 顾静燕

2626 谷氨酰胺联合膳食纤维强化肠内营养对重症医学科患者的支持效果
王舜尧, 柴滨

2632 小肠梗阻诊断和治疗的优化流程
吴彪, 王春友

2637 异丙酚联合瑞芬太尼与七氟醚麻醉方式的临床对比
金学勇, 李玉石

2641 复方枸橼酸阿尔维林治疗功能性腹痛综合征的疗效
刘宁, 练海燕, 郭伟强, 潘美云

2645 肛管直肠恶性黑色素瘤25例
邓昌林, 周淑蓉, 谢明, 邹文俊, 许辉

2650 替吉奥单药在晚期结直肠癌辅助化疗中的疗效
高波, 李兴华

病例报告	2657 原发性肺癌胃转移的临床病理特点并1例文献复习 付世纬, 杨映红, 黄旭, 杨焕星, 黄建平 2661 吸收不良综合征的内镜下表现及临床分析1例 张宇, 屈亚威, 刘海峰
附　　录	I－V 《世界华人消化杂志》投稿须知 I 2014年国内国际会议预告
志　　谢	I 志谢世界华人消化杂志编委
消　　息	2531 《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号 2571 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版) 2606 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费 2631 中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》影响因子0.873
封面故事	邓昌林, 周淑蓉, 谢明, 邹文俊, 许辉. 肛管直肠恶性黑色素瘤25例. 世界华人消化杂志 2014; 22(18): 2645-2649 http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2645.asp http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i18.2645
本期责任人	编务 李香; 送审编辑 鲁亚静, 郭鹏; 组版编辑 鲁亚静; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 郭鹏; 形式规范审核编辑部主任 郭鹏; 最终清样审核总编 马连生

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平　题写封面刊名
陈可冀　题写版权刊名
(旬刊)

创　刊 1993-01-15
改　刊 1998-01-25
出　版 2014-06-28
原刊名 新消化病学杂志

期刊名称
世界华人消化杂志

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

主编
程英升, 教授, 200233, 上海市, 上海交通大学附属第六人民医院放射科
党双锁, 教授, 710004, 陕西省西安市, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科
江学良, 教授, 250031, 山东省济南市, 中国人民解放军济南军区总医院消化科
刘连新, 教授, 150001, 黑龙江省哈尔滨市, 哈尔滨医科大学第一临床医学院普外科
刘占举, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院消化内科
吕宾, 教授, 310006, 浙江省杭州市, 浙江中医药大学附属医院(浙江省中医院)消化科
马大烈, 教授, 200433, 上海市, 中国人民解放军第二军医大学附属长海医院病理科
王俊平, 教授, 030001, 山西省太原市, 山西省人民医院消化科
王小众, 教授, 350001, 福建省福州市, 福建医科大学附属协和医院消化内科
姚登福, 教授, 226001, 江苏省南通市, 南通大学附属医院临床医学研究中心
张宗明, 教授, 100016, 北京市, 清华大学第一附属医院消化医学中心

编辑部
郭鹏, 主任
《世界华人消化杂志》编辑部
100025, 北京市朝阳区东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室
电话: 010-59080035　手机: 18311378628
传真: 010-85381893
E-mail: wcjd@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com

出版
百世登出版集团有限公司
Baishideng Publishing Group Inc
8226 Regency Drive, Pleasanton, CA 94588, USA
Fax: +1-925-223-8242
Telephone: +1-925-223-8243
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com

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

《世界华人消化杂志》被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊 2012年版)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》, 《Chemical Abstracts》, 《EMBASE/Excerpta Medica》, 《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录.

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

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

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

定价
每期90.67元 全年36期3264.00元

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

World Chinese Journal of Digestology

June 2014 Contents in Brief Volume 22 Number 18

BASIC RESEARCH

2525 Effect of transfection with *bcl6b* on biological behavior of human esophageal cancer cells
Hu S, Mao GP, Guo MZ

2532 *AEG-1* affects expression of HIF-1α and miR-34a in colorectal cancer cells
Huang SJ, Wu BW, Li DF, Liu BL, Deng G, Zhang KJ

REVIEW

2539 Butyrate decreases risk of colonic cancer: Potential mechanisms
Zhou ZK, Bu DD, Su Z, Jiang YM

2547 Progress in understanding the relationship between intestinal microbial flora and colorectal cancer
Yang ZN, Liu D, Liu BR

RAPID COMMUNICATION

2553 Construction of a eukaryotic vector expressing SRPX2 and its expression in cell line SW480
Liu KL, Zhou Y, Wu J

2559 Urantide inhibits hepatic IRF3 expression in acute liver failure mice
Wang XT, Tu WJ, Liu LM, Liang DY, Yu FP, Zhao L, Ye CG, Yang ZW, Gao DY

2565 Curcumin inhibits TGF-β1-induced epithelial-mesenchymal transition of pancreatic cancer cells
Pang HF, Qin H, Zhao Q, Xu C, Zhao HZ, Zhu L, Li PY, Li DM

2572 Effect of berberine on proliferation and apoptosis of colon cancer HT-29 cells
Li XC, Xiong JG, Cheng ZW, Cheng S, Liu QS

CLINICAL PRACTICE

2578 Digital chrome endoscopy for diagnosis of Barrett's esophagus
Zhang QZ, Yang Q, Feng J, Zhang SX, Wang XR

2583 Symptoms and diagnosis of acid *vs* non-acid gastroesophageal reflux induced cough
Wang W, Sun YL, Xing LF, Wang P, Liu LM, Shi S, Xu YL

2588 Relationship of insertion depth for nasogastric feeding tubes and body position while feeding with occurrence of food regurgitation and aspiration pneumonia in critically ill patients
Tong LL, Wang SH, Wang W, Lin H, Lin BL, Su CX

2593 Influence of Jianwei Xiaoshi Koufuye treatment on clinical symptoms and electrogastrogram in children with functional dyspepsia
Cheng WW, Liu HF, Hu ZH, Miao Y, Gu ZJ

2598 Nursing intervention using the plan-do-check-act cycle improves quality of life in patients with gastric ulcer
Chen YM, Shen LF, Sun JH

2602 Efficacy of laparoscopy *vs* laparotomy for gastroduodenal perforation
Zhang DH, Ye WJ, Ren RF

2607 Comparative analysis of clinicopathologic features and lymph node metastasis between patients with upper and lower gastric carcinoma
Zhou SN, Zhou XL

2612 Ornithine aspartate combined with naloxone improves cognitive function, prognosis, and neuropeptide levels in patients with hepatic encephalopathy
Feng HW, Hui K, Sun QW, Yu N

2617 Comprehensive nursing intervention to improve quality of life in chronic hepatitis C patients with diabetes mellitus
Shi HF, Fu XD

2622 Relationship between blood ammonia levels and gastrointestinal condition in patients with cirrhosis
Cao YQ, Chen XM, Fan HB, Dong Y, Gu JY

2626 Clinical effects of glutamine and dietary fiber enhanced enteral nutrition in critically ill trauma patients
Wang SY, Chai B

2632 Optimization of algorithms for diagnosis and treatment of small bowel obstruction
Wu B, Wang CY

2637 Anesthetic effect of propofol plus fentanyl *vs* sevoflurane
Jin XY, Li YS

2641 Clinical efficacy of compound alverine citrate in treatment of functional abdominal pain syndrome
Liu N, Lian HY, Guo WQ, Pan MY

2645 Anorectal malignant melanoma: Analysis of 25 cases
Deng CL, Zhou SR, Xie M, Zou WJ, Xu H

2650 Gimeracil and oteracil porassium capsules as a single drug in adjuvant treatment of patients with advanced colorectal cancer: A randomized clinical study
Gao B, Li XH

CASE REPORT	2657 Clinicopathologic characteristics of gastric metastasis from primary lung cancer: A case report and review of the literature *Fu SW, Yang YH, Huang X, Yang HX, Huang JP* 2661 A case of malabsorption syndrome *Zhang Y, Qu YW, Liu HF*
APPENDIX	I – V Instructions to authors of *World Chinese Journal of Digestology* I Meeting events calendar in 2014
ACKNOWLEDGMENT	I Acknowledgments to reviewers of *World Chinese Journal of Digestology*
COVER	*Deng CL, Zhou SR, Xie M, Zou WJ, Xu H.* Anorectal malignant melanoma: Analysis of 25 cases. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(18): 2645-2649 http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2645.asp http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i18.2645
RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE	Assistant Editor: *Xiang Li* Review Editor: *Ya-Jing Lu, Peng Guo* Electronic Page Editor: *Ya-Jing Lu* English Language Editor: *Tian-Qi Wang* Editor-in-Charge: *Peng Guo* Proof Editor: *Peng Guo* Layout Editor: *Lian-Sheng Ma*
Indexed/Abstracted by	Chemical Abstracts, EMBASE/ Excerpta Medica, Abstract Journals and Digital Object Identifier

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993
Renamed on January 25, 1998
Publication date June 28, 2014

NAME OF JOURNAL
World Chinese Journal of Digestology

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

EDITOR-IN-CHIEF
Ying-Sheng Cheng, Professor, Department of Radiology, Sixth People's Hospital of Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200233, China
Shuang-Suo Dang, Professor, Department of Infectious Diseases, the Second Affiliated Hospital of Medical School of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, Shaanxi Province, China
Xue-Liang Jiang, Professor, Department of Gastroenterology, General Hospital of Jinan Military Command of Chinese PLA, Jinan 250031, Shandong Province, China
Lian-Xin Liu, Professor, Department of General Surgery, the First Clinical Medical College of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China
Zhan-Ju Liu, Professor, Department of Gastroenterology, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China
Bin Lv, Professor, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hang-zhou 310006, Zhejiang Province, China
Da-Lie Ma, Professor, Department of Pathology, Changhai Hospital, the Second Military Medical University of Chinese PLA, Shanghai 200433, China
Jun-Ping Wang, Professor, Department of Gastroenterology, People's Hospital of Shanxi, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China
Xiao-Zhong Wang, Professor, Department of Gastroenterology, Union Hospital, Fujian Medical University, Fuzhou 350001, Fujian Province, China
Deng-Fu Yao, Professor, Clinical Research Center, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China
Zong-Ming Zhang, Professor, Department of General Surgery, Digestive Medical Center, the First Affiliated Hospital, School of Medicine, Tsinghua University, Beijing 100016, China

EDITORIAL OFFICE
Peng Guo, Director
World Chinese Journal of Digestology
Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China
Telephone: +86-10-59080035 18311378628
Fax: +86-10-85381893
E-mail: wcjd@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com

PUBLISHER
Baishideng Publishing Group Inc
8226 Regency Drive, Pleasanton, CA 94588, USA
Fax: +1-925-223-8242
Telephone: +1-925-223-8243
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com

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

PRINT SUBSCRIPTION
RMB 90.67 Yuan for each issue
RMB 3264 Yuan for one year

COPYRIGHT
© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. Articles published by this Open Access journal are distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-commercial License, which permits use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited, the use is non commercial and is otherwise in compliance with the license.

SPECIAL STATEMENT
All articles published in journals owned by the Baishideng Publishing Group (BPG) represent the views and opinions of their authors, and not the views, opinions or policies of the BPG, except where otherwise explicitly indicated.

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

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com
世界华人消化杂志 2014年6月28日; 22(18): 2525-2531
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

基础研究 BASIC RESEARCH

*bcl6b*基因转染对人食管癌细胞生物学行为的影响

胡 随, 毛高平, 郭明洲

胡随, 安徽医科大学研究生院 安徽省合肥市 230032
毛高平, 中国人民解放军空军总医院消化内科 北京市 100142
郭明洲, 中国人民解放军总医院消化内科 北京市 100853
胡随, 主要从事消化系肿瘤的临床与基础研究.
作者贡献分布: 本课题由郭明洲设计; 胡随负责实验操作、资料收集、数据整理及撰写论文; 文章的修改与审校由毛高平完成.
通讯作者: 毛高平, 教授, 主任医师, 100142, 北京市海淀区阜成路30号, 中国人民解放军空军总医院消化内科.
maogaoping@medmail.com
电话: 010-68410099-6232
收稿日期: 2014-05-16 修回日期: 2014-06-06
接受日期: 2014-06-16 在线出版日期: 2014-06-28

Effect of transfection with *bcl6b* on biological behavior of human esophageal cancer cells

Sui Hu, Gao-Ping Mao, Ming-Zhou Guo

Sui Hu, Anhui Medical University, Hefei 230032, Anhui Province, China
Gao-Ping Mao, Department of Gastroenterology, Air Force General Hospital, Chinese PLA, Beijing 100142, China
Ming-Zhou Guo, Department of Gastroenterology, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China
Correspondence to: Gao-Ping Mao, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Air Force General Hospital, Chinese PLA, 30 Fucheng Road, Haidian District, Beijing 100142, China. maogaoping@medmail.com.cn
Received: 2014-05-16 Revised: 2014-06-06
Accepted: 2014-06-16 Published online: 2014-06-28

Abstract

AIM: To determine the effect of exogenous *bcl6b* gene on biological behavior of human esophageal cancer cells.

METHODS: PCR was used to clone the *bcl6b* gene to construct the pcDNA-bcl6b vector. The pcDNA-bcl6b and pcDNA3.1 (empty vector) were introduced into KYSE180 cell line using Lipofectin, and the KYSE180 cells stably expressing the *bcl6b* gene were established by G418 selection. The expression of BCL6B, P53 and P21 proteins was detected by Western blot. Cell cycle and apoptosis were assayed by flow cytometry (FCM). Cell proliferation was observed by growth curve and colony formation assays.

RESULTS: KYSE180 cells stably expressing BCL6B protein were established. FCM showed that more BCL6B-transfected cells entered into G_0/G_1 phase (BCL6B: 47.85% ± 1.53% *vs* empty vector: 40.62% ± 1.07%, $P < 0.05$) and fewer cells entered into S phase (BCL6B: 34.40% ± 1.30% *vs* empty vector: 42.31% ± 0.66%, $P < 0.01$) compared with cells transfected with the empty vector. Moreover, there was a significant difference in the apoptosis rate between the two groups (BCL6B: 11.74% ± 0.99% *vs* empty vector: 2.43% ± 0.70%, $P < 0.01$), and P53 and P21 protein expression levels were significantly increased. Compared with the empty vector transfected cells, the BCL6B-transfected cells grew more slowly.

CONCLUSION: BCL6B protein might inhibit the malignant biological behavior of KYSE180 cells partly by up-regulating P53 and P21 protein expression.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: *bcl6b*; Esophageal cancer; Transfection; Proliferation; Apoptosis; P53; P21

Hu S, Mao GP, Guo MZ. Effect of transfection with *bcl6b* on biological behavior of human esophageal cancer cells. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(18): 2525-2531
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2525.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i18.2525

摘要

目的: 探讨外源性*bcl6b*基因表达对人食管癌细胞生物学行为的影响.

方法: 应用PCR方法扩增*bcl6b*基因编码区, 利用脂质体转染技术将真核表达重组体pcDNA-bcl6b质粒和空载体pcDNA3.1质粒分别导入KYSE180细胞, 经G418筛选后获得稳定转染细胞克隆, Western blot检测BCL6B和P53在KYSE180细胞中的表达变化. 通过流式细胞术(FCM)分析其细胞周期及其凋亡的变化, 绘制生长曲线和克隆形成试验检测重表达*bcl6b*基因后食管癌细胞的增殖变化.

■背景资料
*bcl6b*基因编码的mRNA在人体正常组织中均能检测到, 以心脏和胎盘表达量最高. 关于*bcl6b*基因的生物学功能的研究, 有文献报道*bcl6b*基因敲出小鼠会出现CD8 T细胞分化障碍, 且小鼠在二次免疫应答时出现记忆$CD8^+$ T细胞增殖能力明显减弱. Jonathan等研究发现BCL6B对于精原干细胞的自我更新至关重要, 目前关于BCL6B在肿瘤中的生物学功能报道很少.

■同行评议者
程英升, 教授, 上海交通大学附属第六人民医院放射科

■研发前沿
关于食管癌的发病机制，近年来越来越多的研究证据表明，抑癌基因因启动子区域的高甲基化所导致的表达缺失，在食管癌的发生和发展中起了至关重要作用，检测基因启动子区甲基化状态可作为肿瘤的早期诊断、肿瘤分级、分期，肿瘤侵袭、转移、复发和化疗敏感性的独立预测因子.

结果: 成功获得了稳定表达外源性*bcl6b*基因的KYSE180细胞系，与转染空白载体组比较，转染*bcl6b*基因的细胞，细胞周期中G_1/G_0期比例明显增加(BCL6B: 47.85%±1.53% *vs* Vector: 40.62%±1.07%, $P<0.05$)，S期比例减少(BCL6B: 34.40%±1.30% *vs* Vector: 42.31%±0.66%, $P<0.01$)，细胞凋亡率升高(BCL6B: 11.74%±0.99% *vs* Vector: 2.43%±0.70%, $P<0.01$)；同时P53和P21蛋白的表达水平明显升高. 转染*bcl6b*基因的细胞的生长速度较空载组比明显减慢.

结论: BCL6B可能通过上调P53和P21蛋白的表达水平从而抑制KYSE180细胞的恶性生物学行为.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: *bcl6b*; **食管癌**; **增殖**; **凋亡**; **肿瘤**; P53; P21

核心提示: 重表达*bcl6b*基因的细胞，细胞周期中G_1/G_0期比例明显增加，S期比例减少，细胞凋亡率升高；转染*bcl6b*基因的细胞的生长速度较空载组明显减慢. 同时P53和P21蛋白的表达水平明显升高. 研究结果表明BCL6B可通过上调P53和P21蛋白的表达水平，从而引起细胞G_1/S期阻滞和诱导细胞凋亡而抑制食管癌细胞KYSE180细胞的恶性生物学行为.

胡随，毛高平，郭明洲. *bcl6b*基因转染对人食管癌细胞生物学行为的影响. 世界华人消化杂志 2014; 22(18): 2525-2531
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2525.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i18.2525

0 引言

食管癌是消化系最常见的恶性肿瘤之一，其恶性程度在所有肿瘤中居第5位，但其在癌症相关死亡原因中居第4位[1]. 在中国北部和中部地区，90%以上的食管癌的病理类型为鳞状细胞癌[2]. 近10年来，随着外科手术和放化疗方案的进展，食管癌的5年生存率依然低于20%[3]. 近年来越来越多的研究证据表明，抑癌基因因启动子区域的高甲基化所导致的表达缺失，在食管癌的发生和发展中起了至关重要作用[4-8]. 有文献报道*bcl6b*启动子区异常高甲基化而导致其在胃癌中出现表达的缺失，在胃癌细胞系中恢复其的表达可以抑制细胞增殖，促进细胞凋亡，检测胃癌组织或血浆中*bcl6b*基因的甲基化可作为诊断胃癌的独立生物标志物[9,10]. 而在本实验室既往的研究中发现在食管癌中，*bcl6b*基因的启动子区域也普遍存在高甲基化，且在食管癌的细胞实验中发现*bcl6b*基因的表达受启动子区域甲基化的调控[11]. 目前关于*bcl6b*在食管癌中的生物学功能未见报道. 本研究通过在BCL6B表达缺失的食管癌KYSE180细胞中恢复BCL6B的表达，从而研究BCL6B在食管癌中的生物学功能，及进一步探讨发挥功能的相关信号通路，为食管癌的治疗提供新的思路.

1 材料和方法

1.1 材料 TRIzol、cDNA第一链合成试剂盒、G418、胎牛血清、RPMI 1640/DMEM培养基、转染试剂Lipofectamine 2000购自美国Invitrogen公司；BCA法蛋白定量世纪盒、质粒提取试剂盒购自康为世纪；蛋白裂解液、一抗稀释液购自碧云天；限制性内切酶、预染蛋白质分子量标准、T4 DNA Ligase购自美国NewEngland Biolabs公司；兔抗人β-actin抗体、羊抗鼠二抗、辣根过氧化物酶标记的羊抗鼠购自中杉金桥；兔抗人P53多克隆抗体购自美国SantaCrus公司；感受态大肠杆菌DH5α购自全式金生物公司；pcDNA3.1载体和食管癌细胞株KYSE180为301医院消化科实验室馈赠；PCR引物合成及序列测定为华大基因公司. 细胞周期、凋亡、增殖和细胞毒性检测试剂盒购自凯基生物.

1.2 方法

1.2.1 *bcl6b*基因克隆与真核表达载体的构建：本实验采用PCR技术，以正常食管黏膜组织cDNA为模板，行PCR扩增后获得*bcl6b*基因的编码区序列(1446 bp)，相应引物序列及PCR反应条件为：上游引物5'-GAAGATCTATGTACCCATAC-GATGTTCCAGATTACGCT-3'，下游引物5'-CC-GCTCGAGCTAGGGCCCCCCGAGAAT-3'. 10 g/L琼脂糖电泳鉴定PCR扩增产物. PCR产物纯化后用*Bgl* Ⅱ和*Xho* Ⅰ双酶切，pcDNA3.1质粒用*BamH* Ⅰ和*Xho* Ⅰ双酶切后纯化回收，连接、转化DH5α感受态细胞，挑菌测序.

1.2.2 表达外源性*bcl6b*基因食管癌细胞株的建立：pcDNA3.1-bcl6b和pcDNA3.1质粒提取纯化、定量后，按照Lipofectamine 2000的说明书操作步骤进行细胞接种和转染KYSE180细胞. 转染48 h胰酶消化后计数，将1×10^5个细胞接种于60 mm的培养皿中，次日加入终浓度为400 mg/L的G418筛选阳性克隆，每3-4 d更换1次培

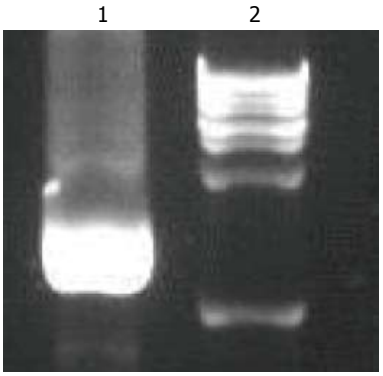


图 1 ***bcl6b*基因的PCR产物鉴定琼脂糖凝胶电泳图**. 1: 目的条带, 位于1-2 kb之间; 2: 1-10 kb DNA marker.

养液, 2-3 wk左右有克隆形成. 挑取单克隆进行扩大培养, 以终浓度为200 mg/L G418维持培养, 提取细胞总蛋白, 行Western blot检测*bcl6b*基因的表达.

1.2.3 Western blot检测BCL6B蛋白表达水平: 提取细胞总蛋白后BCA法行蛋白定量; 10%SDS-PAGE胶电泳分离蛋白样品, 电转移法将蛋白转移至PVDF膜. TBST配制的5%脱脂奶粉室温封闭2 h; 一抗稀释液稀释一抗(BCL6B 1∶400、P53 1∶500和P21 1∶500), 4 ℃冰箱过夜; TBST洗膜4次, 每次5 min; TBST配制的5%脱脂奶粉稀释二抗室温45 min, 洗膜3次, 化学发光法曝光显影.

1.2.4 BCL6B生物学功能检测: (1)细胞周期检测: 胰酶消化空载组和BCL6B重表达组细胞, PBS洗3遍, 预冷的700 mL/L乙醇固定>4 h, 离心去除乙醇, PBS洗3遍, PI染色, 流式细胞仪检测细胞周期; (2)用无EDTA的胰酶消化空载组和BCL6B重表达组细胞, 预冷的PBS洗3次, 加入Annexin V染色吹打充分混匀后, 再加入PI染色, 流式细胞仪检测细胞凋亡; (3)胰酶消化空载组和BCL6B重表达组细胞并计数, 接种5000个细胞于96孔板中, 每列接种6个复孔, 共接种4组, 分别于接种1、2、3、4 d时加入50 μL的MTT, 继续培养4 h, 吸取培养基, 加入150 μL DMSO, 并震荡混匀, 酶标仪检测490 nm波长光吸收值, 根据吸光值绘制生长曲线; (4)胰酶消化细胞并计数, 分别取1500个空载组和BCL6B重表达组细胞接种于6孔板中, 每组设3个复孔, 继续培养2 wk后4%的多聚甲醛固定后结晶紫染色, 对细胞数>50个的克隆进行计数.

统计学处理 运用SPSS17.0统计学软件进行实验数据的分析, 计数资料结果用mean±SD表示, 两均数的比较用*t*检验, $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 *bcl6b*基因的扩增及鉴定 在进行PCR初次扩增时因杂带较多, 在1-2 kb之间条带进行切胶回收后, 用回收产物再次PCR扩增, 得出较明亮的目的条带, 如图1所示, 提示采用PCR成功扩增了*bcl6b*基因编码区片段.

2.2 表达外源性*bcl6b*基因的食管癌细胞株的建立 将pcDNA3.1-bcl6b质粒pcDNA3.1质粒转染KYSE180细胞, 经G418筛选后得到稳定表达的细胞株, Western blot检测恢复*bcl6b*基因表达组能稳定检测到蛋白的表达情况.

2.3 细胞克隆实验 稳定转染pcDNA3.1-bcl6b的细胞克隆形成数目为237.00±28.37, 空载组为400.00±12.00, *bcl6b*组与空载组相比, 集落形成明显减少, 集落也明显较空载组比要小, 进行统计学分析, 两组之间有统计学差异(图2).

2.4 FCM检测细胞周期和凋亡 稳定转染pcDNA3.1-bcl6b后KYSE180细胞的G_1和S期细胞比例分别为40.62%±1.07% *vs* 34.40%±1.30%, 空载组G_1和S期细胞所占比例分别为47.85%±1.53% *vs* 42.31%±0.66%, pcDNA3.1-bcl6b组的G_1期细胞的比例高于空载组, 而S期的细胞比例明显低于空载组, 两组之间差异有统计学意义(图3). 稳定转染pcDNA3.1-bcl6b后KYSE180凋亡细胞的比例为11.74%±0.99%, 空载组凋亡细胞的比例为2.43%±0.70%, pcDNA3.1-bcl6b组的细胞凋亡比例明显高于空载组, 两组之间差异有统计学意义(图4).

2.5 BCL6B获得性表达后细胞的生长曲线 稳定转染pcDNA3.1-bcl6b质粒的细胞与空载组相比细胞的生长、增殖能力明显受到抑制, 两组间差异有统计学意义(图5).

2.6 重表达BCL6B对KYSE180细胞中P53和P21的蛋白表达水平影响 Western blot结果显示, 重表达BCL6B后, P53和P21的蛋白表达水平是明显上升的(图6).

3 讨论

*bcl6b*基因又被称作*bazf*、*zbtb28*及*znf62*, 他位于17号染色体1区3带1亚带, 距*p53*基因800 kb[12], 该区域在很多肿瘤中发现不同基因的突变或缺失[13], 提示*bcl6b*可能为抑癌基因. 有文献报道BCL6B通过先与BCL6的broad-complex, tram-

■相关报道

*bcl6b*启动子区异常高甲基化而导致其在胃癌中出现表达的缺失, 在胃癌细胞系中恢复其的表达可以抑制细胞增殖, 促进细胞凋亡, 检测胃癌组织或血浆中*bcl6b*基因的甲基化可作为诊断胃癌的独立生物标志物.

■创新盘点

首次通过在表达缺失的食管癌细胞中重表达BCL6B并检测了其发挥的生物学功能, 得出BCL6B在食管癌通过上调P53和P21蛋白的表达水平从而引起细胞G_1/S期阻滞和诱导细胞凋亡而抑制KYSE180细胞的恶性生物学行为.

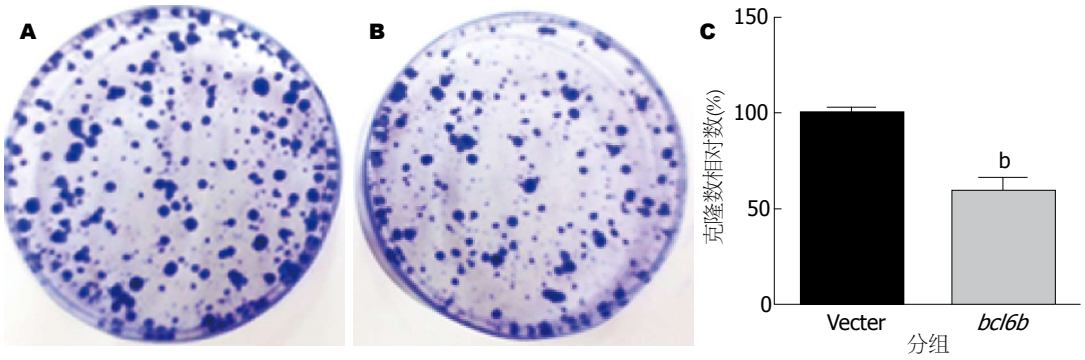


图 2 获得性表达*bcl6b*基因对KYSE180细胞克隆形成能力的影响. A: 空载组细胞克隆形成图片; B: 重表达BCL6B组细胞克隆形成图片; C: 对3次以上结果进行统计学分析绘制的柱状图, 其中以空载组克隆数计为100%, BCL6B重表达组计为: (BCL6B组克隆数/空载组克隆数) × 100%, ^bP<0.01 *vs* 空载组.

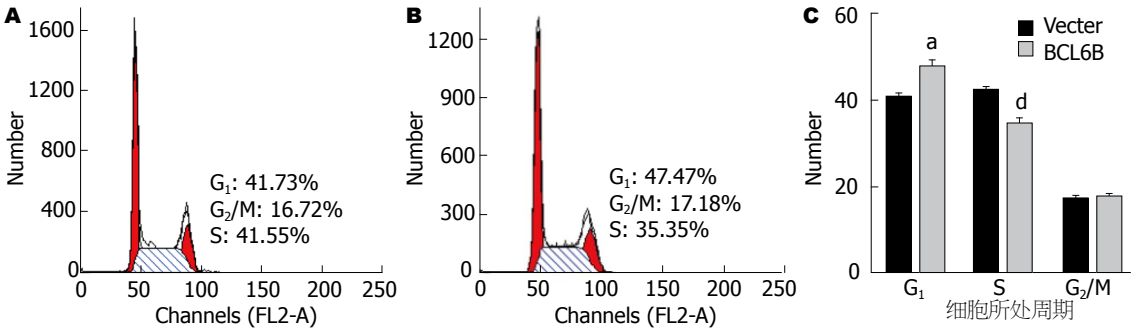


图 3 FCM分析获得性表达*bcl6b*基因对KYSE180细胞周期的影响. A: 空载组细胞周期图及各期细胞细胞所占的比例; B: 重表达BCL6B组细胞周期图及各期细胞细胞所占的比例; C: 根据3次周期结果进行统计学分析所绘制的柱状图. ^aP<0.05; ^dP<0.01 *vs* 空载组.

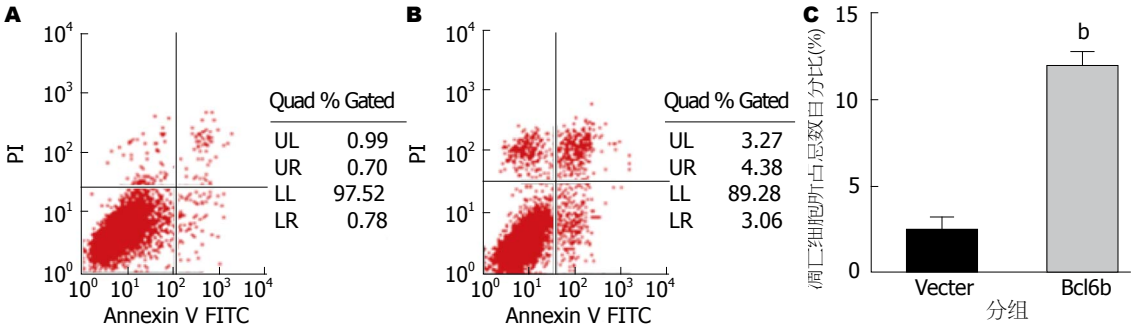


图 4 FCM分析获得性表达*bcl6b*基因对KYSE180细胞凋亡的影响. A: 空载组细胞凋亡图及凋亡细胞所占的比例; B: 重表达BCL6B组细胞凋亡图及凋亡细胞所占的比例; C: 根据3次凋亡结果进行统计学分析所绘制的柱状图. ^bP<0.01 *vs* 空载组.

track and bric-abrac/poxvirus and zinc finger(BTB/POZ)结构域或BCL6蛋白中间的17个高度保守的氨基酸序列相互结合后发挥转录抑制功能[12,14-17]. 另有文献报道BCL6B可以通过同时与CUL3(cullin 3)和CBF1(CRT-binding factor)结合, 从而导致CBF1的泛素化降解, 进而抑制Notch信号通路[18]. 关于*bcl6b*基因的生物学功能的研究, 有文献报道*bcl6b*基因敲出小鼠会出现CD8 T细胞分化障碍, 且小鼠在二次免疫应答时出现记忆$CD8^+$ T细胞增殖能力明显减弱[19]. 另有研究发现BCL6B在幼稚CD4 T细胞的活化发挥重要作用[20]. 有文献报道BCL6B为神经胶质细胞源性的神经营养因子(glial cell line-derived neurotrophic factor, GDNF)下游的靶基因[21], 对于精原干细胞的自我更新至关重要[22,23], 目前关于BCL6B在肿瘤中的生物学功能报道很少. 2012年, Xu等[9]发现因为*bcl6b*启动子区异常高甲基化而导致的表观失活, 且进一步在体内和体外实验中证实*bcl6b*在胃癌中发挥抑癌功能.

本实验室前期[11]运用甲基化特异性

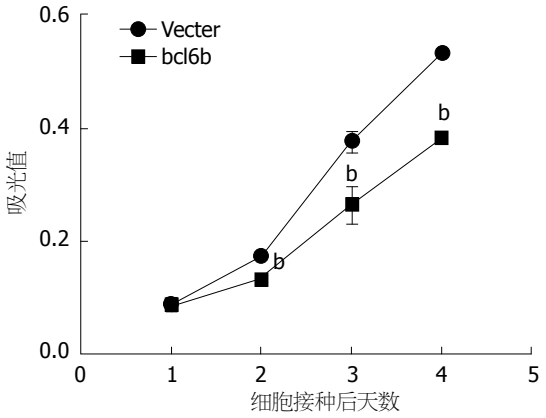


图 5 食管癌细胞获得性表达*bcl6b*基因前后的生长曲线图. 根据接种后1、2、3、4 d所测的吸光值绘制的生长曲线, 并根据吸光值进行统计学分析, $^bP<0.01$ *vs* 空载组.

PCR(methylation specific polymerase chain reaction, MSP)发现*bcl6b*在7株食管癌细胞系中均为甲基化的, 用去甲基化药物5-氮杂-2'-脱氧胞嘧啶核苷(5-aza-2-deoxy-cytidine, 5-Aza)处理食管癌细胞后能恢复*bcl6b*的表达, 说明了*bcl6b*在食管癌中的表达受启动子区域甲基化的调控, 运用MSP的方法检测了45例食管鳞癌组织, 发现甲基化率为77.8%, 提示在食管癌中*bcl6b*启动子区域是普遍甲基化的, 其启动子区域甲基化检测可作为食管癌诊断的分子标志物. 关于BCL6B在食管癌中的生物学功能目前未见报道. 众多的研究表明肿瘤的细胞周期不受正常生长调控系统的控制, 能持续的分裂与增殖. 有研究报道在肿瘤中恢复表达缺失或下调的抑癌基因可对肿瘤的增殖产生一定的抑制作用[24]. 本实验中我们以正常食管黏膜组织cDNA为模板, PCR的方法扩增了*bcl6b*基因的编码区序列, 并构建了稳定表达外源性BCL6B的食管癌细胞株, 经Western blot验证了BCL6B蛋白的表达是明显增强的. 本研究显示恢复*bcl6b*基因的表达能明显抑制KYSE180细胞的增殖. 运用流式细胞术分析发现, 恢复BCL6B的表达后G_0/G_1期的细胞的比例明显增加, S期比例减少, 同时凋亡细胞比例增加, 提示*bcl6b*基因可使细胞阻滞于G_0/G_1期, 并促进细胞的凋亡, 使细胞的增殖受到明显抑制. 有文献报道在细胞周期调控和DNA损伤修复过程中, P53蛋白可上调*p21*基因的表达, p21表达产物P21WAF1蛋白是一种依赖cyclin激酶(cyclin-dependent kinase, cdk)的抑制剂, 能够结合于G_1期和S期的cyclin-cdk复合体, 抑制其活性, 进而阻滞细胞周期于G_1期[25-29]. 有研究报道BCL6B可上调P53的表达[9]. 所以我们

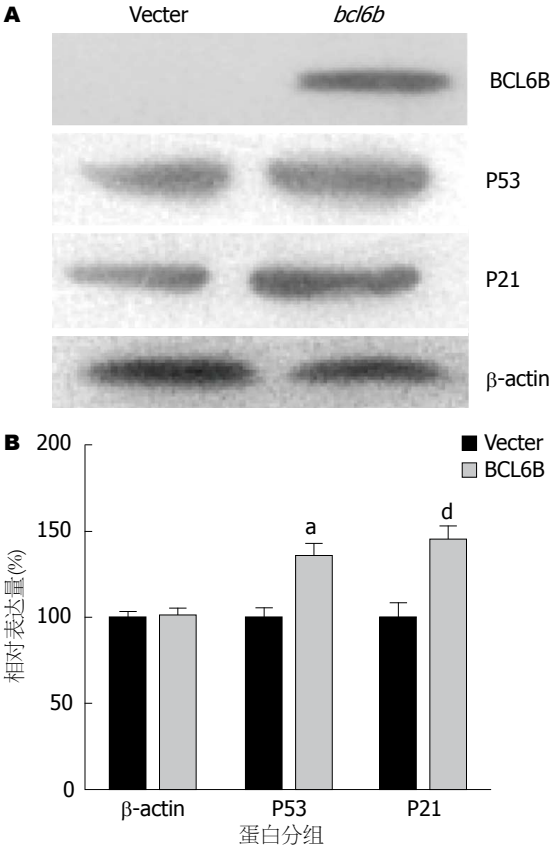


图 6 转染*bcl6b*后P53和P21蛋白表达水平的变化. A: 空载组和BCL6B组的Western blot图; B: 光密度柱状图. $^aP<0.05$, $^bP<0.01$ *vs* 空载组.

猜测BCL6B是否是通过上调P53的表达进而上调P21而诱导细胞G_1/S期阻滞, 为了验证这一假设, 我们检测了重表达BCL6B前后P53和P21的蛋白表达水平, 发现重表达BCL6B后可明显上调P53和P21蛋白表达水平, 对于BCL6B通过何种途径来调节P53的表达还有待于进一步研究.

目前很多化疗药均可导致DNA的损伤, 有文献报道有的抑癌基因可通过上调P53和P21表达而使其化疗敏感性增加[30,31], BCL6B在食管癌中是否会引起肿瘤细胞化疗敏感性改变, 有待于进一步研究证实, 进而为肿瘤的个体化治疗提供一个新的思路.

4 参考文献

1 Chen W, Zheng R, Zhang S, Zhao P, Li G, Wu L, He J. The incidences and mortalities of major cancers in China, 2009. *Chin J Cancer* 2013; 32: 106-112 [PMID: 23452393 DOI: 10.5732/cjc.013.10018]
2 Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 69-90 [PMID: 21296855 DOI: 10.3322/caac.20107]
3 Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statis-

■应用要点
研究BCL6B在食管癌中的生物学功能, 为食管癌的分子靶向治疗提供理论支持. 目前很多化疗药均可导致DNA的损伤, 有文献报道有的抑癌基因可通过上调P53和P21表达而使其化疗敏感性增加, BCL6B在食管癌中是否会引起肿瘤细胞化疗敏感性改变, 有待于进一步研究证实, 进而为肿瘤的个体化治疗提供一个新思路.

■同行评价
BCL6B通过上调P53和P21蛋白的表达水平从而抑制KYSE180细胞的恶性生物学行为. 研究设计科学, 结果可靠.

tics, 2012. *CA Cancer J Clin* 2010; 62: 10-29 [PMID: 22237781 DOI: 10.3322/caac.20138]

4 Wu L, Herman JG, Brock MV, Wu K, Mao G, Yan W, Nie Y, Liang H, Zhan Q, Li W, Guo M. Silencing DACH1 promotes esophageal cancer growth by inhibiting TGF-β signaling. *PLoS One* 2014; 9: e95509 [PMID: 24743895]

5 Guo W, Zhang M, Shen S, Guo Y, Kuang G, Yang Z, Dong Z. Aberrant methylation and decreased expression of the TGF-β/Smad target gene FBXO32 in esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer* 2014 May 2. *[Epub ahead of print]* [PMID: 24798237 DOI: 10.1002/cncr.28764]

6 Lu D, Ma J, Zhan Q, Li Y, Qin J, Guo M. Epigenetic silencing of RASSF10 promotes tumor growth in esophageal squamous cell carcinoma. *Discov Med* 2014; 17: 169-178 [PMID: 24759621]

7 Wang Q, Peng D, Zhu S, Chen Z, Hu T, Soutto M, Saad R, Zhang S, Ei-Rifai W. Regulation of Desmocollin3 Expression by Promoter Hypermethylation is Associated with Advanced Esophageal Adenocarcinomas. *J Cancer* 2014; 5: 457-464 [PMID: 24847386 DOI: 10.7150/jca.9145]

8 Baba Y, Watanabe M, Murata A, Shigaki H, Miyake K, Ishimoto T, Iwatsuki M, Iwagami S, Yoshida N, Oki E, Sakamaki K, Nakao M, Baba H. LINE-1 hypomethylation, DNA copy number alterations, and CDK6 amplification in esophageal squamous cell carcinoma. *Clin Cancer Res* 2014; 20: 1114-1124 [PMID: 24423610 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-13-1645]

9 Xu L, Li X, Chu ES, Zhao G, Go MY, Tao Q, Jin H, Zeng Z, Sung JJ, Yu J. Epigenetic inactivation of BCL6B, a novel functional tumour suppressor for gastric cancer, is associated with poor survival. *Gut* 2012; 61: 977-985 [PMID: 21917650 DOI: 10.1136/gutjnl-2011-300411]

10 Yang Q, Gao J, Xu L, Zeng Z, Sung JJ, Yu J. Promoter hypermethylation of BCL6B gene is a potential plasma DNA biomarker for gastric cancer. *Biomarkers* 2013; 18: 721-725 [PMID: 24191714 DOI: 10.3109/1354750X.2013.853839]

11 董腾慧. bcl6b基因启动子区异常高甲基化与食管癌的关系研究. 郑州: 郑州大学, 2012

12 Sakashita C, Fukuda T, Okabe S, Kobayashi H, Hirosawa S, Tokuhisa T, Miyasaka N, Miura O, Miki T. Cloning and characterization of the human BAZF gene, a homologue of the BCL6 oncogene. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; 291: 567-573 [PMID: 11855826]

13 Greipp PT, Smoley SA, Viswanatha DS, Frederick LS, Rabe KG, Sharma RG, Slager SL, Van Dyke DL, Shanafelt TD, Tschumper RC, Zent CS. Patients with chronic lymphocytic leukaemia and clonal deletion of both 17p13.1 and 11q22.3 have a very poor prognosis. *Br J Haematol* 2013; 163: 326-333 [PMID: 24032430 DOI: 10.1111/bjh.12534]

14 Okabe S, Fukuda T, Ishibashi K, Kojima S, Okada S, Hatano M, Ebara M, Saisho H, Tokuhisa T. BAZF, a novel Bcl6 homolog, functions as a transcriptional repressor. *Mol Cell Biol* 1998; 18: 4235-4244 [PMID: 9632807]

15 Takenaga M, Hatano M, Takamori M, Yamashita Y, Okada S, Kuroda Y, Tokuhisa T. Bcl6-dependent transcriptional repression by BAZF. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 303: 600-608 [PMID: 12659862]

16 Hartatik T, Okada S, Okabe S, Arima M, Hatano M, Tokuhisa T. Binding of BAZF and Bc16 to STAT6-binding DNA sequences. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 284: 26-32 [PMID: 11374866]

17 Kim JE, Finlay GJ, Baguley BC. The role of the hippo pathway in melanocytes and melanoma. *Front Oncol* 2013; 3: 123 [PMID: 23720711 DOI: 10.3389/fonc.2013.00123]

18 Ohnuki H, Inoue H, Takemori N, Nakayama H, Sakaue T, Fukuda S, Miwa D, Nishiwaki E, Hatano M, Tokuhisa T, Endo Y, Nose M, Higashiyama S. BAZF, a novel component of cullin3-based E3 ligase complex, mediates VEGFR and Notch cross-signaling in angiogenesis. *Blood* 2012; 119: 2688-2698 [PMID: 22279058 DOI: 10.1182/blood-2011-03-345306]

19 Manders PM, Hunter PJ, Telaranta AI, Carr JM, Marshall JL, Carrasco M, Murakami Y, Palmowski MJ, Cerundolo V, Kaech SM, Ahmed R, Fearon DT. BCL6b mediates the enhanced magnitude of the secondary response of memory CD8+ T lymphocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102: 7418-7425 [PMID: 15833813]

20 Takamori M, Hatano M, Arima M, Sakamoto A, Fujimura L, Hartatik T, Kuriyama T, Tokuhisa T. BAZF is required for activation of naive CD4 T cells by TCR triggering. *Int Immunol* 2004; 16: 1439-1449 [PMID: 15314041]

21 Zhang X, Shi K, Li Y, Zhang H, Hao J. Lipopolysaccharide inhibits the self-renewal of spermatogonial stem cells in vitro via downregulation of GDNF expression in Sertoli cells. *Reprod Toxicol* 2014; 45: 87-93 [PMID: 24503145 DOI: 10.1016/j.reprotox.2014.01.009]

22 Ishii K, Kanatsu-Shinohara M, Toyokuni S, Shinohara T. FGF2 mediates mouse spermatogonial stem cell self-renewal via upregulation of Etv5 and Bcl6b through MAP2K1 activation. *Development* 2012; 139: 1734-1743 [PMID: 22491947 DOI: 10.1242/dev.076539]

23 Oatley JM, Avarbock MR, Brinster RL. Glial cell line-derived neurotrophic factor regulation of genes essential for self-renewal of mouse spermatogonial stem cells is dependent on Src family kinase signaling. *J Biol Chem* 2007; 282: 25842-25851 [PMID: 17597063]

24 Yan W, Wu K, Herman JG, Brock MV, Fuks F, Yang L, Zhu H, Li Y, Yang Y, Guo M. Epigenetic regulation of DACH1, a novel Wnt signaling component in colorectal cancer. *Epigenetics* 2013; 8: 1373-1383 [PMID: 24149323 DOI: 10.4161/epi.26781]

25 Wu G, Lin N, Xu L, Liu B, Feitelson MA. UCN-01 induces S and G2/M cell cycle arrest through the p53/p21(waf1) or CHK2/CDC25C pathways and can suppress invasion in human hepatoma cell lines. *BMC Cancer* 2013; 13: 167 [PMID: 23537372 DOI: 10.1186/1471-2407-13-167]

26 Bialopiotrowicz E, Szybinska A, Kuzniewska B, Buizza L, Uberti D, Kuznicki J, Wojda U. Highly pathogenic Alzheimer's disease presenilin 1 P117R mutation causes a specific increase in p53 and p21 protein levels and cell cycle dysregulation in human lymphocytes. *J Alzheimers Dis* 2012; 32: 397-415 [PMID: 22810102 DOI: 10.3233/JAD-2012-121129]

27 Liu B, Gao YQ, Wang XM, Wang YC, Fu LQ. Germacrone inhibits the proliferation of glioma cells by promoting apoptosis and inducing cell cycle arrest. *Mol Med Rep* 2014; 10: 1046-1050 [PMID: 24889088 DOI: 10.3892/mmr.2014.2290]

28 Xu H, Wang Z, Jin S, Hao H, Zheng L, Zhou B,

Zhang W, Lv H, Yuan Y. Dux4 induces cell cycle arrest at G1 phase through upregulation of p21 expression. *Biochem Biophys Res Commun* 2014; 446: 235-240 [PMID: 24589735 DOI: 10.1016/j.bbrc.2014.02]

29 Liu W, Dai Q, Lu N, Wei L, Ha J, Rong J, Mu R, You Q, Li Z, Guo Q. LYG-202 inhibits the proliferation of human colorectal carcinoma HCT-116 cells through induction of G1/S cell cycle arrest and apoptosis via p53 and p21(WAF1/Cip1) expression. *Biochem Cell Biol* 2011; 89: 287-298 [PMID: 21491996 DOI: 10.1139/O10-162]

30 Zhu H, Wu K, Yan W, Hu L, Yuan J, Dong Y, Li Y, Jing K, Yang Y, Guo M. Epigenetic silencing of DACH1 induces loss of transforming growth factor-β1 antiproliferative response in human hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2013; 58: 2012-2022 [PMID: 23787902 DOI: 10.1002/hep.26587]

31 Liang W, Lu C, Li J, Yin JQ, Zhao RC. p73alpha regulates the sensitivity of bone marrow mesenchymal stem cells to DNA damage agents. *Toxicology* 2010; 270: 49-56 [PMID: 20100536 DOI: 10.1016/j.tox.2010.01.011]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

• 消息 •

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

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

世界华人消化杂志 2014年6月28日; 22(18): 2532-2538
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

基础研究 BASIC RESEARCH

结直肠癌中*AEG-1*对血管生成相关因子HIF-1α和miR-34a的影响

黄素军, 吴斌文, 李东风, 刘宝龙, 邓 罡, 张凯军

■背景资料
星形胶质细胞升高基因-1(astrocyte elevated gene-1, *AEG-1*), 是一个2002年新发现, 并在短期内得到广泛研究的基因, 目前发现其不仅在各种类型的肿瘤中均高表达, 而且和肿瘤的发生、增殖、侵袭、转移、耐药以及血管生成等多个方面均有密切关系.

黄素军, 刘宝龙, 南方医科大学 广东省广州市 510515
黄素军, 吴斌文, 李东风, 刘宝龙, 邓罡, 张凯军, 广东省人民医院 广东省医学科学院 广东省广州市 510080
黄素军, 在读硕士, 主要从事消化系恶性肿瘤的研究.
广东省自然科学基金资助项目, No. 10151008008000005
广东省科技计划基金资助项目, Nos. 2011B031800001, 2011B031800004
作者贡献分布: 课题由吴斌文与黄素军设计; 研究过程由黄素军、李东风及刘宝龙完成; 数据分析由邓罡与张凯军完成; 本论文写作由黄素军与吴斌文完成.
通讯作者: 吴斌文, 主任医师, 博士, 510080, 广东省广州市中山二路106号, 广东省人民医院, 广东省医学科学院.
wubinwengd@aliyun.com
电话: 020-83827812-51050
收稿日期: 2014-05-29 修回日期: 2014-06-11
接受日期: 2013-06-13 在线出版日期: 2014-06-28

AEG-1 affects expression of HIF-1α and miR-34a in colorectal cancer cells

Su-Jun Huang, Bin-Wen Wu, Dong-Feng Li, Bao-Long Liu, Gang Deng, Kai-Jun Zhang

Su-Jun Huang, Bao-Long Liu, Southern Medical University, Guangzhou 510515, Guangdong Province, China
Su-Jun Huang, Bin-Wen Wu, Dong-Feng Li, Bao-Long Liu, Gang Deng, Kai-Jun Zhang, Guangdong General Hospital, Guangdong Academy of Medical Sciences, Guangzhou 510080, Guangdong Province, China
Supported by: Guangdong Natural Science Foundation, No.10151008008000005; Science and Technology Program of Guangdong Province, Nos. 2011B031800001 and 2011B03180004
Correspondence to: Bin-Wen Wu, Chief Physician, Guangdong General Hospital, Guangdong Academy of Medical Sciences, 106 Zhongshan Second Road, Guangzhou 510080, Guangdong Province, China. wubinwengd@aliyun.com
Received: 2014-05-29 Revised: 2014-06-11
Accepted: 2014-06-13 Published online: 2014-06-28

Abstract

AIM: To construct a stable expression system for astrocyte elevated gene-1 (*AEG-1*) using lentiviral vector in colorectal cancer (CRC) cells and assess its relationship with miR-34a and hypoxia-inducible factor-1α (HIF-1α).

METHODS: AEG-1 expression in CRC cells was examined by Western blot analysis. A lentiviral vector carrying AEG-1 was constructed, identified by PCR and DNA sequencing, and then transfected into 293FT cells using lentiviral packaging systems. SW1116 cells were infected with the virus and analyzed by qRT-PCR and Western blot. Expression of miR-34a and HIF-1α was detected using qRT-PCR and Western blot.

RESULTS: Western blot analysis showed that AEG-1 expression was the lowest in SW1116 among 7 CRC cell lines ($P < 0.05$). AEG-1 lentiviral vector was constructed successfully as revealed by DNA sequencing. The stable expression of AEG-1 was validated by qRT-PCR and Western blot (0.53 ± 0.44 *vs* 2.02 ± 0.22, $P < 0.05$; 0.71 ± 0.14 *vs* 2.02 ± 0.22, $P < 0.05$). Up-regulation of AEG-1 inhibited miR-34a expression ($P < 0.01$) but increased HIF-1α expression ($P < 0.01$).

CONCLUSION: An AEG-1 lentiviral vector has been successfully constructed. AEG-1 can down-regulate the expression of miR-34a and up-regulate the expression of HIF-1α.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Astrocyte elevated gene-1; miR-34a; Hypoxia-inducible factor-1α; Lentiviral; Colorectal cancer

Huang SJ, Wu BW, Li DF, Liu BL, Deng G, Zhang KJ. *AEG-1* affects expression of HIF-1α and miR-34a in colorectal cancer cells. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(18): 2532-2538 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2532.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i18.2532

摘要

目的: 构建携带星形胶质细胞升高基因-1(astrocyte elevated gene-1, *AEG-1*)的慢病毒载体并进行慢病毒包装, 感染结直肠癌SW1116细胞建立稳定株, 检测*AEG-1*改变后对血管生成相关因子缺氧诱导因子-1α(hypoxia-inducible factor-1α, HIF-1α)和miR-34a表达的影响.

■同行评议者
许剑民, 教授, 上海市复旦大学附属中山医院普外科

方法: 采用Western blot方法筛选合适的结直肠癌细胞株; 构建携带*AEG-1*的慢病毒载体, 经PCR筛选阳性克隆及测序鉴定后, 用psPAX、pMD2.G慢病毒包装系统共转染包装细胞293FT, 包装产生慢病毒, 用以感染筛选出来的结肠癌细胞, 细胞提取mRNA和蛋白进行qRT-PCR和Western blot分析验证细胞模型建立是否成功. 分别采用qRT-PCR和Western blot检测miR-34a和HIF-1α在*AEG-1*转染前后的表达变化情况.

结果: 蛋白质印迹结果显示SW1116在7个结直肠癌中的表达量最低($P<0.05$); 成功构建*AEG-1*的慢病毒载体, 对结肠癌SW1116细胞株*AEG-1*表达的上调作用显著(0.53 ± 0.44 *vs* 2.02 ± 0.22, $P<0.05$; 0.71 ± 0.14 *vs* 2.02 ± 0.22, $P<0.05$), 上调AEG-1的表达会抑制miR-34a($P<0.01$)和促进HIF-1α($P<0.01$)的表达.

结论: 成功构建*AEG-1*慢病毒载体, AEG-1在结直肠癌中可以抑制血管生成相关因子miR-34a和促进HIF-1α的表达, 我们推测AEG-1可能通过抑制miR-34a促进HIF-1α的表达, 从而发挥促进肿瘤血管新生的作用.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 星形胶质细胞升高基因-1; miR-34a; 缺氧诱导因子-1α; 慢病毒; 结直肠癌

核心提示: 本文展示了成功构建星形胶质细胞升高基因-1(astrocyte elevated gene-1, *AEG-1*)慢病毒载体并转染结直肠癌细胞株的过程, 并采用qRT-PCR和Western blot证实了AEG-1可以抑制miR-34a和促进缺氧诱导因子-1α(hypoxia-inducible factor-1α, HIF-1α)的表达, 结合国外文献, 推测AEG-1在结直肠癌中可能通过抑制miR-34a, 促进HIF-1α, 从而发挥促进肿瘤血管新生的作用.

黄素军, 吴斌文, 李东风, 刘宝龙, 邓罡, 张凯军. 结直肠癌中AEG-1对血管生成相关因子HIF-1α和miR-34a的影响. 世界华人消化杂志 2014; 22(18): 2532-2538 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2532.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i18.2532

0 引言

星形胶质细胞升高基因-1(astrocyte elevated gene-1, *AEG-1*)也称为异黏蛋白(metadherin, MTDH), 是人免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus-1, HIV-1)[1]感染或肿瘤坏死因子α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)诱导胚胎星形细胞后导致表达升高的一种基因, 最初在2002年由Su等[2]通过快速消减杂交(rapid subtraction hybridization, RaSH)的方法克隆出来的, 位于人染色体8q22, 此位点是多种恶性肿瘤高度相关地带. AEG-1定位于核周和类内质网结构区, 目前已被证实与多种恶性肿瘤的发生发展有关, 包括神经母细胞瘤、乳腺癌、肝细胞癌、非小细胞肺癌、结直肠癌和前列腺癌等. 其中, AEG-1在结直肠癌中高表达, 且其表达水平与其UICC分级、TNM分期以及组织分化明显相关. *AEG-1*作为癌基因, 可以调节细胞的多种生理、病理过程, 包括增殖、侵袭、转移、血管新生和基因表达等[3,4]. 缺氧诱导因子1α(hypoxia-inducible factor-1α, HIF-1α)是与血管生成有关的分子, 他使细胞更容易适应低氧的环境, 促进血管生成. 而miR-34a是一个抑癌基因, 已知高表达miR-34a有抑制血管新生的作用. 大量实验通过在体内、外提高或抑制AEG-1表达以进一步探明AEG-1潜在功能和作用机制, 慢病毒转染因其高效性和稳定性有利于细胞模型的建立和研究的进一步开展而被广泛应用. 我们前期研究发现, AEG-1在结直肠癌组织和结直肠癌细胞株中均高表达, 其中在SW1116细胞株中的表达相对较低, 本实验通过慢病毒介导提高AEG-1在结直肠癌细胞株SW1116的表达, 旨在进一步研究其生物学功能及相关信号通路, 探讨其与miRNA及HIF-1α的关系, 为以AEG-1为靶点介入肿瘤治疗及相关后续研究奠定基础.

1 材料和方法

1.1 材料 挑选了带绿色荧光蛋白(green fluorescent protein, GFP)报告基因的慢病毒载体pCDH-CMV-MCS-EF1-copGFP; 采用psPAX, pMD2.G慢病毒包装系统. QIAquick Gel Extraction Kit, QIAGEN, 货号: 28704; 质粒小提试剂盒, TIANGEN, 目录号: DP103-02; Taq DNA Polymerase, 美国Fermentas, 货号: EP0404; dNTP Mix, 美国Fermentas, 货号: R0192; GeneRuler™ 100 bp DNA Ladder, 美国Fermentas, 货号: SM0241; PrimeSTAR™ HS DNA Polymerase, Takara, 货号: DR010S; GeneRuler™ 1000 bp DNA Ladder, Fermentas, 货号: SM0311; T4 DNA Ligase, TAKARA, 货号: D2011A; Lipofectamine 2000. 293FT细胞和结肠癌SW1116细胞株, 分别培养于含10%FBS H-DMEM和10%FBS DMEM培养基中.

■研发前沿
AEG-1在各类恶性肿瘤的体内外细胞生物学功能和相关通路的研究是本领域研究的重点, 本研究主要集中在结直肠癌中AEG-1与肿瘤血管生成因子之间的关系.

■相关报道
有报道AEG-1在鼠胚胎成纤维细胞中能通过影响缺氧诱导因子1α(hypoxia-inducible factor-1α, HIF-1α)促进肿瘤血管的生成, HIF-1α有促进血管生成的作用, 而miR-34a有抑制血管新生的作用.

1.2 方法

1.2.1 Western blot挑选结直肠癌细胞株: 培养Lovo、HT29、CaCO2、HCT116、SW1116、SW620和SW480共7种结直肠癌细胞株, 分别采用RIPA裂解细胞, 离心后收集上清, 进行蛋白质定量, 取50 μg总蛋白进行SDS-PAGE电泳, 电泳完毕, 采用PVDF膜进行转膜, 5%脱脂奶粉室温下封闭1 h后, 分别加入兔抗人AEG-1抗体(Invitrogen)1∶1000, 4 ℃过夜, TBST洗涤3次, 每次10 min, 加入IgG/HRP鼠抗兔二抗1∶3000, 室温孵育1 h, TBST洗涤3次, 每次5-10 min, ECL显色试剂盒显影, 以GAPDH为内参. 实验重复3次.

1.2.2 慢病毒载体构建: 根据实验需要挑选了带*GFP*报告基因的慢病毒载体pCDH-CMV-MCS-EF1-copGFP, 对载体进行*EcoR* Ⅰ/*BamH* Ⅰ酶切, 然后设计1对AEG-1的PCR引物, 并分别添加限制性酶切位点*EcoR* Ⅰ和*BamH* Ⅰ, 采用PCR扩增*AEG-1*基因, 回收片段, AEG-1产物酶切、载体酶切、连接、转化等, PCR筛选阳性克隆, 测序鉴定, 最后构建完成质粒pSIN-EF2-AEG-1-IRES-GFP-puro. 采用CsCl法超速离心分离提取质粒.

1.2.3 病毒包装: 转染前26 h铺293FT细胞, 转染我们是采用psPAX, pMD2.G慢病毒包装系统. 转染的总质粒量为40 μg质粒的比例为慢病毒载体∶psPAX∶pMD2.G = 4∶3∶1. 293FT细胞转染后在荧光显微镜下观察细胞内GFP的表达. 转染24和36 h后收取病毒液, 过滤, 储存于-80 ℃冰箱.

1.2.4 病毒感染结肠癌细胞株及阳性细胞筛选: 将结肠癌细胞SW1116按40%细胞密度铺到培养皿中, 12 h后可以开始进行慢病毒感染, 将携带*GFP*基因的病毒液加入内含SW1116细胞的培养板孔内, 感染12 h后, 用相应培养基替换感染液, 重复感染2 d后, 可在荧光显微镜下观察GFP的细胞阳性率, 即为病毒的感染成功率. 转染48 h后, 用含终浓度为0.5 μg/mL嘌呤霉素的10%FBS DMEM培养基筛选出阳性细胞. 筛选过程一般为10 d左右. 中间出现漂浮死细胞需要经常更换培养基(含0.5 μg/mL嘌呤霉素的10%FBS DMEM).

1.2.5 miRNA微阵列杂交: 采用TRIzol试剂提取细胞的总RNA, 采用美国昂飞公司(Affymetrix)的微阵列芯片鉴定SW1116细胞株处理前后miRNA表达谱的全方位的改变, 采用2倍变化作为筛选的标准.

1.2.6 实时荧光定量PCR检测AEG-1和miR-34a的表达: 采用TRIzol试剂提取细胞的总RNA, 各取2 μg RNA, 以Oligo dT为引物反转录成cDNA, 用qPCR方法检测*AEG-1*基因的表达情况, 以*β-actin*为内参. PCR扩增条件: 94 ℃预变性2 min, 主循环94 ℃ 10 s、60 ℃ 20 s、72 ℃ 30 s, 所用引物序列为: FP: 5'-AAATGGGCGGACTGTTGAAGT-3'; RP: 5'-CTGTTTTGCACTGCTTTAGCAT-3'. 以上述RNA为模板, 采用Fermentas公司的RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit试剂盒进行cDNA第一链的合成. miR-34a的引物由锐博公司合成, 用qPCR方法检测miR-34a的表达情况, 以*U6*为内参. PCR扩增条件: 95 ℃预变性20 s, 主循环95 ℃ 10 s、60 ℃ 20 s、70 ℃ 10 s, miR-34a的序列为: 5'-UGGCAGUGUCUUAGCUGGUUGU-3'.

1.2.7 Western blot检测AEG-1和HIF-1α蛋白表达: 提取总蛋白进行电泳, 然后转膜、封闭, 具体方法同前, 分别采用兔抗人AEG-1抗体(Invitrogen)1∶1000和鼠抗人HIF-1α(Novus)1∶500, 4 ℃过夜, TBST洗涤, 分别加入IgG/HRP鼠抗兔二抗1∶3000和羊抗鼠二抗1∶5000, 室温孵育1 h, TBST洗涤, ECL显色试剂盒显影, 以GAPDH为内参. 实验重复3次.

统计学处理 所有数据以mean±SD表示, 符合正态分布且方差齐者采用两个独立样本*t*检验或ANOVA检验, 方差不齐采用Dunnett T3校正, 用SPSS13.0统计软件进行统计分析, $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 AEG-1在结直肠癌细胞株中的表达 采用Western blot检测AEG-1在7个结直肠癌细胞株包括Lovo、HT29、CaCO2、HCT116、SW1116、SW620和SW480中的表达. 在7个细胞株中均有AEG-1的表达, 其中, 在SW1116的表达量最低(如图1A), 我们选择他作为我们下一步实验的对象.

2.2 携带*GFP*基因慢病毒载体酶切鉴定 重组慢病毒载体用*EcoR* Ⅰ/*BamH* Ⅰ进行酶切反应, 利用PCR进行*AEG-1*克隆鉴定, 电泳图如图2, 挑选9个转化的细菌菌落, 利用PCR进行阳性菌落的鉴定, 实验结果证明9个菌落都是*AEG-1*阳性的(图3), 接着挑出阳性菌落1和2进行测序, 结果表明1和2菌落的序列都是正确的. 质粒pSIN-EF2-AEG-1-IRES-GFP-puro构建完成. 慢病毒载体与病毒包装质粒共转染293FT细胞, 24 h后, 在荧光

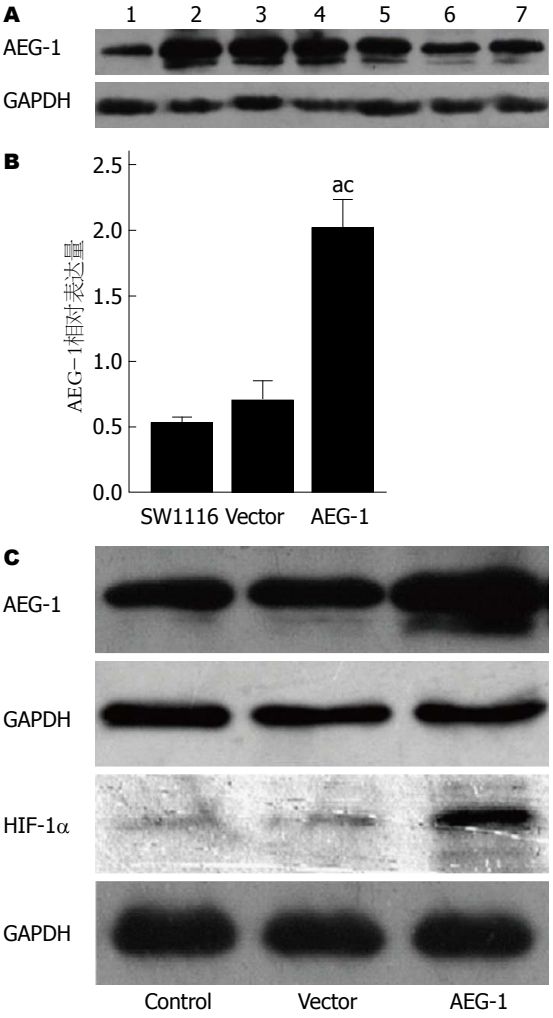


图 1 AEG-1和HIF-1α在结直肠癌细胞株中的表达. A: AEG-1在7个结直肠癌细胞株中的表达. 1: SW1116; 2: HCT116; 3: SW480; 4: SW620; 5: Lovo; 6: HT29; 7: CaCO2; B: AEG-1在SW1116各组的表达. $^aP<0.05$ *vs* SW1116组; $^cP<0.05$ *vs* Vector组; C: AEG-1和HIF-1α在SW1116各组的表达. AEG-1: 星形胶质细胞升高基因-1; HIF-1α: 缺氧诱导因子1α.

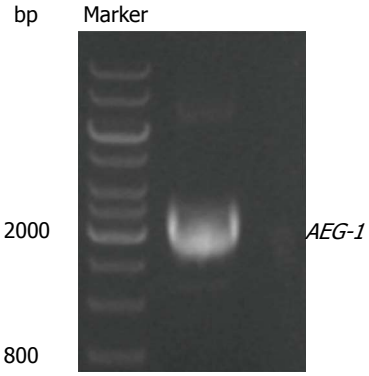


图 2 AEG-1扩增片段电泳图. AEG-1: 星形胶质细胞升高基因-1.

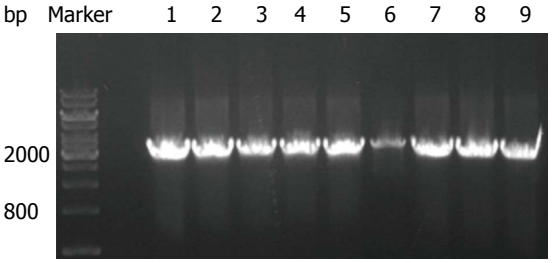


图 3 菌落克隆鉴定电泳图. 挑选9个转化的细菌菌落, 利用PCR进行阳性菌落的鉴定, 编号1-9分别代表9个菌落.

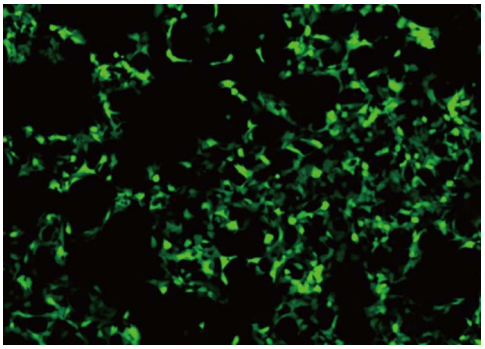


图 4 293FT转染荧光图片(×100).

显微镜下可见转染效率接近100%(图4).

2.3 慢病毒成功感染结肠癌细胞株 用携带GFP基因的病毒上清或浓缩的病毒感染SW1116细胞, 感染48 h后倒置荧光显微镜下观察, 可见绿色荧光, 表明慢病毒成功感染结肠癌细胞. 此外, 用含终浓度为0.5 μg/mL嘌呤霉素的10%DMEM筛选出阳性细胞, 然后对同一视野自然光和荧光下的图片进行比对(图5), 发现慢病毒高效率感染了结肠癌细胞.

2.4 miRNA微阵列杂交 采用miRNA微阵列芯片鉴定SW1116细胞株处理前后miRNA表达谱的全方位的改变, 采用2倍变化作为筛选的标准. SW1116转染前后对比有显著性差异的miRNA有117个(图6A), 其中升高的有59个(红色散点), 降低的有58个(绿色散点). miR-34a是其中一个降低最为明显的miRNA.

2.5 AEG-1、miR-34a和HIF-1α基因的表达 qRT-PCR和Western blot检测SW1116细胞原始组、空载组和转染组的AEG-1表达水平, qRT-PCR检测SW1116细胞转染前后miR-34a表达水平的差异, Western blot检测各组HIF-1α的表达水平. 如图1B和图1C所示, 转染AEG-1后AEG-1 mRNA和蛋白表达水平明显升高, 可见模型建立成功. 而miR-34a的水平明显下降, 仅为原来的0.016倍(图6B), 同时, HIF-1α的蛋白表达水平明显升高(图1C). 表明成功构建过表达AEG-1的结肠癌细胞株, 且*miR-34a*和*HIF-1α*的表达受AEG-1的影响, 可能是其下游的靶基因.

■创新盘点

采用慢病毒转染制作细胞模型十分成功, 模型制备方法具有一定参考价值. 在结直肠癌中, AEG-1能否影响HIF-1α和miRNA-34a的表达在既往尚未有报道, 具有创新性.

■应用要点
了解AEG-1与HIF-1α和miR-34a的关系, 有利于下一步对血管生成相关通路深入研究, 抑制肿瘤血管生成有望成为肿瘤治疗的新靶点.

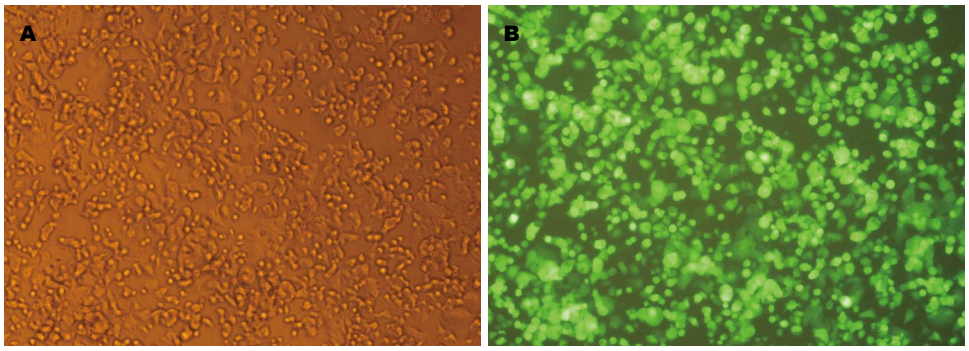


图 5 同一视野下对比观察细胞转染效率(×100). A: 普通显微镜 B: 荧光显微镜.

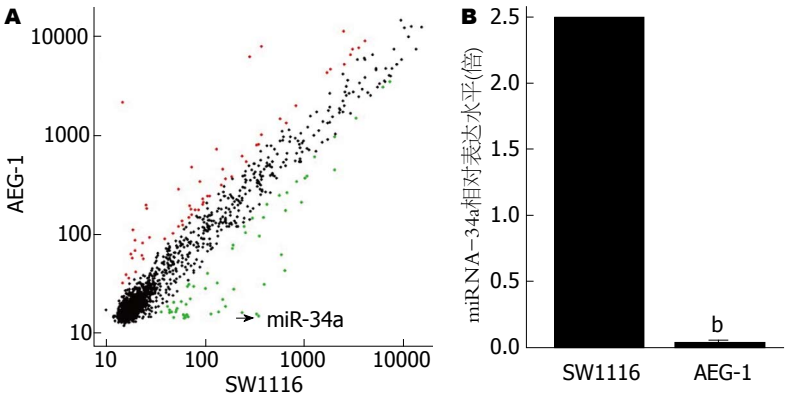


图 6 miRNA的相对表达量. A: AEG-1/SW1116散点图; B: miRNA-34a相对表达水平, 转染AEG-1后miR-34a的表达量明显下降, 为对照组的0.016倍. $^{b}P<0.01$ *vs* SW1116组. AEG-1: 星形胶质细胞升高基因-1.

3 讨论

AEG-1在多种肿瘤中都高表达, 包括乳腺癌、非小细胞肺癌、食管鳞癌、肝细胞癌、结直肠癌、神经胶质瘤、前列腺癌、宫颈癌等[5-12]. 大量研究证实, AEG-1在很多器官癌变的过程中起着致癌基因的作用, 如肝癌[13], 且在肿瘤发生发展中起着促进生长、转移, 增强肿瘤侵袭能力, 迁移能力, 逃避凋亡[14], 耐药以及促进肿瘤血管生成等的作用. 在结直肠癌中, 无论在mRNA水平还是在蛋白质水平, AEG-1在正常黏膜、原始肿瘤到淋巴结转移和肝转移的表达水平呈明显上升趋势[9]. AEG-1的表达水平与结直肠癌肿瘤患者的UICC分级、T、N、M分期和组织分化都是明显相关的, 此外, 高表达AEG-1的患者存活时间越短[15]. 有结直肠癌肝转移的患者相对于没有肝转移的患者AEG-1的表达水平更高, AEG-1的表达水平还和患者的年龄、Duke分期和远处转移均有关[16]. Zhang等[17]也证明了AEG-1在结直肠癌中担当着促进肿瘤转移和侵袭的重要作用, 这些都表明AEG-1与结直肠癌的发展和转移是密切相关的.

AEG-1有促进肿瘤血管新生的作用, 与AEG-1介导血管生成有关的因子包括磷脂酰肌醇3激酶(phosphatidylinositol-3-kinase, PI3K)/蛋白激酶B(protein kinase B, Akt)、血管生成素-1(angiopoietin-1, Ang1)/Tie2、H-ras、HIF-1α和血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)等[18-21]. Emdad等[22]发现在鼠胚胎成纤维细胞中, AEG-1的过度表达能提高瘤组织的微血管密度, 且可增加与血管生成有关的分子标志物的表达, 如血管生成素1、基质金属蛋白酶2和HIF-1α. 体外实验也证实AEG-1通过PI3K/Akt信号途径诱导Tie2和HIF-1α表达, 可促进脉管形成. 但是在结直肠癌中, AEG-1是否通过HIF-1α发挥促进血管生成的作用, 其与miRNA有什么关系, 还有待进一步验证. 我们通过miRNA阵列杂交, 筛选出在转染前后变化明显的miRNA, miR-34a是其中一个变化最明显的miRNA, 且已知miR-34a是一个抑癌基因, 高表达miR-34a有抑制血管新生的作用. 因此, 我们选取miR-34a和HIF-1α作为其中研究目标, 采用慢病毒介导过表达AEG-1后, 采用qRT-PCR验证miR-34a和蛋白质印迹验证HIF-1α的表达情况, 结果发现转染AEG-1后miR-34a的表达明显下降, 而HIF-1α的表达明显上升. 研究报道高表达的miR-34a可抑制沉默信息调节因子1(silent information regulator 1, SIRT1)损害内皮组细胞, 从而抑制血管新生[23]; 在头颈部鳞癌, miR-34a通

过阻断VEGF的产物和直接抑制内皮细胞的功能来抑制肿瘤血管生成[24]; 在骨肉瘤中, miR-34a和miR-200b在调控Notch-1、VEGF、基质金属蛋白酶-2(matrix metalloproteinase 2, MMP-2)和MMP-9的表达发挥重要作用[25]. HIF-1α是促进癌细胞表达VEGF和促进血管生成的主要途径, HIF-1α在缺氧时高表达, 且转录活性增强, 是细胞对缺氧反应的最重要调节者, 是促进VEGF表达的根本因素. Long等[12]发现在宫颈癌中, 下调AEG-1的表达会明显降低血管生成相关因子HIF-1α、Tie2、VEGF和TEM1/CD248的表达. 这与我们在结直肠癌中发现上调AEG-1的表达会上调HIF-1α是一致的. 在恶性胶质瘤中, 缺氧可以诱导AEG-1的表达, 且诱导AEG-1的表达依赖于HIF-1α的稳定性, PI3K的抑制可以通过HIF-1α稳定性的丢失从而抑制AEG-1的表达[10]. 我们的实验结果显示过表达AEG-1的SW1116, miR-34a明显下降同时HIF-1α的表达也明显提高, 结合国外研究发现miR-34a可抑制VEGF, HIF-1α可促进VEGF表达, 我们猜想AEG-1在结直肠癌中通过抑制miR-34a, 促进HIF-1α的表达, 从而促进VEGF的表达, 发挥促进肿瘤血管新生的作用.

AEG-1参与很多传统的致癌信号通路, 包括Ha-Ras、myc、核因子-κB(nuclear factor-kappa B, NF-κB)[26]和PI3K/Akt等, 这些信号通路与肿瘤的增殖、转移、凋亡和药物敏感等都是密切相关的. Yang等[27]在小鼠模型通过阻塞胆管诱导胆管癌中发现, 阻塞胆管会抑制miR-34a和Let-7a的表达, 会上调HIF-1α、HIF-2α和miR-210的表达, 这个发现与我们在结直肠癌中的发现有相似之处, 上调AEG-1会抑制miR-34a及促进HIF-1α表达, 当中miR-34a与HIF-1α可能存在上下游基因或互相调控的关系, 这还有待进一步研究. 有报道AEG-1为RNA结合蛋白, 提示AEG-1有可能为药物敏感或耐药基因[28]. AEG-1调控药物抗性是通过增加多抗药性基因1(multidrug resistance gene-1, MDR1)的mRNA载入多聚核糖体, 从而促进MDR1蛋白的翻译. 而miR-34a与药物敏感性也有关, 有报道miR-34a与结肠癌细胞株DLD-1抗5-氟尿嘧啶(5-fluorouraeil, 5-FU)药性有关[29], miR-34a在实体肿瘤中可调控酪氨酸蛋白激酶受体Axl的表达可考虑用作抗转移的药物治疗[30]. 而AEG-1在结直肠癌中是否与化疗药物抗药性有关, AEG-1能否用于临床应用上, 如作为结直肠癌筛查、转移和复发的标志物, 作为基因治疗的靶点等, 值得我们进一步研究.

总之, *AEG-1*是一个重要的致癌基因, 在结直肠癌等多种恶性肿瘤中高表达, 是肿瘤恶性转化的一个生物学标记. 通过AEG-1过表达或敲低的方法, 详细了解AEG-l的生物学特性、分子机制和调控通路将有助于明确其在结直肠癌进展中的作用, 为结直肠癌的诊治提供更新、更有效和更全面的方法.

4 参考文献

1 Kang DC, Su ZZ, Sarkar D, Emdad L, Volsky DJ, Fisher PB. Cloning and characterization of HIV-1-inducible astrocyte elevated gene-1, AEG-1. *Gene* 2005; 353: 8-15 [PMID: 15927426 DOI: 10.1016/j.gene.2005.04.006]

2 Su ZZ, Kang DC, Chen Y, Pekarskaya O, Chao W, Volsky DJ, Fisher PB. Identification and cloning of human astrocyte genes displaying elevated expression after infection with HIV-1 or exposure to HIV-1 envelope glycoprotein by rapid subtraction hybridization, RaSH. *Oncogene* 2002; 21: 3592-3602 [PMID: 12032861 DOI: 10.1038/sj.onc.1205445]

3 Emdad L, Sarkar D, Su ZZ, Lee SG, Kang DC, Bruce JN, Volsky DJ, Fisher PB. Astrocyte elevated gene-1: recent insights into a novel gene involved in tumor progression, metastasis and neurodegeneration. *Pharmacol Ther* 2007; 114: 155-170 [PMID: 17397930 DOI: 10.1016/j.pharmthera.2007.01.010]

4 赵力, 辛彦, 肖玉平. AEG-1与消化系统肿瘤关系的研究进展. 现代肿瘤医学 2012; 20: 2419-2422

5 Li J, Zhang N, Song LB, Liao WT, Jiang LL, Gong LY, Wu J, Yuan J, Zhang HZ, Zeng MS, Li M. Astrocyte elevated gene-1 is a novel prognostic marker for breast cancer progression and overall patient survival. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 3319-3326 [PMID: 18519759 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-07-4054]

6 Song L, Li W, Zhang H, Liao W, Dai T, Yu C, Ding X, Zhang L, Li J. Over-expression of AEG-1 significantly associates with tumour aggressiveness and poor prognosis in human non-small cell lung cancer. *J Pathol* 2009; 219: 317-326 [PMID: 19644957 DOI: 10.1002/path.2595]

7 Yu C, Chen K, Zheng H, Guo X, Jia W, Li M, Zeng M, Li J, Song L. Overexpression of astrocyte elevated gene-1 (AEG-1) is associated with esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) progression and pathogenesis. *Carcinogenesis* 2009; 30: 894-901 [PMID: 19304953 DOI: 10.1093/carcin/bgp064]

8 Yoo BK, Emdad L, Su ZZ, Villanueva A, Chiang DY, Mukhopadhyay ND, Mills AS, Waxman S, Fisher RA, Llovet JM, Fisher PB, Sarkar D. Astrocyte elevated gene-1 regulates hepatocellular carcinoma development and progression. *J Clin Invest* 2009; 119: 465-477 [PMID: 19221438 DOI: 10.1172/JCI36460]

9 Gnosa S, Shen YM, Wang CJ, Zhang H, Stratmann J, Arbman G, Sun XF. Expression of AEG-1 mRNA and protein in colorectal cancer patients and colon cancer cell lines. *J Transl Med* 2012; 10: 109 [PMID:

■同行评价

本文主要研究了已经证明和血管生成有关的HIF-1α和miRNA-34a在结直肠癌中是否受AEG-1的影响, 有一定的创新性, 主要表现在选择的AEG-1能否影响HIF-α和miRNA-34a在既往尚未得到证实. 在研究方法方面, 选用慢病毒转染等成熟的实验技术, 得出的结论比较可靠.

22643064 DOI: 10.1186/1479-5876-10-109]
10 Noch E, Bookland M, Khalili K. Astrocyte-elevated gene-1 (AEG-1) induction by hypoxia and glucose deprivation in glioblastoma. *Cancer Biol Ther* 2011; 11: 32-39 [PMID: 21084864]
11 Kikuno N, Shiina H, Urakami S, Kawamoto K, Hirata H, Tanaka Y, Place RF, Pookot D, Majid S, Igawa M, Dahiya R. Knockdown of astrocyte-elevated gene-1 inhibits prostate cancer progression through upregulation of FOXO3a activity. *Oncogene* 2007; 26: 7647-7655 [PMID: 17563745 DOI: 10.1038/sj.onc.1210572]
12 Long M, Dong K, Gao P, Wang X, Liu L, Yang S, Lin F, Wei J, Zhang H. Overexpression of astrocyte-elevated gene-1 is associated with cervical carcinoma progression and angiogenesis. *Oncol Rep* 2013; 30: 1414-1422 [PMID: 23835593 DOI: 10.3892/or.2013.2598]
13 Srivastava J, Siddiq A, Emdad L, Santhekadur PK, Chen D, Gredler R, Shen XN, Robertson CL, Dumur CI, Hylemon PB, Mukhopadhyay ND, Bhere D, Shah K, Ahmad R, Giashuddin S, Stafflinger J, Subler MA, Windle JJ, Fisher PB, Sarkar D. Astrocyte elevated gene-1 promotes hepatocarcinogenesis: novel insights from a mouse model. *Hepatology* 2012; 56: 1782-1791 [PMID: 22689379 DOI: 10.1002/hep.25868]
14 刘海燕, 姜玉杰, 孙若鹏. siRNA下调astrocyte elevated gene-1对神经母细胞瘤细胞增殖和凋亡影响的体外研究. 中国病理生理杂志 2011; 27: 705-710
15 Song H, Li C, Li R, Geng J. Prognostic significance of AEG-1 expression in colorectal carcinoma. *Int J Colorectal Dis* 2010; 25: 1201-1209 [PMID: 20625905 DOI: 10.1007/s00384-010-1009-3]
16 Jiang T, Zhu A, Zhu Y, Piao D. Clinical implications of AEG-1 in liver metastasis of colorectal cancer. *Med Oncol* 2012; 29: 2858-2863 [PMID: 22351252 DOI: 10.1007/s12032-012-0186-z]
17 Zhang F, Yang Q, Meng F, Shi H, Li H, Liang Y, Han A. Astrocyte elevated gene-1 interacts with β-catenin and increases migration and invasion of colorectal carcinoma. *Mol Carcinog* 2013; 52: 603-610 [PMID: 22431469 DOI: 10.1002/mc.21894]
18 Lee SG, Su ZZ, Emdad L, Sarkar D, Fisher PB. Astrocyte elevated gene-1 (AEG-1) is a target gene of oncogenic Ha-ras requiring phosphatidylinositol 3-kinase and c-Myc. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103: 17390-17395 [PMID: 17088530 DOI: 10.1073/pnas.0608386103]
19 Lee SG, Su ZZ, Emdad L, Sarkar D, Franke TF, Fisher PB. Astrocyte elevated gene-1 activates cell survival pathways through PI3K-Akt signaling. *Oncogene* 2008; 27: 1114-1121 [PMID: 17704808 DOI: 10.1038/sj.onc.1210713]
20 Sakurai T, Kudo M. Signaling pathways governing tumor angiogenesis. *Oncology* 2011; 81 Suppl 1: 24-29 [PMID: 22212932 DOI: 10.1159/000333256]
21 Saharinen P, Eklund L, Pulkki K, Bono P, Alitalo K. VEGF and angiopoietin signaling in tumor angiogenesis and metastasis. *Trends Mol Med* 2011; 17: 347-362 [PMID: 21481637 DOI: 10.1016/j.molmed.2011.01.015]
22 Emdad L, Lee SG, Su ZZ, Jeon HY, Boukerche H, Sarkar D, Fisher PB. Astrocyte elevated gene-1 (AEG-1) functions as an oncogene and regulates angiogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; 106: 21300-21305 [PMID: 19940250 DOI: 10.1073/pnas.0910936106]
23 Zhao T, Li J, Chen AF. MicroRNA-34a induces endothelial progenitor cell senescence and impedes its angiogenesis via suppressing silent information regulator 1. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2010; 299: E110-E116 [PMID: 20424141 DOI: 10.1152/ajpendo.00192.2010]
24 Kumar B, Yadav A, Lang J, Teknos TN, Kumar P. Dysregulation of microRNA-34a expression in head and neck squamous cell carcinoma promotes tumor growth and tumor angiogenesis. *PLoS One* 2012; 7: e37601 [PMID: 22629428 DOI: 10.1371/journal.pone.0037601]
25 Li Y, Zhang J, Zhang L, Si M, Yin H, Li J. Diallyl trisulfide inhibits proliferation, invasion and angiogenesis of osteosarcoma cells by switching on suppressor microRNAs and inactivating of Notch-1 signaling. *Carcinogenesis* 2013; 34: 1601-1610 [PMID: 23430952 DOI: 10.1093/carcin/bgt065]
26 Sarkar D, Park ES, Emdad L, Lee S, Su Z, Fisher PB. Molecular basis of nuclear factor-kB activation by astrocyte elevated gene-1. *Cancer Res* 2008; 68: 1478-1484 [DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-07-6164]
27 Yang H, Li TW, Peng J, Tang X, Ko KS, Xia M, Aller MA. A mouse model of cholestasis-associated cholangiocarcinoma and transcription factors involved in progression. *Gastroenterology* 2011; 141: 378-388, 388.e1-e4 [PMID: 21440549 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.03.044]
28 Meng X, Thiel KW, Leslie KK. Drug resistance mediated by AEG-1/MTDH/LYRIC. *Adv Cancer Res* 2013; 120: 135-157 [PMID: 23889990 DOI: 10.1016/B978-0-12-401676-7.00005-X]
29 Akao Y, Noguchi S, Iio A, Kojima K, Takagi T, Naoe T. Dysregulation of microRNA-34a expression causes drug-resistance to 5-FU in human colon cancer DLD-1 cells. *Cancer Lett* 2011; 300: 197-204 [PMID: 21067862 DOI: 10.1016/j.canlet.2010.10.006]
30 Mudduluru G, Ceppi P, Kumarswamy R, Scagliotti GV, Papotti M, Allgayer H. Regulation of Axl receptor tyrosine kinase expression by miR-34a and miR-199a/b in solid cancer. *Oncogene* 2011; 30: 2888-2899 [PMID: 21317930 DOI: 10.1038/onc.2011.13]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年6月28日; 22(18): 2539-2546
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

文献综述 REVIEW

丁酸降低结肠癌的潜在机制

周中凯, 卜丹丹, 苏 哲, 姜余梅

周中凯, 卜丹丹, 苏哲, 姜余梅, 天津科技大学食品工程与生物技术学院 天津市 300457
周中凯, 教授, 主要从事于谷物(粮食)功能性成分的分离, 鉴定; 谷物(粮食)综合利用、加工与储藏; 功能性谷物食品在人体的代谢机制的研究.
作者贡献分布: 本文由周中凯构思完成; 查阅工作由卜丹丹完成; 校对工作由苏哲与姜余梅完成
通讯作者: 姜余梅, 讲师, 300457, 天津市滨海新区第十三大街29号, 天津科技大学食品工程与生物技术学院.
jiangyumei@tust.edu.cn
电话: 022-60601441 传真: 022-60601375
收稿日期: 2014-01-03 修回日期: 2014-01-19
接受日期: 2014-02-28 在线出版日期: 2014-06-28

Butyrate decreases risk of colonic cancer: Potential mechanisms

Zhong-Kai Zhou, Dan-Dan Bu, Zhe Su, Yu-Mei Jiang

Zhong-Kai Zhou, Dan-Dan Bu, Zhe Su, Yu-Mei Jiang, College of Food Engineering and Biotechnology, Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300457, China
Correspondence to: Yu-Mei Jiang, Lecturer, College of Food Engineering and Biotechnology, Tianjin University of Science and Technology, 29 Dishisan Dajie, Binhai District, Tianjin 300457, China. jiangyumei@tust.edu.cn
Received: 2014-01-03 Revised: 2014-01-19
Accepted: 2014-02-28 Published online: 2014-06-28

Abstracts

There is an increasing trend for the incidence of bowel diseases around the world. Besides the influence from family background and environment, dietary structure plays important roles in the rising rates of bowel diseases. Results from epidemiological studies and molecular biological studies showed that the concentration of short-chain fatty acids, in particular butyrate, is a key factor for maintaining a healthy colon environment. Although the primary mechanism for butyrate to depress the growth of cancer cells is acting as an inhibitor of histone deacetylases (HDACs), some studies demonstrated that butyrate is also involved in cell metabolism and induction of the death of cancer cells. This article reviews the mechanisms of action of butyrate on colon cells.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Dietary fiber; Butyrate; Colon cancer; Regulation

Zhou ZK, Bu DD, Su Z, Jiang YM. Butyrate decreases risk of colonic cancer: Potential mechanisms. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(18): 2539-2546 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2539.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i18.2539

摘要

结肠癌变的发生率在全球范围内呈明显上升趋势. 除了与遗传、环境等因素有关, 饮食结构也起到重要作用. 流行病理学和现代分子生物学相关研究表明人体肠道内短链脂肪酸, 特别是丁酸的浓度对维持肠道内环境起到重要作用. 丁酸抑制肿瘤的首要机制是作为组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylase)的抑制剂, 但深入的研究显示丁酸还能有效地参与细胞的代谢并起到诱导结肠癌细胞凋亡及抗增殖作用. 为此, 本文将针对丁酸对结肠细胞的作用机制进行综述.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 膳食纤维; 丁酸; 结肠癌; 调控

核心提示: 结肠癌发病率趋势上升, 丁酸通过其抑制肿瘤生长, 诱导肿瘤细胞凋亡的机制, 可有效地降低结肠癌细胞的增殖. 对丁酸抑制肿瘤机制的研究, 为治疗结肠癌提供了广阔的实验研究方向.

周中凯, 卜丹丹, 苏哲, 姜余梅. 丁酸降低结肠癌的潜在机制. 世界华人消化杂志 2014; 22(18): 2539-2546 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2539.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i18.2539

0 引言

结肠癌(colorectal cancer, CRC)在女性中的发病率占癌症发病率的第2位, 男性为第3位. 据统计, 2008年产生120万例新病例以及608700例死亡[1]. CRC发生率在地域上分布差异性较大. 在一些发达的国家, 例如澳大利亚、新西兰、欧洲、美国和英国, CRC发病率很高. 在非洲和亚洲国家则相

■背景资料
结肠癌已成为世界上最普遍的癌症之一, 占致死性癌症的第4位, 是常见的发生于结肠部位的消化道恶性肿瘤部位的消化系恶性肿瘤. 现阶段对于结肠癌的治疗, 只限于手术治疗, 化疗为辅, 而手术及化疗的费用较高. 因此, 通过摄入膳食纤维, 肠道微生物与膳食纤维成分作用, 产生的丁酸, 对抑制结肠癌的发展有广阔的前景.

■同行评议者
肖秀英, 副主任医师, 上海交通大学医学院附属仁济医院

■研发前沿
一些结肠肿瘤是可以预防的, 膳食纤维与抗性淀粉的摄入可有效增加肠道内短链脂肪酸的浓度, 特别是丁酸可减缓结肠癌的发展, 去乙酰化酶(histone deacetylase)抑制剂的作用机制是丁酸抗癌的主要机制, 其作为化疗剂正在研究中, 丁酸将成为新型, 更加有效治疗药物.

对较低, 而日本最近报道CRC发生率急增, 并且在未来将继续保持增加的趋势[2]. 经过较长时间的跟踪研究, 在一些国家, 如韩国、新加坡和东欧, 该疾病的发生率正在与高风险国家相靠拢[3]. 流行病学的研究已表明CRC发病率与可改变的生活方式有密切的联系, 如体质量、饮食、体力活动、吸烟以及饮酒[4], 而这其间的关联性也表明对CRC预防是极有可能的, 30%-60%的病情可通过适当的营养和饮食预防[5].

膳食纤维在预防CRC发生中起到重要作用, 其功能已被流行性病学和动物实验研究的结果所证实. 然而, 研究结果存在着不一致性, 这可能受各研究模型群体数量及膳食纤维来源的影响. 最近, 欧洲癌症和营养前沿性研究显示虽然膳食纤维的摄入可减少CRC的风险高达30%, 但食物中其他成分的相互作用也至关重要[6], 例如膳食纤维主要来源于植物(如水果、蔬菜), 其同时还含有丰富的其他营养因子, 如β-胡萝卜素、番茄红素和多酚化合物. 膳食纤维为植物多糖, 在人体小肠不被消化吸收, 在大肠中会起到增加粪便体积的作用. 通过缩短粪液在肠道中停留时间(即增加肠道蠕动), 可减低肠道细胞与致癌物质及诱变剂的接触机率, 从而改善肠道环境. 大肠微生物和纤维多糖在大肠中的相互作用已成为维护结肠正常生理功的研究热点, 这是因为两者交互作用的结果会产生丰富的短链脂肪酸(short-chain fatty acid, SCFA), 主要为乙酸、丙酸和丁酸, 而SCFA的生产能力及三种酸的比例受膳食纤维的结构与来源调控, 如谷物纤维比水果蔬菜纤维的发酵更慢更不完全, 这是由于水果蔬菜中的可溶性纤维多糖含量较高(归因于其糖醛酸的成分较高), 与此相反, 谷物含有更多的阿拉伯木聚糖、葡聚糖和低聚糖. 不同结构的多糖在结肠中产丁酸的能力也大不相同, 在CRC高发病率国家的居民饮食中纤维的摄入主要来自谷物的非淀粉多糖(non-starch polysaccharides, NSP)以及相对少量的抗性淀粉(resistant starch, RS), 而在一些传统农业国家, NSP摄入量相对较低而RS摄入量增加[7], 这种饮食结构的不同可能会导致该病呈区域化分布, 这是因为RS的发酵比NSP更利于丁酸在大肠中合成. 丁酸是结肠细胞的重要能量来源, 其氧化至少提供60%的细胞能量需求, 并且在预防结肠癌中其比其他SCFA的关联性更高[8].

为此, 本文将从已发表的体内外模型研究结果, 探讨丁酸预防结肠癌的机制, 对丁酸在肠道中的代谢机制进行综述, 这对有效维持结肠正常功能, 预防CRC发生起到积极的作用.

1 丁酸诱导结肠癌细胞凋亡的机制

SCFA在维持结肠黏膜的正常生理活动中起到了重要作用. 虽然乙酸在结肠中含量最丰富, 但丁酸的抗癌活性已得到证实. 在体外模型中, 丁酸可抑制CRC细胞的增殖, 诱导分化并使其凋亡, 其结果与体内试验吻合[9,10]. 在Caco2 CRC细胞株中, 丁酸抑制丙酮酸脱氢酶合成, 降低糖酵解能力, 并诱导转换丁酸氧化表型, 为丁酸抗性细胞群的发展提供一个潜在的解释. 这在大量组织中是丙酮酸脱氢酶的一个已确定的调控特征. 谷氨酰胺代谢的加快有利于脂肪酸合成的前驱体的产生, 对细胞增殖是必不可少的过程. 这进一步表明这种代谢转变的发生是丁酸对HDAC抑制造成的. 丁酸还抑制由于饮食因子所诱导的肠道细胞DNA在动物体内的损伤, 这可能是由于其具有提高基因稳定性的潜能. 动物实验表明过多红肉的摄入诱导了N-亚硝基化合物和DNA加合物的形成, 特别是O_6-甲基-2'-脱氧鸟苷加合物[11]. 无法有效实施DNA修复机制或通过细胞凋亡去除这些加合物均会导致突变率的提高. 突变发生在致癌基因或者肿瘤抑制物基因上, 都会使发生CRC的风险大幅度地提高.

丁酸的作用对癌细胞具有高度选择性, 其调节大量细胞活动的能力有助于识别构成各个抗致癌成分的准确机制, 特别是诱导细胞凋亡的能力. 有关蛋白质组学和转录组学的研究有助于进一步了解丁酸诱导细胞凋亡的信号传输路径及参与丁酸抗性提升的机制[12-17]; 即一个癌细胞亚群是如何在丁酸丰富的环境下避免凋亡而形成肿瘤的[13,14,18]. 研究表明在高浓度丁酸环境下CRC细胞适应了丁酸的新陈代谢, 抗丁酸细胞具有生长优势, 潜在地形成更有侵略性的癌症[19,20]. 尽管丁酸在深层次对细胞和信号传输路径的调控机制仍不十分清楚, 但除了对HDAC抑制之外, 最近发现丁酸及其他SCFA与受体的亲和加强了丁酸诱导细胞凋亡进程.

相关丁酸促进肠癌细胞凋亡的机制的研究发现其可促使细胞质内细胞色素的快速释放以及半胱天冬酶级联反应的活化. 体外研究显示丁酸在>0.5 mmol/L时诱导CRC细胞凋亡, 据报道其可激活导致细胞凋亡的内在途径, 并通过外在途径增强癌细胞凋亡的敏感度[21]. 最近的研究发现, 丁酸可诱导自噬细胞的死亡[22-25]. 这些

途径似乎被同时激活从而放大了细胞凋亡的应答. 也有丁酸处理的促凋亡与抗凋亡蛋白质表达失调的研究报道, 如属于Bcl-2蛋白家族[26,27]或者肿瘤坏死基因(tumor necrosis factor, TNF)受体[21,22].

尽管已证实上述的级联反应是通过丁酸激活的, 但诱发这些反应开始的原因仍难以确定. 在体外实验中, 丁酸(2-4 mmol/L)诱导细胞应激反应, 以基因的激活为特征, 比如属于生长停滞、DNA损伤诱导(growth arrest and DNA damage, GADD)族以及胞外信号调节激酶(mitogen-activated protein kinases, MAPK)信号传输路径的激活[28-30]. Scott等[28]发现在HCT116细胞中丁酸对MAPK的激活与生长抑制和DNA损伤诱导基因153(GADD153)的诱导相关联. 在RKO CRC细胞系中, 丁酸激活了JNK, 却不是MAPK信号传输路径的p38分支, 这与半胱天冬酶的激活和细胞凋亡有关[30]. Tong等[29]报道小鼠和人体肠道肿瘤表达的缺失, 借以进一步支持其在肠道肿瘤形成中的作用. 丁酸也被报道出其在HCT116 CRC细胞和MC27乳腺癌细胞中促进p38和其下游热休克靶蛋白质27的磷酸化[11,31]. 尽管丁酸的细胞凋亡作用对细胞系的依赖正在研究之中, 在不同情况下, MAPK信号传输的激活都发生在丁酸暴露的数分钟之内, 这表明细胞应激反应的诱导是丁酸诱导细胞凋亡的一个前期过程.

2 丁酸在肿瘤发生过程中的调控作用

2.1 基因组不稳定和表观遗传调控 通过抑制HDAC活性调控相关基因的表达是丁酸诱导肠道细胞凋亡的首要机制. HDAC抑制剂(包括丁酸)将人体不到10%的基因组选择性地转录, 相关细胞通过调节包括转录因子、结构蛋白和参与信号传导的蛋白在内的组蛋白和非组蛋白的乙酰化作用来调节. 虽然人类对丁酸修饰非组蛋白的认知很有限, 已知Sp1和Sp3是转录因子, Sp1已被推测促进p21的表达, 并介导CRC细胞系p53-依赖性细胞周期的停滞[32], 但丁酸对Sp1和Sp3乙酰化作用的影响是未知的[32,33]. 丁酸对其他非组蛋白乙酰化的识别将会促进对丁酸作用机制的进一步认识.

2.2 *p53*在细胞周期阻滞和凋亡中的作用 体外模型一致性地显示在0.6-5 mmol/L的丁酸浓度下, 丁酸以*p53*-依赖性以及非依赖性两种方式诱导细胞周期阻滞和凋亡[34]. 在CRC细胞系中, 丁酸下调*p53* mRNA和蛋白质的表达, 并加快*p53*靶基因的表达以诱导细胞周期阻滞. *p53*的激活和其对中心的移位被翻译后修饰调控, 其中包括组氨酸乙酰化转移酶的乙酰化作用如p300, 可提高其稳定性和*p53*促凋亡活性[35]. 通过HDAC抑制剂(如丁酸)使*p53*长期或短暂的高度乙酰化, 可能是*p53*依赖性凋亡的另外一个机制[36].

2.3 丁酸和mi-RNA的调控 丁酸也会通过与抑制HDAC无关的其他基因表达调控mi-RNA的表达[37,38]. Mi-RNA是非编码蛋白, 尽管超过1000个人类的mi-RNA已被识别, 然而大量相关研究显示, 只有少数的mi-RNA, 如miR-31、miR-194/-215和miR-143/-145集群与结肠肿瘤相关联[39]. 体外试验表明, 与对照组细胞相比, 丁酸以CD133细胞表面表达为特征, 调控mi-RNA在HCT116细胞以及人体CRC干细胞中的表达[37,38]. 在基因转录的调控中建立mi-RNA的作用仍然是其初步阶段, 丁酸对mi-RNA表达的真正潜力, 或是其调控功能仍待阐明.

3 丁酸在抗炎症和免疫反应中的调控

3.1 SCFA在大肠中具有抗炎症的作用 在患远端溃疡性结肠炎的患者中, 无论是SCFA混合物或者是丁酸单独的直肠投药均已表明可有效地改善该病的临床症状. 在肠上皮细胞中, 丁酸通过降低白介素8(interleukin-8, IL-8)的表达以及抑制可诱导的一氧化氮合酶的表达调节结肠炎症. 丁酸也缓解氧化应激, 防止CRC细胞和结肠黏膜细胞中DNA氧化损伤, 而与自由基清除关联的蛋白质表达及谷胱甘肽S-转移酶活性的提高的相关研究均进一步支持上述观点[14,40]. 此外, 4 mmol/L丁酸可有效抑制HT29细胞潜伏期中环氧合酶-2的表达和活性[41]. 然而, 丁酸在结肠癌细胞组织中的研究数据还缺乏高度一致性[42], 这可能受测试患者群体的数量、肿瘤组织的不均匀性以及临床参数的混杂性等因素影响.

NF-κB的激活是炎症相关癌变发展主要因子之一, 这其中包括CRC所产生的溃疡性结肠炎的慢性炎症. 尽管丁酸调控NF-κB的作用及其参与该过程的信号传送机制仍然未知, 研究已显示在大约40%的结肠癌肿瘤组织中NF-κB已处于激活状态[43]. 在肿瘤细胞中, NF-κB的激活提高了炎症因子调控的信号传送路线的炎症反应和调控抗凋亡基因的表达.

3.2 SLC5A8转运蛋白在炎症反应和结肠癌细胞中的作用 钠联溶质转送蛋白SLC5A8在许多不同癌症中为沉默表观遗传[44]. 此转运在结肠、

■相关报道
本文集中了阐述了丁酸诱导结肠癌细胞凋亡的机制, 以及丁酸对肿瘤产生过程中的调控作用, 另外说明了NF-κB对炎症相关癌症发展的影响, SLC5A8转运蛋白对炎症和结肠癌细胞的作用.

■应用要点
结肠癌的致死率较高, 通过摄入膳食纤维, 在肠道中产生丁酸或使用丁酸衍生物进行治疗, 对抑制结肠癌细胞的发展有很大帮助.

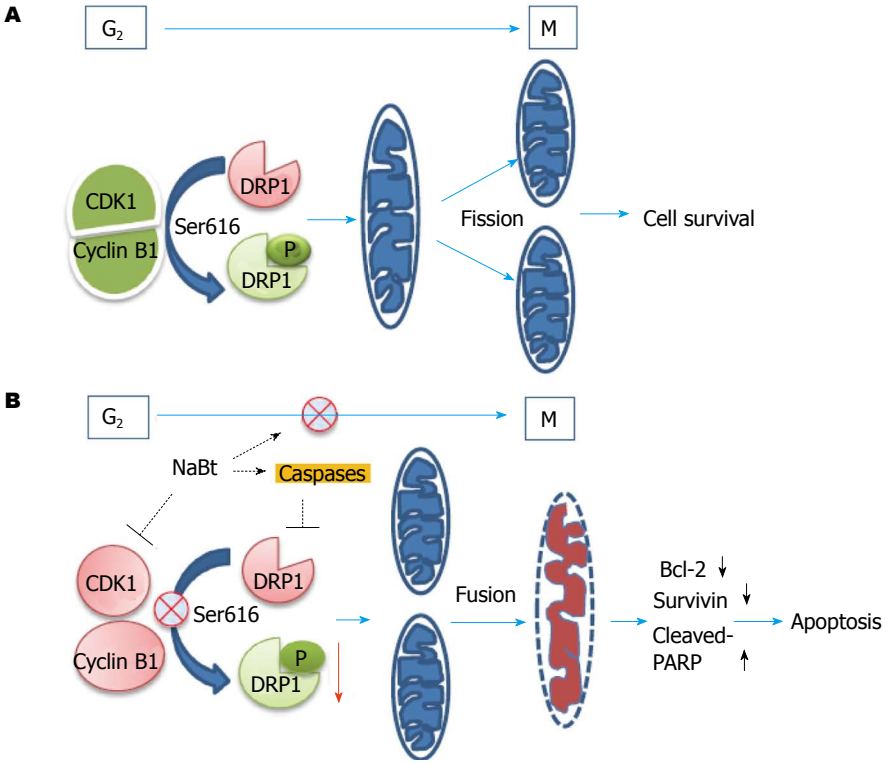


图 1 丁酸处理结肠癌细胞条件下, DRP1对线粒体融合调控作用的可能机制. A: DRP1在G_2-M过渡期中的高度表达, 以及细胞周期B1-CDK的合成对DRP1的激活, 确保线粒体分裂; B: 丁酸抑制G_2-M阶段的发展及细胞周期蛋白B1-CDK1合成, 并抑制DRP1的激活和磷酸化及其到线粒体膜的易位. 丁酸通过抑制半胱天冬酶活性, 降低DRP1水平, 从而使线粒体融合, 使细胞呼吸受限, 结肠癌细胞凋亡. Fission: 分裂; Cell survival: 正常细胞; NaBt: 丁酸钠; Caspases: 半胱天冬酶; Fusion: 融合; Survivin: 生长素; Cleaved PARP: PARP降解产物; PARP: 聚腺苷二磷酸-核糖聚合酶; Apoptosis: 细胞凋亡.

肾、甲状腺被表达, 并识别一元羧酸, 包括丁酸. *SLC5A8*基因甲基化和他表达的附随损失被在59%的CRC腺瘤和肿瘤组中检测到[45]. *SLC5A8*在CRC中的沉默与突变体和非活动性腺瘤APC蛋白以及异常的Wnt信号相关[45]. 体外研究表明丁酸通过SLC5A8转运抑制HDAC活性以及肿瘤细胞的生长[45,46]. Thangaraju等[45]也报告出SLC5A8表达在CRC细胞系上的损失与细胞凋亡呈负相关, 细胞凋亡的发生是由于丁酸对HDAC活性的抑制以及对半胱天冬酶的激活.

在炎症和结肠癌中SCAF受体的参与是通过影响免疫细胞功能来增强免疫和抗炎症反应, 如趋化作用、吞噬作用、活性氧的产生以及细胞因子、趋化因子的释放等. 在激活的中性粒细胞中, 丁酸(1-6 mmol/L)可减少活性氧的产生和细胞活素的释放, 这在免疫细胞的迁移中起到重要的作用[47,48]. 最近的体内研究[49]发现, 双歧杆菌发酵产生的乙酸可以提高肠上皮细胞的免疫防御功能, 这些作用部分归因于对GPR的激活, 特别是GPR109A和GPR43. GPR40家族含有SCFA和中链脂肪酸受体, GPR41和GPR43对SCFA具有最高的亲和力, 特别是这些受体对SCFA显示了毫摩尔的亲和力, 并且这种浓度在结肠中是完全可达到的. 在葡聚糖硫酸钠诱导的慢性和急性肠炎小鼠模型中, 与野生型小鼠表达受体相比, GPR43表达的缺失, 导致严重的肠炎并损害黏膜的完整性[50-53]. 饮用水中添加醋酸可改善野生型小鼠的炎症指标而不是敲除GPR43的小鼠, 表明该受体[52]通过SCFA的激活在调节炎症反应中起到了一定的作用. 然而Sina等[53]认为, 在慢性葡聚糖硫酸钠小鼠肠炎模型中, GRP43表达缺失减少了结肠炎. 这种结果的差异性可能是由于在这两组实验中葡聚糖硫酸钠剂量以及处理时间的不同. 然而, 这两项研究均表明SCFA对GPR43[52]的刺激作用对免疫细胞功能是必不可少的, 并且这种趋化性反应是由MAPK介导的.

GPR43由于有肿瘤抑制作用, 其与CRC的预防有一定的关联[54]. 与正常的黏膜相比, GRP43表达缺失发生在结肠腺瘤组织上, 在结肠增生和良性结肠疾病如息肉等组织上检测到表达缺失减少[54]. 在9个CRC细胞系中, Tang等[54]确定

GPR43仅在HT29CRC细胞系上被表达, 他们也发现在CRC细胞株中, 此受体的再表达和丁酸的激活抑制了增殖, 进一步支持GPR43在维持正常细胞功能上的作用. 研究也发现丙酸与丁酸具有相类似的生理功能, 但前者所需的浓度更高. MCF7乳腺癌细胞系也可表达GPR43, 每个SCFA对其的激活诱导细胞应激反应都通过p38MAPK信号介导[31]. 这些数据表明GPR43在激活丁酸抗肿瘤作用相关的信号传输途径上起着举足轻重的作用. 尽管如此, GPR43-介导的细胞信号活动在正常结肠、结肠炎和CRC的发展中仍需进一步确定.

GPR109A最初被确定为烟酸的受体[55-57], 属于GPR81和GPR109B的亚科受体. 虽然GPR109A和GPR109B结构类似, 并有着类似的表达模式, 他们的区别在于他们的配体特异性. GPR109A由烟酸、3-羟基丁酸酯和丁酸激活, 而GPR109B都显示出与他们较低的亲和力. 丁酸结合并激活GPR109A受体, 但是对GPR109B没有影响, 同时GPR109B受体也没有显示出对乙酸和丙酸的亲和力. GPR109A在人类结肠中被表达, 而在CRC中的表达失调. 这种表达方式在CRC小鼠模型和人体CRC细胞系上获得验证. GPR109A在CRC上的沉默是由于DNA甲基化的结果, 通过GPR109A在CRC细胞系上的再表达以及丁酸对其的激活可消除了NF-κB的活性并诱导了细胞凋亡. 细胞凋亡的发生与HDAC的抑制可独自发生, 这进一步显示存在着丁酸诱导凋亡的另外一种机制.

Tailor等[1]最近以一定浓度的丁酸诱导人体结肠癌细胞HCT116细胞和SW480细胞的G_2-M阶段细胞分裂循环阻滞, 发现细胞周期阻滞和线粒体介导的细胞凋亡降低生长素和Bcl-2B细胞淋巴瘤的表达, 细胞周期蛋白B1-CDK1由ser616磷酸化合成, 并激活线粒体分离蛋白(dynamin-related protein 1, DRP1). 丁酸减少p-DRP1, 并降低细胞周期蛋白B1-CDK1的合成. DRP1作为泛-半胱天冬酶抑制剂, 受细胞凋亡的调控, 丁酸诱导的凋亡使DRP1反转到正常水平, 从而控制细胞增殖. 表明丁酸通过调控DRP1水平调节线粒体分裂和融合, 并诱导人体结肠癌细胞循环阻滞和细胞凋亡. 丁酸诱导结肠癌细胞凋亡的可能机制表达如下(图1)[1].

4 丁酸及丁酸类似物作为肠道病变的治疗剂

HDAC抑制剂作为化疗剂正在研究之中, 如在国际上辛二酰苯胺异羟肟酸最近被批准用于治疗皮肤T细胞淋巴瘤. 不同癌细胞系用来确定是否采用DNA甲基酶抑制剂和HDAC抑制剂的联合治疗以恢复关键肿瘤抑制基因. 这类研究的主要目的是确定联合治疗方案对癌症治疗的潜在功效. 丁酸本身不能作为口服或注射药剂用于肠道病变的治疗, 这是由于其摄入后进入身体内参与不同类型的细胞代谢, 从而缩短其半衰期. 为了克服这些局限性, 许多研究探讨了丁酸衍生物的潜能, 并发现4-苯基丁酸乙酯和三丁酸甘油酯将最有前途[58-61]. 有关体外实验对丁酸结构类似物的研究表明丁酸对细胞凋亡的特性取决于羧酸骨架上2位和3位替代的缺乏[62,63]. 此外, 这些研究证实4-苯酰丁酸和4-苯丁酸类似化合物可能最为有效, 表明庞大基团和羧基基团之间的三原子空间是丁酸药物的抗肿瘤特性必不可少的特定结构. 虽然在体外实验中还没发现比丁酸更有效的类似物, 但他们为新治疗药物的开发提供了一个出发点.

■同行评价
本文对丁酸抗结肠癌的研究具有一定的指导意义.

5 参考文献

1 Tailor D, Hahm ER, Kale RK, Singh SV, Singh RP. Sodium butyrate induces DRP1-mediated mitochondrial fusion and apoptosis in human colorectal cancer cells. *Mitochondrion* 2014; 16: 55-64 [PMID: 24177748 DOI: 10.1016/j.mito.2013.10.004]

2 Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin* 2005; 55: 74-108 [PMID: 15761078]

3 Wong MT, Eu KW. Rise of colorectal cancer in Singapore: an epidemiological review. *ANZ J Surg* 2007; 77: 446-449 [PMID: 17501884]

4 Haggar FA, Boushey RP. Colorectal cancer epidemiology: incidence, mortality, survival, and risk factors. *Clin Colon Rectal Surg* 2009; 22: 191-197 [PMID: 21037809 DOI: 10.1055/s-0029-1242458]

5 Platz EA, Willett WC, Colditz GA, Rimm EB, Spiegelman D, Giovannucci E. Proportion of colon cancer risk that might be preventable in a cohort of middle-aged US men. *Cancer Causes Control* 2000; 11: 579-588 [PMID: 10977102]

6 Bingham SA, Day NE, Luben R, Ferrari P, Slimani N, Norat T, Clavel-Chapelon F, Kesse E, Nieters A, Boeing H, Tjønneland A, Overvad K, Martinez C, Dorronsoro M, Gonzalez CA, Key TJ, Trichopoulou A, Naska A, Vineis P, Tumino R, Krogh V, Bueno-de-Mesquita HB, Peeters PH, Berglund G, Hallmans G, Lund E, Skeie G, Kaaks R, Riboli E. Dietary fibre in food and protection against colorectal cancer in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC): an observational study. *Lancet* 2003; 361: 1496-1501 [PMID: 12737858]

7 Ahmed R, Segal I, Hassan H. Fermentation of dietary starch in humans. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 1017-1020 [PMID: 10763953]

8 Perrin P, Pierre F, Patry Y, Champ M, Berreur M, Pradal G, Bornet F, Meflah K, Menanteau J. Only fibres promoting a stable butyrate producing colonic

ecosystem decrease the rate of aberrant crypt foci in rats. *Gut* 2001; 48: 53-61 [PMID: 11115823]
9 Clarke JM, Topping DL, Bird AR, Young GP, Cobiac L. Effects of high-amylose maize starch and butyrylated high-amylose maize starch on azoxymethane-induced intestinal cancer in rats. *Carcinogenesis* 2008; 29: 2190-2194 [PMID: 18701436 DOI: 10.1093/carcin/bgn192]
10 Le Leu RK, Hu Y, Brown IL, Young GP. Effect of high amylose maize starches on colonic fermentation and apoptotic response to DNA-damage in the colon of rats. *Nutr Metab* (Lond) 2009; 6: 11 [PMID: 19267935 DOI: 10.1186/1743-7075-6-11]
11 Lewin MH, Bailey N, Bandaletova T, Bowman R, Cross AJ, Pollock J, Shuker DE, Bingham SA. Red meat enhances the colonic formation of the DNA adduct O6-carboxymethyl guanine: implications for colorectal cancer risk. *Cancer Res* 2006; 66: 1859-1865 [PMID: 16452248]
12 Daly K, Shirazi-Beechey SP. Microarray analysis of butyrate regulated genes in colonic epithelial cells. *DNA Cell Biol* 2006; 25: 49-62 [PMID: 16405400]
13 Fung KY, Brierley GV, Henderson S, Hoffmann P, McColl SR, Lockett T, Head R, Cosgrove L. Butyrate-induced apoptosis in HCT116 colorectal cancer cells includes induction of a cell stress response. *J Proteome Res* 2011; 10: 1860-1869 [PMID: 21235278 DOI: 10.1021/pr1011125]
14 Fung KY, Lewanowitsch T, Henderson ST, Priebe I, Hoffmann P, McColl SR, Lockett T, Head R, Cosgrove LJ. Proteomic analysis of butyrate effects and loss of butyrate sensitivity in HT29 colorectal cancer cells. *J Proteome Res* 2009; 8: 1220-1227 [PMID: 19195990 DOI: 10.1021/pr8009929]
15 Iacomino G, Tecce MF, Grimaldi C, Tosto M, Russo GL. Transcriptional response of a human colon adenocarcinoma cell line to sodium butyrate. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 285: 1280-1289 [PMID: 11478796]
16 Tan HT, Tan S, Lin Q, Lim TK, Hew CL, Chung MC. Quantitative and temporal proteome analysis of butyrate-treated colorectal cancer cells. *Mol Cell Proteomics* 2008; 7: 1174-1185 [PMID: 18344232 DOI: 10.1074/mcp.M700483-MCP200]
17 Tan S, Seow TK, Liang RC, Koh S, Lee CP, Chung MC, Hooi SC. Proteome analysis of butyrate-treated human colon cancer cells (HT-29). *Int J Cancer* 2002; 98: 523-531 [PMID: 11920611]
18 Olmo N, Turnay J, Pérez-Ramos P, Lecona E, Barrasa JI, López de Silanes I, Lizarbe MA. In vitro models for the study of the effect of butyrate on human colon adenocarcinoma cells. *Toxicol In Vitro* 2007; 21: 262-270 [PMID: 17084582]
19 López de Silanes I, Olmo N, Turnay J, González de Buitrago G, Pérez-Ramos P, Guzmán-Aránguez A, García-Díez M, Lecona E, Gorospe M, Lizarbe MA. Acquisition of resistance to butyrate enhances survival after stress and induces malignancy of human colon carcinoma cells. *Cancer Res* 2004; 64: 4593-4600 [PMID: 15231671]
20 Serpa J, Caiado F, Carvalho T, Torre C, Gonçalves LG, Casalou C, Lamosa P, Rodrigues M, Zhu Z, Lam EW, Dias S. Butyrate-rich colonic microenvironment is a relevant selection factor for metabolically adapted tumor cells. *J Biol Chem* 2010; 285: 39211-39223 [PMID: 20926374 DOI: 10.1074/jbc.M110.156026]
21 Kim YH, Park JW, Lee JY, Kwon TK. Sodium butyrate sensitizes TRAIL-mediated apoptosis by induction of transcription from the DR5 gene promoter through Sp1 sites in colon cancer cells. *Carcinogenesis* 2004; 25: 1813-1820 [PMID: 15142888]
22 Pajak B, Gajkowska B, Orzechowski A. Sodium butyrate sensitizes human colon adenocarcinoma COLO 205 cells to both intrinsic and TNF-alpha-dependent extrinsic apoptosis. *Apoptosis* 2009; 14: 203-217 [PMID: 19130237 DOI: 10.1007/s10495-008-0291-9]
23 Shao Y, Gao Z, Marks PA, Jiang X. Apoptotic and autophagic cell death induced by histone deacetylase inhibitors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 18030-18035 [PMID: 15596714]
24 Tang Y, Chen Y, Jiang H, Nie D. The role of short-chain fatty acids in orchestrating two types of programmed cell death in colon cancer. *Autophagy* 2011; 7: 235-237 [PMID: 21160278]
25 Wang L, Luo HS, Xia H. Sodium butyrate induces human colon carcinoma HT-29 cell apoptosis through a mitochondrial pathway. *J Int Med Res* 2009; 37: 803-811 [PMID: 19589263]
26 Avivi-Green C, Polak-Charcon S, Madar Z, Schwartz B. Different molecular events account for butyrate-induced apoptosis in two human colon cancer cell lines. *J Nutr* 2002; 132: 1812-1818 [PMID: 12097652]
27 Ruemmele FM, Dionne S, Qureshi I, Sarma DS, Levy E, Seidman EG. Butyrate mediates Caco-2 cell apoptosis via up-regulation of pro-apoptotic BAK and inducing caspase-3 mediated cleavage of poly-(ADP-ribose) polymerase (PARP). *Cell Death Differ* 1999; 6: 729-735 [PMID: 10467346]
28 Scott DW, Longpre JM, Loo G. Upregulation of GADD153 by butyrate: involvement of MAPK. *DNA Cell Biol* 2008; 27: 607-614 [PMID: 18767967 DOI: 10.1089/dna.2008.0773]
29 Tong C, Yin Z, Song Z, Dockendorff A, Huang C, Mariadason J, Flavell RA, Davis RJ, Augenlicht LH, Yang W. c-Jun NH2-terminal kinase 1 plays a critical role in intestinal homeostasis and tumor suppression. *Am J Pathol* 2007; 171: 297-303 [PMID: 17591974]
30 Zhang Y, Zhou L, Bao YL, Wu Y, Yu CL, Huang YX, Sun Y, Zheng LH, Li YX. Butyrate induces cell apoptosis through activation of JNK MAP kinase pathway in human colon cancer RKO cells. *Chem Biol Interact* 2010; 185: 174-181 [PMID: 20346929 DOI: 10.1016/j.cbi.2010.03.035]
31 Yonezawa T, Kobayashi Y, Obara Y. Short-chain fatty acids induce acute phosphorylation of the p38 mitogen-activated protein kinase/heat shock protein 27 pathway via GPR43 in the MCF-7 human breast cancer cell line. *Cell Signal* 2007; 19: 185-193 [PMID: 16887331]
32 Waby JS, Chirakkal H, Yu C, Griffiths GJ, Benson RS, Bingle CD, Corfe BM. Sp1 acetylation is associated with loss of DNA binding at promoters associated with cell cycle arrest and cell death in a colon cell line. *Mol Cancer* 2010; 9: 275 [PMID: 20950428 DOI: 10.1186/1476-4598-9-275]
33 White NR, Mulligan P, King PJ, Sanderson IR. Sodium butyrate-mediated Sp3 acetylation represses human insulin-like growth factor binding protein-3 expression in intestinal epithelial cells. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2006; 42: 134-141 [PMID: 16456404]

34 Janson W, Brandner G, Siegel J. Butyrate modulates DNA-damage-induced p53 response by induction of p53-independent differentiation and apoptosis. *Oncogene* 1997; 15: 1395-1406 [PMID: 9333015]

35 Yuan ZM, Huang Y, Ishiko T, Nakada S, Utsugisawa T, Shioya H, Utsugisawa Y, Yokoyama K, Weichselbaum R, Shi Y, Kufe D. Role for p300 in stabilization of p53 in the response to DNA damage. *J Biol Chem* 1999; 274: 1883-1886 [PMID: 9890940]

36 Terui T, Murakami K, Takimoto R, Takahashi M, Takada K, Murakami T, Minami S, Matsunaga T, Takayama T, Kato J, Niitsu Y. Induction of PIG3 and NOXA through acetylation of p53 at 320 and 373 lysine residues as a mechanism for apoptotic cell death by histone deacetylase inhibitors. *Cancer Res* 2003; 63: 8948-8954 [PMID: 14695212]

37 Hu S, Dong TS, Dalal SR, Wu F, Bissonnette M, Kwon JH, Chang EB. The microbe-derived short chain fatty acid butyrate targets miRNA-dependent p21 gene expression in human colon cancer. *PLoS One* 2011; 6: e16221 [PMID: 21283757 DOI: 10.1371/journal.pone.0016221]

38 Zhang H, Li W, Nan F, Ren F, Wang H, Xu Y, Zhang F. MicroRNA expression profile of colon cancer stem-like cells in HT29 adenocarcinoma cell line. *Biochem Biophys Res Commun* 2011; 404: 273-278 [PMID: 21130073 DOI: 10.1016/j.bbrc.2010.11.106]

39 Necela BM, Carr JM, Asmann YW, Thompson EA. Differential expression of microRNAs in tumors from chronically inflamed or genetic (APC(Min/+)) models of colon cancer. *PLoS One* 2011; 6: e18501 [PMID: 21532750 DOI: 10.1371/journal.pone.0018501]

40 Ebert MN, Klinder A, Peters WH, Schäferhenrich A, Sendt W, Scheele J, Pool-Zobel BL. Expression of glutathione S-transferases (GSTs) in human colon cells and inducibility of GSTM2 by butyrate. *Carcinogenesis* 2003; 24: 1637-1644 [PMID: 12896903]

41 Tong X, Yin L, Giardina C. Butyrate suppresses Cox-2 activation in colon cancer cells through HDAC inhibition. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 317: 463-471 [PMID: 15063780]

42 Jahns F, Wilhelm A, Jablonowski N, Mothes H, Radeva M, Wölfert A, Greulich KO, Glei M. Butyrate suppresses mRNA increase of osteopontin and cyclooxygenase-2 in human colon tumor tissue. *Carcinogenesis* 2011; 32: 913-920 [PMID: 21459756 DOI: 10.1093/carcin/bgr061]

43 Sakamoto K, Maeda S, Hikiba Y, Nakagawa H, Hayakawa Y, Shibata W, Yanai A, Ogura K, Omata M. Constitutive NF-kappaB activation in colorectal carcinoma plays a key role in angiogenesis, promoting tumor growth. *Clin Cancer Res* 2009; 15: 2248-2258 [PMID: 19276252 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-08-1383]

44 Li H, Myeroff L, Smiraglia D, Romero MF, Pretlow TP, Kasturi L, Lutterbaugh J, Rerko RM, Casey G, Issa JP, Willis J, Willson JK, Plass C, Markowitz SD. SLC5A8, a sodium transporter, is a tumor suppressor gene silenced by methylation in human colon aberrant crypt foci and cancers. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100: 8412-8417 [PMID: 12829793]

45 Thangaraju M, Cresci G, Itagaki S, Mellinger J, Browning DD, Berger FG, Prasad PD, Ganapathy V. Sodium-coupled transport of the short chain fatty acid butyrate by SLC5A8 and its relevance to colon cancer. *J Gastrointest Surg* 2008; 12: 1773-1781; discussion 1773-1781 [PMID: 18661192 DOI: 10.1007/s11605-008-0573-0]

46 Thangaraju M, Gopal E, Martin PM, Ananth S, Smith SB, Prasad PD, Sterneck E, Ganapathy V. SLC5A8 triggers tumor cell apoptosis through pyruvate-dependent inhibition of histone deacetylases. *Cancer Res* 2006; 66: 11560-11564 [PMID: 17178845]

47 Bailón E, Cueto-Sola M, Utrilla P, Rodríguez-Cabezas ME, Garrido-Mesa N, Zarzuelo A, Xaus J, Gálvez J, Comalada M. Butyrate in vitro immunemodulatory effects might be mediated through a proliferation-related induction of apoptosis. *Immunobiology* 2010; 215: 863-873 [PMID: 20149475 DOI: 10.1016/j.imbio.2010.01.001]

48 Vinolo MA, Rodrigues HG, Hatanaka E, Hebeda CB, Farsky SH, Curi R. Short-chain fatty acids stimulate the migration of neutrophils to inflammatory sites. *Clin Sci* (Lond) 2009; 117: 331-338 [PMID: 19335337 DOI: 10.1042/CS20080642]

49 Fukuda S, Toh H, Hase K, Oshima K, Nakanishi Y, Yoshimura K, Tobe T, Clarke JM, Topping DL, Suzuki T, Taylor TD, Itoh K, Kikuchi J, Morita H, Hattori M, Ohno H. Bifidobacteria can protect from enteropathogenic infection through production of acetate. *Nature* 2011; 469: 543-547 [PMID: 21270894 DOI: 10.1038/nature09646]

50 Le Poul E, Loison C, Struyf S, Springael JY, Lannoy V, Decobecq ME, Brezillon S, Dupriez V, Vassart G, Van Damme J, Parmentier M, Detheux M. Functional characterization of human receptors for short chain fatty acids and their role in polymorphonuclear cell activation. *J Biol Chem* 2003; 278: 25481-25489 [PMID: 12711604]

51 Aoyama M, Kotani J, Usami M. Butyrate and propionate induced activated or non-activated neutrophil apoptosis via HDAC inhibitor activity but without activating GPR-41/GPR-43 pathways. *Nutrition* 2010; 26: 653-661 [PMID: 20004081 DOI: 10.1016/j.nut.2009.07.006]

52 Maslowski KM, Vieira AT, Ng A, Kranich J, Sierro F, Yu D, Schilter HC, Rolph MS, Mackay F, Artis D, Xavier RJ, Teixeira MM, Mackay CR. Regulation of inflammatory responses by gut microbiota and chemoattractant receptor GPR43. *Nature* 2009; 461: 1282-1286 [PMID: 19865172 DOI: 10.1038/nature08530]

53 Sina C, Gavrilova O, Förster M, Till A, Derer S, Hildebrand F, Raabe B, Chalaris A, Scheller J, Rehmann A, Franke A, Ott S, Häsler R, Nikolaus S, Fölsch UR, Rose-John S, Jiang HP, Li J, Schreiber S, Rosenstiel P. G protein-coupled receptor 43 is essential for neutrophil recruitment during intestinal inflammation. *J Immunol* 2009; 183: 7514-7522 [PMID: 19917676 DOI: 10.4049/jimmunol.0900063]

54 Tang Y, Chen Y, Jiang H, Robbins GT, Nie D. G-protein-coupled receptor for short-chain fatty acids suppresses colon cancer. *Int J Cancer* 2011; 128: 847-856 [PMID: 20979106 DOI: 10.1002/ijc.25638]

55 Soga T, Kamohara M, Takasaki J, Matsumoto S, Saito T, Ohishi T, Hiyama H, Matsuo A, Matsushime H, Furuichi K. Molecular identification of nicotinic acid receptor. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 303: 364-369 [PMID: 12646212]

56 Tunaru S, Kero J, Schaub A, Wufka C, Blaukat A, Pfeffer K, Offermanns S. PUMA-G and HM74 are receptors for nicotinic acid and mediate its antilipolytic effect. *Nat Med* 2003; 9: 352-355 [PMID: 12563315]

57 Wise A, Foord SM, Fraser NJ, Barnes AA, Elshourbagy N, Eilert M, Ignar DM, Murdock PR, Steplewski K, Green A, Brown AJ, Dowell SJ, Szekeres PG, Hassall DG, Marshall FH, Wilson S, Pike NB. Molecular identification of high and low affinity receptors for nicotinic acid. *J Biol Chem* 2003; 278: 9869-9874 [PMID: 12522134]

58 Kang SN, Lee E, Lee MK, Lim SJ. Preparation and evaluation of tributyrin emulsion as a potent anticancer agent against melanoma. *Drug Deliv* 2011; 18: 143-149 [PMID: 20946006 DOI: 10.3109/10717544.2010.522610]

59 Kuroiwa-Trzmielina J, de Conti A, Scolastici C, Pereira D, Horst MA, Purgatto E, Ong TP, Moreno FS. Chemoprevention of rat hepatocarcinogenesis with histone deacetylase inhibitors: efficacy of tributyrin, a butyric acid prodrug. *Int J Cancer* 2009; 124: 2520-2527 [PMID: 19195022 DOI: 10.1002/ijc.24212]

60 Li Y, Le Maux S, Xiao H, McClements DJ. Emulsion-based delivery systems for tributyrin, a potential colon cancer preventative agent. *J Agric Food Chem* 2009; 57: 9243-9249 [PMID: 19731938 DOI: 10.1021/jf901836f]

61 Miyoshi M, Sakaki H, Usami M, Iizuka N, Shuno K, Aoyama M, Usami Y. Oral administration of tributyrin increases concentration of butyrate in the portal vein and prevents lipopolysaccharide-induced liver injury in rats. *Clin Nutr* 2011; 30: 252-258 [PMID: 21051124 DOI: 10.1016/j.clnu.2010.09.012]

62 Ooi CC, Good NM, Williams DB, Lewanowitsch T, Cosgrove LJ, Lockett TJ, Head RJ. Structure-activity relationship of butyrate analogues on apoptosis, proliferation and histone deacetylase activity in HCT-116 human colorectal cancer cells. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2010; 37: 905-911 [PMID: 20497425 DOI: 10.1111/j.1440-1681.2010.05403.x]

63 Ooi CC, Good NM, Williams DB, Lewanowitsch T, Cosgrove LJ, Lockett TJ, Head RJ. Efficacy of butyrate analogues in HT-29 cancer cells. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2010; 37: 482-489 [PMID: 19930426 DOI: 10.1111/j.1440-1681.2009.05335.x]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com
世界华人消化杂志 2014年6月28日; 22(18): 2547-2552
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

文献综述 REVIEW

肠道菌群与结直肠癌发病关系的研究进展

杨珍妮, 刘 丹, 刘冰熔

杨珍妮, 刘丹, 刘冰熔, 哈尔滨医科大学第二附属医院消化内科 黑龙江省哈尔滨市 150000
杨珍妮, 主要从事肠道菌群与结直肠癌发病关系的研究.
作者贡献分布: 本篇综述由杨珍妮与刘丹完成; 刘冰熔审校.
通讯作者: 刘冰熔, 主任医师, 150000, 黑龙江省哈尔滨市学府路246号, 哈尔滨医科大学第二附属医院消化内科.
sarahyang1107@126.com
电话: 0451-86605143
收稿日期: 2014-04-16 修回日期: 2014-04-26
接受日期: 2014-04-30 在线出版日期: 2014-06-28

Progress in understanding the relationship between intestinal microbial flora and colorectal cancer

Zhen-Ni Yang, Dan Liu, Bing-Rong Liu

Zhen-Ni Yang, Dan Liu, Bing-Rong Liu, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150000, Heilongjiang Province, China
Correspondence to: Bing-Rong Liu, Chief Physician, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, 246 Xuefu Road, Harbin 150000, Heilongjiang Province, China. sarahyang1107@126.com
Received: 2014-04-16 Revised: 2014-04-26
Accepted: 2014-04-30 Published online: 2014-06-28

Abstract

There is a great density of and many kinds of bacteria in the human gut. They participate in a number of human physiological activities and metabolism and are closely related to human health and diseases. Together with other changes, a part of gut bacteria and their products cause inflammation and finally lead to the formation of colorectal cancer through binding to the receptors and stimulating the secretion of inflammatory cytokines. Probiotics protect the intestinal mucosa through the barrier effect and by inhibiting DNA damage, are beneficial to human beings, prevent the occurrence of many diseases and play a role in adjuvant treatment of certain disease. In addition, the positive effect of prebiotics and synbiotics on human health can not be ignored. Overall, human and intestinal microbial flora interact with and influence each other, which is very important for human health and thus deserves more detailed research to guide future clinical work.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Probiotics; Colorectal cancer; Intestinal microbial flora

Yang ZN, Liu D, Liu BR. Progress in understanding the relationship between intestinal microbial flora and colorectal cancer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(18): 2547-2552 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2547.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i18.2547

摘要

人体肠道内寄生着大量且种类繁多的微生物, 他们作为一个整体, 参与到人体多项生理活动及代谢中, 与人类的健康和疾病紧密相关. 其中部分细菌及其代谢产物通过与受体结合、刺激炎症因子分泌、与其他变化一起, 引起炎症反应, 最终导致结直肠癌的发生. 而益生菌则通过屏障作用、抑制DNA损伤等机制保护肠道黏膜, 对人体起到保护作用, 并可被用于预防及辅助治疗多种疾病. 另外, 益生元与合生元对人体健康的积极作用也不容小觑. 总之, 人体与肠道菌群是相互作用、相互影响的. 肠道菌群对于人体健康关系重大, 因此值得更多、更详尽的研究, 以指导今后的临床工作.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 肠道菌群; 结直肠癌; 益生菌

核心提示: 肠道菌群与结直肠癌的发生有着密不可分的关系, 他们相互作用、相互影响. 本文集中叙述了肠道菌群引起结直肠癌的多种可能机制, 以及益生菌在临床治疗过程中的作用.

杨珍妮, 刘丹, 刘冰熔. 肠道菌群与结直肠癌发病关系的研究进展. 世界华人消化杂志 2014; 22(18): 2547-2552 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2547.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i18.2547

■背景资料
结直肠癌是常见的消化系恶性肿瘤, 在世界范围内发病率呈逐年上升趋势. 对于其发病机制的研究近年来一直是学术界关注的热点, "异常隐窝-腺瘤-结直肠癌"这一发生途径中的细胞及分子生物学机制已经得到了广泛的研究. 但是人类对结直肠癌发生发展过程中微生物作为重要的环境因素的作用认识却明显不足.

■同行评议者
谭周进, 教授, 湖南中医药大学

■研发前沿
随着第2代测序技术的广泛应用, 人们逐渐发现人体内的微生物在结直肠癌的发生和发展过程中发挥着重要的作用. 其具体机制相关研究明确后, 或可为确定结直肠癌高危人群和早期诊断结直肠癌提供线索或依据.

0 引言

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是常见的消化系恶性肿瘤, 随着生活方式的改变, 该病在世界范围发病率呈逐年上升趋势[1]. CRC是大肠黏膜在环境及遗传等多种致病因素作用下发生的恶性转变. 与各系统肿瘤相同, CRC的易感性和发展是基因-环境共同作用的结果, “异常隐窝-腺瘤-结直肠癌”这一发生途径中的细胞及分子生物学机制已经得到了广泛的研究. 然而, 人类对CRC发生发展过程中环境因素的作用的认识却明显不足. 近年来, 随着第2代测序技术的广泛应用, 人们逐渐发现人体内的微生物作为重要的环境因素在CRC的发生和发展过程中发挥着重要作用. 人类对微生物与肿瘤发生关系的认识由来已久, 包括幽门螺杆菌与胃癌和胃黏膜相关淋巴组织淋巴瘤以及华支睾吸虫与肝癌等. 本综述中我们将介绍肠道微生物与CRC发生发展的关系.

1 肠道内微生物

人体消化系内生活着大量的微生物, 人肠道内微生物细胞数量达到10^{14}, 是人体细胞总数的10倍[2], 其种类也多达1000种, 他们构成了人类消化系独特的微生态环境. 高通量测序技术显示人体肠道微生物主要有7大门组成: 厚壁菌门、拟杆菌门、变形菌门、放线菌门、梭杆菌门、疣微球菌门以及与蓝菌门较接近的未分类菌群. Eckburg等[3]通过测定肠道黏膜与粪便中的原核生物核糖体RNA基因序列发现, 大多数肠内有机体大都属于厚壁菌门和拟杆菌门. 随着研究的深入, 人们逐渐意识到肠道微生物与人类不仅仅是简单的共同存在, 而是对彼此具有重大利害关系的共生伙伴: 肠道菌群可以在诸多方面影响人类的生理活动, 如代谢某些药物成分、调节人体免疫应答、抵御外来病原侵害等[4-7].

肠道菌群失调与众多消化系统疾病关系密切, 包括慢性腹泻、胰腺炎、肝硬化、肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)、炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD), 甚至CRC[7,8]. IBS既往被认为是一种胃肠道功能性疾病, 但近年来逐渐被认识到他是一种免疫-炎症模式的胃肠道疾病. 流行病学和临床资料均表明肠道微生物与IBS之间存在着密切的关系[9]. 肠道微生物及其代谢产物同样参与了IBD的发生. 有研究证实, 回肠黏膜上皮黏膜侵袭性大肠埃希菌、副结核分枝杆菌与克罗恩病(Crohn's disease, CD)关系密切; 沙门菌属、空肠弯曲菌属等相关致病菌感染可能增加IBD发生或复发的风险[10]. 目前诸多研究证实某些细菌与CRC的发生有关, 主要有牛链球菌、拟杆菌属的某些种(如脆弱拟杆菌)、大肠埃希菌的某些种等[11]. CRC患者和健康个体的肠道菌群结构有显著差异, 这主要表现为有害菌的增加和有益菌的减少, 可能是宿主和菌群的相互作用使结肠黏膜偏离正常健康状态, 最终导致疾病的发生[12]. 探讨肠道微生态环境改变与CRC发生发展之间的关系将不仅有助于揭示CRC的发生机制, 还将对临床肿瘤的预防产生深远的影响.

2 肠道微生物与CRC

肠道肿瘤的发生与肠道内微生物的负荷量密切相关, 有动物模型证实, 易患CRC的转基因鼠在缺失肠道微生物的情况下肿瘤形成率显著降低[13]. 随着研究肠道菌群的利器-第2代高通量测序方法的出现, 肠道微生物与CRC的关系得到进一步的揭示. 目前的研究认为, 肠道微生物的构成是影响肿瘤发生的重要因素, 一些肠道菌群促进CRC的发生, 例如脱硫弧菌属(*Desulfovibrio*)、大肠杆菌(*Escherichia coli*, *E. coli*)和粪肠球菌(*Enterococcus faecalis*)的含量在CRC患者高于健康人群[12]. 另外, 一些研究发现[14-16]研究发现, 一些特殊类型*E. coli*、变形菌(*Proteobacteria*)、产肠毒素脆弱拟杆菌(*Enterotoxigenic Bacteroides fragilis*, *ETBF*)、杆菌/普雷沃氏菌属(*Bacteroides/Prevotella spp.*)、弯曲杆菌(*Campylobacter*)、消化链球菌(*Peptostreptococcus*)等被发现在CRC患者结肠中的含量远高于正常对照人群.

一些肠道菌群则抑制CRC的发生, 例如嗜酸乳杆菌(*Lactobacillus acidophilus*)和长双歧杆菌(*Bifidobacterium longum*)可降低致癌剂诱导的CRC的发生[16], 这些益生菌能够抑制大肠癌的发生已经得到了广泛的动物研究的支持. 一项研究报道了鼠李糖乳杆菌GG(*Lactobacillus rhamnosus GG*, *L.GG*)和嗜酸乳杆菌对1,2-二甲肼(1,2-dimethyl hydrazine, DMH)模型诱导形成的异常隐窝灶(aberrant crypt foci, ACF)的抑制作用[17]. 给予脂磷壁酸(lipoteichoicacid, LTA)缺乏的嗜酸乳酸杆菌可以保护小鼠预防结肠炎, 并

且引起结肠腺瘤的退化[18]. 另外, 口服益生菌合剂能阻止肉类喂食大鼠的DNA损伤, 减少有害物质的生成, 降低其诱发癌变的可能[19].

令人意外的是, 肠道菌群甚至影响到肿瘤的治疗, 烷化剂环磷酰胺的抗肿瘤免疫作用有赖于肠道微生物的移位[14]. 有研究表明, 环磷酰胺会改变小鼠小肠内的菌群结构, 导致某些革兰阳性细菌转移至二级淋巴器官. 这些细菌会刺激病原T辅助17(“pathogenic” T helper 17, pTh17)细胞和记忆Th1细胞免疫应答从而促进抗癌作用[20]. 而利用广谱抗生素抑制肠道菌群后或无菌动物对奥沙利铂的治疗无应答[21]. 因此, 肿瘤治疗的最佳应答要求一个完整的肠道共生微生物菌群, 他通过调节在肿瘤微环境中的骨髓来源的细胞功能来介导他的效应[22]. 由此可见, 肠道内的微生物的作用广泛且复杂, 目前的研究方兴未艾.

3 肠道微生物参与CRC的机制

肠道菌群是人类肿瘤发生的重要环境因素[23], 在无菌小鼠肠道中特异性的定植某种细菌, 证明了微生物在炎症性肠病及结肠肿瘤形成中的直接作用[13], 然而他们参与肿瘤发生和发展的机制尚不完全清楚. 目前学术界主流的学术观点认为, 肠道内微生物所致的局部和全身的慢性炎症是导致肿瘤发生的主要机制[24], 慢性结肠炎的持续时间与严重程度与CRC密切相关, 是CRC发生的一个重要危险因子[25,26]. 过高水平的革兰氏阴性细菌, 包括*E. coli*, 可以导致肠道通透性的改变、内毒素血症、和与肥胖及IBD相关的炎症反应[27]. 肠道菌群能够诱导黏膜渗透性的改变、促进细菌和细菌毒素的转位并引起炎症反应, 从而加速癌症进展[28]. 临床调查资料显示, 活动性UC患者病程超过30年, 其肠道炎症相关CRC的累积发病风险增加到18%-20%, CD患者为8%[29], 因此抗炎药物-阿司匹林已经成为CRC一级预防方案以及辅助治疗手段.

病理及分子生物学深入研究显示, 肠道菌群失衡所致慢性炎症能够促进结肠表皮细胞活性氧以及一氧化氮(NO)的释放, 进而诱发DNA的损伤和破坏细胞基因组的稳定性, 从而诱发肿瘤的发生[30]. 粪肠球菌已经被揭示与结肠炎相关的CRC有关, 他可以释放细胞外超氧化物, 而当细胞外超氧化物被过氧化氢转化时可导致DNA损伤和染色体的不稳定[31]. 炎症过程中产生的细胞因子和趋化因子也通过促进血管形成以及抑制抗肿瘤免疫反应等多个阶段参与肿瘤的增殖和存活, 这些因子包括肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α), 白介素-6(interleukin-6, IL-6)、IL-17和IL-23等[32].

肠道菌群的代谢产物也可能成为潜在的致癌物, 进而促进CRC的发生. 肠道内微生物将某些植物来源的食物代谢有生物活性的化合物, 例如, 肠木脂素, 可能在癌症形成中起了一定的作用[33]. 在由包括毒性脆弱拟杆菌在内的某些厌氧菌作用、产生酶的早期解离和初级胆汁酸脱羟基后, 次级胆汁酸形成[34]. 有毒的胆汁酸积累触发氧化损伤、线粒体功能障碍和肿瘤的进展[35].

虽然浸润性$CD4^+$ Th1细胞和$CD8^+$细胞毒性T细胞是CRC预后良好的标志, 但是髓样细胞和T-辅助产IL-17-细胞(Th17)促进肿瘤形成[36,37], 而且在I/II期CRC中Th17的特征性表达与无病生存期的急剧缩短有关[38].

另外, 某些蛋白参与保护肠道, 与CRC的发生呈负相关. NOD样受体PYRIN结构域蛋白6(NOD-like receptor pyrin domain-containing protein 6, NLRP6)主要是由肠道肌纤维母细胞分泌, 他能够通过调整组织修复抑制结肠炎症和癌症形成. 缺乏NLRP6的小鼠, 其炎症相关CRC的形成速度加快[39]. Toll样受体衔接蛋白MyD88对于哺乳动物肠道稳态的调节必不可少, 实验表明MyD88缺陷小鼠的结肠易被葡聚糖酸钠(dextran sulfate sodium, DSS)损伤[40].

4 益生菌与CRC

人体肠道内除致病微生物外, 还有一类被统称为“益生菌”的肠道微生物, 他们通过调节宿主黏膜与系统免疫功能或通过改善肠道营养与菌群平衡对宿主产生有益的生理作用. Shadnoush等[41]通过实验证明, 肠道内环境稳定是肠道免疫和抗炎反应之间的平衡, 并可以通过益生菌来维持. 益生菌不仅可以缓解乳糖不耐症, 减轻便秘, 还能减少炎症性肠病的复发、延长缓解期[42]. 在刘芳[43]对于92例炎症性肠病患者的临床研究中, 加用益生菌方案的治疗组, 其患者的主观评价及临床缓解率均高于对照组. Sood等[44]也证实, 在轻度至中度活动期的UC患者中应用益生菌可以明显改善缓解率.

益生元是肠道内不能被酶分解的食物成分,

■相关报道

近年来, 越来越多的学者指出肠道菌群与结直肠癌的紧密关系正迅速地被人们所认识. 他们通过慢性炎症、免疫反应以及自身及代谢产物的毒性作用导致结直肠癌的发生, 甚至影响抗癌药物的治疗效果.

■创新盘点

本文通过总结分析多篇文献, 概述了人体肠道内的微生物. 提出了与结直肠癌有紧密关系的致病菌及他们致结直肠癌的可能作用机制. 还有有益于人体健康的益生菌, 及其较新的临床研究结果.

他可以促进益生菌的生长, 促使其成为优势菌群. 益生元与益生菌合称为合生元. 合生元的应用可使粪便菌群发生显著变化: 双歧杆菌和乳酸杆菌数量增加, 产气荚膜梭菌数量减少, 并能改善息肉切除患者结肠上皮屏障的功能[45].

益生菌通过参与抑制过敏、控制血清胆固醇水平、调节免疫功能和抑制潜在有害细菌的生长等机制预防CRC的发生[46]. 基于他的抗癌特性, 益生菌可以与传统CRC治疗方案(包括外科手术、化疗等)联合应用[47,48]. 他可以提高肠道黏膜屏障的完整性, 减少外科CRC患者感染性并发症的发生[49]. 一些研究分析了益生菌和合生元的作用, 发现两二者能够有效对抗CRC的危险因素. 约氏乳杆菌(*L. johnsonii*)可黏附于结肠黏膜表面, 减少病原体入侵围手术期CRC患者肠道, 调节其局部免疫功能[50]. 除了能缓解一些与CRC治疗相关的不良并发症, 益生菌还可以预防癌症复发, 提高患者的生活质量[51].

5 结论

CRC对人类健康具有重大危害, 这一疾病一直是临床和基础研究的重点. 随着人们对肠道菌群研究的不断完善, 逐渐意识到肠道菌群作为一个整体, 参与到人体的多项代谢、生理活动中, 与人体有着密不可分的关系. 同时, 肠道菌群参与包括CRC在内的多种消化系统疾病的发生发展. 而在CRC的发病过程中, 人体肠道内的菌群结构也发生了明显的变化. 肠道菌群参与CRC发生的机制众多, 包括慢性炎症、免疫反应以及自身及代谢产物的毒性作用等. 益生菌的应用为我们预防和治疗CRC带来新的希望, 但其效果仍需更多的基础和临床研究进行证实. 总之, 深入研究肠道菌群, 将对CRC的预防、治疗机评估带来深远的影响.

6 参考文献

1 万德森. 结直肠癌流行趋势及其对策. 癌症: 英文版 2009; 28: 897-902

2 Savage DC. Microbial ecology of the gastrointestinal tract. *Annu Rev Microbiol* 1977; 31: 107-133 [PMID: 334036 DOI: 10.1146/annurev.mi.31.100177.000543]

3 Eckburg PB, Bik EM, Bernstein CN, Purdom E, Dethlefsen L, Sargent M, Gill SR, Nelson KE, Relman DA. Diversity of the human intestinal microbial flora. *Science* 2005; 308: 1635-1638 [PMID: 15831718 DOI: 10.1126/science.1110591]

4 Illing HP. Techniques for microfloral and associated metabolic studies in relation to the absorption and enterohepatic circulation of drugs. *Xenobiotica* 1981; 11: 815-830 [PMID: 7043912 DOI: 10.3109/00498258109045319]

5 梁仲惠, 梅永红. 肠道菌群失调与消化系疾病. 华南国防医学杂志 2005; 19: 37-40

6 Guarner F. Enteric flora in health and disease. *Digestion* 2006; 73 Suppl 1: 5-12 [PMID: 16498248 DOI: 10.1159/000089775]

7 胡旭, 王涛, 王沥, 金锋. 肠道共生微生物与健康和疾病. 中国微生态学杂志 2012; 24: 1134-1139

8 Hooper LV, Littman DR, Macpherson AJ. Interactions between the microbiota and the immune system. *Science* 2012; 336: 1268-1273 [PMID: 22674334 DOI: 10.1126/science.1223490]

9 Pimentel M, Chang C. Inflammation and microflora. *Gastroenterol Clin North Am* 2011; 40: 69-85 [PMID: 21333901 DOI: 10.1016/j.gtc.2010.12.010]

10 王子恺, 杨云生. 肠道微生物与人类疾病. 解放军医学杂志 2012; 37: 1168-1176

11 Greer JB, O'Keefe SJ. Microbial induction of immunity, inflammation, and cancer. *Front Physiol* 2011; 1: 168 [PMID: 21423403 DOI: 10.3389/fphys.2010.00168]

12 王婷婷. 肠道菌群结构变化与结直肠癌发生发展关系的研究. 上海: 上海交通大学, 2012

13 Tlaskalová-Hogenová H, Stěpánková R, Kozáková H, Hudcovic T, Vannucci L, Tučková L, Rossmann P, Hrnčíř T, Kverka M, Zákostelská Z, Klimešová K, Přibylová J, Bártová J, Sanchez D, Fundová P, Borovská D, Srůtková D, Zídek Z, Schwarzer M, Drastich P, Funda DP. The role of gut microbiota (commensal bacteria) and the mucosal barrier in the pathogenesis of inflammatory and autoimmune diseases and cancer: contribution of germ-free and gnotobiotic animal models of human diseases. *Cell Mol Immunol* 2011; 8: 110-120 [PMID: 21278760 DOI: 10.1038/cmi.2010.67]

14 Sobhani I, Tap J, Roudot-Thoraval F, Roperch JP, Letulle S, Langella P, Corthier G, Tran Van Nhieu J, Furet JP. Microbial dysbiosis in colorectal cancer (CRC) patients. *PLoS One* 2011; 6: e16393 [PMID: 21297998 DOI: 10.1371/journal.pone.0016393]

15 Culpepper BST, Mai V. Evidence for Contributions of Gut Microbiota to Colorectal Carcinogenesis. *Current Nutrition Reports* 2013; 2: 10-18 [DOI: 10.1007/s13668-012-0032-0]

16 Candela M, Turroni S, Biagi E, Carbonero F, Rampelli S, Fiorentini C, Brigidi P. Inflammation and colorectal cancer, when microbiota-host mutualism breaks. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 908-922 [PMID: 24574765 DOI: 10.3748/wjg.v20.i4.908]

17 Verma A, Shukla G. Probiotics Lactobacillus rhamnosus GG, Lactobacillus acidophilus suppresses DMH-induced procarcinogenic fecal enzymes and preneoplastic aberrant crypt foci in early colon carcinogenesis in Sprague Dawley rats. *Nutr Cancer* 2013; 65: 84-91 [PMID: 23368917 DOI: 10.1080/01635581.2013.741746]

18 Khazaie K, Zadeh M, Khan MW, Bere P, Gounari F, Dennis K, Blatner NR, Owen JL, Klaenhammer TR, Mohamadzadeh M. Abating colon cancer polyposis by Lactobacillus acidophilus deficient in lipoteichoic acid. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2012; 109: 10462-10467 [PMID: 22689992 DOI: 10.1073/pnas.1207230109]

19 Zsivkovits M, Fekadu K, Sontag G, Nabinger U, Huber WW, Kundi M, Chakraborty A, Foissy H, Knasmüller S. Prevention of heterocyclic amine-

induced DNA damage in colon and liver of rats by different lactobacillus strains. *Carcinogenesis* 2003; 24: 1913-1918 [PMID: 12970070 DOI: 10.1093/carcin/bgg167]
20 Viaud S, Saccheri F, Mignot G, Yamazaki T, Daillère R, Hannani D, Enot DP, Pfirschke C, Engblom C, Pittet MJ, Schlitzer A, Ginhoux F, Apetoh L, Chachaty E, Woerther PL, Eberl G, Bérard M, Ecobichon C, Clermont D, Bizet C, Gaboriau-Routhiau V, Cerf-Bensussan N, Opolon P, Yessaad N, Vivier E, Ryffel B, Elson CO, Doré J, Kroemer G, Lepage P, Boneca IG, Ghiringhelli F, Zitvogel L. The intestinal microbiota modulates the anticancer immune effects of cyclophosphamide. *Science* 2013; 342: 971-976 [PMID: 24264990 DOI: 10.1126/science.1240537]
21 Nicholson JK, Holmes E, Wilson ID. Gut microorganisms, mammalian metabolism and personalized health care. *Nat Rev Microbiol* 2005; 3: 431-438 [PMID: 15821725 DOI: 10.1038/nrmicro1152]
22 Iida N, Dzutsev A, Stewart CA, Smith L, Bouladoux N, Weingarten RA, Molina DA, Salcedo R, Back T, Cramer S, Dai RM, Kiu H, Cardone M, Naik S, Patri AK, Wang E, Marincola FM, Frank KM, Belkaid Y, Trinchieri G, Goldszmid RS. Commensal bacteria control cancer response to therapy by modulating the tumor microenvironment. *Science* 2013; 342: 967-970 [PMID: 24264989 DOI: 10.1126/science.1240527]
23 刘宝珍, 薛春霞. 肠道菌群与消化系疾病. 内蒙古中医药 2011; 30: 86-88
24 Konstantinov SR, Kuipers EJ, Peppelenbosch MP. Functional genomic analyses of the gut microbiota for CRC screening. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2013; 10: 741-745 [PMID: 24042452 DOI: 10.1038/nrgastro.2013.178]
25 Uronis JM, Mühlbauer M, Herfarth HH, Rubinas TC, Jones GS, Jobin C. Modulation of the intestinal microbiota alters colitis-associated colorectal cancer susceptibility. *PLoS One* 2009; 4: e6026 [PMID: 19551144 DOI: 10.1371/journal.pone.0006026]
26 Uronis JM, Jobin C. Microbes and colorectal cancer: is there a relationship? *Curr Oncol* 2009; 16: 22-24 [PMID: 19672421]
27 Vajro P, Paolella G, Fasano A. Microbiota and gut-liver axis: their influences on obesity and obesity-related liver disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2013; 56: 461-468 [PMID: 23287807 DOI: 10.1097/MPG.0b013e318284abb5]
28 Fukata M, Abreu MT. Role of Toll-like receptors in gastrointestinal malignancies. *Oncogene* 2008; 27: 234-243 [PMID: 18176605 DOI: 10.1038/sj.onc.1210908]
29 Grivennikov SI. Inflammation and colorectal cancer: colitis-associated neoplasia. *Semin Immunopathol* 2013; 35: 229-244 [PMID: 23161445 DOI: 10.1007/s00281-012-0352-6]
30 刘真, 肖斌, 毛旭虎, 邹全明. 炎症与肿瘤的关系研究进展. 现代生物医学进展 2009; 9: 591-594
31 Wang X, Yang Y, Moore DR, Nimmo SL, Lightfoot SA, Huycke MM. 4-hydroxy-2-nonenal mediates genotoxicity and bystander effects caused by Enterococcus faecalis-infected macrophages. *Gastroenterology* 2012; 142: 543-551.e7 [PMID: 22108198 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.11.020]
32 Grivennikov SI, Wang K, Mucida D, Stewart CA, Schnabl B, Jauch D, Taniguchi K, Yu GY, Osterreicher CH, Hung KE, Datz C, Feng Y, Fearon ER, Oukka M, Tessarollo L, Coppola V, Yarovinsky F, Cheroutre H, Eckmann L, Trinchieri G, Karin M. Adenoma-linked barrier defects and microbial products drive IL-23/IL-17-mediated tumour growth. *Nature* 2012; 491: 254-258 [PMID: 23034650 DOI: 10.1038/nature11465]
33 Chong ES. A potential role of probiotics in colorectal cancer prevention: review of possible mechanisms of action. *World J Microbiol Biotechnol* 2014; 30: 351-374 [PMID: 24068536 DOI: 10.1007/s11274-013-1499-6]
34 de Vos WM, de Vos EA. Role of the intestinal microbiome in health and disease: from correlation to causation. *Nutr Rev* 2012; 70 Suppl 1: S45-S56 [PMID: 22861807 DOI: 10.1111/j.1753-4887.2012.00505.x]
35 Degirolamo C, Modica S, Palasciano G, Moschetta A. Bile acids and colon cancer: Solving the puzzle with nuclear receptors. *Trends Mol Med* 2011; 17: 564-572 [PMID: 21724466 DOI: 10.1016/j.molmed.2011.05.010]
36 Mantovani A, Allavena P, Sica A, Balkwill F. Cancer-related inflammation. *Nature* 2008; 454: 436-444 [PMID: 18650914 DOI: 10.1038/nature07205]
37 Grivennikov SI, Greten FR, Karin M. Immunity, inflammation, and cancer. *Cell* 2010; 140: 883-899 [PMID: 20303878 DOI: 10.1016/j.cell.2010.01.025]
38 Tosolini M, Kirilovsky A, Mlecnik B, Fredriksen T, Mauger S, Bindea G, Berger A, Bruneval P, Fridman WH, Pagès F, Galon J. Clinical impact of different classes of infiltrating T cytotoxic and helper cells (Th1, th2, treg, th17) in patients with colorectal cancer. *Cancer Res* 2011; 71: 1263-1271 [PMID: 21303976 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-10-2907]
39 Normand S, Delanoye-Crespin A, Bressenot A, Huot L, Grandjean T, Peyrin-Biroulet L, Lemoine Y, Hot D, Chamaillard M. Nod-like receptor pyrin domain-containing protein 6 (NLRP6) controls epithelial self-renewal and colorectal carcinogenesis upon injury. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011; 108: 9601-9606 [PMID: 21593405 DOI: 10.1073/pnas.1100981108]
40 Kirkland D, Benson A, Mirpuri J, Pifer R, Hou B, DeFranco AL, Yarovinsky F. B cell-intrinsic MyD88 signaling prevents the lethal dissemination of commensal bacteria during colonic damage. *Immunity* 2012; 36: 228-238 [PMID: 22306056 DOI: 10.1016/j.immuni.2011.11.019]
41 Shadnoush M, Shaker Hosseini R, Mehrabi Y, Delpisheh A, Alipoor E, Faghfoori Z, Mohammadpour N, Zaringhalam Moghadam J. Probiotic yogurt Affects Pro- and Anti-inflammatory Factors in Patients with Inflammatory Bowel Disease. *Iran J Pharm Res* 2013; 12: 929-936 [PMID: 24523774]
42 Ouwehand AC, Salminen S, Isolauri E. Probiotics: an overview of beneficial effects. *Antonie Van Leeuwenhoek* 2002; 82: 279-289 [PMID: 12369194 DOI: 10.1023/A:1020620607611]
43 刘芳. 益生菌治疗炎症性肠病的临床研究. 中外医疗 2010; 29: 112-113
44 Sood A, Midha V, Makharia GK, Ahuja V, Singal D, Goswami P, Tandon RK. The probiotic preparation, VSL#3 induces remission in patients with mild-to-moderately active ulcerative colitis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2009; 7: 1202-1209, 1209.e1 [PMID: 19631292 DOI: 10.1016/j.cgh.2009.07.016]
45 Rafter J, Bennett M, Caderni G, Clune Y, Hughes R, Karlsson PC, Klinder A, O'Riordan M, O'Sullivan GC, Pool-Zobel B, Rechkemmer G, Roller M, Row-

■应用要点

在我们现有对肠道细菌与结直肠癌关系认识的基础上, 进一步的研究也许会为预防、筛查和治疗策略提供新的可能性, 例如肠道菌群的检测或可成为结直肠癌早癌筛查的手段. 益生菌在临床上的应用为我们预防和治疗结直肠癌带来新的希望, 但其效果仍需更多的基础和临床研究进行证实.

■同行评价
本文对肠道菌群在结直肠癌发生及其治疗中的作用进行了论述, 选题具有很好的意义. 文献引用较全面, 对最新研究结果进行了引用, 具有较好的价值.

land I, Salvadori M, Thijs H, Van Loo J, Watzl B, Collins JK. Dietary synbiotics reduce cancer risk factors in polypectomized and colon cancer patients. *Am J Clin Nutr* 2007; 85: 488-496 [PMID: 17284748]

46 Commane D, Hughes R, Shortt C, Rowland I. The potential mechanisms involved in the anticarcinogenic action of probiotics. *Mutat Res* 2005; 591: 276-289 [PMID: 16095630 DOI: 10.1016/j.mrfmmm.2005.02.027]

47 Baldwin C, Millette M, Oth D, Ruiz MT, Luquet FM, Lacroix M. Probiotic Lactobacillus acidophilus and L. casei mix sensitize colorectal tumoral cells to 5-fluorouracil-induced apoptosis. *Nutr Cancer* 2010; 62: 371-378 [PMID: 20358475 DOI: 10.1080/01635580903407197]

48 Kahouli I, Tomaro-Duchesneau C, Prakash S. Probiotics in colorectal cancer (CRC) with emphasis on mechanisms of action and current perspectives. *J Med Microbiol* 2013; 62: 1107-1123 [PMID: 23558140 DOI: 10.1099/jmm.0.048975-0]

49 Liu Z, Qin H, Yang Z, Xia Y, Liu W, Yang J, Jiang Y, Zhang H, Yang Z, Wang Y, Zheng Q. Randomised clinical trial: the effects of perioperative probiotic treatment on barrier function and post-operative infectious complications in colorectal cancer surgery - a double-blind study. *Aliment Pharmacol Ther* 2011; 33: 50-63 [PMID: 21083585 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2010.04492.x]

50 Gianotti L, Morelli L, Galbiati F, Rocchetti S, Coppola S, Beneduce A, Gilardini C, Zonenschain D, Nespoli A, Braga M. A randomized double-blind trial on perioperative administration of probiotics in colorectal cancer patients. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 167-175 [PMID: 20066735 DOI: 10.3748/wjg.v16.i2.167]

51 Xia Y, Yang Z, Chen HQ, Qin HL. [Effect of bowel preparation with probiotics on intestinal barrier after surgery for colorectal cancer]. *Zhonghua Weichang Waike Zazhi* 2010; 13: 528-531 [PMID: 20658369]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com
世界华人消化杂志 2014年6月28日; 22(18): 2553-2558
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

研究快报 RAPID COMMUNICATION

SRPX2真核表达载体的构建及其在SW480细胞中的表达

刘揆亮, 周 跃, 吴 静

刘揆亮, 吴静, 首都医科大学附属北京世纪坛医院消化内科 北京市 100038
周跃, 兰州大学第一医院消化内科 甘肃省兰州市 730000
刘揆亮, 医师, 主要从事结直肠癌及其癌前病变的基础与临床研究
北京市自然科学基金资助项目, No. 7133239
北京市卫生系统高层次卫生技术人才培养计划基金资助项目, No. 2011-RC1
作者贡献分布: 此课题由刘揆亮与吴静设计; 实验由刘揆亮与周跃完成; 文章由刘揆亮与吴静撰写.
通讯作者: 吴静, 教授, 主任医师, 100038, 北京市海淀区羊坊店铁医路10号, 首都医科大学附属北京世纪坛医院消化内科.
wujing36@163.com
收稿日期: 2014-04-29 修回日期: 2014-05-09
接受日期: 2014-05-19 在线出版日期: 2014-06-28

Construction of a eukaryotic vector expressing SRPX2 and its expression in cell line SW480

Kui-Liang Liu, Yue Zhou, Jing Wu

Kui-Liang Liu, Jing Wu, Department of Gastroenterology, Beijing Shijitan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100038, China
Yue Zhou, Department of Gastroenterology, the First Hospital Affiliated to Lanzhou University, Lanzhou 730000, Gansu Province, China
Supported by: Beijing Natural Science Foundation, No. 7133239; Senior Talents Training Program of Beijing Health System, No. 2011-RC1
Correspondence to: Jing Wu, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Beijing Shijitan Hospital, Capital Medical University, 10 Yangfangdian Tieyi Road, Haidian District, Beijing 100038, China. wujing36@163.com
Received: 2014-04-29 Revised: 2014-05-09
Accepted: 2014-05-19 Published online: 2014-06-28

Abstract

AIM: To construct a eukaryotic vector expressing sushi repeat-containing protein (SRPX2) [pcDNA3.1(+)-SRPX2] and investigate its transient expression in colon cancer cell line SW480.

METHODS: The cDNA sequence of SRPX2 (NM_014467) was amplified from the total RNA extracted from HCT116 cells using RT-PCR and inserted into the T-vector pMD19 and eukaryotic expression vector pcDNA 3.1(+) sequentially. The resulting pcDNA 3.1-SRPX2 plasmid was identified by double digestion and DNA sequencing. The constructed plasmid was then transfected into colon cancer cell line SW480 using Lipofectamine 2000. The expression levels of SRPX2 mRNA and protein were detected by real-time PCR and Western blot, respectively.

RESULTS: The eukaryotic expression vector pcDNA 3.1-SRPX2 was constructed successfully and verified by double digestion and DNA sequencing. The constructed vector could express mature SRPX2 protein correctly in colon cancer cell line SW480.

CONCLUSION: Successful construction of the eukaryotic expression vector pcDNA 3.1-SRPX2 provides an experimental basis for further study of functions of the *SRPX2* gene in colorectal cancer.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Sushi repeat-containing protein X-Linked 2; Colorectal cancer

Liu KL, Zhou Y, Wu J. Construction of a eukaryotic vector expressing SRPX2 and its expression in cell line SW480. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(18): 2553-2558 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2553.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i18.2553

摘要

目的: 构建人含sushi重复蛋白X连锁2(sushi repeat-containing protein, X-linked 2, *SRPX2*)基因真核表达载体pcDNA3.1-SRPX2, 并在结肠癌细胞系SW480中瞬时表达.

方法: 采用逆转录PCR方法从人结直肠癌HCT116细胞总RNA中扩增出SRPX2 CDS区的cDNA片段, 先后与T载体pMD19及真核表达载体pcDNA3.1连接, 重组质粒经双酶切和测序鉴定无误后, 采用Lipofectamine 2000瞬时转染SW480细胞, 应用实时荧光定量PCR及免疫印迹法检测SRPX2 mRNA及蛋白的表达水平.

结果: 成功构建真核表达载体pcDNA3.1-

■背景资料
含sushi重复蛋白X连锁2(sushi repeat-containing protein, X-linked 2, SRPX2)是一种新发现的硫酸软骨素蛋白聚糖, 具有参与癫痫发作、血管生成、细胞黏附等多种作用, 是细胞外基质的重要成分. 近年发现SRPX2可能在胃癌及结肠癌中发挥一定的作用.

■同行评议者
李正荣, 副主任医师, 副教授, 南昌大学附属第一医院胃肠外科(普六病区)

■研发前沿
蛋白聚糖是ECM的主要成分之一，各类蛋白多糖可通过与各自不同的配体及受体相结合，影响肿瘤的发展. 对蛋白多糖在肿瘤中发挥功能的深入认识对于揭示肿瘤的发病机制及开发新的治疗手段具有重要意义.

SRPX2, 测序和双酶切鉴定结果均正确, 载体能在SW480细胞中上调SRPX2 mRNA表达, 并正确表达SRPX2蛋白.

结论: 成功构建SRPX2真核表达载体, 为进一步研究*SRPX2*基因在结直肠癌中的功能奠定了基础.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 含sushi重复蛋白X连锁2; 结直肠癌

核心提示: 本文成功的从HCT116细胞系调取了含sushi重复蛋白X连锁2(sushi repeat-containing protein, X-linked 2, *SRPX2*)基因, 构建了SRPX2真核表达载体, 并证实其可在SW480中上调SRPX2 mRNA水平, 并正确表达SRPX2蛋白, 为深入研究SRPX2在结肠癌中的功能做出了铺垫.

刘揆亮, 周跃, 吴静. SRPX2真核表达载体的构建及其在SW480细胞中的表达. 世界华人消化杂志 2014; 22(18): 2553-2558
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2553.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i18.2553

0 引言

含sushi重复蛋白X连锁2(sushi repeat-containing protein, X-linked 2, SRPX2)是一种硫酸软骨素蛋白聚糖(chondroitin sulfate proteoglycan, CSPG)[1], 其基因最早于1999年由Kurosawa等[2]在白血病细胞中发现, 为*E2A-HLF*融合基因的下游靶基因. 后续研究发现其具有参与癫痫发作、血管生成、细胞黏附等多种作用, 是细胞外基质的重要成分[3]. 新近一些研究提示SRPX2可能在胃癌及结肠癌中发挥一定作用[4], 但目前尚缺乏深入研究. 我们构建了SRPX2真核表达载体, 为进一步研究其在结肠癌中的功能奠定了基础.

1 材料和方法

1.1 材料 人结肠癌细胞系SW480及HT-29均购自北京协和细胞资源中心, 常规培养分别使用含10%FBS(HyClone)的IMDM培养基(HyClone)和DMEM/F12培养基(Neuronbc); 人结直肠癌HCT116细胞系由中国医学科学院药物研究所馈赠, 常规培养使用含10%FBS(HyClone)的RPMI 1640培养基(Neuronbc). pcDNA3.1(+)真核表达质粒购于Invitrogen公司. DNA凝胶回收试剂盒、西班牙琼脂糖、RNA提取试剂盒、PrimeScript™逆转录PCR试剂盒与PrimeSTAR HS DNA聚合酶、MiniBEST Agarose Gel DNA提取试剂盒均购自Takara公司; 兔抗人SRPX2抗体(NBP1-86999)购自Novus公司; 鼠抗人GAPDH抗体购自Santa Cruz公司; 6孔细胞培养板购自BD falcon公司; Lipofectamine 2000购自Invitrogen公司; 重组表达质粒测序由宝生物工程(大连)有限公司完成. PCR引物由上海生工公司合成, 实时荧光定量通用试剂购自北京全式金公司; PVDF膜、细胞蛋白提取液、SDS-PAGE凝胶配制试剂盒、SDS蛋白上样缓冲液及预染蛋白Marker均购自北京博然一新公司.

1.2 方法

1.2.1 结肠癌细胞株SRPX2表达含量分析: 根据Oncomine数据库分析结果, 初步选择HCT116、HT29、SW480三株细胞, 采用实时荧光定量PCR分析SRPX2 mRNA表达含量.

1.2.2 基因的扩增及克隆: 根据*SRPX2*基因序列(NM_014467)设计扩增引物, 提取HCT116细胞总RNA, RT-PCR扩增*SRPX2*基因CDS区(1398 bp). 5'端添加Kozak序列, 两侧添加*Hind* Ⅲ/*EcoR* Ⅰ酶切位点. 扩增引物设计如下: SRPX2-F 01 5'-AAGCTTGCCACCATGGCCAGTCAGCTAACTCA-3'; SRPX2-R01: 5'-GAATTCTCACTCGCATATGTCCCTTTG-3'; SRPX2-F02: 5'-GATGGCTGACTTCTGAAAGTC-3'; SRPX2-R02: 5'-GTCCTGTCCCTAGAACTGTG-3'. PCR反应体系共50 μL, 反转录反应液2 μL, 含5×PCR反应Buffer 10.0 μL; dNTP 混合物4 μL, 上下游引物各0.5 μL(10 pmol), DNA聚合酶0.5 μL(1.25 U), 加水补足. PCR扩增反应条件为98 ℃ 10 s, 55 ℃ 15 s, 72 ℃ 90 s, 共30个循环, 72 ℃延伸5 min. 变性5 min, 95 ℃ 30 s, 66 ℃ 30 s, 72 ℃ 1 min, 20个循环后, 72 ℃延伸7 min. 各取产物5 μL进行琼脂糖凝胶电泳. 对符合要求的PCR产物进行切胶, 回收. 测序验证后进行连接处理. 使用T4 DNA连接酶将目的DNA与T载体pMD19(Simple)连接, 热转化至*E. coli*感受态细胞JM109中, 涂布平板, 37 ℃过夜培养. 挑选阳性菌落植菌, 提取阳性克隆质粒. 之后再次进行测序.

1.2.3 pcDNA3.1-SRPX2质粒的构建与酶切鉴定: 重组子T载体pMD19-SRPX2, 表达载体pcDNA3.1(+)分别经*EcoR* Ⅰ与*Hind* Ⅲ酶切后, 从凝胶中分别回收*SRPX2*目的基因和表达载体pcDNA3.1. 使用T4 DNA连接酶进行连接反应, 热转化至*E. coli*感受态细胞JM109中, 涂布平板, 37 ℃过夜培养, 挑选两个阳性菌落植菌

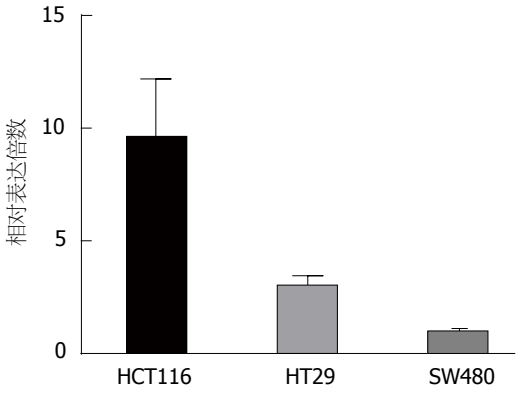


图 1 三种结肠癌细胞系中SRPX2 mRNA的表达水平. SRPX2: 含sushi重复蛋白X连锁2.

并提取质粒, 分别命名为pcDNA3.1-SRPX2-1、pcDNA3.1-SRPX2-2, 使用*Hind* Ⅲ/*EcoR* Ⅰ进行双酶切鉴定, 各取10 μL进行1%琼脂糖凝胶电泳. 1.2.4 pcDNA3.1-SRPX2重组质粒转染SW480细胞: 以每孔1.6×10^6个细胞数铺板(6孔板), 用含10%FBS的IMDM培养基(不含双抗)放置于37 ℃、5%CO_2培养箱中培养, 24 h后取出, 参照Lipofectamine 2000说明书以DNA: Lipofectamine 2000 = 4 μg∶8 μL比例将重组质粒转染6孔板中的SW480细胞, 6 h后弃去转染上清液, 重新加入培养基, 24 h后收集细胞提取mRNA进行实时荧光定量PCR检测, 48 h后收集细胞提取蛋白进行Western blot检测. 分为3组: (1)转染pcDNA3.1-SRPX2质粒; (2)转染空质粒pcDNA3.1; (3)空白对照的SW480细胞.

1.2.5 实时荧光定量PCR检测: 参照试剂盒说明书, TRIzol法抽提细胞总RNA, 取总RNA 1 μg, 以Oligo dT为引物逆转录合成cDNA第一链, 以此cDNA链2 μL为模板进行PCR扩增. SRPX2引物采用跨内含子设计, 序列为: F: 5'-AGTCACTTTCCTTTGCCCTGG-3'; R: 5'-CGGATAGTAGCCAGAACCTGC-3'. 以GAPDH为内参. PCR反应条件为: 95 ℃, 预变性3 min, 95 ℃ 30 s; 52 ℃ 45 s; 72 ℃ 45 s; 35个循环后72 ℃再延伸7 min. 采用$2^{-\Delta\Delta Ct}$进行相对定量分析.

1.2.6 蛋白的Western blot检测: 以每孔20 μg的蛋白总量将样品在10%SDS-PAGE上分离后湿转到PVDF膜上, 5%BSA封闭2 h后, 分别与SRPX2及GAPDH一抗(5%BSA稀释)于4 ℃摇床孵育过夜, 洗膜完成后将其放入生物素标记的抗体中, 37 ℃摇床封闭1.5 h, 再将其放入辣根酶标记链霉卵白素中, 置于37 ℃摇床0.5 h, 室温摇床孵育1 h, 洗脱30 min后, 表面滴加eECL化学发光液, 于化学发光成像系统中曝光显影.

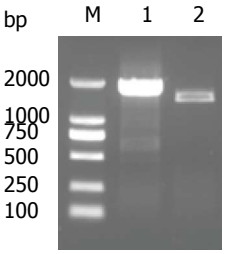


图 2 SRPX2 CDS区扩增后PCR产物验证. M: DNA marker (DL2000); 1: SRPX2-F 01/R01扩增产物; 2: SRPX2-F 02/R02扩增产物组. SRPX2: 含sushi重复蛋白X连锁2.

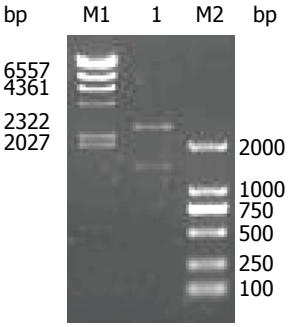


图 3 T载体 pMD19-SRPX2酶切验证. M1: DNA marker(λ-*Hind* Ⅲ digest); 1: T载体pMD19-SRPX2经*Hind* Ⅲ/*EcoR* Ⅰ酶切后产物; M2: DNA marker(DL2000). SRPX2: 含sushi重复蛋白X连锁2.

2 结果

2.1 实时荧光定量PCR方法验证SRPX2在SW480、HT29、HCT116细胞系中的表达 实时荧光定量PCR方法分析SRPX2 mRNA在SW480、HT29、HCT116三种细胞系中的表达情况, 结果提示HCT116中SRPX2 mRNA表达量最高, HT29次之, SW480中表达量最低(图1), 因此本实验选择从HCT116细胞系中获取*SRPX2*基因并构建高表达载体, 继而转染SW480细胞系.

2.2 *SRPX2*基因的克隆及核酸序列分析 采用两种引物分别由RT-PCR扩增*SRPX2*基因CDS 区, 1.0%琼脂糖凝胶电泳检测见SRPX2-F02/R02扩增者于约1.4 kb处见一特异性条带(图2), 与预期相符. 经测序证实该序列与Genbank提供序列(NM_014467)完全相符. 将该片段连接至T载体pMD19上, 经*Hind* Ⅲ/*EcoR* Ⅰ酶切, 1.0%琼脂糖凝胶电泳检测见分别位于2.7及1.4 kb的两条条带(图3), 与预期相符. 再次测序仍与目的序列完全相符.

2.3 重组真核表达质粒pcDNA3.1-SRPX2的双酶切鉴定 重组真核表达质粒pcDNA3.1-SRPX2-1,

■相关报道

Tanaka等通过从胃癌细胞系44As3中调取*SRPX2*基因, 将其转染至HEK293细胞系, 构建SRPX2条件培养基, 发现外源性SRPX2具有促进胃癌细胞迁移和黏附的作用.

■创新盘点

本文首次从HCT116细胞系中调取了*SRPX2*基因，成功构建了SRPX2真核表达载体，并通过实时荧光定量PCR及Western blot证实该载体可在结肠癌细胞中正确表达SRPX2蛋白.

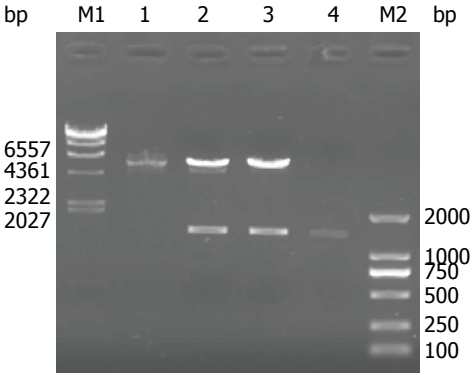


图 4 重组pcDNA3.1-SRPX2质粒双酶切鉴定. M1: DNA marker(λ-*Hind* Ⅲ digest); 1: pcDNA 3.1; 2: pcDNA3.1-SRPX2-1-*Hind* Ⅲ/*EcoR* Ⅰ; 3: pcDNA3.1-SRPX2-2-*Hind* Ⅲ/*EcoR* Ⅰ; 4: SRPX2 DNA; M2: DNA marker(DL2000).

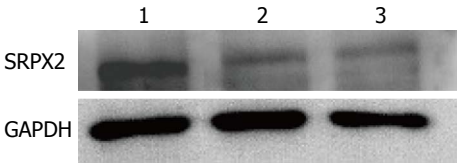


图 6 重组真核表达质粒pcDNA3.1-SRPX2转染SW480细胞后Western blot检测结果. 1: 转染重组质粒的SW480细胞; 2: 转染pcDNA3.1的对照组细胞; 3: 空白对照的SW480细胞.

pcDNA3.1-SRPX2-2经*Hind* Ⅲ/*EcoR* Ⅰ酶切后鉴定，pcDNA3.1-SRPX2-2可得到大约为2900和1400 bp的两条条带，与预期相符(图4). 选择该质粒进行后续实验.

2.4 重组质粒转染后SRPX2在SW480细胞中的表达 SRPX2真核表达载体pcDNA3.1-SRPX2转染细胞24 h后实时荧光定量PCR检测见SRPX2 mRNA表达较空白对照组和空载体转染组明显上调(图5). 48 h后Western blot检测到转染组细胞裂解液中SRPX2表达水平明显上调，对照组和空载体转染组SW480细胞中可见较弱的SRPX2 mRNA及蛋白表达(图6)，结果证实所构建的表达载体能在SW480细胞中上调SRPX2 mRNA水平，正确表达SRPX2蛋白.

3 讨论

SRPX2蛋白由465个氨基酸组成，含有1个信号序列、3个sushi重复结构域和1个HYR(hyaline repeat)结构域[5]. *SRPX2*基因表达于脑神经元以及心、肺、气管等多种正常组织，在外周血、脑脊液、骨髓中表达量甚低[2,6]，其基因突变可致大脑中央沟和外侧裂言语区癫痫发作、发育性言语失用和双侧外侧裂综合征的脑发育畸形[7,8]. 还有研究提示人*SRPX2*基因可在小鼠体内调节神经

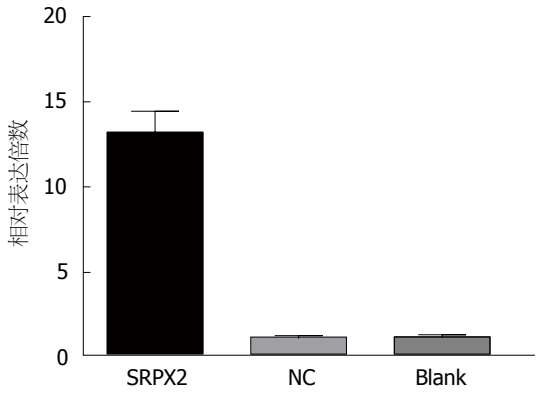


图 5 高表达载体转染SW480后SRPX2 mRNA相对表达变化. SRPX2: 实验组，转染重组质粒的SW480细胞; NC: 阴性对照，转染pcDNA3.1的SW480细胞; Blank: 空白对照的SW480细胞.

突触的形成[9]，而在大鼠中沉默SRPX2的表达可影响其神经系统发育，造成神经元移行缺陷[10]. Tanaka[1]及Wilson[3]等最近的研究通过生物化学分析证实SRPX2为一含糖胺聚糖(glycosaminoglycan, GAG)链的CSPG. Wilson等[3]的蛋白质组学研究证实SRPX2为一种新发现的ECM蛋白.

近年来的一些研究发现SRPX2可能在胃肠道肿瘤中发挥一定作用[4]. Tanaka等[1,6]发现SRPX2在胃癌、结直肠癌等多种人类肿瘤细胞株中呈过表达，且胃癌组织、结直肠癌组织中SRPX2表达量均显著高于非癌黏膜[6]. 最近，Yamada等[11]检测了227例未经治疗的胃癌患者癌组织及其癌旁配对组织中SRPX2 mRNA的表达水平，发现SRPX2的表达水平与肿瘤体积及远处转移相关，SRPX2表达水平较高的患者生存期明显缩短，且多因素分析中，SRPX2的表达水平为生存的一项独立危险因素. 不过，Wang等[12]检测胃癌患者术前的外周血有核细胞中SRPX2表达，发现与健康志愿者间SRPX2表达量无明显差异. 进一步的研究发现，采用SRPX2条件培养基培养胃癌细胞株SNU-16时可明显促进该细胞株的迁移活性，外源性SRPX2还可显著增强胃癌细胞株SNU-16和HSC-39细胞的黏附能力，并上调其FAK磷酸化水平，提示外源性SRPX2可能通过FAK信号途径影响胃癌细胞的生物学行为[6]. 此外，还有研究发现SRPX2可与uPAR结合，并可作用于血管内皮细胞而发挥促血管生成作用[13-15]. Øster等[16]也证实SRPX2在结肠癌组织中表达明显上调. 但目前还缺少有关SRPX2在结肠癌中具体作用的研究.

基因克隆、基因转染是明确基因功能的主要研究手段. 目前针对SRPX2在胃肠道肿瘤

中功能的研究较少, 根据文献报道, 仅有Tanaka等进行了SRPX2的高表达载体构建[6]. 他们从胃癌细胞系44As3中调取*SRPX2*基因后克隆至pcDNA3.1载体, 并将其转染至HEK293细胞系, 通过构建SRPX2条件培养基, 主要关注了外源性SRPX2对于胃癌细胞系生物学行为的影响[6]. 而目前尚无研究关注内源性SRPX2表达升高在结肠癌中的影响. 本研究中, 我们在检索oncomine数据库后选取了HCT116、HT29、SW480三株结肠癌细胞, 通过实时荧光定量PCR证实SRPX2在HCT116细胞系中存在相对高表达, 在SW480中为相对低表达, 继而采用逆转录PCR方法从HCT116中克隆了*SRPX2*基因CDS区, 通过T-A克隆连接至简单载体[17], 载体构建过程中, 在翻译起始点5'上游添加Kozak序列有助于增强基因的表达水平. 成功构建载体后, 两次测序均证实所克隆的片段与NCBI提供的序列一致. 之后我们成功将SRPX2 cDNA片段连接至常用的pcDNA3.1(+)载体上, 并将高表达载体转染至SW480细胞中. 我们采用实时荧光定量PCR和Western blot对转染重组质粒后SW480细胞内SRPX2 mRNA及蛋白表达水平变化进行了评价. 我们通过设计跨内含子的引物, 避免了实时定量PCR过程中表达载体所含目的基因cDNA对定量结果的影响. PCR及Westen blot也证实转染后目的基因mRNA及其蛋白表达增高, 证实我们所构建的重组质粒可在SW480细胞中正确表达SRPX2蛋白.

总之, 我们在本研究中成功构建了SRPX2的真核表达载体, 并对其在SW480中表达SRPX2蛋白的作用进行了验证, 为之后研究内源性SRPX2表达增强对结肠癌细胞的作用以及后续研究奠定了坚实的基础.

4 参考文献

1 Tanaka K, Arao T, Tamura D, Aomatsu K, Furuta K, Matsumoto K, Kaneda H, Kudo K, Fujita Y, Kimura H, Yanagihara K, Yamada Y, Okamoto I, Nakagawa K, Nishio K. SRPX2 is a novel chondroitin sulfate proteoglycan that is overexpressed in gastrointestinal cancer. *PLoS One* 2012; 7: e27922 [PMID: 22242148]

2 Kurosawa H, Goi K, Inukai T, Inaba T, Chang KS, Shinjyo T, Rakestraw KM, Naeve CW, Look AT. Two candidate downstream target genes for E2A-HLF. *Blood* 1999; 93: 321-332 [PMID: 9864177]

3 Wilson R, Norris EL, Brachvogel B, Angelucci C, Zivkovic S, Gordon L, Bernardo BC, Stermann J, Sekiguchi K, Gorman JJ, Bateman JF. Changes in the chondrocyte and extracellular matrix proteome during post-natal mouse cartilage development. *Mol Cell Proteomics* 2012; 11: M111.014159 [PMID: 21989018]

4 刘揆亮, 余瑞金, 吴静. 硫酸软骨素蛋白聚糖SRPX2在胃肠道肿瘤中的作用. 胃肠病学 2014; 19: 124-126

5 O'Leary JM, Bromek K, Black GM, Uhrinova S, Schmitz C, Wang X, Krych M, Atkinson JP, Uhrin D, Barlow PN. Backbone dynamics of complement control protein (CCP) modules reveals mobility in binding surfaces. *Protein Sci* 2004; 13: 1238-1250 [PMID: 15096630]

6 Tanaka K, Arao T, Maegawa M, Matsumoto K, Kaneda H, Kudo K, Fujita Y, Yokote H, Yanagihara K, Yamada Y, Okamoto I, Nakagawa K, Nishio K. SRPX2 is overexpressed in gastric cancer and promotes cellular migration and adhesion. *Int J Cancer* 2009; 124: 1072-1080 [PMID: 19065654]

7 Roll P, Rudolf G, Pereira S, Royer B, Scheffer IE, Massacrier A, Valenti MP, Roeckel-Trevisiol N, Jamali S, Beclin C, Seegmuller C, Metz-Lutz MN, Lemainque A, Delepine M, Caloustian C, de Saint Martin A, Bruneau N, Depétris D, Mattéi MG, Flori E, Robaglia-Schlupp A, Lévy N, Neubauer BA, Ravid R, Marescaux C, Berkovic SF, Hirsch E, Lathrop M, Cau P, Szepetowski P. SRPX2 mutations in disorders of language cortex and cognition. *Hum Mol Genet* 2006; 15: 1195-1207 [PMID: 16497722]

8 Royer B, Soares DC, Barlow PN, Bontrop RE, Roll P, Robaglia-Schlupp A, Blancher A, Levasseur A, Cau P, Pontarotti P, Szepetowski P. Molecular evolution of the human SRPX2 gene that causes brain disorders of the Rolandic and Sylvian speech areas. *BMC Genet* 2007; 8: 72 [PMID: 17942002]

9 Sia GM, Clem RL, Huganir RL. The human language-associated gene SRPX2 regulates synapse formation and vocalization in mice. *Science* 2013; 342: 987-991 [PMID: 24179158]

10 Salmi M, Bruneau N, Cillario J, Lozovaya N, Massacrier A, Buhler E, Cloarec R, Tsintsadze T, Watrin F, Tsintsadze V, Zimmer C, Villard C, Lafitte D, Cardoso C, Bao L, Lesca G, Rudolf G, Muscatelli F, Pauly V, Khalilov I, Durbec P, Ben-Ari Y, Burnashev N, Represa A, Szepetowski P. Tubacin prevents neuronal migration defects and epileptic activity caused by rat Srpx2 silencing in utero. *Brain* 2013; 136: 2457-2473 [PMID: 23831613]

11 Yamada T, Oshima T, Yoshihara K, Sato T, Nozaki A, Shiozawa M, Ota M, Yoshikawa T, Akaike M, Numata K, Rino Y, Kunisaki C, Tanaka K, Imada T, Masuda M. Impact of overexpression of Sushi repeat-containing protein X-linked 2 gene on outcomes of gastric cancer. *J Surg Oncol* 2014; 109: 836-840 [PMID: 24700475]

12 Wang YY, Li L, Zhao ZS, Wang HJ. Clinical utility of measuring expression levels of KAP1, TIMP1 and STC2 in peripheral blood of patients with gastric cancer. *World J Surg Oncol* 2013; 11: 81 [PMID: 23548070]

13 Royer-Zemmour B, Ponsole-Lenfant M, Gara H, Roll P, Lévêque C, Massacrier A, Ferracci G, Cillario J, Robaglia-Schlupp A, Vincentelli R, Cau P, Szepetowski P. Epileptic and developmental disorders of the speech cortex: ligand/receptor interaction of wild-type and mutant SRPX2 with the plasminogen activator receptor uPAR. *Hum Mol Genet* 2008; 17: 3617-3630 [PMID: 18718938]

14 Miljkovic-Licina M, Hammel P, Garrido-Urbani S, Bradfield PF, Szepetowski P, Imhof BA. Sushi repeat protein X-linked 2, a novel mediator of angiogenesis.

■应用要点

本文成功构建了SRPX2真核表达载体, 并成功转染大肠癌细胞系, 为后续研究奠定了实验基础.

■同行评价
本文有一定创新性, 有一定的临床价值.

FASEB J 2009; 23: 4105-4116 [PMID: 19667118]
15 Roll P, Vernes SC, Bruneau N, Cillario J, Ponsole-Lenfant M, Massacrier A, Rudolf G, Khalife M, Hirsch E, Fisher SE, Szepetowski P. Molecular networks implicated in speech-related disorders: FOXP2 regulates the SRPX2/uPAR complex. *Hum Mol Genet* 2010; 19: 4848-4860 [PMID: 20858596]
16 Øster B, Linnet L, Christensen LL, Thorsen K, Ongen H, Dermitzakis ET, Sandoval J, Moran S, Esteller M, Hansen TF, Lamy P, Laurberg S, Ørntoft TF, Andersen CL. Non-CpG island promoter hypomethylation and miR-149 regulate the expression of SRPX2 in colorectal cancer. *Int J Cancer* 2013; 132: 2303-2315 [PMID: 23115050]
17 Marchuk D, Drumm M, Saulino A, Collins FS. Construction of T-vectors, a rapid and general system for direct cloning of unmodified PCR products. *Nucleic Acids Res* 1991; 19: 1154 [PMID: 2020552]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年6月28日; 22(18): 2559-2564
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

研究快报 RAPID COMMUNICATION

Urantide对急性肝衰竭小鼠肝组织中IRF3表达的影响

汪小庭, 涂文娟, 刘亮明, 梁冬雨, 于芳苹, 赵 亮, 叶长根, 杨志文, 高得勇

汪小庭, 涂文娟, 刘亮明, 于芳苹, 赵亮, 南京医科大学附属上海松江中心医院感染科 上海市 201600
刘亮明, 梁冬雨, 叶长根, 杨志文, 高得勇, 上海交通大学附属第一人民医院松江分院感染科 上海市 201600
汪小庭, 主治医师, 主要从事肝衰竭和肝损伤的研究.
国家自然科学基金资助项目, Nos. 81070357, 30660066
作者贡献分布: 本文由刘亮明设计; 研究操作过程由汪小庭、涂文娟、梁冬雨、于芳苹、赵亮及叶长根完成; 实验技术由刘亮明、杨志文及高得勇指导; 本论文写作由刘亮明与汪小庭完成
通讯作者: 刘亮明, 教授, 主任医师, 201600, 上海市松江区中山中路746号, 上海交通大学附属第一人民医院松江分院感染科. liuliangming@hotmail.com
收稿日期: 2014-03-28 修回日期: 2014-05-04
接受日期: 2014-05-06 在线出版日期: 2014-06-28

Urantide inhibits hepatic IRF3 expression in acute liver failure mice

Xiao-Ting Wang, Wen-Juan Tu, Liang-Ming Liu, Dong-Yu Liang, Fang-Ping Yu, Liang Zhao, Chang-Gen Ye, Zhi-Wen Yang, De-Yong Gao

Xiao-Ting Wang, Wen-Juan Tu, Liang-Ming Liu, Fang-Ping Yu, Liang Zhao, Department of Infection Diseases, Songjiang Hospital Affiliated to Nanjing Medical University, Shanghai 201600, China
Liang-Ming Liu, Dong-Yu Liang, Chang-Gen Ye, Zhi-Wen Yang, De-Yong Gao, Department of Infection Diseases, Songjiang Hospital Affiliated to First People's Hospital, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 201600, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, Nos. 81070357 and 30660066
Correspondence to: Liang-Ming Liu, Professor, Chief Physician, Songjiang Hospital Affiliated to First People's Hospital, Shanghai Jiaotong University, 746 Zhongshan Middle Road, Songjiang District, Shanghai 201600, China. liuliangming@hotmail.com
Received: 2014-03-28 Revised: 2014-05-04
Accepted: 2014-05-06 Published online: 2014-06-28

Abstract

AIM: To investigate the effect of urantide, a urotensin Ⅱ (UⅡ) receptor inhibitor, on interferon regulatory factor 3 (IRF3) expression in the liver tissue of mice with acute liver failure (ALF).

METHODS: Male Balb/c mice were randomly divided into four groups (n = 6 for each group): normal control, pre-treatment control, model and pre-treatment model. The pre-treatment mice received urantide (0.6 mg/kg body weight) *via* a caudal vein injection. At 30 min post-injection, the model (including pre-treatment model) mice were treated with lipopolysaccharide (LPS)/D-galactosamine (D-GalN) to induce ALF via an intraperitoneal injection. Liver tissues were sampled 12 h after LPS/D-GalN injection. IRF3 mRNA expression was detected by RT-PCR and real-time polymerase chain reaction (PCR), and protein expression was detected by Western blot assay.

RESULTS: The relative levels of IRF3 mRNA were significantly higher in model mice than in control and pretreatment control mice (P < 0.001 for all). Compared with the model group, pretreatment model mice had significant lower levels of IRF3 mRNA (P < 0.001). IRF3 protein levels were also significantly higher in model mice than in control and pretreatment control mice (P < 0.001 for all), while the protein levels were significantly lower in pretreatment model mice than in model mice (P < 0.05).

CONCLUSION: Urantide can inhibit the up-regulation of IRF3 mRNA and protein expression in the liver tissue of mice with LPS/D-GalN-induced ALF.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Acute liver failure; Urantide; Interferon regulatory factor 3; Mice

Wang XT, Tu WJ, Liu LM, Liang DY, Yu FP, Zhao L, Ye CG, Yang ZW, Gao DY. Urantide inhibits hepatic IRF3 expression in acute liver failure mice. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(18): 2559-2564 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2559.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i18.2559

摘要

目的: 探讨urotensin Ⅱ(UⅡ)受体拮抗剂urantide对急性肝衰竭小鼠肝组织干扰素调节因子3(interferon regulatory factor 3, IRF3)表达的影响.

方法: ♂Balb/c小鼠随机分为4组(每组6只).

■背景资料
急性肝衰竭(acute liver failure, ALF)是肝组织的免疫炎症损伤性疾病, 其发生发展与肝内TLR4信号激活并启动固有免疫应答有密切关系. IRF3是TLR4信号通路中的关键分子, 活化的IRF3可诱导Ⅰ型IFN表达, 并在后期激活NF-κB, 引起前炎细胞因子级联式释放. 另外, 研究证实ALF肝内UⅡ/UT表达显著上调, 且UⅡ/UT系统可介导肝组织前炎细胞因子分泌和急性损伤性炎症. 然而, 目前尚不清楚UⅡ/UT系统产生这些效应的机制. 因此, 在本研究中, 我们借助UT拮抗剂urantide的应用, 在UⅡ/UT信号阻断的基础上, 观察IRF3的表达情况, 以期阐明UⅡ/UT系统对肝组织的免疫炎症损伤机制.

■同行评议者
唐世刚, 教授, 湖南省人民医院

■研发前沿
肝组织免疫炎症损伤机制是近年来急性肝衰竭研究领域的焦点，固有免疫系统受损伤因素刺激活化过程中，细胞内信号分子网络特别是关键性信号分子的变化情况是目前亟待研究的问题.

A组: 健康对照组; B组: 预处理对照组; C组: 模型组; D组: 预处理模型组. 预处理组给予0.6 mg/kg urantide尾静脉注射. 30 min后模型(包括预处理模型)组立即以脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)联合D-半乳糖胺(D-galactosamin, D-GalN)腹腔注射诱导急性肝衰竭. LPS/D-GalN攻击12 h后采集小鼠肝组织标本. 采用RT-PCR和实时荧光定量PCR(Real-time PCR)检测小鼠肝组织中IRF3 mRNA表达水平, 免疫印迹(Western blot)检测IRF3蛋白表达含量.

结果: C组小鼠肝组织中IRF3 mRNA经RT-PCR和Real-time PCR检测, 其相对表达水平显著高于A组和B组(均P<0.001), D组显著低于C组(均P<0.001), 而A和B组之间无明显差异(P>0.05); C组IRF3蛋白表达水平显著高于A组和B组(均P<0.001), D组显著低于C组(P<0.001), 而A和B组之间无明显差异(P>0.05).

结论: UⅡ受体特异性拮抗剂urantide可抑制LPS/D-GalN诱导ALF小鼠肝组织IRF3 mRNA和蛋白质表达.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 急性肝衰竭; Urantide; 干扰素调节因子3; 小鼠

核心提示: 脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)/D-半乳糖胺(D-galactosamin, D-GalN)诱导急性肝衰竭(acute liver failure, ALF)小鼠肝组织干扰素调节因子3(interferon regulatory factor 3, IRF3)表达显著上调; urotensin Ⅱ(UⅡ)受体特异性拮抗剂urantide可抑制LPS/D-GalN诱导的肝内IRF3表达上调. 这提示ALF肝内IRF3的上调是UⅡ/UT系统依赖性的.

汪小庭, 涂文娟, 刘亮明, 梁冬雨, 于芳苹, 赵亮, 叶长根, 杨志文, 高得勇. Urantide对急性肝衰竭小鼠肝组织中IRF3表达的影响. 世界华人消化杂志 2014; 22(18): 2559-2564 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2559.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i18.2559

0 引言

急性肝衰竭(acute liver failure, ALF)是一种与免疫炎性反应密切相关的肝损伤性疾病[1]. 近年有研究发现urotensin Ⅱ(UⅡ)/UT系统与免疫炎症损伤性疾病关系密切[2-4]. 本课题组前期研究发现, 在脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)/D-半乳糖(D-galactosamin, D-GalN)诱导ALF动物模型中urotensin Ⅱ(UⅡ)/UT表达上调[5], 且UⅡ/UT系统通过促进前炎细胞因子[包括: 肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)和白介素-1β(interleukin-1β, IL-1β)等]的分泌介导了肝脏急性炎症损伤的发生[6]. 已知, 组织炎症损伤反应与固有免疫细胞Toll样受体4(Toll like Receptor 4, TLR4)信号通路的激活密切相关[7]. 损伤因子(如: LPS)结合TLR4后, 通过接头蛋白TRIF启动MyD88非依赖信号通路, 激活转录因子干扰素调节因子3(interferon regulatory factor 3, IRF3), 并在后期激活核因子-κB(nuclear factor-κB, NF-κB)[8,9], 从而进一步诱导Ⅰ型干扰素(interferon, IFN)和炎症细胞因子的产生[10]. 我们前期的研究已观察到在ALF, UⅡ/UT可促进NF-κB p65亚基的核转位并增强其与DNA的结合活性[11]. 在本实验中, 我们借助前期研究中建立的与重度炎症反应相关的ALF小鼠模型[11], 采用UⅡ受体特异性拮抗剂urantide, 进一步研究了UⅡ信号对IRF3表达的影响, 以期更全面地了解UⅡ/UT系统介导ALF的机制.

1 材料和方法

1.1 材料 LPS和D-GalN购自美国sigma公司; UT受体拮抗剂Urantide购自日本PEPTIDES; TRIzol购自美国Invitrogen公司; SYBRGreen PCR试剂盒和逆转录试剂盒购自美国Thermo公司; PCR引物由上海生工生物工程有限公司合成; IRF3抗体购自美国Cell signaling公司; 健康♂Balb/c小鼠, 清洁级, 鼠龄6 wk, 体质量20-22 g, 由上海交通大学附属第一人民医院实验动物中心提供, 动物合格证号: SYXK(沪)2009-0086, 实验动物的使用符合国家动物保护法.

1.2 方法

1.2.1 动物分组及处置: ♂Balb/c小鼠按照随机数字表随机分为4组(每组6只). A组: 健康对照组; B组: 预处理对照组; C组: 模型组; D组预处理模型组. 预处理对照组和预处理模型组给予尾静脉注射0.6 mg/kg urantide预处理, 健康对照组和模型组则给予相同体积生理盐水. 30 min后模型组及与处理组立即以LPS联合D-GalN腹腔注射诱导ALF模型, 健康对照组和预处理对照组则给予相应体积的生理盐水. LPS攻击12 h后采集小鼠肝组织标本.

1.2.2 RT-PCR检测: 肝组织采用TRIzol处理, 总RNA抽提按说明书进行. 总RNA作为模板用于

表 1 不同基因检测引物序列和产物长度

基因		引物序列(5'→3')	产物长度(bp)
干扰素调节因子3	Primer F	5' CGGAAAGAAGTGTTGCGGTTAG 3'	132
	Primer R	5' TTTGCCATTGGTGTCAGGAGAG 3'	
GAPDH	Primer F	5' ATCACTGCCACCCAGAAG 3'	191
	Primer R	5' TCCACGACGGACACATTG 3'	

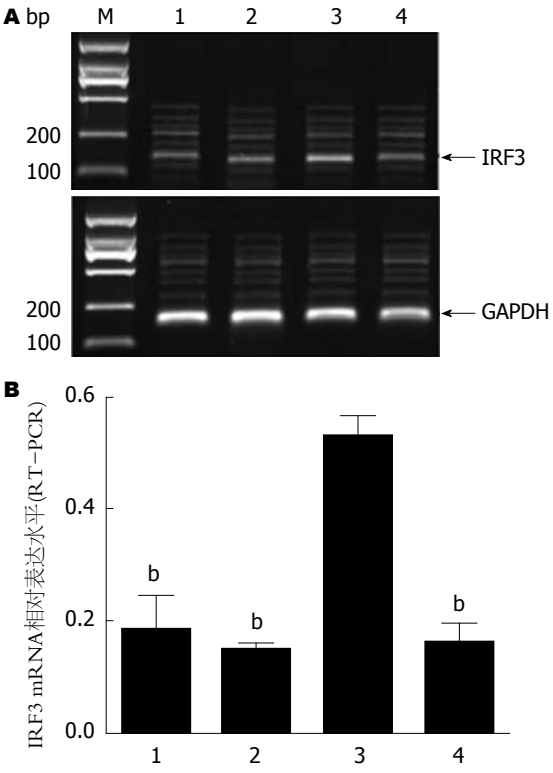


图 1 急性肝衰竭小鼠肝组织IRF3 mRNA表达情况(RT-PCR). A: *IRF3*基因RT-PCR产物凝胶电泳图; B: IRF3 mRNA相对表达水平直方图. $^{b}P<0.01$ *vs* 模型组. M: Marker; 1: 健康对照组; 2: 预处理对照组; 3: 模型组; 4: 预处理模型组. IRF3: 干扰素调节因子3.

第一链cDNA的合成(Rnasin 1 μL, 随机引物1 μL, dNTP混合物2 μL, AMV反转录酶1 μL, 5×反转录酶缓冲液4.0 μL, 以无核酶水补至终体积20 μL, 室温放置10 min后, 42 ℃孵育60 min, 95 ℃加热5 min, 将cDNA产物置于-20 ℃保存). 引物设计借助Primer Premier 6.0软件设计, 基因检测引物序列和产物长度如表1. 按试剂盒说明书建立反应体系(取4.0 μL cDNA为模板, 于扩增管中加入10×PCR缓冲液2 μL, dNTP混合物4 μL, TaqDNA聚合酶2 μL, 上、下游引物各2 μL, 补充无核酶水至25 μL, 置于PCR仪中进行聚合扩增), 以GAPDH作为内参照. *IRF3*基因的反应条件为: 94 ℃预变性5 min; 94 ℃ 1 min, 51 ℃ 45 s, 72 ℃ 45 s, 共32个循环; 72 ℃延伸10 min. 所得PCR产物经1.5%的琼脂糖凝胶电泳. 电泳结果经BIO-RAD Quantity-One 4.7成像分析软件检测并计算待测基因灰度相对相应GAPDH的表达量.

1.2.3 Real-time PCR检测: cDNA合成按照RT-PCR步骤进行. 引物设计借助Primer Premier 6.0软件设计, 基因检测引物序列和产物长度如表1. RT-PCR操作方法按试剂盒说明书进行: 2×Premix Ex Taq™ Ⅱ 10 μL, 正反义链引物各0.8 μL, ROX Reference Dye Ⅱ 0.4 μL, DNA模板2.0 μL, 加灭菌蒸馏水至20 μL, 建立反应体系. 在ABI7500仪器中按两步法进行扩增: 第1步: 50 ℃ 2 min, 1个循环; 第2步: 95 ℃ 5 min, 40个循环. GAPDH作为内参照, 用计算机分析Ct值, 采用$2^{-\Delta\Delta Ct}$公式计算mRNA表达量.

1.2.4 免疫印迹(Western blot)分析: 将组织剪成细小的碎片, 按每20 mg组织加入150-250 μL的比例加入裂解液(裂解液中加入蛋白酶和磷酸酶抑制剂), 匀浆器匀浆直至完全裂解. 裂解后的样品4 ℃ 12000 *g*离心15 min, 取上清, 进行蛋白质定量后贮存于-80 ℃冰箱. 取50 μg蛋白, 水浴煮沸10 min后进行10%十二烷基硫酸钠/聚丙烯酰胺(SDS-PAGE)电泳, 转移至PVDF膜上. 5%脱脂牛奶4℃过夜封闭结合有蛋白质的PVDF膜. 封闭结束后, 分别加入适量的IRF3及内参GAPDH抗体, 室温下孵育2 h. 0.1%的PBST漂洗3次, 每次5 min. 加辣根过氧化物酶标记的Ⅱ抗, 室温下孵育1 h后, 0.1%的PBST漂洗3次, 每次5 min. 结果用ECL-Plus化学发光试剂盒检测, X光片曝光. X光片显影和定影后观察结果.

统计学处理 采用SPSS13.0统计软件进行统计学处理, 计量资料用mean±SD表示, 组间比较采用独立样本*t*检验. $P<0.05$为差异有统计学差异.

2 结果

2.1 小鼠肝组织IRF3 mRNA的表达 各组小鼠肝组织IRF3 mRNA(RT-PCR)相对表达水平如图

■相关报道

Liu等近年证实在ALF, UⅡ/UT可促进NF-κB p65亚基的核转位并增强其与DNA的结合活性. 其他作者研究显示, TLR4活化后, 可通过接头蛋白TRIF启动MyD88非依赖信号通路, 激活转录因子IRF3(interferon regulatory factor 3), 并在后期激活NF-κB, 从而进一步诱导Ⅰ型IFN和炎症细胞因子的产生.

■创新盘点
首次证实, ALF小鼠肝组织内IRF3基因表达上调, 且IRF3的上调依赖于UII/UT信号系统.

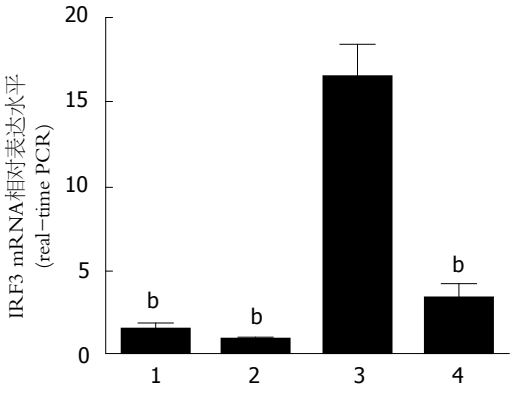


图 2 急性肝衰竭小鼠肝组织IRF3 mRNA表达情况(Real-time PCR分析). $^{b}P<0.01$ *vs* 模型组. 1: 健康对照组; 2: 预处理对照组; 3: 模型组; 4: 预处理模型组. IRF3: 干扰素调节因子3.

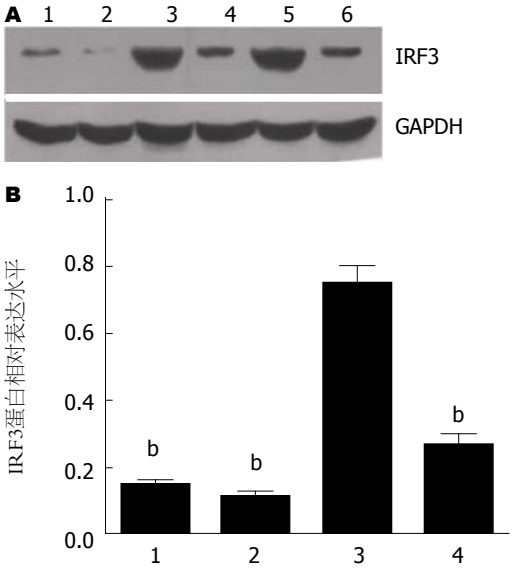


图 3 Western blot检测小鼠肝组织中IRF3蛋白的表达. A: Western blot的结果; B: IRF3蛋白相对表达水平直方图, $^{b}P<0.01$ *vs* 模型组. 1: 健康对照组; 2: 预处理对照组; 3: 模型组; 4: 预处理模型组; 5: 模型组; 6: 预处理模型组. IRF3: 干扰素调节因子3.

1. 结果显示, C组(模型组)IRF3 mRNA相对表达水平显著高于A(健康对照组)和B组(预处理对照组)(0.530±0.037 *vs* 0.182±0.062、0.146±0.014, *t*值分别为11.708、23.616, 均$P<0.001$), D组(预处理模型组)显著低于C组(0.158±0.035 *vs* 0.530±0.037)($t = 17.770$, $P<0.001$), 而A和B组之间无明显差异($t = 1.404$, $P = 0.19$).

2.2 小鼠肝组织IRF3 mRNA的表达情况 各组小鼠肝组织IRF3 mRNA(real-time PCR分析)相对表达水平(图2). 结果显示, C组IRF3 mRNA相对表达水平显著高于A和B组(16.415±2.036 *vs* 1.464±0.429、0.869±0.187, *t*值分别为17.599、18.642, 均$P<0.001$), D组显著低于C组(3.277±0.999 *vs* 16.415±2.036)($t = 14.189$, $P<0.001$), 而A和B组之间无明显差异($t = 3.119$, $P>0.05$). 这提示ALF可诱导小鼠肝组织IRF3 mRNA表达, 使用UⅡ受体特异性拮抗剂urantide后能抑制ALF小鼠肝内IRF3 mRNA表达.

2.3 小鼠肝组织中IRF3蛋白的表达 Western blot检测小鼠肝组织中IRF3蛋白表达水平(图3). 结果表明, C组小鼠肝组织中IRF3蛋白表达水平显著高于A和B组(0.746±0.055 *vs* 0.146±0.018、0.108±0.020, *t*值分别为17.838、18.928, 均$P<0.001$), D组显著低于C组(0.263±0.038 *vs* 0.746±0.055)($t = 17.712$, $P<0.001$), 而A和B组之间无明显差异($t = 2.486$, $P = 0.06$). 这提示ALF小鼠肝组织IRF3 蛋白表达上调, 使用UⅡ受体特异性拮抗剂urantide后能抑制ALF小鼠IRF3蛋白表达.

3 讨论

研究显示, ALF患者肝内UⅡ/UT表达显著升高[12]. 我们前期研究进一步证实, UⅡ/UT系统介导了LPS/D-GalN诱导ALF的发生[11]. 在本实验中, 我们发现LPS/D-GalN诱导的ALF小鼠肝内转录因子IRF3的表达显著上调.

已知, IRF3是TLR4信号下游TRIF依赖通路中的关键分子[13], 在机体抗病毒免疫应答中起重要作用[14]. 各种病毒(包括RNA病毒、DNA病毒或逆转录病毒等)可作用于细胞或内涵体浆膜内的模式识别受体(pattern recognition receptors, PRRs)TLRs(特别是TLR4/3), 通过TRIF依赖通路, 激活IRF3, 从而诱导Ⅰ型IFN产生, 启动抗病毒免疫反应[15]. 除病毒外, 其他病原体(如细菌、寄生虫等)同样可激活TLRs-IRF3信号, 诱导机体的抗感染反应[16,17]. 近年发现, IRF3不仅是宿主抵御外来病原体保护性固有免疫机制的重要成分, 也在炎症反应的发生发展中起关键作用[18,19]. 在LPS诱导的损伤组织中及LPS刺激的巨噬细胞内, IRF3的表达均显著升高[20,21]. 研究证实, LPS可通过增强IRF3蛋白的磷酸化诱导前炎细胞因子包括TNF-α和IL-6等的表达和分泌, 从而引起组织的炎症损伤[22].

在肝脏, IRF3被证实参与了HCV感染诱导的免疫性肝损伤[23,24], 并在酒精性肝损伤及缺血再灌注性肝损伤的发生中有重要作用[25,26]. IRF3敲除后, 可保护实验鼠免于发生酒精诱导的肝脂肪变、酒精性肝炎和肝损伤[26]. 在ALF肝内IRF3表达上调尚是首次被证实. 该结果提示, IRF3可能与UⅡ/UT信号系统一样也参与了ALF

的肝组织免疫炎症损伤过程.

为进一步分析在ALF发生中UⅡ/UT系统与IRF3表达之间的关系, 我们采用了UT特异性拮抗剂urantide阻断UⅡ信号的传导. 我们发现, urantide的应用显著抑制了IRF3的转录表达, 并使其蛋白质水平明显降低. 这提示IRF3的表达依赖于UⅡ/UT信号系统. 在前期研究中, 我们证实, 在LPS/D-GalN诱导的ALF, UⅡ/UT系统可通过激活NF-κB通路介导TNF-α等前炎细胞因子的产生[10]. NF-κB是TLR4信号下游经典MyD88依赖通路中的关键分子, 在组织及细胞的免疫炎症机制中有重要作用[27].

总之, UⅡ/UT系统在ALF肝组织中的免疫炎症损伤效应的产生是由于其激活了TLR4信号下游两条关键信号通路, 包括MyD88依赖(NF-κB)和MyD88非依赖(IRF3)通路实现的.

■应用要点
主要体现在阐明UII/UT系统介导ALF的机制, 以期更加深该地揭示ALF发生发展的规律.

4 参考文献

1 Wu Z, Han M, Chen T, Yan W, Ning Q. Acute liver failure: mechanisms of immune-mediated liver injury. *Liver Int* 2010; 30: 782-794 [PMID: 20492514 DOI: 10.1111/j.1478-3231]
2 Watanabe T, Arita S, Shiraishi Y, Suguro T, Sakai T, Hongo S, Miyazaki A. Human urotensin II promotes hypertension and atherosclerotic cardiovascular diseases. *Curr Med Chem* 2009; 16: 550-563 [PMID: 19199921]
3 Ross B, McKendy K, Giaid A. Role of urotensin II in health and disease. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2010; 298: R1156-R1172 [PMID: 20421634 DOI: 10.1152/ajpregu.00706]
4 Xu S, Jiang H, Wu B, Yang J, Chen S. Urotensin II induces migration of endothelial progenitor cells via activation of the RhoA/Rho kinase pathway. *Tohoku J Exp Med* 2009; 219: 283-288 [PMID: 19966526]
5 刘亮明, 梁冬雨, 张芳芳, 于芳苹, 赵亮, 叶长根. Urotensin II在急性肝衰竭小鼠肝组织中的表达及损伤作用研究. 世界华人消化杂志 2012; 20: 1616-1622
6 赵亮, 梁冬雨, 刘亮明, 于芳苹, 叶长根. 急性肝衰竭早期尾加压素II表达及其与前炎细胞因子TNF-α和IL-1β的关系. 上海交通大学学报(医学版) 2012; 32: 543-549
7 Ben Ari Z, Avlas O, Pappo O, Zilbermints V, Cheporko Y, Bachmetov L, Zemel R, Shainberg A, Sharon E, Grief F, Hochhauser E. Reduced hepatic injury in Toll-like receptor 4-deficient mice following D-galactosamine/lipopolysaccharide-induced fulminant hepatic failure. *Cell Physiol Biochem* 2012; 29: 41-50 [PMID: 22415073 DOI: 10.1159/000337585]
8 Yamamoto M, Sato S, Hemmi H, Hoshino K, Kaisho T, Sanjo H, Takeuchi O, Sugiyama M, Okabe M, Takeda K, Akira S. Role of adaptor TRIF in the MyD88-independent toll-like receptor signaling pathway. *Science* 2003; 301: 640-643 [PMID: 12855817]
9 Covert MW, Leung TH, Gaston JE, Baltimore D. Achieving stability of lipopolysaccharide-induced NF-kappaB activation. *Science* 2005; 309: 1854-1857 [PMID: 16166516]
10 Akira S, Uematsu S, Takeuchi O. Pathogen recognition and innate immunity. *Cell* 2006; 124: 783-801 [PMID: 16497588]
11 Liang DY, Liu LM, Ye CG, Zhao L, Yu FP, Gao DY, Wang YY, Yang ZW, Wang YY. Inhibition of UII/UTR system relieves acute inflammation of liver through preventing activation of NF-κB pathway in ALF mice. *PLoS One* 2013; 8: e64895 [PMID: 23755157 DOI: 10.1371/journal.pone.0064895]
12 Leifeld L, Clemens C, Heller J, Trebicka J, Sauerbruch T, Spengler U. Expression of urotensin II and its receptor in human liver cirrhosis and fulminant hepatic failure. *Dig Dis Sci* 2010; 55: 1458-1464 [PMID: 19582578 DOI: 10.1007/s10620-009-0875-4]
13 O'Neill LA, Golenbock D, Bowie AG. The history of Toll-like receptors - redefining innate immunity. *Nat Rev Immunol* 2013; 13: 453-460 [PMID: 23681101 DOI: 10.1038/nri3446]
14 Rustagi A, Gale M. Innate antiviral immune signaling, viral evasion and modulation by HIV-1. *J Mol Biol* 2014; 426: 1161-1177 [PMID: 24326250 DOI: 10.1016/j.jmb.2013.12.003]
15 Zhao W. Negative regulation of TBK1-mediated antiviral immunity. *FEBS Lett* 2013; 587: 542-548 [PMID: 23395611 DOI: 10.1016/j.febslet.2013.01.052]
16 Liehl P, Zuzarte-Luís V, Chan J, Zillinger T, Baptista F, Carapau D, Konert M, Hanson KK, Carret C, Lassnig C, Müller M, Kalinke U, Saeed M, Chora AF, Golenbock DT, Strobl B, Prudêncio M, Coelho LP, Kappe SH, Superti-Furga G, Pichlmair A, Vigário AM, Rice CM, Fitzgerald KA, Barchet W, Mota MM. Host-cell sensors for Plasmodium activate innate immunity against liver-stage infection. *Nat Med* 2014; 20: 47-53 [PMID: 24362933 DOI: 10.1038/nm.3424]
17 Royer PJ, Rogers AJ, Wooldridge KG, Tighe P, Mahdavi J, Rittig MG, Ala'Aldeen D. Deciphering the contribution of human meningothelial cells to the inflammatory and antimicrobial response at the meninges. *Infect Immun* 2013; 81: 4299-4310 [PMID: 24002066 DOI: 10.1128/IAI.00477-13]
18 Di Paolo NC, Doronin K, Baldwin LK, Papayannopoulou T, Shayakhmetov DM. The transcription factor IRF3 triggers "defensive suicide" necrosis in response to viral and bacterial pathogens. *Cell Rep* 2013; 3: 1840-1846 [PMID: 23770239 DOI: 10.1016/j.celrep]
19 Shaik-Dasthagirisaheb YB, Huang N, Gibson FC. Inflammatory response to Porphyromonas gingivalis partially requires interferon regulatory factor (IRF) 3. *Innate Immun* 2014; 20: 312-319 [PMID: 23803413 DOI: 10.1177/1753425913492180]
20 Shim DW, Han JW, Sun X, Jang CH, Koppula S, Kim TJ, Kang TB, Lee KH. Lysimachia clethroides Duby extract attenuates inflammatory response in Raw 264.7 macrophages stimulated with lipopolysaccharide and in acute lung injury mouse model. *J Ethnopharmacol* 2013; 150: 1007-1015 [PMID: 24145006 DOI: 10.1016/j.jep.2013.09.056]
21 Song Y, Dou H, Gong W, Liu X, Yu Z, Li E, Tan R, Hou Y. Bis-N-norgliovictin, a small-molecule compound from marine fungus, inhibits LPS-induced inflammation in macrophages and improves survival in sepsis. *Eur J Pharmacol* 2013; 705: 49-60 [PMID: 23438875 DOI: 10.1016/j.ejphar.2013.02.008]
22 Siegfried A, Berchtold S, Manncke B, Deuschle E, Reber J, Ott T, Weber M, Kalinke U, Hofer MJ,

■同行评价
本文对急性肝衰竭形成的原因有很好的实验价值.

Hatesuer B, Schughart K, Gailus-Durner V, Fuchs H, Hrabe de Angelis M, Weber F, Hornef MW, Autenrieth IB, Bohn E. IFIT2 is an effector protein of type I IFN-mediated amplification of lipopolysaccharide (LPS)-induced TNF-α secretion and LPS-induced endotoxin shock. *J Immunol* 2013; 191: 3913-3921 [PMID: 24014876 DOI: 10.4049/jimmunol.1203305]

23 Thomas E, Gonzalez VD, Li Q, Modi AA, Chen W, Noureddin M, Rotman Y, Liang TJ. HCV infection induces a unique hepatic innate immune response associated with robust production of type III interferons. *Gastroenterology* 2012; 142: 978-988 [PMID: 22248663 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.12.055]

24 Yu GY, He G, Li CY, Tang M, Grivennikov S, Tsai WT, Wu MS, Hsu CW, Tsai Y, Wang LH, Karin M. Hepatic expression of HCV RNA-dependent RNA polymerase triggers innate immune signaling and cytokine production. *Mol Cell* 2012; 48: 313-321 [PMID: 22959272 DOI: 10.1016/j.molcel.2012.07.032]

25 Kang JW, Koh EJ, Lee SM. Melatonin protects liver against ischemia and reperfusion injury through inhibition of toll-like receptor signaling pathway. *J Pineal Res* 2011; 50: 403-411 [PMID: 21355876 DOI: 10.1111/j.1600-079X.2011.00858.x]

26 Szabo G, Petrasek J, Bala S. Innate immunity and alcoholic liver disease. *Dig Dis* 2012; 30 Suppl 1: 55-60 [PMID: 23075869 DOI: 10.1159/000341126]

27 Cerezo LA, Remáková M, Tomčik M, Gay S, Neidhart M, Lukanidin E, Pavelka K, Grigorian M, Vencovsky J, Senolt L. The metastasis-associated protein S100A4 promotes the inflammatory response of mononuclear cells via the TLR4 signalling pathway in rheumatoid arthritis. *Rheumatology* (Oxford) 2014 Mar 18. *[Epub ahead of print]* [PMID: 24643522]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年6月28日; 22(18): 2565-2571
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

研究快报 RAPID COMMUNICATION

姜黄素对胰腺癌细胞上皮间质转化的影响

庞慧芳, 覃 华, 赵 秋, 许 琮, 赵慧贞, 朱 亮, 黎培员, 李德民

庞慧芳, 覃华, 赵秋, 许琮, 赵慧贞, 朱亮, 黎培员, 李德民, 华中科技大学同济医学院附属同济医院消化内科 湖北省武汉市 430030
庞慧芳, 包头医学院第二附属医院消化内科 内蒙古自治区包头市 014030
庞慧芳, 住院医师, 主要从事消化系肿瘤的临床与基础研究.
作者贡献分布: 此课题由庞慧芳与李德民设计; 研究过程由庞慧芳、覃华与赵慧贞操作完成; 研究所用新试剂与分析工具由赵秋提供; 数据分析由朱亮与黎培员完成; 本论文写作由庞慧芳与许琮完成.
通讯作者: 李德民, 副主任医师, 430030, 湖北省武汉市解放大道1095号, 华中科技大学同济医学院附属同济医院消化内科.
deminli@126.com
电话: 027-83663334
收稿日期: 2014-03-27 修回日期: 2014-04-22
接受日期: 2014-04-30 在线出版日期: 2014-06-28

Curcumin inhibits TGF-β1-induced epithelial-mesenchymal transition of pancreatic cancer cells

Hui-Fang Pang, Hua Qin, Qiu Zhao, Cong Xu, Hui-Zhen Zhao, Liang Zhu, Pei-Yuan Li, De-Min Li

Hui-Fang Pang, Hua Qin, Qiu Zhao, Cong Xu, Hui-Zhen Zhao, Liang Zhu, Pei-Yuan Li, De-Min Li, Department of Gastroenterology, Tongji Hospital, Tongji Medical College of Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China
Hui-Fang Pang, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Baotou Medical College, Baotou 014030, Inner Mongolia Autonomous Region, China
Correspondence to: De-Min Li, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, Tongji Hospital, Tongji Medical College of Huazhong University of Science and Technology, 1095 Jiefang Avenue, Wuhan 430030, Hubei Province, China. deminli@126.com
Received: 2014-03-27 Revised: 2014-04-22
Accepted: 2014-04-30 Published online: 2014-06-28

Abstract

AIM: To investigate the effect of curcumin on epithelial-mesenchymal transition (EMT) of pancreatic cancer cells and the implications for pancreatic cancer invasion and metastasis.

METHODS: Three pancreatic cancer cell lines PANC-1, AsPC-1 and BxPC-3, with various features of cell differentiation, were used. Total proteins extracted from them were used to determine protein expression of EMT markers E-cadherin and Vimentin by Western blot. PANC-1 cells, which have the capability of low differentiation and strong invasion and metastasis, were treated with transforming growth factor beta 1 (TGF-β1) at a final concentration of 10 ng/mL for 24 h, and cellular morphological changes were observed under a microscope. PANC-1 cells were then treated with 10 ng/mL TGF-β1, 10 μmol/L curcumin + 10 ng/mL TGF-β1, and 10 μmol/L curcumin, respectively. Untreated PANC-1 cells were used as normal controls. Total RNA and proteins were extracted to assay the expression of E-cadherin and Vimentin by real-time PCR and Western blot.

RESULTS: Western blot results showed that, the expression of E-cadherin protein in pancreatic cancer cell lines PANC-1, AsPC-1 and BxPC-3 increased in the ascending order (1.00 ± 0.00, 1.36 ± 0.04, 2.14 ± 0.06, $P < 0.05$), but Vimentin decreased gradually (1.00 ± 0.00, 0.60 ± 0.05, 0.49 ± 0.04, $P < 0.05$), which indicated that poorly differentiated PANC-1 cells had the most remarkable mesenchymal phenotype and stronger potential ability of invasion and metastasis than moderately and well differentiated AsPC-1 and BxPC-3 cells. TGF-β1 induced PANC-1 cells to present typical morphological changes of EMT. Real-time PCR and Western blot indicated that compared with the control group, the expression of E-cadherin in the TGF-β1 group was down-regulated significantly at both mRNA and protein levels ($P < 0.05$), and Vimentin expression was up-regulated remarkably ($P < 0.05$), which suggested that TGF-β1 can promote the EMT of PANC-1 cells. However, compared with the TGF-β1 group, the mRNA and protein expression of E-cadherin was up-regulated gradually in the Cur + TGF-β1 and Cur group ($P < 0.05$ for both), and that of Vimentin was down-regulated ($P < 0.05$ for both).

CONCLUSION: Curcumin can inhibit TGF-β1-induced EMT of PANC-1 cells.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

■背景资料
胰腺癌是一种预后极差的消化系恶性肿瘤, 5年生存率低于5%, 他具有较强的侵袭转移能力和放化疗抵抗性. 上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)在许多恶性肿瘤的侵袭和转移过程中起到重要作用.

■同行评议者
谭晓冬, 教授, 中国医科大学附属盛京医院

■研发前沿
手术切除、放疗和吉西他滨为基础的化疗手段对治疗侵袭转移性胰腺癌都具有缺陷和不足, 因此研发出更加有效的治疗药物是我们亟待解决的问题.

Key Words: Curcumin; Pancreatic cancer; Epithelial-mesenchymal transition

Pang HF, Qin H, Zhao Q, Xu C, Zhao HZ, Zhu L, Li PY, Li DM. Curcumin inhibits TGF-β1-induced epithelial-mesenchymal transition of pancreatic cancer cells. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(18): 2565-2571 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2565.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i18.2565

摘要

目的: 探讨姜黄素(curcumin, Cur)抑制胰腺癌细胞上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)及其影响胰腺癌侵袭转移的潜在机制.

方法: 常规培养3种不同分化特征的胰腺癌细胞株PANC-1、AsPC-1、BxPC-3细胞, 采用Western blot法检测其EMT标志物E-cadherin、Vimentin蛋白的表达.以终浓度10 ng/mL的转化生长因子-β1(transforming growth factor beta1, TGF-β1)处理低分化PANC-1细胞24 h后, 在倒置显微镜下观察其形态变化. 分别以10 ng/mL TGF-β1、10 μmol/L Cur+10 ng/mL TGF-β1、10 μmol/L Cur处理PANC-1细胞, 另设空白对照组, 分别采用Real-time PCR及Western blot法检测各组E-cadherin、Vimentin表达变化.

结果: Western blot结果显示, PANC-1、AsPC-1、BxPC-3细胞的E-cadherin蛋白表达依次增强(1.00±00、1.36±0.04、2.14±0.06, P<0.05), 而Vimentin表达则依次减弱(1.00±0.00、0.60±0.05、0.49±0.04, P<0.05), 这表明低分化的PANC-1细胞间质特性最强. TGF-β1刺激PANC-1细胞发生典型的EMT形态变化. Real-time PCR和Western blot结果均显示, PANC-1细胞经姜黄素及TGF-β1处理后, 与对照组相比, TGF-β1组E-cadherin mRNA及蛋白表达均明显下调(分别为0.67±0.05、0.47±0.05, P<0.05 *vs* 对照组), *Vimentin*基因mRNA及蛋白则明显上调(分别为2.38±0.14、1.43±0.07, P<0.05 *vs* 对照组), 说明TGF-β1促进PANC-1细胞EMT过程. 而与TGF-β1组相比, Cur+TGF-β1及Cur组的E-cadherin表达具有上调趋势(mRNA分别为0.98±0.06、1.34±0.08, P<0.05 *vs* TGF-β1组; 蛋白为0.32±0.04、0.68±0.06, P<0.05 *vs* TGF-β1组), Vimentin却下调(mRNA分别为0.63±0.08、0.99±0.07, P<0.05 *vs* TGF-β1组; 蛋白分别为1.01±0.14、0.57±0.06, P<0.05 *vs* TGF-β1组), 其蛋白与mRNA表达结果基本一致. 这表明姜黄素具有阻断TGF-β1诱导的PANC-1细胞EMT效应.

结论: 姜黄素能够阻断TGF-β1诱导的PANC-1细胞的EMT过程, 从而抑制其侵袭转移.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 姜黄素; 胰腺癌; 上皮间质转化

核心提示: 上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)是包括胰腺癌在内的多种肿瘤浸润、生长、侵袭和转移的重要机制之一, 姜黄素具有抑制转化生长因子-β1(transforming growth factor beta 1)诱导的胰腺癌PANC-1细胞的EMT过程, 从而起到抗肿瘤作用.

庞慧芳, 覃华, 赵秋, 许琮, 赵慧贞, 朱亮, 黎培员, 李德民. 姜黄素对胰腺癌细胞上皮间质转化的影响. 世界华人消化杂志 2014; 22(18): 2565-2571 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2565.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i18.2565

0 引言

胰腺癌是胰腺导管上皮细胞来源的恶性肿瘤, 其侵袭和远处转移能力较强. 目前认为, 上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)是包括胰腺癌在内的多种肿瘤浸润、生长、侵袭和转移的重要机制之一[1-3]. EMT是指上皮细胞在特定情况下失去其极性向间质细胞表型转变的过程, 他具有促进肿瘤侵袭、转移播散和获得治疗耐受等作用[1,4], 其特点为细胞黏附性下降或消失, 极性丧失, 细胞运动能力和侵袭力增强. EMT是胰腺癌具有高度转移潜能的基础. EMT发生的标志性事件是上皮标志物E-cadherin表达的缺失与减弱, 而间质标志物Vimentin表达增强[5].

近年来人们围绕转化生长因子(transforming growth factor, TGF)/SMADs、Ras/ERK1/2、Wnt/β-catenin等EMT相关信号通路及其信号靶点广泛开展研究, 目的是寻找抑制或逆转肿瘤细胞EMT的分子机制, 以便研发出控制肿瘤侵袭、转移的靶向药物. 中药姜黄素的抗纤维化及抗肿瘤作用已被广泛证实, 但以往的研究多集中在姜黄素对肿瘤细胞增殖、凋亡方面[6,7], 关于针对其在肿瘤细胞EMT方面的研究甚少.

本研究选择3种不同分化特征的胰腺癌细胞株PANC-1、AsPC-1、BxPC-3, 从蛋白水平检

测其上皮与间质标志物, 并选择其中一种间质表型最显著、潜在侵袭能力最强的一种细胞株作为主要研究对象. 人们认为, TGF-β/SMADs是EMT最经典的信号通路, TGF-β诱导胰腺癌细胞发生EMT是促进胰腺癌侵袭和转移的重要原因之一[8]. 本小组前期研究证实, 以10 ng/mL TGF-β1处理胰腺癌BxPC-3细胞后, 其 EMT相关分子E-cadherin表达下调, Vimentin表达上调, 促进胰腺癌细胞发生EMT[9]. 因此, 我们使用姜黄素与TGF-β1处理潜在转移能力最强的胰腺癌细胞, 检测其上皮和间质标志物, 分析探讨姜黄素对TGF-β1诱导的胰腺癌细胞EMT的影响.

1 材料和方法

1.1 材料 人胰腺癌细胞株PANC-1、AsPC-1、BxPC-3细胞由同济医院肝病研究所保存备用. RPMI 1640高糖培养基购自美国Gibco公司. 胎牛血清购自美国Hyclone公司. 姜黄素(curcumin, Cur)(纯度>95%)购自美国Sigma公司. TGF-β1冻干粉购自美国Peprotech公司. E-cadherin兔抗人多克隆抗体、Vimentin兔抗人多克隆抗体购自美国Proteintech公司. β-actin兔抗人单克隆抗体、辣根过氧化物酶标记山羊抗兔IgG购自武汉谷歌生物公司. BCA蛋白定量试剂盒购自武汉博士德生物公司. Western凝胶试剂盒购自武汉博士德生物公司. TRIzol试剂购自美国Invitrogen公司. Real-time PCR逆转录试剂盒及SYBR Green Master Mix购自日本TaKaRa公司. NanoDrop 2000微量分光光度计购自美国Thermo Fisher公司, PCR引物由上海生工生物有限公司合成.

1.2 方法

1.2.1 Western blot法检测胰腺癌PANC-1、AsPC-1、BxPC-3细胞E-cadherin、Vimentin蛋白表达: (1)常规培养3种不同分化特征的胰腺癌细胞株PANC-1、BxPC-3、ASPC, 以RIPA蛋白裂解液裂解细胞提取其总蛋白, BCA法测定样本蛋白浓度, 再将蛋白样品与5×SDS蛋白上样缓冲液按4∶1混匀后, 于100 ℃煮沸10-15 min使蛋白完全变性; (2)每个样本以等量蛋白(30 μg)加样并进行10%SDS-PAGE凝胶电泳, 将蛋白转至PVDF膜上, 5%牛奶封闭液封闭后, 分别按比例稀释孵育E-cadherin(130 kDa, 1∶1000)、Vimentin(54 kDa, 1∶1000)、 β-actin(43 kDa, 1∶1000)一抗以及相应的HRP标记二抗, ECL显色; (3)用BioDoc-It 220凝胶成像系统(美国UVP公司)以及Image J分析软件对图像条带作半定量分析比较EMT标志物的表达, 并间接判断其细胞表型的潜在侵袭转移能力.

1.2.2 TGF-β1处理胰腺癌PANC-1细胞形态学观察: (1)将常规培养的PANC-1细胞待生长融合度达到70%时, 用PBS清洗后以新鲜无血清培养基饥饿培养12 h; (2)实验组加入TGF-β1使终浓度为10 ng/mL, 对照组无需加药, 继续培养24 h; (3)在倒置相差显微镜下观察两组细胞的形态变化并拍照记录.

1.2.3 姜黄素对胰腺癌PANC-1细胞EMT的影响: (1)Real-time PCR检测PANC-1细胞E-cadherin、Vimentin的mRNA表达: 将胰腺癌PANC-1细胞先用无血清培养基饥饿培养12 h, 再分别以10 ng/mL TGF-β1、10 μmol/L Cur+10 ng/mL TGF-β1、10 μmol/L Cur处理, 未用药处理组设为对照组, 处理48 h后采用TRIzol试剂盒提取细胞总RNA. 采用NanoDrop 2000微量分光光度计测定RNA浓度和纯度, 再以TaKaRa逆转录试剂盒将RNA逆转录为cDNA, 使用SYBR Green试剂盒配制PCR反应液, 在StepOne Real-time PCR systems(ABI, USA)上按反应条件进行Real-time PCR反应. 每组设3个复孔, 设β-actin为内参. E-cadherin上游引物序列为5'-ACAGCCCCGCCTTATGATTCTC-3', 下游引物序列为5'-AAGCGATTGCCCCATTCGTT-3'; Vimentin上游引物序列为5'-ACAGCCCCGCCTTATGATTCTC-3', 下游引物序列为5'-GACATGCTGTTCCTGAATCTGAG-3'; β-actin上游引物序列为5'-GTTGCGTTACACCCTTTCTTG-3', 下游引物序列为5'-GACTGCTGTCACCTTCACCGT-3'. PCR反应条件为: 95 ℃ 30 s, 95 ℃ 5 s, 60 ℃ 30 s, 40个循环. 将对照组mRNA表达量定为100%, 以$2^{-\Delta\Delta Ct}$法计算E-cadherin、Vimentin mRNA相对表达量, 并分析比较各组基因表达差异; (2)Western blot法检测PANC-1细胞E-cadherin、Vimentin的蛋白表达: 将PANC-1细胞以姜黄素和TGF-β1如同上述处理48 h后, 以RIPA蛋白裂解液提取细胞总蛋白, 以BCA法对样本蛋白定量及常规变性处理. 每组以30 μg加样再进行电泳、转膜、封闭后, 分别孵育一抗E-cadherin(1∶1000)、Vimentin(1∶1000)、β-actin(1∶1000)及HRP标记二抗, ECL显色. 再以BioDoc-It 220凝胶成像系统和Image J分析软件对图像条带作半定量分析并比较各组E-cadherin、Vimentin的蛋白表达

■相关报道

有人们广泛研究证实中药姜黄素的抗纤维化及抗肿瘤作用, 但以往的研究多集中在姜黄素对肿瘤细胞增殖、凋亡方面. 近年来刘红军等首次报道了姜黄素通过阻断和逆转膀胱癌T24细胞EMT过程, 抑制其侵袭和迁移的能力.

■创新盘点

本研究结果初步认为姜黄素具有抑制并阻断转化生长因子-β1诱导的胰腺癌PANC-1细胞的EMT过程, 抑制其侵袭转移可能, 并且其阻断机制可能通过介导TGF-β/SMADs信号通路起作用.

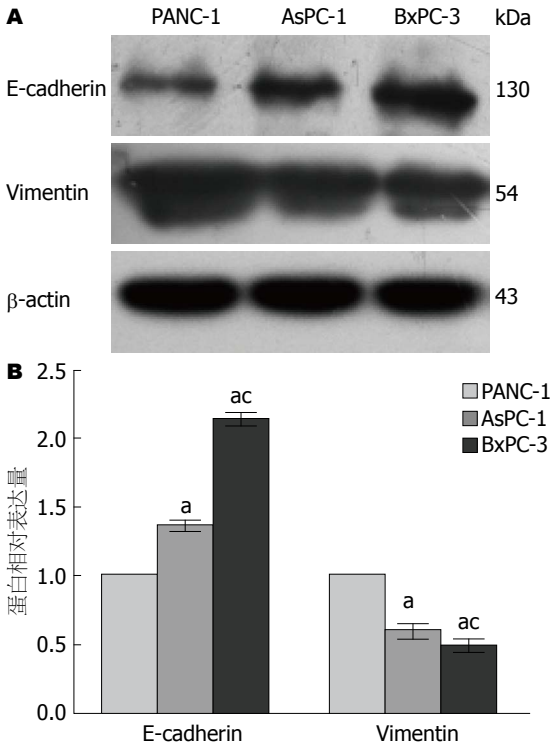


图 1 胰腺癌PANC-1、BxPC-3、ASPC细胞E-cadherin、Vimentin的蛋白表达变化. A: Western blot蛋白条带; B: 蛋白相对表达量. $^{a}P<0.05$ *vs* PANC-1细胞; $^{c}P<0.05$ *vs* AsPC-1细胞.

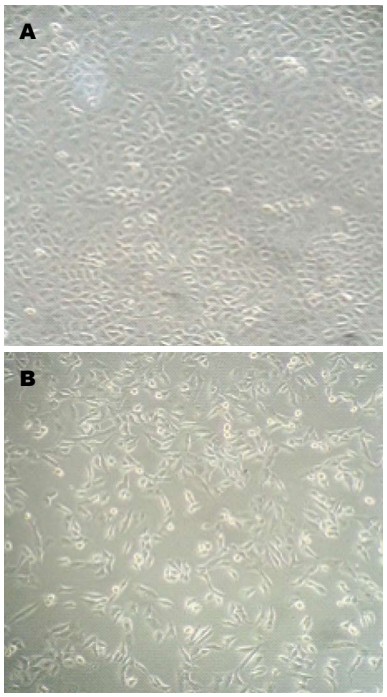


图 2 10 ng/mL的TGF-β1处理24 h后胰腺癌PANC-1细胞的形态学变化(× 200). A: Control; B: TGF-β1. TGF-β1: 转化生长因子-β1.

变化.

统计学处理 实验数据均以mean±SD表示, 应用SPSS17.0统计软件进行统计分析, 多重均数比较采用单因素方差分析(one-way ANVOA), 组间比较采用LSD组间*t*检验, $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 Western blot法检测胰腺癌PANC-1、AsPC-1、BxPC-3细胞E-cadherin、Vimentin蛋白表达 Western blot结果显示, 胰腺癌PANC-1、AsPC-1、BxPC-3细胞中E-cadherin蛋白的相对表达量分别为1.00±00、1.36±0.04、2.14±0.06, 其蛋白表达水平依次增强, 各组间差异均具有显著性($P<0.05$); 而Vimentin蛋白表达量分别为1.00±0.00、0.60±0.05、0.49±0.04, 其表达则依次减弱, 组间差异均有显著性($P<0.05$). 这表明低分化的PANC-1细胞间质表型特征最显著, 其潜在侵袭转移能力可能较中、高分化的AsPC-1、BxPC-3细胞强(图1).

2.2 TGF-β1处理胰腺癌PANC-1细胞形态学变化 倒置相差显微镜下可见, 与对照组相比, TGF-β1处理组胰腺癌PANC-1细胞的细胞间隙变宽, 由原来的紧密连接变得排列松散, 细胞形态由扁椭圆形变为长梭形, 细胞极性丧失, 细胞由上皮向间质转化, 即发生了典型的EMT形态变化(图2).

2.3 姜黄素对TGF-β1诱导的胰腺癌PANC-1细胞EMT的影响

2.3.1 胰腺癌PANC-1细胞E-cadherin、Vimentin的mRNA表达变化: Real-time PCR结果显示, 胰腺癌PANC-1细胞经姜黄素及TGF-β1处理后, 各组E-cadherin的mRNA相对表达量分别为1.00±0.00、0.67±0.05、0.98±0.06、1.34±0.08, 而Vimentin mRNA相对表达量分别为1.00±0.00、2.38±0.14、0.63±0.08、0.99±0.07. 与对照组相比, TGF-β1组的E-cadherin表达下调, Vimentin表达则显著上调, 差异均有统计学意义($P<0.05$); 而Cur+TGF-β1组的E-cadherin表达无明显变化($P>0.05$), Vimentin则明显下调($P<0.05$); Cur组的E-cadherin显著上调($P<0.05$), Vimentin则无明显变化($P>0.05$). 此外, 与TGF-β1组相比, Cur+TGF-β1及Cur组的E-cadherin表达上调, Vimentin却下调, 差异均有统计学意义($P<0.05$). 该结果表明, 姜黄素对TGF-β1诱导的胰腺癌PANC-1细胞具有抑制并阻断EMT作用(图3).

2.3.2 胰腺癌PANC-1细胞E-cadherin、Vimentin的蛋白表达变化: Western blot结果显示, PANC-1细胞经姜黄素及TGF-β1处理后, 各组E-cadherin

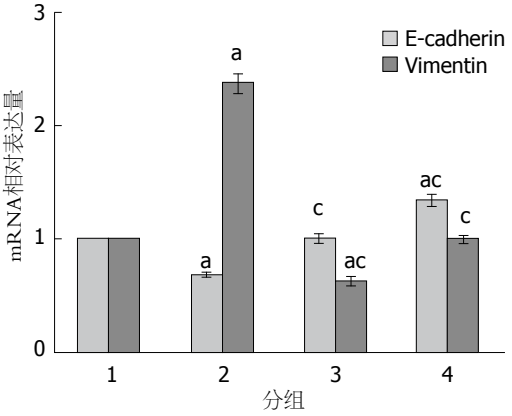


图 3 姜黄素对TGF-β1诱导的胰腺癌PANC-1细胞E-cadherin、Vimentin mRNA表达变化. 1: Control组; 2: TGF-β1组; 3: Cur+TGF-β1组; 4: Cur组. $^aP<0.05$ *vs* Control组; $^cP<0.05$ *vs* TGF-β1组. TGF-β1: 转化生长因子-β1; Cur: 姜黄素.

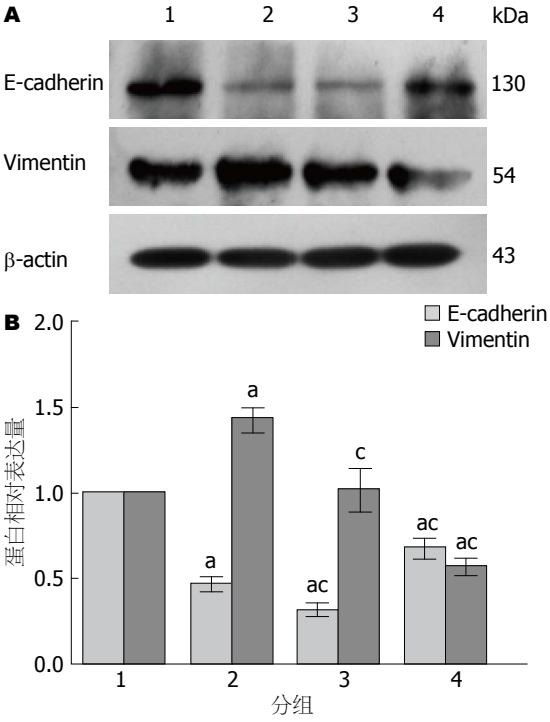


图 4 姜黄素对TGF-β1诱导的胰腺癌PANC-1细胞E-cadherin、Vimentin的蛋白表达变化. A: Western blot蛋白条带; B: 蛋白相对表达量. 1: Control 组; 2: TGF-β1组; 3: Cur+TGF-β1组; 4: Cur组. $^aP<0.05$ *vs* Control组; $^cP<0.05$ *vs* TGF-β1组. TGF-β1: 转化生长因子-β1; Cur: 姜黄素.

■应用要点

随着人们对姜黄素抑制肿瘤细胞发生EMT及侵袭转移作用机制研究的不断深入和探索, 姜黄素有望成为新型、高效、安全的防癌及抗癌药物, 并造福广大癌症患者, 延长寿命及提高生存质量.

蛋白表达量分别为1.00±0.00、0.47±0.05、0.32±0.04、0.68±0.06, 而Vimentin蛋白相对表达量分别为1.00±0.00、1.43±0.07、1.01±0.14、0.57±0.06. 与对照组相比, TGF-β1组和Cur+TGF-β1组的E-cadherin蛋白表达下调, 而Cur组与前两者相比较E-cadherin蛋白表达量则明显上调, 差异均有统计学意义($P<0.05$); 与对照组相比, TGF-β1组Vimentin表达显著上调($P<0.05$), Cur组Vimentin表达则下调($P<0.05$), Cur+TGF-β1组的表达无明显差异($P>0.05$); 与TGF-β1组比较, Cur+TGF-β1及Cur组Vimentin表达依次下调, 差异均有显著性($P<0.05$). 因此, 从蛋白水平上, 进一步说明姜黄素具有阻断TGF-β1诱导PANC-1细胞的EMT效应(图4).

3 讨论

上皮来源的恶性肿瘤在侵袭转移过程中常常伴发上皮表型的缺失及具有较强侵袭转移能力的间质表型的获得, 即发生EMT. E-cadherin是典型的上皮标志物, 其表达减弱或消失在胰腺癌侵袭转移过程中起重要作用[10,11]. Vimentin作为间质细胞最经典的表型蛋白, 其过表达被认为EMT较可靠的判断指标[12]. 本研究Western blot结果显示, 低分化特征的胰腺癌PANC-1细胞的E-cadherin表达最弱, 而Vimentin表达最强, 认为其间质表型最显著且潜在侵袭转移能力可能最强, 这与文献报道基本一致[13]. 以经典的EMT诱导因子TGF-β1刺激PANC-1细胞后发生了典型的EMT形态变化, 镜下可见, 细胞间隙变宽, 由原来的紧密连接变得排列松散, 细胞形态由扁椭圆形变为长梭形, 细胞极性丧失, 细胞由上皮向间质表型转化. 这与本小组前期研究结果基本一致[9].

已有的研究显示, 姜黄素可阻断一些上皮细胞的EMT过程. 赵爱青等[14]报道, 姜黄素可能通过下调单侧输尿管梗阻(unilateral urethral obstruction, UUO)诱导的肾间质纤维化模型大鼠组织中TGF-β1、α-平滑肌激动蛋白(α-smooth muscle actin, α-SMA)及Vimentin蛋白表达, 从而抑制UUO大鼠肾小管EMT过程. 杨丽霞等[15]的研究显示, 姜黄素通过抑制α-SMA及增强E-cadherin的表达, 下调胶原Ⅰ、胶原Ⅲ和纤连蛋白(fibronectin, FN)的表达, 从而抑制TGF-β1诱导的HK-2细胞的转分化及肾间质纤维化过程. 李彧等[16]在此基础上证实, 姜黄素通过干预TGF-β1/SMADs信号转导途径的多个位点阻断HK-2细胞的EMT过程. 他们也在UUO模型大鼠肾组织中观察到α-SMA表达增强, E-cadherin表达减弱; 姜黄素处理组的α-SMA及TGF-β1蛋白与UUO组比较显著下降, E-cadherin和Smad7蛋

■同行评价
本文针对姜黄素对胰腺癌细胞上皮间质转化的影响进行研究, 行文流畅, 具有一定的科学性和创新性.

白表达明显升高, 并进一步证实上述结论[17].

近年来有研究证实, 姜黄素能够阻断肿瘤上皮细胞的EMT过程. 刘红军等[18]的研究显示, 姜黄素通过阻滞G_1期细胞抑制膀胱癌细胞T24的细胞增殖及细胞周期, 促进细胞凋亡过程, 并用毒性较低浓度姜黄素干预后, 上皮标志物CK及E-cadherin表达上调, 间质标志物Vimentin及SMA表达下调, 从而逆转T24细胞的间质表型, 降低肿瘤侵袭和迁移能力, 起到抗肿瘤作用. 该项研究表明姜黄素使膀胱癌细胞T24发生由间质向上皮转化, 也是国内首次报道姜黄素具有抑制肿瘤细胞EMT的作用.

然而, 为了证实姜黄素能够抑制胰腺癌的上皮间质转化过程, 本研究以姜黄素处理TGF-β1诱导的胰腺癌PANC-1细胞并从mRNA及蛋白水平检测其EMT指标. Real-time PCR与Western blot实验结果均提示姜黄素对TGF-β1诱导的PANC-1细胞具有抑制EMT作用. 与对照组相比, TGF-β1组的E-cadherin表达下调, Vimentin表达则上调, 差异均有统计学意义($P<0.05$); 与TGF-β1组比较, Cur+TGF-β1及Cur组的Vimentin表达具有下调趋势, 而E-cadherin表达具有上调趋势. 我们的研究结果进一步证实上述结论, 初步认为姜黄素具有抑制并阻断TGF-β1诱导的胰腺癌PANC-1细胞的EMT过程, 并且其阻断机制可能通过介导TGF-β/SMADs信号通路起作用, 有待进一步研究SMAD-依赖与非依赖途径中相关信号来证实.

总之, 低分化的胰腺癌PANC-1细胞的潜在侵袭转移能力较强, 姜黄素能够阻断TGF-β1诱导的胰腺癌PANC-1细胞的上皮向间质转化过程, 从而降低其侵袭及远处转移可能. 因此, 姜黄素可能是胰腺癌潜在的治疗药物.

4 参考文献

1 Polyak K, Weinberg RA. Transitions between epithelial and mesenchymal states: acquisition of malignant and stem cell traits. *Nat Rev Cancer* 2009; 9: 265-273 [PMID: 19262571 DOI: 10.1038/nrc2620]
2 Rhim AD, Mirek ET, Aiello NM, Maitra A, Bailey JM, McAllister F, Reichert M, Beatty GL, Rustgi AK, Vonderheide RH, Leach SD, Stanger BZ. EMT and dissemination precede pancreatic tumor formation. *Cell* 2012; 148: 349-361 [PMID: 22265420]
3 Cano CE, Motoo Y, Iovanna JL. Epithelial-to-mesenchymal transition in pancreatic adenocarcinoma. *Sci World J* 2010; 10: 1947-1957 [PMID: 20890584 DOI: 10.1100/tsw.2010.183]
4 Arumugam T, Ramachandran V, Fournier KF, Wang H, Marquis L, Abbruzzese JL, Gallick GE, Logsdon CD, McConkey DJ, Choi W. Epithelial to mesenchymal transition contributes to drug resistance in pancreatic cancer. *Cancer Res* 2009; 69: 5820-5828 [PMID: 19584296 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-2819]
5 殷涛, 王春友, 赵刚, 刘涛, 周峰, 陶京. 转化生长因子-β1诱导的上皮向间叶转化对胰腺癌侵袭和转移的意义. 华中科技大学学报(医学版) 2007; 36: 67-70
6 Kunnumakkara AB, Guha S, Krishnan S, Diagaradjane P, Gelovani J, Aggarwal BB. Curcumin potentiates antitumor activity of gemcitabine in an orthotopic model of pancreatic cancer through suppression of proliferation, angiogenesis, and inhibition of nuclear factor-kappaB-regulated gene products. *Cancer Res* 2007; 67: 3853-3861 [PMID: 17440100]
7 Guo LD, Chen XJ, Hu YH, Yu ZJ, Wang D, Liu JZ. Curcumin inhibits proliferation and induces apoptosis of human colorectal cancer cells by activating the mitochondria apoptotic pathway. *Phytother Res* 2013; 27: 422-430 [PMID: 22628241 DOI: 10.1002/ptr.4731]
8 Thiery JP, Sleeman JP. Complex networks orchestrate epithelial-mesenchymal transitions. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2006; 7: 131-142 [PMID: 16493418]
9 Zhu L, Qin H, Li PY, Xu SN, Pang HF, Zhao HZ, Li DM, Zhao Q. Response gene to complement-32 enhances metastatic phenotype by mediating transforming growth factor beta-induced epithelial-mesenchymal transition in human pancreatic cancer cell line BxPC-3. *J Exp Clin Cancer Res* 2012; 31: 29 [PMID: 22458379 DOI: 10.1186/1756-9966-31-29]
10 von Burstin J, Eser S, Paul MC, Seidler B, Brandl M, Messer M, von Werder A, Schmidt A, Mages J, Pagel P, Schnieke A, Schmid RM, Schneider G, Saur D. E-cadherin regulates metastasis of pancreatic cancer in vivo and is suppressed by a SNAIL/HDAC1/HDAC2 repressor complex. *Gastroenterology* 2009; 137: 361-371, 371.e1-5 [PMID: 19362090 DOI: 10.1053/j.gastro.2009.04.004]
11 Pryczynicz A, Guzińska-Ustymowicz K, Kemona A, Czyzewska J. Expression of the E-cadherin-catenin complex in patients with pancreatic ductal adenocarcinoma. *Folia Histochem Cytobiol* 2010; 48: 128-133 [PMID: 20529828 DOI: 10.2478/v10042-008-0089-1]
12 Kokkinos MI, Wafai R, Wong MK, Newgreen DF, Thompson EW, Waltham M. Vimentin and epithelial-mesenchymal transition in human breast cancer--observations in vitro and in vivo. *Cells Tissues Organs* 2007; 185: 191-203 [PMID: 17587825]
13 殷涛, 王春友, 熊炯忻, 陶京, 赵刚. Vimentin在胰腺癌细胞中的表达及临床意义. 世界华人消化杂志 2007; 15: 3822-3825
14 赵爱青, 张晓明, 侯恒, 李荣山, 马存根. 姜黄素对单侧输尿管梗阻大鼠肾小管上皮细胞转分化影响的研究. 中国中西医结合急救杂志 2007; 14: 348-351
15 杨丽霞, 李彧, 王谦, 李健, 李亚东, 刘铜华, 牛建昭. 姜黄素对TGF-β1诱导人肾小管上皮细胞转分化及分泌细胞外基质成分的影响. 中国中西医结合肾病杂志 2008; 9: 1040-1043
16 李彧, 杨丽霞, 陈朝青, 李健, 李亚东, 牛建昭. 姜黄素对肾小管上皮细胞转分化smad信号转导途径的影响. 北京中医药大学学报 2009; 32: 670-673
17 Li Y, Chen ZQ, Li YD. [Effects of curcumin on the epithelial mesenchymal transition and TGF-beta/Smads signaling pathway in unilateral ureteral ob-

struction rats]. *Zhongguo Zhongxiyijiehe Zazhi* 2011; 31: 1224-1228 [PMID: 22013801]

18 刘红军, 肖胜军, 莫曾南. 姜黄素促进膀胱癌细胞T24间质-上皮转化. 现代预防医学 2011; 38: 2565-3567

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版)

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

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

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

世界华人消化杂志 2014年6月28日; 22(18): 2572-2577
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

研究快报 RAPID COMMUNICATION

黄连素对结肠癌细胞系HT-29增殖和凋亡的影响

李湘楚, 熊建光, 程正位, 程 思, 刘启胜

■背景资料
结肠癌是最常见的恶性肿瘤之一, 严重威胁人类身心健康. 黄连素是一种用于临床的中药, 目前研究发现其具有广泛的抗肿瘤活性, 但黄连素对结肠癌的作用及其机制不明.

李湘楚, 熊建光, 程正位, 程思, 刘启胜, 咸宁市中心医院消化内科 湖北省咸宁市 437100
李湘楚, 副主任医师, 主要从事消化系肿瘤的研究.
湖北省自然科学基金资助项目, Nos. 2012FFC115, 2011CDC149
作者贡献分布: 李湘楚负责细胞培养、MTT和流式检测以及文章写作; 熊建光负责Western blot检测; 程正位负责RT-PCR部分检测; 程思负责实验数据分析; 刘启胜负责课题设计.
通讯作者: 刘启胜, 副主任医师, 437100, 湖北省咸宁市金桂路228号, 咸宁市中心医院消化内科. 41040402@qq.com
收稿日期: 2014-04-13 修回日期: 2014-05-04
接受日期: 2014-05-06 在线出版日期: 2014-06-28

Effect of berberine on proliferation and apoptosis of colon cancer HT-29 cells

Xiang-Chu Li, Jian-Guang Xiong, Zheng-Wei Cheng, Si Cheng, Qi-Sheng Liu

Xiang-Chu Li, Jian-Guang Xiong, Zheng-Wei Cheng, Si Cheng, Qi-Sheng Liu, Department of Gastroenterology, Xianning Central Hospital, Xianning 437100, Hubei Province, China
Supported by: Hubei Province Natural Science Fund, Nos. 2012FFC115 and 2011CDC149
Correspondence to: Qi-Sheng Liu, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, Xianning Central Hospital, 228 Jingui Road, Xianning 437100, Hubei Province, China. 41040402@qq.com
Received: 2014-04-13 Revised: 2014-05-04
Accepted: 2014-05-06 Published online: 2014-06-28

Abstract

AIM: To investigate the effect of berberine on cell proliferation in the human cancer cell line HT-29 and the underlying mechanisms.

METHODS: HT-29 cells in logarithmic growth phase were divided into a control group and a berberine group. The cells in the control group were normally cultured and cells in the berberine group were incubated with berberine (3 μmol/L). MTT assay and flow cytometry were used to examine cell proliferation and apoptotic changes in the two groups after incubation for 72 h. The mRNA expression of JAK2, STAT3, Bax and Bcl-2 was detected by RT-PCR. The changes in expression of JAK2, STAT3, p-JAK2, and p-STAT3 proteins were detected by Western blot. The activity of Caspase 3 was measured using a caspase 3 colorimetric assay kit.

RESULTS: Compared with the control group, the proliferation of HT-29 cells in the berberine group was significantly decreased ($P < 0.05$), but the apoptosis rate in the berberine group was significantly increased ($P < 0.05$). After treatment with berberine, the mRNA level of Bax was increased, the mRNA levels of Bcl-2 was decreased and the mRNA level sof JAK2 and STAT3 had no significant changes. Western blot results showed that the expression of total JAK2 and STAT3 proteins showed no significant changes ($P < 0.05$), the expression of p-JAK2, p-STAT3 and Bcl-2 was decreased, and the expression of Bcl-2 was increased ($P < 0.05$). Compared with the control group, the activity of Caspase 3 in the berberine group was significantly increased ($P < 0.05$).

CONCLUSION: Berberine can inhibit the proliferation and promote the apoptosis of HT-29 cells possibly through attenuating the activation of the JAK2/ STAT3 signaling pathway.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Berberine; HT-29 cells; Proliferation; Apoptosis; JAK2/STAT3

Li XC, Xiong JG, Cheng ZW, Cheng S, Liu QS. Effect of berberine on proliferation and apoptosis of colon cancer HT-29 cells. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(18): 2572-2577 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2572.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i18.2572

摘要

目的: 探讨黄连素(berberine, BER)对人结肠癌细胞株HT-29的作用及其机制.

方法: 将对数生长期HT-29细胞分成对照组和黄连素组. 对照组细胞常规培养, 黄连素组细胞培养体系中加入黄连素(3 μmol/L). 各组细胞培养72 h后, 利用MTT检测细胞增殖; 流式检测细胞凋亡, RT-PCR检测细胞*JAK2*、

■同行评议者
许剑民, 教授, 上海市复旦大学附属中山医院普外科

STAT3、*Bax*和*Bcl-2*基因表达; Western blot检测细胞中JAK2、STAT3、p-JAK2、p-STAT3、Bax和Bcl-2蛋白的变化, Caspase3活性试剂盒检测Caspase3活性.

结果: 黄连素组与对照组相比, HT-29细胞增殖率明显下降(P<0.05), 凋亡率明显升高(P<0.05), RT-PCR检测显示, 黄连素组与对照组相比Bax mRNA水平增高, Bcl-2 mRNA水平降低, 但JAK2和STAT3 mRNA表达无明显差异. Western blot检测显示, 黄连素组与对照组相比JAK2、STAT总蛋白无明显变化(P>0.05), 但p-JAK2、p-STAT3和Bcl-2表达水平明显降低, Bax增高(P<0.05), Caspase3活性试剂盒检测显示黄连素组与对照组相比Caspase3活性明显增加(P<0.05).

结论: 黄连素通过抑制JAK2/STAT3信号传导通路抑制HT-29细胞增殖和促进HT-29细胞凋亡.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: **黄连素**; HT-29; **增殖**; **凋亡**; JAK2/ STAT3

核心提示: 本实验以结肠癌细胞系HT-29为靶细胞, 进一步证实了JAK2/STAT3信号通路是结肠癌发生的重要致病机制, 黄连素可通过抑制JAK2/STAT3信号通路激活而促进HT-29细胞凋亡, 抑制HT-29增殖, 从而达到抗肿瘤的效果.

李湘楚, 熊建光, 程正位, 程思, 刘启胜. 黄连素对结肠癌细胞系HT-29增殖和凋亡的影响. 世界华人消化杂志 2014; 22(18): 2572-2577 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2572.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i18.2572

0 引言

结肠癌是最常见的恶性肿瘤之一, 严重威胁人类身心健康. 手术被认为是目前治疗结肠癌的主要手段[1,2]. 但多数结肠癌发现时已是中晚期, 不适于手术. 临床上一般采取以化疗为主、放疗、生物免疫治疗等为辅的治疗手段[1,2]. 但化疗有巨大的不良反应, 因而采用中医药结合化疗治疗中晚期结肠癌越来越显出优势[3-7]. 黄连素是我国常用的一味中药, 可从黄连、黄柏、三颗针等植物中提取, 因其具有治疗腹泻的作用而被广泛应用于临床[8,9]. 目前研究发现黄连素素具有抑制细胞增殖和促进细胞凋亡的作用[10,11]. 结肠癌发生被认为是细胞凋亡与细胞增殖平衡失调的结果[8,9]. JAK2/STAT3信号通路在结肠癌增殖和凋亡中扮演重要角色[12,13]. 本研究以人结肠癌细胞株HT-29为靶细胞, 探讨黄连素对人结肠癌细胞株HT-92的作用及其作用机制.

■相关报道
最近研究发现JAK2/STAT3信号通路在结肠癌的增殖和凋亡失衡中扮演重要角色, 在其他研究领域发现黄连素可调节JAK2/STAT3信号通路, 但在结肠癌中的具体机制和效果不明.

1 材料和方法

1.1 材料 人结肠癌细胞株HT-29, 中南大学湘雅医学院肿瘤研究所, 该细胞系由该所引自ATCC. 黄连素(美国Sigma公司产品)20 ℃下保存, 临用前以培养液稀释至所需浓度, RPMI 1640培养基, 美国Gibgo公司; 小牛血清, 杭州四季青公司; 12孔培养板, 美国Falcon公司; β-actin抗体(Abmart, China), p-JAK2抗体(CST, USA), JAK2抗体(CST, USA), p-STAT3抗体(CST, USA), STAT3抗体(CST, USA), Bax(CST, USA), Bcl-2(CST, USA), Caspase3活性检测试剂盒(Pharma Minger). TRIzol reagent(Invitrogen, USA), 逆转录试剂盒(GeneCopoeia, USA), SYBRgreen(Takara, Japan), RT-PCR仪(BIO-RAD), 蛋白裂解液RIPA(碧云天), 蛋白酶抑制剂cocktail及Western blot凝胶制备试剂盒购自武汉谷歌生物公司, BCA蛋白定量试剂盒(碧云天). qPCR引物(擎科生物技术有限公司), 酶标仪(Thermo Fisher). CO_2细胞培养箱, 美国Forma scientific公司; 倒置显微镜、激光共聚焦显微镜, 日本Olympus公司; 酶标仪(Thermo Fisher). PVDF膜(Roche), ECL试剂盒(Bi-pech), 胶片及化学发光仪(Kodak), Q-PCR仪(BIO-RAD).

1.2 方法

1.2.1 细胞培养: HT-29细胞置于含有10%胎牛血清的RPMI 1640培养液中, 加入青霉素(100 U/mL)和链霉素(100 U/mL), 在37 ℃、5%CO_2饱和湿度培养箱中培养.

1.2.2 细胞增殖的MTT法检测: 取对数生长期HT-29细胞, 接种于12孔板内, 调整密度为1×10^5/mL, 每孔90 μL, 实验组加入黄连素(3 μmol/L), 剂量参考文献[12], 对照组(只加培养基, 不加细胞和药物), 每组均设3个复孔. 12孔板置于37 ℃、5%CO_2培养箱培养72 h后, 加入5 mg/mL的MTT溶液20 μL/孔, 继续培养4 h, 然后加入三联裂解液[10%SDS+5%异丁醇+1%HCL(10 mol/L), 100 μL/孔], 37℃放置过夜后, 用酶标仪于波长570 nm处读取吸光度(A)值, 根据A值计算细胞增殖抑制率: 细胞增殖抑制率(%) = (对照孔A值-实验孔A值)/(对照孔A值-空白孔A值)×100%.

1.2.3 Annexin-V双染法检测细胞凋亡: 取对数生长期的HT-29细胞接种于6孔板中, 调整密度为1

■创新盘点
进一步证实了黄连素对结肠癌具有抗肿瘤的活性, 并首次探讨了其抗肿瘤活性是通过抑制JAK2/STAT3信号通路激活.

表 1 实时定量PCR检测的引物序列

基因	种属	正义链序列(5'-3')	反义链序列(5'-3')
JAK2	人	CTGAGTTGACTCCTACTGTGGA	TCTTCCCAGGGTCGATAAAGT
STAT3	人	CTGAACTTCGGGGTGATCGG	GGCTTGTCACTCGAATTTGAGA
Bax	人	GCATCGCTTCGGGGTGAT	CGTAGCGAAGCCCACTA
Bcl-2	人	AGAAGGGTCCCAGCTA	TTCGGGGTGATCGG
β-actin	人	AGAGGGAAATCGTGCGTGAC	CAATAGTGATGACCTGGCCGT

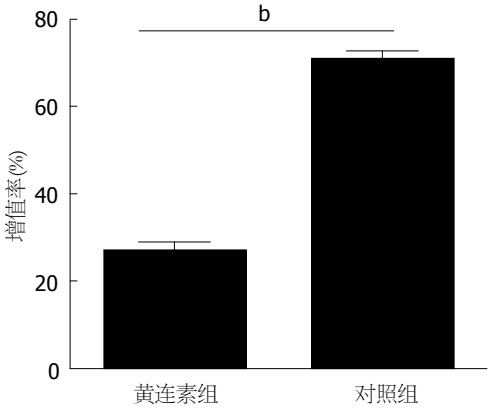


图 1 MTT检测黄连素对HT-29细胞增殖的影响. $^{b}P<0.01$.

×10^5/mL. 实验分为2组: 对照组细胞常规培养; 黄连素组细胞培养体系中加入黄连素素, 终质量浓度为40 μmol/L. 细胞培养24 h后, 收集各组所有悬浮细胞, 调整细胞密度为1×10^5/mL, 取1 mL细胞悬液, 1000 r/min离心5 min, 去培养基, 加RNA酶, 37 ℃水浴1 h, 放入冰浴加入0.5 mg/L碘化丙啶(PI)及Annexin V, 流式细胞仪检测采用CELIQUEST 软件分析细胞凋亡率.

1.2.4 Western blot检测各组细胞JAK2、STAT3、p-JAK2、p-STAT3、Bax和Bcl-2表达: 将各组收集的细胞用预冷的PBS清洗后, 按照蛋白裂解液RIPA操作说明提取蛋白, BCA法进行蛋白定量, 将各组蛋白浓度调成一致, 沸水煮5 min, 待用. 取各组细胞总蛋白样品80 μg, 以样品中的β-actin为内参, 经SDS-PAGE凝胶电泳, 转膜, 然后用含5%脱脂奶粉的PBS封闭2 h, 分别加入适量含2%脱脂奶粉的PBS稀释JAK2抗体(1∶1000), p-JAK2(1∶500), STAT3(1∶1000), p-STAT3(1∶500), Bax(1∶500), Bcl-2(1∶1000), β-actin(1∶3000)抗体, 4 ℃孵育过夜. PBS洗膜3次, 10 min/次, 根据一抗的来源, 再分别加入适量含2%脱脂奶粉的PBS稀释的HRP标记羊抗兔IgG(1∶500)、HRP标记羊抗鼠IgG(1∶5000)室温下作用2 h, PBS洗膜3次, 10 min/次, ECL化学发光显色、压片、显影、定影、胶片扫描保存. 用Ge-l Pro Analy zer(Ver3.0)软件测定蛋白条带灰度值JAK2、p-JAK2、STAT3、p-STAT3、Bax和Bcl-2条带灰度值与β-actin内参条带灰度值的比值分别将上述蛋白表达量化.

1.2.5 实时定量PCR(RT-PCR)检测JAK2和STAT3: 按照总RNA提取试剂盒(Takara)说明提取各组细胞总RNA, 紫外分光光度计测量浓度(Thermo Fisher), 逆转录以及扩增反应按试剂盒说明书(Takara)进行, 实时定量PCR(Bio-Rad). 引物均由Invitrogen公司合成. 管家基因*β-actin*作为内参对照基因, 用得到的各样本的Ct值按公式$2^{-\Delta\Delta Ct}$计算相对表达量(表1).

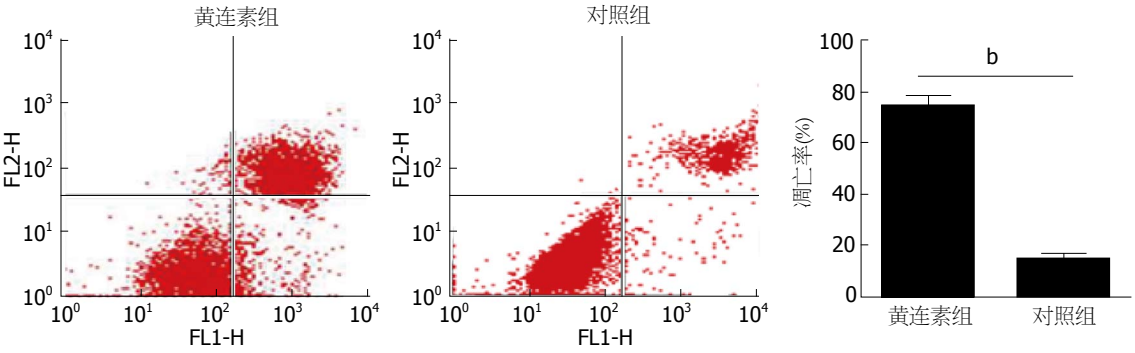
1.2.6 Caspase3活性测定: 收集各组细胞1×10^5, PBS洗涤2次, 加入细胞裂解液0.5 mL, 充分振荡后, 室温作用30 min, 15000 *g*离心15 min; 取上清液100 μL, 转入另一EP管中, 加Hepes缓冲液1 mL, 再加入AC-DEVD-AMC 10 μg(1 μg/μL), 37 ℃水浴1 h后上机测定激发波长为380 nm、发散波长为460 nm处的荧光强度Caspase3活性测定.

统计学处理 采用SPSS12.0统计软件包进行资料分析, 实验结果采用mean±SD表示, 资料采用单因素方差分析(ANOVA), 多个样本之间的两两比较采用*t*检验, $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 黄连素对HT-29细胞增殖的影响 MTT检测实验结果显示, 与对照相比, 给予黄连素的实验组增值率明显降低($P<0.01$). 增值率分别为(71%±4%和27%±3%)(图1).

2.2 黄连素对HT-29细胞凋亡的影响 流式检测实验结果显示, 与对照相比, 给予黄连素的实验组凋亡率明显增高($P<0.001$). 凋亡率分别为(76%±3%和15%±3%)(图2).



■应用要点

本实验阐述了黄连素可通过抑制JAK2/STAT3信号通路激活而压抑制结肠癌细胞增殖和促进肿瘤细胞凋亡, 为临床治疗结肠癌提供了一个新的选择.

图 2 流式检测黄连素对HT-29细胞凋亡的影响. $^{b}P<0.01$.

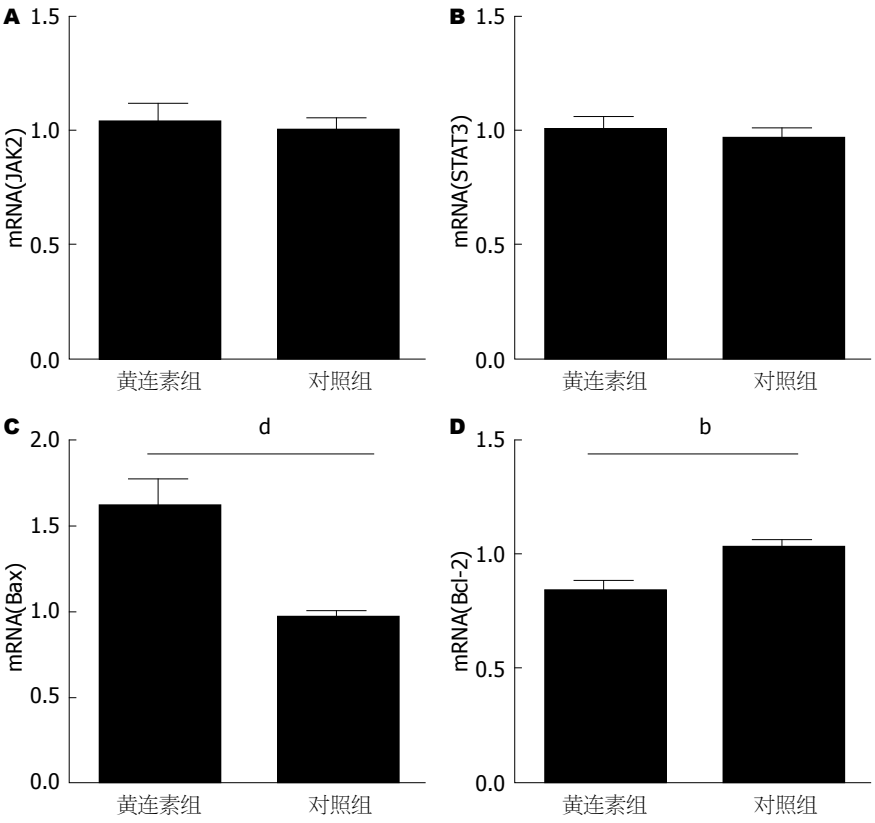


图 3 RT-PCR检测黄连素对HT-29细胞JAK、STAT3、Bax、Bcl-2 mRNA表达的影响. A: JAK2; B: STAT3; C: Bax; D: Bcl-2. $^{b}P<0.01$; $^{d}P<0.01$.

2.3 黄连素对HT-29细胞JAK2、STAT3、Bax和Bcl-2 mRNA表达的影响 RT-PCR检测结果显示, 对照组JAK2、STAT3 mRNA的表达水平与黄连素素组相比无明显差异($P>0.05$), 但黄连素组与对照组相比, Bax mRNA水平明显增高($P<0.001$), Bcl-2 mRNA水平明显降低($P<0.05$)(图3).

2.4 黄连素对HT-29细胞JAK2、STAT3、Bax和Bcl-2蛋白表达的影响 Western blot检测显示, 与对照组相比, 经黄连素作用HT-29细胞72 h后, JAK2、STAT3蛋白无明显变化($P>0.05$), p-JAK2、p-STAT3和Bcl-2明显降低, Bax明显增高($P<0.05$)(图4).

2.5 黄连素对HT-29细胞Caspase3活性的影响 Caspase3活性试剂盒检测实验显示, 与对照相比, 黄连素组Caspase3活性明显增高($P<0.001$)(图5).

3 讨论

结肠癌是消化系常见的肿瘤之一, 发病率占胃肠道肿瘤的第2位. 好发部位为直肠及直肠与乙状结肠交界处, 占60%. 发病多在40岁以后, 男女之比为2∶1[1,2]. 手术被认为是目前治疗结肠癌的主要手段, 但由于结肠癌发病的隐蔽性和诊

■同行评价
本文设计新颖, 从传统医学中选取药物研究肿瘤的治疗和机制, 中西结合, 为治疗结肠癌提供了一个新的选择.

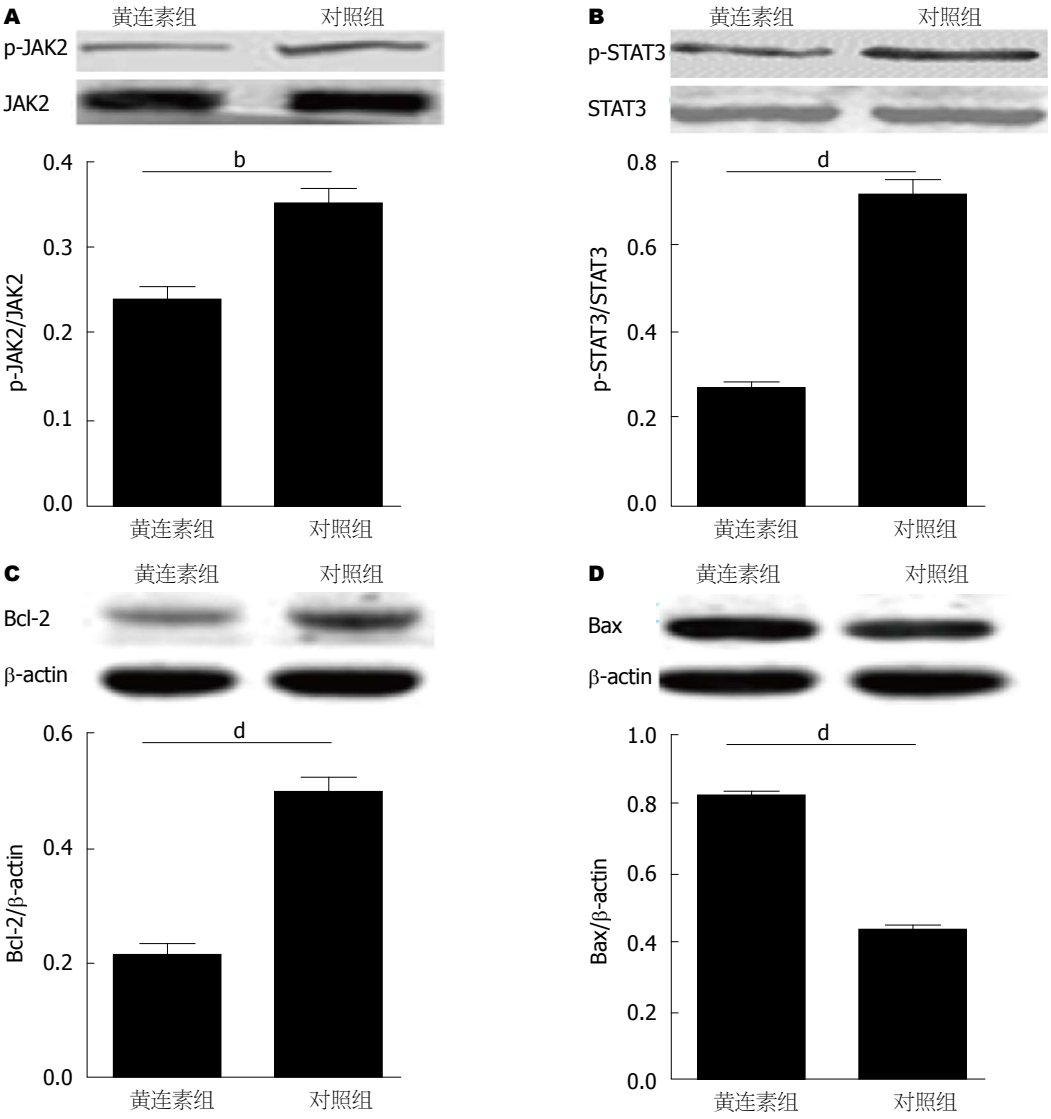


图 4 Western blot检测黄连素对HT-29细胞JAK2、STAT3、Bcl-2、Bax表达的影响. A: JAK2; B: STAT3; C: Bcl-2; D: Bax. $^{b}P<0.01$; $^{d}P<0.01$.

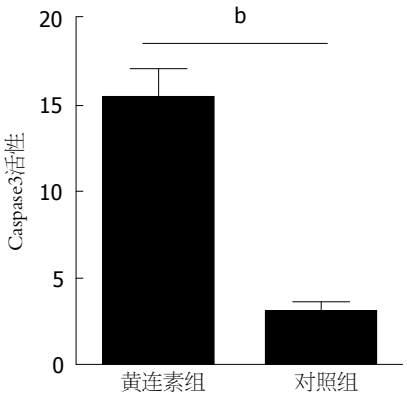


图 5 Caspase3活性试剂盒检测黄连素对HT-29细胞Caspase3活性的影响. $^{b}P<0.01$.

疗手段的局限性, 多数结肠癌发现时已进入结肠癌发病中晚期, 不适于手术治疗[3-7]. 目前临床上对胃癌一般采取以化疗为主、放疗、生物免疫治疗等为辅的治疗手段[1-6]. 但化疗有巨大的不良反应, 导致急性肝损伤和肾脏损伤等, 这就限制了化疗药物用量, 阻碍药物发挥功效, 此外放疗治疗容易导致放射性脑、脊髓损伤、放射性脑神经损伤、放射性唾液腺损伤以及放射性的后诱发癌等, 而采用中医药结合化疗治疗中晚期胃癌越来越显出优势[1-7]. 黄连素又称生物碱, 可从黄连、黄柏、三颗针等植物中提取, 临床广泛用于治疗腹泻[8,9]. 目前研究发现黄连素具有广泛的抗肿瘤活性, 如肺癌、肝癌等, 具有抑制细胞增殖、诱导细胞凋亡和提高肿瘤细胞对放疗的敏感性等多种生物学作用[12,13], 而结肠癌是肿瘤细胞增值和凋亡平衡失调的结果[1-3].

JAK2/STAT3是在多种细胞发挥介导作用的信号通路, 信号通路涉及细胞生长、细胞凋亡(促凋亡)、细胞周期进程、分化、转录、翻译

和糖代谢[14]. 目前研究发现JAK2/STAT3信号通路可以调节肿瘤细胞增殖[13]、分化、凋亡, 尤其与结肠癌增殖和凋亡密切相关[12-15].

试验中我们通过MTT检测发现黄连素可以明显抑制人结肠癌细胞株HT-29细胞增殖和显著促进HT-29细胞凋亡. Western blot检测发现黄连素可以明显抑制JAK2和STAT3活化, 促进Bax表达增高和Bcl-2表达降低. 活性试剂盒检测显示黄连素可以促进Caspase3活性增高, 因此我们可以推测黄连素可以通过抑制JAK2/STAT3信号通路激活而下调HT-29增殖和促进HT-29凋亡, 从而达到治疗结肠癌的目的.

总之, 黄连素可通过抑制JAK2/STAT3信号通路激活来抑制HT-29细胞增殖和促进HT-29细胞凋亡. 黄连素是直接作用于JAK2信号分子还是通过调节其上游激酶和/或信号分子而间接发挥作用仍不清楚, 黄连素除通过调节JAK2/STAT3信号通路外, 是否还可调节其他信号通路促进HT-29细胞凋亡尚需进行更深入的研究.

4 参考文献

1 Gupta SC, Kim JH, Prasad S, Aggarwal BB. Regulation of survival, proliferation, invasion, angiogenesis, and metastasis of tumor cells through modulation of inflammatory pathways by nutraceuticals. *Cancer Metastasis Rev* 2010; 29: 405-434 [PMID: 20737283 DOI: 10.1007/s10555-010-9235-2]

2 Schiller LR. Review article: anti-diarrhoeal pharmacology and therapeutics. *Aliment Pharmacol Ther* 1995; 9: 87-106 [PMID: 7605866]

3 Menees S, Saad R, Chey WD. Agents that act luminally to treat diarrhoea and constipation. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2012; 9: 661-674 [PMID: 22945441 DOI: 10.1038/nrgastro.2012.162]

4 Zou J, Mi L, Yu XF, Dong J. Interaction of 14-3-3σ with KCMF1 suppresses the proliferation and colony formation of human colon cancer stem cells. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 3770-3780 [PMID: 23840115 DOI: 10.3748/wjg.v19.i24.3770]

5 Zhang XL, Hu AB, Cui SZ, Wei HB. Thermotherapy enhances oxaliplatin-induced cytotoxicity in human colon carcinoma cells. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 646-653 [PMID: 22363135 DOI: 10.3748/wjg.v18.i7.646]

6 Wang ZX, Cao JX, Liu ZP, Cui YX, Li CY, Li D, Zhang XY, Liu JL, Li JL. Combination of chemotherapy and immunotherapy for colon cancer in China: a meta-analysis. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 1095-1106 [PMID: 24574784 DOI: 10.3748/wjg.v20.i4.1095]

7 Mel'nikov PV, Achkasov EE, Alekperov SF, Aleksandrov LV, Kalachev OA, Ba MR. [The choice of treatment tactics by the tumor colon obturation]. *Khirurgiia* (Mosk) 2013; (10): 84-87 [PMID: 24579107]

8 Caini S, Boniol M, Botteri E, Tosti G, Bazolli B, Russell-Edu W, Giusti F, Testori A, Gandini S. The risk of developing a second primary cancer in melanoma patients: A comprehensive review of the literature and meta-analysis. *J Dermatol Sci* 2014; 75: 3-9 [PMID: 24680127 DOI: 10.1016/j.jdermsci.2014.02.007]

9 Durko L, Malecka-Panas E. Lifestyle Modifications and Colorectal Cancer. *Curr Colorectal Cancer Rep* 2014; 10: 45-54 [PMID: 24659930]

10 Lee K, Hwang H, Nam KT. Immune response and the tumor microenvironment: how they communicate to regulate gastric cancer. *Gut Liver* 2014; 8: 131-139 [PMID: 24672653]

11 Singh IP, Mahajan S. Berberine and its derivatives: a patent review (2009 - 2012). *Expert Opin Ther Pat* 2013; 23: 215-231 [PMID: 23231038 DOI: 10.1517/13543776.2013.746314]

12 Xu JH, Zhang C, Tang B, Hao YX, Chen J, Liu T, Cui H. [Effect of JAK2/STAT3/vimentin signaling pathway on proliferation and migration of human colon cancer cells]. *Zhonghua Weichang Waike Zazhi* 2010; 13: 282-285 [PMID: 20422486]

13 Nefedova Y, Huang M, Kusmartsev S, Bhattacharya R, Cheng P, Salup R, Jove R, Gabrilovich D. Hyperactivation of STAT3 is involved in abnormal differentiation of dendritic cells in cancer. *J Immunol* 2004; 172: 464-474 [PMID: 14688356]

14 蔡少平, 刘泽. 黄连素抑制结肠癌细胞中PGE2表达作用的研究. 中国医药学报 2004; 19: 95-97

15 Chiba T, Yamada M, Aiso S. Targeting the JAK2/STAT3 axis in Alzheimer's disease. *Expert Opin Ther Targets* 2009; 13: 1155-1167 [PMID: 19663649 DOI: 10.1517/14728220903213426]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年6月28日; 22(18): 2578-2582
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

数字染色内镜在Barrett食管诊断中的应用

张秋瓒, 杨 倩, 冯 静, 张淑贤, 王秀茹

■背景资料
近年来, 食管腺癌发病率逐年上升, Barrett食管(Barrett's esophagus, BE)是其公认的癌前病变状态, 如何早期发现及干预BE是消化内科研究热点之一. 数字染色内镜(digital chrome endoscopy, I-Scan)是一种新型数字染色内镜技术, 可以提供不同的高分辨率增强图像, 具有良好的临床实用价值, 有望提高疑似BE检出率.

张秋瓒, 杨倩, 冯静, 张淑贤, 王秀茹, 天津医科大学第四中心临床学院 天津市第四中心医院消化科 天津市 300140
张秋瓒, 主任医师, 主要从事消化内科和消化内镜的研究.
作者贡献分布: 此课题由张秋瓒设计; 研究过程由张秋瓒、杨倩、冯静、张淑贤及王秀茹完成; 数据处理由杨倩与王秀茹完成; 论文写作由张秋瓒完成.
通讯作者: 张秋瓒, 主任医师, 300140, 天津市河北区中山路3号, 天津医科大学第四中心临床学院, 天津市第四中心医院消化科. qiuzan_zh@sina.com
收稿日期: 2014-03-30 修回日期: 2014-05-04
接受日期: 2014-05-06 在线出版日期: 2014-06-28

Digital chrome endoscopy for diagnosis of Barrett's esophagus

Qiu-Zan Zhang, Qian Yang, Jing Feng, Shu-Xian Zhang, Xiu-Ru Wang

Qiu-Zan Zhang, Qian Yang, Jing Feng, Shu-Xian Zhang, Xiu-Ru Wang, Department of Gastroenterology, Tianjin Fourth Central Hospital, Tianjin Medical University, the Fourth Central Clinical College, Tianjin 300140, China
Correspondence to: Qiu-Zan Zhang, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Tianjin Fourth Central Hospital, Tianjin Medical University, the Fourth Central Clinical College, 3 Zhongshan Road, Hebei District, Tianjin 300140, China. qiuzan_zh@sina.com
Received: 2014-03-30 Revised: 2014-05-04
Accepted: 2014-05-06 Published online: 2014-06-28

Abstract

AIM: To evaluate the diagnostic value of digital chrome endoscopy (I-Scan) in Barrett's esophagus (BE).

METHODS: From August 2012 to March 2013, a total of 420 patients with reflux esophageal disease were enrolled. The patients were randomized into two groups: one group (n = 220) received I-Scan and the other received ordinary endoscopy. Those suspected to have BE were observed closely and underwent biopsy. The detection rate and diagnostic accuracy were compared between the two endoscopic modes.

RESULTS: Suspected BE was diagnosed in 35 patients (15.91%) by I-Scan and in 24 (12.00%) by ordinary endoscopy. There was no significant difference in the detection rate for BE between the two methods (P > 0.05). The coincidence rate of diagnosis between I-Scan and pathology was 87.10%, and was 70.83% for the ordinary endoscopy, with a significant difference between the two groups (P < 0.05). The image score of paliform blood vessels was significant difference between squamoucolumnar junction (SCJ) and gastroesophageal junction (GEJ) (P < 0.05).

CONCLUSION: I-Scan could play an important role in the observation of paliform blood vessels between SCJ and GEJ in BE. The dignostic rate of I-Scan might be better than that of ordinary endoscopy. I-Scan can improve the detection rate for BE.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Barrett's esophagus; Diagnosis; Pathology; Digital chrome endoscopy

Zhang QZ, Yang Q, Feng J, Zhang SX, Wang XR. Digital chrome endoscopy for diagnosis of Barrett's esophagus. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(18): 2578-2582
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2578.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i18.2578

摘要

目的: 探讨数字染色内镜(digital chrome endoscopy, I-Scan)对Barrett食管(Barrett's esophagus, BE)的诊断价值.

方法: 420例临床拟诊为胃食管反流性患者随机分为两组, 患者分别接受I-Scan和普通内镜模式检查, 筛选出疑似BE患者, 并行病理检查, 比较I-Scan组和对照组BE检出率以及图像特点.

结果: I-Scan组疑诊BE患者35例, 检出率为15.91%(35/220), 病理确诊31例, 符合率87.10%. 对照组内镜疑诊BE 24例, 检出率12.00%(24/200), 病理确诊17例, 符合率70.83%. I-Scan组与对照组相比, 内镜疑似BE略有增高, 但无统计学意义(P>0.05). I-Scan组对鳞、柱状上皮交界和胃食管结合部间距间

■同行评议者
何松, 教授, 重庆医科大学附属第二医院消化内科

栅状血管网图像清晰度与对照组相比有统计学差异(P<0.05). I-Scan组内镜疑似BE患者和病理诊断符合率、误诊率与对照组相比有统计学差异(P<0.05).

结论: I-Scan对鳞、柱状上皮交界和胃食管结合部间距间栅状血管网的观察具有重要意义. I-Scan模式诊断BE与病理诊断一致性好于普通内镜模式, I-Scan模式可以提高疑似BE的检出率.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: Barrett食管; 诊断; 病理学; 数字染色内镜

核心提示: 本研究对胃食管反流性患者分别进行数字染色内镜(digital chrome endoscopy, I-Scan)和普通内镜模式检查, 提示I-Scan对鳞、柱状上皮交界(squamoucolumnar junction)和胃食管结合部(gastroesophageal junction)之间栅状血管网的观察具有重要意义. I-Scan模式诊断Barrett食管(Barrett's esophagus, BE)与病理诊断一致性好于普通内镜模式, 可以提高疑似BE的检出率, 且操作简便, 具有良好的临床实用价值.

张秋瓒, 杨倩, 冯静, 张淑贤, 王秀茹. 数字染色内镜在Barrett食管诊断中的应用. 世界华人消化杂志 2014; 22(18): 2578-2582
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2578.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i18.2578

0 引言

Barrett食管(Barrett's esophagus, BE)是指食管下段的复层鳞状上皮被单层柱状上皮所替代的一种病理现象. BE是一种癌前病变状态, 其发生食管癌的危险性较一般人群高30-125倍, 且80%的食管腺癌来源于BE[1], 早期诊断和干预这一癌前病变是预防食管腺癌的关键. 数字染色技术是近年来发展起来的内镜诊断技术, 包括内镜窄带成像(narrow band imaging, NBI)、智能染色(fujinon intelligent chromo endoscopy, FICE)和数字染色内镜(digital chrome endoscopy, I-Scan)等. 目前国内外应用NBI[2,3]和FICE[4,5]对BE的研究较多, 但是I-Scan对BE的诊断价值研究少见. 本研究旨在探讨I-Scan在BE诊断中的应用价值.

1 材料和方法

1.1 材料 选择2012-08/2013-03于天津市第四中心医院消化科门诊拟诊为胃食管反流病患者420例. 病例入选标准: 年龄18-75岁; 性别不限; 有烧心、反酸、胸骨后疼痛等典型症状, 病程在3 mo以上, 且除外糖尿病、冠心病、消化性溃疡、胃肠道手术史、严重心、肝、肾功能不全者. 采用PENTAX EPK-i高清电子胃镜, 具有普通模式和I-Scan模式.

1.2 方法 患者有烧心、反酸、胸骨后疼痛等典型症状, 病程在3 mo以上者, 首先填写反流性疾病诊断量表(reflux diagnostic questionnaire, RDQ), 分值>12, 临床诊断为GERD[6], 纳入本研究. 患者随机分为两组, 患者常规术前准备, 对照组仅行常规模式检查, 实验组首先行常规模式检查, 胃镜送入食管贲门交界处后转换成I-Scan模式, 先后用分别用对比度增强模式(contrast enhancement, CE)、表面增强模式(surface enhancement, SE)和色调增强模式(tone enhancement, TE)再次检查. 两组患者对疑似BE患者可疑部位进行活检. 胃镜检查由同一名10年以上内镜检查经验主任医师完成, 病理检查由同一名十年病理检查副主任医师完成. BE诊断标准: 参照2011年中国胃食管反流病共识意见中BE诊断标准[7]. 图像清晰度评分: 腺管开口形态以及毛细血管结构看不清为1分, 模糊可辨为2分, 较清晰为3分, 非常清晰为4分[5].

统计学处理 应用SPSS13.0统计软件包处理数据. 计数资料中百分率的比较采用χ^2检验, 图像清晰度比较采用秩和检验. P<0.05为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 一般资料 420例拟诊胃食管反流病患者年龄18-75岁, 平均45.53岁±4.21岁. 其中男261例, 女159例, 男∶女为1.64∶1. 420例拟诊胃食管反流病患者主要临床表现为烧心201例(47.86%), 反酸165例(39.29%), 胸骨后疼痛感106例(25.24%), 各症状之间有重叠. 所有患者随机分为两组, 其中I-Scan组220例, 对照组200例.

2.2 疑似BE筛查 I-Scan组220例拟诊为胃食管反流病患者中, 35例(15.91%)内镜疑诊BE, 其中短段31例, 长段4例. 对照组200例, 24例(12.00%)内镜疑诊BE, 其中短段21例, 长段3例. 两种内镜模式下疑似BE患者总检出率比较无统计学意义(χ^2 = 2.15, P>0.05). 两种内镜模式下疑似BE患者长段BE检出率比较无统计学意义(χ^2 = 0.07, P>0.05). 两种内镜模式下疑似短段BE检出率比较无统计学意义(χ^2 = 2.01, P>0.05).

■研发前沿
本研究提示I-Scan对鳞、柱状上皮交界(squamoucolumnar junction, SCJ)和胃食管结合部(gastroesophageal junction, GEJ)之间栅状血管网的观察具有重要意义. I-Scan模式下疑似BE与病理诊断一致性明显好于普通内镜模式, 可以指导活检, 提高检出率, 降低误诊率, 但尚需进一步大样本研究.

■相关报道
近年发展起来的数字染色技术中，目前国内外应用内镜窄带成像(narrow band imaging, NBI)和智能染色(fujinon intelligent chromo endoscopy, FICE)对BE的研究报道较多，I-Scan对BE的诊断价值研究较少. 有文献报道I-Scan有利于提高胃食管反流病患者微小病变的检出率.

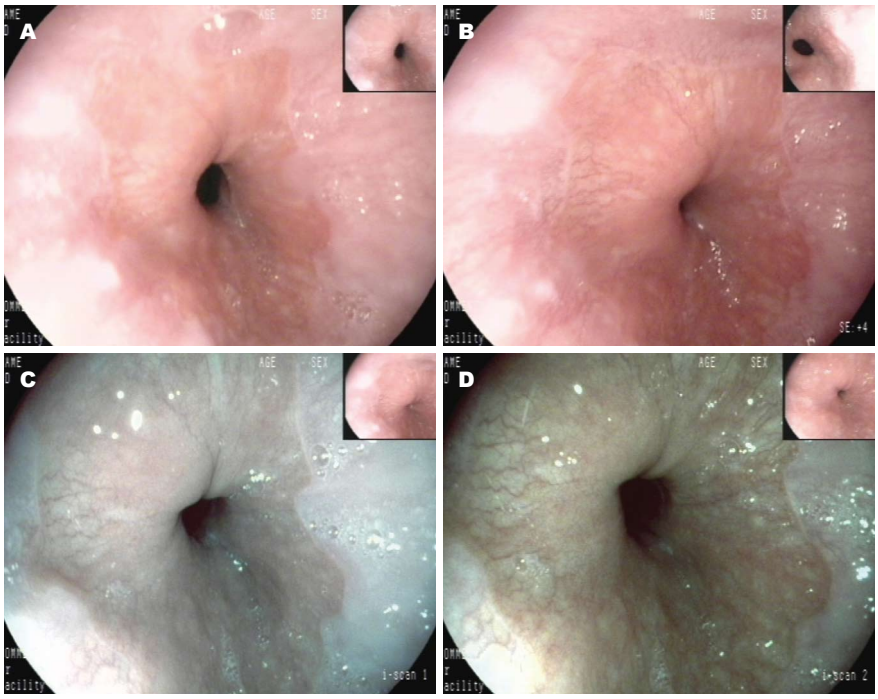


图 1 不同I-Scan模式下BE内镜表现. A: 普通胃镜模式下食管下段图像; B: I-Scan(SE+4)模式下食管下段图像, 栅状血管网更清晰; C: I-Scan(SE+TE-e)模式下食管下段图像; D: I-Scan(SE+TE-g)模式下食管下段图像. I-Scan: 数字染色内镜.

表 1 I-Scan组与对照组病变毛细血管形态图像清晰度评分

病变毛细血管形态	*n*	图像清晰度评分				总分
		1分	2分	3分	4分	
I-Scan组	35	0	4	25	6	107
对照组	24	3	16	5	0	50

I-Scan: 数字染色内镜.

2.3 图像清晰度比较 在观察BE毛细血管形态方面, I-Scan组图像清晰度总分明显高于对照组(P<0.05). 两者比较差异有统计学意义(表1, 图1). 2.4 I-Scan内镜模式对诊断BE的诊断价值 I-Scan组疑诊BE 35例, 最终病理确诊为BE 31例(88.57%). 镜下疑诊长段BE 4例, 病理确诊4例(100%), 镜下疑诊短段BE 31例, 病理确诊27例(87.10%). 对照组疑诊BE 24例, 经病理确诊17例(70.83%). 镜下疑诊长段BE 3例, 经病理确诊3例(100%), 镜下疑诊短段BE 21例, 经病理确诊14例(66.67%).

对照组发现了17例经病理证实的BE, 检出率为8.50%. I-Scan组发现了31例经病理证实的BE, 检出率为14.09%. 两者比较无统计学差异(χ^2 = 3.23, P>0.05). 对照组发现了14例经病理证实的短段BE, 检出率为7.00%. I-Scan组发现了27例经病理证实的短段BE, 检出率为12.27%. 两者比较无统计学差异(χ^2 = 3.31, P>0.05).

I-Scan组内镜疑似BE诊断与病理诊断符合率和对照组相比有统计学意义(χ^2 = 17.71, P<0.05), I-Scan组内镜疑似短段BE诊断与病理诊断符合率和对照组相比有统计学意义(χ^2 = 4.92, P<0.05).

比较两种内镜模式对有明显反流症状的患者的BE的误诊率对照组误诊率是29.17%, I-Scan组误诊率是11.43%, 差异有统计学意义(χ^2 = 17.71, P<0.05).

3 讨论

目前国际上对BE的诊断还存在许多争议. 日本和英国学者认为只要食管远端复层鳞状上皮被化生的单层柱状上皮所替代就可诊断为BE[8]. 2011年美国胃肠病学会强调只有食管远端化生柱状上皮存在肠上皮化生时才能诊断BE[9]. 依据我国2011年中国胃食管反流病共识意见诊断标准, BE定义为食管下段复层鳞状上皮被化生的单层柱状上皮所替代的一种病理现象, 而无论是否伴有肠上皮化生[6].

BE是一种癌前病变状态, 一般认为, 食管腺癌的演变过程为: 慢性胃食管反流-鳞状上皮增生-食管炎和食管溃疡-BE-柱状上皮异型增生-食管腺癌[10,11]. 早期诊断和干预这一癌前病变是预防食管腺癌的关键.

BE的内镜下诊断也存在较多争议, 欧美学者多主张以微微充气状态下胃黏膜皱襞的口侧端做为胃食管结合部(gastroesophageal junction, GEJ)[9], 日本学者多主张食管末端栅栏状血管下端即为GEJ[12-14]. 因为胃黏膜皱襞的口侧端容易受充气量多少的影响, 缺乏客观性, 所以对BE的镜下判断栅栏状血管具有重要意义. 但是由于合并炎症等原因, 有时普通内镜下栅栏状血管网纹理观察不清, 此时内镜下正确判断BE就存在一定难度.

目前国内外已经有大量应用NBI[2,3]及FICE[4,5]内镜技术对BE进行研究的报道, 认为NBI及FICE染色内镜诊断BE与病理符合率较高, 能显著提高BE的诊断率. 但是I-Scan对BE的诊断价值研究少见.

I-Scan是一种新型计算机动态数字图像处理系统[15], 可以提供不同的高分辨率增强图像. 目前有4种模式可: 高清模式(high-definition, HD)、CE模式、SE模式和TE模式. 每种模式提供了不同的图像功能并可以单独或与其他模式相结合使用. CE模式突出显示黏膜表面和pit开口类型, SE模式增强黏膜表面、pit开口类型、血管走形和组织表面形态. 其中CE和SE模式提供天然颜色调图片, 而TE模式提供色素内镜图像. I-Scan具有强调黏膜内血管走形以及病变黏膜与正常黏膜见对比的功能, 并能针对消化道不同部位黏膜特征, 针对性地进行“色调增强”的多通道多颜色对比[16]. I-Scan有利于提高胃食管反流病患者微小病变的检出率[17,18]. 本研究中, I-Scan内镜模式表面增强图像可以观察到更为清晰的栅栏状血管, 对比增强及边缘强化功能也有助于对病变范围的观察, I-Scan模式下图像清晰度评分明显好于普通模式. 本研究显示I-Scan模式下疑似BE检出率特别是短段BE检出率高于普通模式, 但是无统计学意义, 这也许和样本量较小有关. I-Scan模式下疑似BE与病理诊断一致性明显好于普通内镜模式, 从而提示I-Scan模式可以指导活检, 提高检出率, 降低误诊率.

总之, I-Scan对鳞、柱状上皮交界(squamous-columnar junction, SCJ)和GEJ间距间栅状血管网的观察具有重要意义. I-Scan模式诊断BE与病理诊断一致性好于普通内镜模式, 可以提高疑似BE的检出率.

■创新盘点

本研究对胃食管反流性患者分别进行I-Scan和普通内镜模式检查, 筛选出疑似BE患者, 并行病理检查, 比较I-Scan组和对照组BE检出率以及图像特点, 从而探讨I-Scan在BE诊断中的应用价值.

4 参考文献

1 Neumann H, Mönkemüller K, Vieth M, Malfertheiner P. Chemoprevention of adenocarcinoma associated with Barrett's esophagus: potential options. *Dig Dis* 2009; 27: 18-23 [PMID: 19439956 DOI: 10.1159/000210099]

2 戈之铮, 陆秋云, 薛寒冰, 李伟光, 戴军, 李晓波, 胡运彪. 内镜窄带成像技术在诊断Barrett食管中的作用研究. 中华消化内镜杂志 2007; 24: 14-18

3 Curvers W, Baak L, Kiesslich R, Van Oijen A, Rabenstein T, Ragunath K, Rey JF, Scholten P, Seitz U, Ten Kate F, Fockens P, Bergman J. Chromoendoscopy and narrow-band imaging compared with high-resolution magnification endoscopy in Barrett's esophagus. *Gastroenterology* 2008; 134: 670-679 [PMID: 18242603 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.01.003]

4 Osawa H, Yamamoto H, Yamada N, Yoshizawa M, Sunada K, Kita H, Ajibe H, Satoh K, Sugano K. Diagnosis of endoscopic Barrett's esophagus by transnasal flexible spectral imaging color enhancement. *J Gastroenterol* 2009; 44: 1125-1132 [PMID: 19714289 DOI: 10.1007/s00535-009-0121-z]

5 李艳霞, 沈磊, 罗和生, 沈志祥, 于皆平. 内镜智能分光比色技术对Barrett食管的诊断价值. 中华消化内镜杂志 2011; 28: 684-687

6 中国胃食管反流病研究协作组. 反流性疾病问卷在胃食管反流病诊断中的价值. 中华消化杂志 2003; 23: 651-654

7 中华医学会消化病学分会. Barrett食管诊治共识(2011修订版, 重庆). 中华消化内镜杂志 2011; 28: 421-422

8 Playford RJ. New British Society of Gastroenterology (BSG) guidelines for the diagnosis and management of Barrett's oesophagus. *Gut* 2006; 55: 442 [PMID: 16531521 DOI: 10.1136/gut.2005.083600]

9 Spechler SJ, Sharma P, Souza RF, Inadomi JM, Shaheen NJ. American Gastroenterological Association medical position statement on the management of Barrett's esophagus. *Gastroenterology* 2011; 140: 1084-1091 [PMID: 21376940 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.01.030]

10 Lagergren J, Bergström R, Lindgren A, Nyrén O. Symptomatic gastroesophageal reflux as a risk factor for esophageal adenocarcinoma. *N Engl J Med* 1999; 340: 825-831 [PMID: 10080844 DOI: 10.1056/NEJM199903183401101]

11 Ye W, Chow WH, Lagergren J, Yin L, Nyrén O. Risk of adenocarcinomas of the esophagus and gastric cardia in patients with gastroesophageal reflux diseases and after antireflux surgery. *Gastroenterology* 2001; 121: 1286-1293 [PMID: 11729107 DOI: 10.1053/gast.2001.29569]

12 Kinjo T, Kusano C, Oda I, Gotoda T. Prague C& M and Japanese criteria: shades of Barrett's esophagus endoscopic diagnosis. *J Gastroenterol* 2010; 45: 1039-1044 [PMID: 20549252 DOI: 10.1007/s00535-010-0264-y]

13 Akiyama T, Inamori M, Iida H, Endo H, Hosono K, Sakamoto Y, Fujita K, Yoneda M, Takahashi H, Koide T, Tokoro C, Goto A, Abe Y, Shimamura T, Kobayashi N, Kubota K, Saito S, Nakajima A. Shape of Barrett's epithelium is associated with prevalence

■同行评价
本文探讨I-Scan对BE的诊断价值, 具有较高的临床参考价值.

of erosive esophagitis. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 484-489 [PMID: 20101776 DOI: 10.3748/wjg.v16.i4.484]
14 Akiyama T, Sekino Y, Iida H, Koyama S, Gotoh E, Maeda S, Nakajima A, Inamori M. Endoscopic diagnosis of Barrett's esophagus. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 3477-3478 [PMID: 22807620 DOI: 10.3748/wjg.v18.i26.3477]
15 Tajiri H, Niwa H. Proposal for a consensus terminology in endoscopy: how should different endoscopic imaging techniques be grouped and defined? *Endoscopy* 2008; 40: 775-778 [PMID: 18698532 DOI: 10.1055/s-2008-1077507]
16 Kodashima S, Fujishiro M. Novel image-enhanced endoscopy with i-scan technology. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 1043-1049 [PMID: 20205272 DOI: 10.3748/wjg.v16.i9.1043]
17 Kim MS, Choi SR, Roh MH, Lee JH, Jang JS, Kim BG, Kim SO, Han JS, Hsing CT. Efficacy of I-scan endoscopy in the diagnosis of gastroesophageal reflux disease with minimal change. *Clin Endosc* 2011; 44: 27-32 [PMID: 22741109 DOI: 10.5946/ce.2011.44.1.27]
18 Hoffman A, Basting N, Goetz M, Tresch A, Mudter J, Biesterfeld S, Galle PR, Neurath MF, Kiesslich R. High-definition endoscopy with i-Scan and Lugol's solution for more precise detection of mucosal breaks in patients with reflux symptoms. *Endoscopy* 2009; 41: 107-112 [PMID: 19214887 DOI: 10.1055/s-0028-1119469]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年6月28日; 22(18): 2583-2587
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

酸反流与异常非酸反流性胃食管反流性咳嗽症状与诊断的临床比较

王巍, 孙艳玲, 邢丽芬, 王 萍, 刘丽敏, 石 硕, 许亚丽

王巍, 齐齐哈尔医学院第五附属医院大庆龙南医院呼吸内科 黑龙江省齐齐哈尔市 163453
孙艳玲, 齐齐哈尔医学院第五附属医院大庆龙南医院医疗保险科 黑龙江省齐齐哈尔市 163453
邢丽芬, 王萍, 刘丽敏, 齐齐哈尔医学院第五附属医院大庆龙南医院医院感染管理科 黑龙江省齐齐哈尔市 163453
石硕, 许亚丽, 齐齐哈尔医学院第五附属医院大庆龙南医院消化内科 黑龙江省齐齐哈尔市 163453
王巍, 主治医师, 主要从事慢性呼吸道炎性疾病的研究.
作者贡献分布: 课题的设计及论文写作由王巍完成; 孙艳玲、邢丽芬、王萍及刘丽敏参与研究过程与数据分析; 试剂由石硕与许亚丽提供.
通讯作者: 王巍, 主治医师, 163453, 黑龙江省齐齐哈尔市大庆市让胡路区爱国路35号, 齐齐哈尔医学院第五附属医院大庆龙南医院呼吸内科. wangwei1634@163.com
电话: 0459-5910089
收稿日期: 2014-05-31 修回日期: 2014-06-08
接受日期: 2014-06-16 在线出版日期: 2014-06-28

Symptoms and diagnosis of acid *vs* non-acid gastroesophageal reflux induced cough

Wei Wang, Yan-Ling Sun, Li-Fen Xing, Ping Wang, Li-Min Liu, Shuo Shi, Ya-Li Xu

Wei Wang, Department of Respiratory Medicine, Qiqihar Medical College Affiliated Fifth Hospital, Daqing Longnan Hospital, Qiqihar 163453, Heilongjiang Province, China
Yan-Ling Sun, Department of Medical Insurance, Qiqihar Medical College Affiliated Fifth Hospital, Daqing Longnan Hospital, Qiqihar 163453, Heilongjiang Province, China
Li-Fen Xing, Ping Wang, Li-Min Liu, Department of Hospital Infection Management, Qiqihar Medical College Affiliated Fifth Hospital, Daqing Longnan Hospital, Qiqihar 163453, Heilongjiang Province, China
Shuo Shi, Ya-Li Xu, Department of Gastroenterology, Qiqihar Medical College Affiliated Fifth Hospital, Daqing Longnan Hospital, Qiqihar 163453, Heilongjiang Province, China
Correspondence to: Wang Wei, Attending Physician, Department of Respiratory Medicine, Qiqihar Medical College Affiliated Fifth Hospital, Daqing Longnan Hospital, 35 Aiguo Road, Qiqihar 163453, Heilongjiang Province, China. wangwei1634@163.com
Received: 2014-05-31 Revised: 2014-06-08
Accepted: 2014-06-16 Published online: 2014-06-28

Abstract

AIM: To compare the symptoms and diagnosis of acid and non-acidic gastroesophageal reflux induced cough (GERC).

METHODS: Forty patients diagnosed with GERC were collected between January 2011 and December 2013 at our hospital, including 21 cases of acid GERC (DeMeester score ≥ 12.70) and 19 cases of non-acid GERC (DeMeester score < 12.70). The clinical symptoms, gastroesophageal reflux diagnostic questionnaire (GerdQ) score, and DeMeester score were compared between the two groups.

RESULTS: The age and incidence of reflux were significantly lower in the non-acid GERC group than in the acid GERC group (χ^2 = 6.686, P = 0.010). There were no significant differences in the nature of cough, cough duration, frowsty bosom, history of stomach problems or complicated obstructive sleep apnea syndrome (OSAS) between the two groups (P > 0.05). Compared with the acid GERC group, the non-acid GERC group had significantly lower GerdQ score and DeMeester score (χ^2 = 2.337, P = 0.003), although there was no significant difference between daytime and nighttime cough (P > 0.05).

CONCLUSION: Acid and non-acid GERC differs little in terms of clinical symptoms and should be diagnosed based on comprehensive evaluation including GerdQ and DeMeester scores.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Acid reflux; Diagnosis; Cough

Wang W, Sun YL, Xing LF, Wang P, Liu LM, Shi S, Xu YL. Symptoms and diagnosis of acid *vs* non-acid gastroesophageal reflux induced cough. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(18): 2583-2587 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2583.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i18.2583

摘要

目的: 比较酸和非酸性胃食管反流性咳嗽(gastroesophageal reflux induced cough, GERC)的症状与诊断方法.

■背景资料
胃内容物反流一般包括酸反流及非酸反流, 胃食管反流性咳嗽(gastroesophageal reflux induced cough, GERC)中由异常非酸反流引起的为非酸GERC. 一般食管测pH法只能检测到胃酸反流, 而对非酸反流性胃食管反流病不敏感, 常常造成误诊, 对患者治疗造成阻碍. 因此, 应采用合理指标对酸反流与异常非酸反流性胃食管反流性咳嗽加以鉴别, 以便临床更好的对症治疗.

■同行评议者
潘秀珍, 教授, 主任医师, 福建省立医院消化科

■研发前沿
酸反流在GERC中的作用已经得到临床及研究人员公认, 而非酸反流引起的胃食管反流性咳嗽的重要性也越来越引起医务人员的重视. 因其无特征性生化表现, 而无法用食管滴酸实验等诊断, 造成误诊情况严重, 危害了患者的早期诊断及治疗.

方法: 收集2011-01/2013-12于我院诊断为GERC的患者共40例, 其中酸性GERC组21例, DeMeester积分≥12.70, 而非酸性GERC组19例, DeMeester积分<12.70. 对其临床症状及反流诊断问卷(gastroesophageal reflux diagnostic questionnaire, GerdQ)积分、DeMeester积分等进行统计评价.

结果: 非酸性GERC组的年龄及反流现象发生率明显低于酸性GERC组(χ^2 = 6.686, P = 0.010); 而在咳嗽性质、咳嗽时间、胸闷情况以及胃病史、合并阻塞性睡眠呼吸暂停综合征(obstructive sleep apnea hyponea syndrome, OSAS)等方面均无统计学差异(P>0.05). 与酸性GERC组相比, 非酸性GERC组患者的GerdQ和DeMeester积分较低, 差异具有统计学意义(χ^2 = 3.337, P = 0.003); 而日间和夜间的咳嗽积分间的差异无统计学意义(P>0.05).

结论: 酸反流与异常非酸反流性胃食管反流性咳嗽在临床症状方面差别甚微, 应根据包括GerdQ及DeMeester积分在内的多通道食管腔内阻抗-pH监测等方面对其进行全面检测, 对临床治疗起到了重要作用.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 酸反流; 诊断; 咳嗽症状

核心提示: 本研究将非酸性胃食管反流性咳嗽(gastroesophageal reflux induced cough, GERC)组及酸性GERC组的临床症状进行比较, 非性酸GERC组的反流现象发生率明显低于酸性GERC组, 而在咳嗽性质、咳嗽时间、胸闷情况以及胃病史、合并阻塞性睡眠呼吸暂停综合征(obstructive sleep apnea hyponea syndrome)等方面均无统计学差异. 与酸性GERC组相比, 非酸性GERC组患者的反流诊断问卷(gastroesophageal reflux diagnostic questionnaire)和DeMeester积分较低, 而日间和夜间的咳嗽积分间的差异无统计学意义.

王巍, 孙艳玲, 邢丽芬, 王萍, 刘丽敏, 石硕, 许亚丽. 酸反流与异常非酸反流性胃食管反流性咳嗽症状与诊断的临床比较. 世界华人消化杂志 2014; 22(18): 2583-2587 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2583.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i18.2583

0 引言

胃食管反流病是胃食管因过度接触胃液而引起的反流和食管黏膜损伤的疾病, 为消化内科的常见疾病. 胃内容物反流一般包括酸反流及非酸反流, 胃食管反流性咳嗽(gastroesophageal reflux induced cough, GERC)中由异常非酸反流引起的为非酸GERC[1-4]. 一般食管测pH法只能检测到胃酸反流, 而对非酸反流性胃食管反流病不敏感, 常常造成误诊, 对患者治疗造成阻碍. 因此, 应采用合理指标对酸反流与异常非酸反流性胃食管反流性咳嗽加以鉴别, 以便临床更好的对症治疗. 本文即通过收集患者资料进行分析, 比较酸和非酸性GERC的症状与诊断方法, 旨在提高临床上对非酸性GERC的诊断与治疗.

1 材料和方法

1.1 材料 收集2011-01/2013-12于我院诊断为GERC的患者共40例, 诊断标准《咳嗽的诊断与治疗指南》[5]. 其中酸GERC组21例, DeMeester积分≥12.70, 而非酸GERC组19例, DeMeester积分<12.70. 排除有严重心、肺、肝、肾疾病者; 排除恶性肿瘤患者. 两组在年龄、性别、病程、呼吸功能等方面资料比较如表1, 非酸性GERC组的年龄明显低于酸性GERC组, 其他基本情况均无统计学差异(P>0.05).

1.2 方法

1.2.1 研究: 研究经患者及其家属同意, 督促患者完成全部检查并初步诊断为GERC, 对患者从发病到就诊时的症状进行详细记录, 并对其进行反流诊断问卷调查及咳嗽评分等.

1.2.2 疗效评定: 本实验采用以下数据进行评定: (1)反流症状评分, 采用反流诊断问卷(gastroesophageal reflux diagnostic questionnaire, GerdQ)进行评价; (2)多通道食管腔内阻抗-pH监测(multi-channel intraluminal impedance combined with pH monitoring, MII-pH)记录日间积分和夜间积分; (3)咳嗽评分, 在首次就诊当天咳嗽症状并进行评分, 并行辣椒素吸入咳嗽敏感性试验[6,7].

统计学处理 所有数据均采用SPSS20.0进行处理, 计量数据以mean±SD表示, 使用t检验, 组间比较使用单因素方差分析(AVONA检验), 计数资料使用χ^2检验或四格表确切概率分析. 所有统计检验均为双侧概率检验, 检验水准为α = 0.05. P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 两组患者的临床症状情况比较 将非酸性GERC组及酸性GERC组的临床症状进行比较,

表 1 两组患者基本临床资料比较 (mean ± SD)

分组	*n*	年龄(岁)	病程(mo)	FEV1预计值(%)	FVC预计值(%)
非酸性GERC	21	48.2 ± 3.4	13.3 ± 6.9	92.0 ± 2.4	98.9 ± 2.4
酸性GERC	19	58.2 ± 2.7	15.1 ± 5.7	93.1 ± 3.2	100.2 ± 5.0
χ^2值	–	2.235	0.798	0.312	0.389
*P*值	–	0.032	0.398	0.802	0.691

FEV1: 一秒用力呼气容积; FVC: 用力肺活量; GERC: 胃食管反流性咳嗽.

表 2 两组患者咳嗽情况比较 (*n*)

分组	*n*	咳嗽性质		咳嗽时间		
		无痰	有痰	白天为主	夜间为主	无差异
非酸性GERC	21	15	7	8	5	10
酸性GERC	19	11	9	4	8	9
χ^2值	–	0.464	0.819	1.380	1.522	0.000
*P*值	–	0.496	0.366	0.240	0.217	0.987

GERC: 胃食管反流性咳嗽.

表 3 两组患者其他相关症状比较 (*n*)

分组	*n*	反流	胸闷	胃病史	合并OSAS
非酸性GERC	21	3	2	4	4
酸性GERC	19	10	5	7	3
χ^2值	–	6.686	1.948	1.584	0.073
*P*值	–	0.010	0.163	0.208	0.787

GERC: 胃食管反流性咳嗽; OSAS: 阻塞性睡眠呼吸暂停综合征.

表 4 两组患者咳嗽症状积分及MII-pH监测参数 (分, mean ± SD)

分组	*n*	GerdQ	DeMeester	日间积分	夜间积分
非酸性GERC	21	7.5 ± 0.9	6.4 ± 1.1	3.5 ± 0.4	1.7 ± 0.1
酸性GERC	19	10.7 ± 0.2	28.2 ± 3.7	3.4 ± 0.4	1.9 ± 0.3
χ^2值	–	3.337	7.889	1.602	0.879
*P*值	–	0.003	0.000	0.133	0.337

GerdQ: 胃食管返流病自测表, GERC: 胃食管反流性咳嗽.

非酸性GERC组的反流现象发生率明显低于酸性GERC组, 两组差异具有统计学意义(χ^2 = 6.686, P = 0.010); 而在咳嗽性质、咳嗽时间、胸闷情况以及胃病史、合并OSAS等方面均无统计学差异(P>0.05)(表2, 3).

2.2 两组患者的咳嗽症状积分、咳嗽阈值及MII-pH监测参数比较 与酸性GERC组相比, 非酸性GERC组患者的GerdQ和DeMeester积分较低, 差异具有统计学意义(χ^2 = 3.337, P = 0.003); 而日间和夜间的咳嗽积分间的差异无统计学意义(P>0.05)(表4).

3 讨论

酸反流性胃食管反流性咳嗽是因胃酸和其他胃内容物反流进入食管而引起的以咳嗽为突出症状的临床疾病, 其病因除食管运动功能失调, 食

■应用要点

本研究旨在通过回顾性分析胃食管反流患者的症状与诊断情况, 对酸反流及非酸反流性进行对比, 以便为临床诊断和治疗提供有力的依据.

■同行评价
本研究选题尚可，对临床有一定的参考意义.

管支气管反射障碍外，少数患者还与胆汁反流有关，一般表现为胸骨后灼烧感以及反酸胸闷等[8-10]. 酸反流在GERC中的作用已经得到临床及研究人员[11-13]公认，而非酸反流引起的胃食管反流性咳嗽的重要性也越来越引起医务人员的重视. 因其无特征性生化表现，而无法用食管滴酸实验等诊断，造成误诊情况严重，危害了患者的早期诊断及治疗. 本研究旨在通过回顾性分析胃食管反流患者的症状与诊断情况，对酸反流及非酸反流性进行对比，以便为临床诊断和治疗提供有力依据.

对患者的一般情况进行比较，非酸性GERC组患者的平均年龄明显低于酸性GERC组的患者，此结果提示非酸性GERC患者多发于年龄较轻的患者中，这可能与患者消化道功能失调有关. 高龄患者全身功能退化，消化系统功能随之紊乱，常发生胃肠道的逆向运动，使食物及胃酸反流，而低龄患者则常常由于神经功能失调，非病理性的食道运动，仅仅为呈弱酸性的未消化食物的反流[14]，这提示我们在临床诊断中应特别注意低龄患者发生长期与食物刺激有关的咳嗽症状，并进行下确诊断.

将非酸性GERC组及酸性GERC组的临床症状进行比较，非酸性GERC组的反流现象发生率明显低于酸性GERC组，而在咳嗽性质、咳嗽时间、胸闷情况以及胃病史、合并OSAHS等方面均无统计学差异. 与酸性GERC组相比，非酸性GERC组患者的GerdQ和DeMeester积分较低，而日间和夜间的咳嗽积分间的差异无统计学意义. 这说明非酸性GERC和酸性GERC两者的临床症状差别甚微，并不能单纯依靠临床症状而对两者分别作为诊断，只能通过MII-pH监测，对患者的GerdQ积分及DeMeester积分进行评价，对患者咳嗽的病因作出明确诊断.

非酸性GERC的治疗药物主要为促胃动力药，因其并非因为酸反流，所以并不推荐使用质子泵抑制剂[15-17]. 接诊反流性胃食管反流性咳嗽患者时，应特别注意低龄患者，对其临床症状全面询问，在诊断不明时及时对其进行MII-pH检查[18-20]，以便更好的对其进行诊断，加快患者的病情恢复[21,22]. 异常非酸反流虽然主要原因不是强酸性物质的反流，但不能排除少量酸随流的现象，若患者烧心症状严重，可加用少量质子泵抑制剂保护患者胃黏膜功能. 而促胃动力药则强力增强食管和胃蠕动及排空，可有效控制患者非酸反流量和频率[23-25].

总之，酸反流与异常非酸反流性胃食管反流性咳嗽在临床症状方面差别甚微，应根据包括GerdQ及DeMeester积分在内的MII-pH等方面对其进行全面检测，对临床治疗起到了重要作用.

4 参考文献

1 刘玻, 余莉, 邱志宏, 徐镶怀, 吕寒静, 许树长, 陈莹, 邱忠民. 多通道食管腔内阻抗-pH监测对胃食管反流性咳嗽的诊断价值. 中华内科杂志 2012; 51: 867-870
2 徐镶怀, 王岚, 刘玻, 余莉, 邱志宏, 吕寒静, 邱忠民. 非酸胃食管反流性咳嗽的临床特征. 中华结核和呼吸杂志 2011; 34: 855-857
3 张巧, 马千里, 黄赞胜, 王彬, 程晓明, 林科雄, 王长征. 胃食道反流性咳嗽临床诊断评分系统的建立. 第三军医大学学报 2011; 33: 2202-2205
4 周登燕, 周早阳. 胃食管反流性咳嗽27例. 中国民康医学 2011; 23: 328-329
5 中华医学会呼吸病学分会哮喘学组. 咳嗽的诊断与治疗指南(2009版). 中华结核和呼吸杂志 2009; 32: 407-413
6 时翠芹, 邱忠民, 吕寒静. 辣椒素咳嗽敏感性试验在慢性咳嗽中的应用价值. 中华结核和呼吸杂志 2007; 30: 954-956
7 Yu L, Xu XH, Chen Q, Liang SW, Lv HJ, Qiu ZM. Gastro-esophageal reflux induced cough with airway hyperresponsiveness. *Int J Clin Exp Med* 2014; 7: 728-735 [PMID: 24753770]
8 Borrelli O, Mancini V, Thapar N, Ribolsi M, Emerenziani S, de'Angelis G, Bizzarri B, Lindley KJ, Cicala M. Dilated intercellular space diameter as marker of reflux-related mucosal injury in children with chronic cough and gastro-oesophageal reflux disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2014; 39: 733-742 [PMID: 24512625 DOI: 10.1111/apt.12652]
9 陈强, 徐镶怀, 余莉, 梁四维, 吕寒静, 邱忠民. 症状相关概率在胃食管反流性咳嗽诊断中的应用价值. 中华结核和呼吸杂志 2013; 36: 746-750
10 杨忠民, 徐镶怀, 陈强, 余莉, 梁四维, 吕寒静, 邱忠民. 症状指数对胃食管反流性咳嗽的诊断价值. 中华内科杂志 2014; 53: 108-111
11 裴艳香,尚占民,郝建宇. 年龄与胃食管反流病的关系. 世界华人消化杂志 2013; 10: 904-907
12 张巧, 黄赞胜, 王斌, 吴颖, 马千里, 王长征. 慢性鼻炎/鼻窦炎相关性咳嗽和胃食管反流性咳嗽临床特征比较. 中国呼吸与危重监护杂志 2011; 10: 462-465
13 Kim J, Lee JH, Kim Y, Kim K, Oh YM, Yoo KH, Rhee CK, Yoon HK, Kim YS, Park YB, Lee SW, Lee SD. Association between chronic obstructive pulmonary disease and gastroesophageal reflux disease: a national cross-sectional cohort study. BMC Pulm Med 2013; 13: 51 [PMID: 23927016]
14 Xu XH, Yang ZM, Chen Q, Yu L, Liang SW, Lv HJ, Qiu ZM. Therapeutic efficacy of baclofen in refractory gastroesophageal reflux-induced chronic cough. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 4386-4392 [PMID: 23885151 DOI: 10.3748/wjg.v19.i27.4386]
15 Hom C, Vaezi MF. Extra-esophageal manifestations of gastroesophageal reflux disease: diagnosis and treatment. *Drugs* 2013; 73: 1281-1295 [PMID: 23881666 DOI: 10.1007/s40265-013-0101-8]
16 Baran M, Özgenç F, Arikan Ç, Çakir M, Ecevıt ÇÖ, Aydoğdu S, Yağci RV. Gastroesophageal reflux in children with functional constipation. *Turk J Gastro-*

enterol 2012; 23: 634-638 [PMID: 23794297]
17 Yüksel F, Doğan M, Karataş D, Yüce S, Şentürk M, Külahli I. Gastroesophageal reflux disease in children with chronic otitis media with effusion. *J Craniofac Surg* 2013; 24: 380-383 [PMID: 23524698 DOI: 10.1097/SCS.0b013e31827feb08]
18 Vallot T, Ducrotte P, Bour B, Jacques JP, Houcke P, De Korwin JD, Pariente A, Aygalenq P, Coudsy B, Carrois F, Ricci L, Bruley des Varannes S. [Application of the recommendations of the conference of consensus in front of symptoms ENT, respiratory or thoracic pains considered as due to a gastroesophageal reflux disease]. *Presse Med* 2013; 42: e125-e132 [PMID: 23414966 DOI: 10.1016/j.lpm.2012.11.006]
19 Petruzzi M, Lucchese A, Campus G, Crincoli V, Lauritano D, Baldoni E. Oral stigmatic lesions of gastroesophageal reflux disease (GERD). *Rev Med Chil* 2012; 140: 915-918 [PMID: 23282706 DOI: 10.4067/S0034-98872012000700014]
20 Liu B, Yu L, Qiu ZH, Xu XH, Lü HJ, Xu SC, Chen Y, Qiu ZM. [The diagnostic value of multichannel intraluminal esophageal impedance and pH monitoring in gastroesophageal reflux-related cough]. *Zhonghua Neike Zazhi* 2012; 51: 867-870 [PMID: 23291024]
21 Zhang C, Wang ZG, Wu JM, Lai Y, Ji F, Gao X, Hu Z, Zhu G, Ning Y, Li Z, Liu H, Zhao J. A preliminary investigation of laparoscopic fundoplication treatment on gastroesophageal reflux disease-related respiratory symptoms. *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech* 2012; 22: 406-409 [PMID: 23047382 DOI: 10.1097/SLE.0b013e3182628913]
22 Koch OO, Antoniou SA, Kaindlstorfer A, Asche KU, Granderath FA, Pointner R. Effectiveness of laparoscopic total and partial fundoplication on extraesophageal manifestations of gastroesophageal reflux disease: a randomized study. *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech* 2012; 22: 387-391 [PMID: 23047378 DOI: 10.1097/SLE.0b013e31825efb5b]
23 王岚, 余莉, 邱志宏. 上气道咳嗽综合征的咳嗽敏感性改变及其意义. 同济大学学报(医学版) 2012; 33: 81-84
24 陈如冲, 赖克方, 刘春丽. 辣椒素咳嗽激发试验方法的建立及其安全性评价. 中华结核和呼吸杂志 2005; 28: 751-754
25 王河, 汪安江, 朱萱王. 胃食管反流病药物治疗进展. 世界华人消化杂志 2011; 19: 1711-1719

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com
世界华人消化杂志 2014年6月28日; 22(18): 2588-2592
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

鼻饲管置入深度及鼻饲时患者体位与食物反流及并发症的关系

童丽灵, 王曙红, 王 伟, 林 桦, 林白浪, 苏春晓

■背景资料
昏迷、食管癌晚期或假性球麻痹而导致的吞咽困难等患者常因为不能自主进食而造成营养不良, 应用鼻饲法将导管经鼻腔插入胃内, 可从管中灌注水分、药物及营养物质等能量维持患者生命体征, 是改善患者生存质量的主要方法之一. 但传统的置管方法常导致胃内食物反流进入气管引起吸入性肺炎, 严重者甚至可发生呼吸衰竭及呼吸窘迫综合征, 对危重症患者的生命造成极大威胁, 是医护人员的一大困扰.

童丽灵, 王曙红, 王伟, 林桦, 林白浪, 苏春晓, 海口市人民医院 海南省海口市 570208
童丽灵, 主要从事临床护理的研究.
作者贡献分布: 本研究由童丽灵、王曙红、王伟、林桦、林白浪及苏春晓共同完成; 论文撰写由童丽灵完成.
通讯作者: 童丽灵, 主管护师, 571100, 海南省海口市琼山区, 海口市人民医院. chen66704456@aliyun.com
收稿日期: 2014-03-11 修回日期: 2014-04-20
接受日期: 2014-04-28 在线出版日期: 2014-06-28

Relationship of insertion depth for nasogastric feeding tubes and body position while feeding with occurrence of food regurgitation and aspiration pneumonia in critically ill patients

Li-Ling Tong, Shu-Hong Wang, Wei Wang, Hua Lin, Bai-Lang Lin, Chun-Xiao Su

Li-Ling Tong, Shu-Hong Wang, Wei Wang, Hua Lin, Bai-Lang Lin, Chun-Xiao Su, Haikou People's Hospital, Haikou 570208, Hainan Province, China
Correspondence to: Li-Ling Tong, Charge Nurse, Haikou People's Hospital, Qiongshan District, Haikou 570208, Hainan Province, China. chen66704456@aliyun.com
Received: 2014-03-11 Revised: 2014-04-20
Accepted: 2014-04-28 Published online: 2014-06-28

Abstract

AIM: To explore the relationship of insertion depth for nasogastric feeding tubes and body position while feeding with the occurrence of food regurgitation and aspiration pneumonia in critically ill patients.

METHODS: One hundred and twenty critically ill patients treated at our hospital from January 2009 to January 2014 were randomly and equally divided into four groups: A, B, C and D, which received traditional nasal feeding in supine position, improved nasal feeding in supine position, traditional nasal feeding in semi-recumbent position, and improved nasal feeding in semi-recumbent position. The incidence of food regurgitation and aspiration pneumonia were compared. Patients of four groups showed no statistical difference in age, time in bed, or the prevalence of species.

RESULTS: The incidence rates of food regurgitation and aspiration pneumonia in group A were higher than those in the other three groups. The incidence rates of food regurgitation and aspiration pneumonia in group D were significantly lower than those in groups A, B and C (food regurgitation: 10.00% *vs* 63.33%, 40.00%, 36.67%, P = 0.000, 0.005, 0.002; aspiration pneumonia: 6.67% *vs* 56.67%, 36.67%, 33.33%, P = 0.000, 0.015, 0.007). The incidence rates of food regurgitation and aspiration pneumonia showed no significant differences between groups B and C (P = 0.791, 0.791).

CONCLUSION: Both semi-recumbent position and improved nasal feeding reduce the incidence of aspiration pneumonia and food regurgitation. The effect is more significant when improved nasal feeding is performed in semi-recumbent position.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Nasogastric feeding; Aspiration pneumonia; Bedridden; Body position

Tong LL, Wang SH, Wang W, Lin H, Lin BL, Su CX. Relationship of insertion depth for nasogastric feeding tubes and body position while feeding with the occurrence of food regurgitation and aspiration pneumonia in critically ill patients. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(18): 2588-2592 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2588.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i18.2588

摘要

目的: 探讨鼻饲管置入的深度及鼻饲时患者体位与食物反流及并发症的关系.

方法: 选取2009-01/2014-01于我院进行治疗的危重症患者共120例, 随机分成A、B、C、D

■同行评议者
李永翔, 教授, 主任医师, 博士生导师, 安徽省合肥市, 安徽医科大学第一附属医院普外科

共4组, 每组30例. 分别采取传统、改良鼻饲法及平卧、半卧体位对4组患者进行鼻饲, 将食物反流及并发症(吸入性肺炎)发生率进行比较. 4个组在年龄、卧床时间、所患病种数等方面差异无统计学意义.

结果: 与A组进行传统鼻饲及平卧体位的患者相比, B、C、D 3组患者的两种疾病发生率均低于A组, 其中进行改良后鼻饲方法的D组患者食物反流发生率(10.00%)及吸入性肺炎发生率(6.67%)均明显低于其他3组(食物反流: 63.33%, 40.00%, 36.67%; 吸入性肺炎: 56.67%, 36.67%, 33.33%), 差异均有统计学意义(食物反流P = 0.000, 0.005, 0.002; 吸入性肺炎: P = 0.000, 0.015, 0.007). B组与C组的食物反流及吸入性肺炎发生率相比无突出优势, 差异无统计学意义(P = 0.791, 0.791).

结论: 半卧位鼻饲法及改良鼻饲法两者具有独立降低患者食物反流引起吸入性肺炎发生率的作用, 而两者相结合后效果更为明显, 在临床应用上极具价值.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 鼻饲; 吸入性肺炎; 长期卧床; 体位

核心提示: 本文通过改良鼻胃管的置入深度及鼻饲时体位发现, 加深鼻胃管放入位置及使用半卧体位可有效减少食物反流引起的吸入性肺炎发病率, 对减少危重症患者的病死率作用显著, 可在临床上广泛推广.

童丽灵, 王曙红, 王伟, 林桦, 林白浪, 苏春晓. 鼻饲管置入深度及鼻饲时患者体位与食物反流及并发症的关系. 世界华人消化杂志 2014; 22(18): 2588-2592 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2588.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i18.2588

0 引言

鼻饲法(nasogastric gavage)是一种常用的借助外部器械维持患者能量摄入的方法. 昏迷、食管癌晚期或假性球麻痹而导致的吞咽困难等患者常因为不能自主进食而造成营养不良, 应用鼻饲法将导管经鼻腔插入胃内, 可从管中灌注水分、药物及营养物质等能量维持患者生命体征, 是改善患者生存质量的主要方法之一[1]. 但传统的置管方法常导致胃内食物反流进入气管引起吸入性肺炎, 严重者甚至可发生呼吸衰竭及呼吸窘迫综合征[2], 对危重症患者的生命造成极大威胁, 是医护人员的一大困扰. 已有研究[3,4]使用改变鼻饲体位的方法来降低吸入性肺炎的发生率, 但讨论不明确. 在长期的临床实践中, 我们发现鼻饲管置入胃内的深度及鼻饲时患者体位与是否发生食物反流而引起吸入性肺炎联系密切[5]. 本文即选取不能自主进食患者进行鼻饲方式研究, 以探讨不同的鼻饲方法对危重症患者吸入性肺炎发病率的影响, 以求提高患者治愈率, 现报告如下.

■研发前沿
临床应用鼻胃管过程中发现患者体位可能是引起误吸的一个重要因素, 因此探寻合适的置入长度以及操作体位对改善患者预后情况具有极为重要的意义.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2009-01/2014-01于我院进行治疗的危重症患者共120例, 均为男性, 年龄35-85岁, 卧床时间4-6 mo. 所患疾病以帕金森氏病、脑血栓后遗症、脑动脉硬化为主, 其他伴有高血压、糖尿病等. 所有患者近1 mo内无明显肺部感染, 实验室及影像检查均阴性. 将患者随机分成A、B、C、D共4组, 每组30例. 4个组在年龄、卧床时间、所患病种数等方面差异无统计学意义(P>0.05), 具有可比性(表1).

1.2 方法

1.2.1 治疗: 对4组患者均采用PVC型硅胶鼻胃管, 传统方法从耳垂到剑突的距离约为50 cm[6], 而本研究采用改良后鼻饲法, 较传统延长10 cm. 调整并测量床头角度, 将患者体位分为平卧位(<30度)及半卧位(30-45度)进行鼻饲. 根据置入长度及体位对4组患者进行以下处理: (1)A组: 传统鼻饲法+平卧体位; (2)B组: 传统鼻饲法+半卧体位; (3)C组: 改良鼻饲法+平卧体位; (4)D组: 改良鼻饲法+半卧体位. 每餐限定重症监护室自制匀浆量为400 mL, 输注时间20 min. 鼻饲前抽吸胃内残余量, 观察4 wk, 最后一次鼻饲后记录食物反流及吸入性肺炎患者发生数.

1.2.2 评价指标: (1)食物反流判定: 进餐中连续呛咳, 观察有无反流物并及时抽吸. 可在鼻饲液体中加入亚甲蓝, 通过观察吸出物的颜色与痰液鉴别. (2)吸入性肺炎的判定[7]: 发热, 体温≥38 ℃; 呼吸道分泌物增多, 可培养出潜在的呼吸道病原菌; 外周血白细胞<4.0×10^9/L或>10.0×10^9/L; 呼吸困难, 听诊可闻肺湿啰音出现; X线胸片示肺部出现新发浸润性阴影. 具体上述3条以上者可诊断为吸入性肺炎.

统计学处理 所有数据均采用SPSS20.0进行处理, 计量数据以mean±SD表示, 组间比较使用单因素方差分析(AVONA检验), 计数资料使用

■相关报道
已有研究使用改变鼻饲体位的方法来降低吸入性肺炎的发生率, 但讨论不明确. 在长期的临床实践中, 本课题组发现鼻饲管置入胃内的深度及鼻饲时患者体位与是否发生食物反流而引起吸入性肺炎联系密切.

表 1 4组患者年龄、卧床时间、所患病种数比较 (n = 30, mean ± SD)

分组	年龄(岁)	卧床时间(mo)	所患病种数(种)
A组	50.5 ± 2.1	5.2 ± 0.1	3.7 ± 0.9
B组	50.7 ± 1.9	5.1 ± 0.7	3.5 ± 1.1
C组	49.2 ± 1.4	5.1 ± 0.8	3.6 ± 1.0
D组	50.9 ± 1.5	5.2 ± 0.5	3.6 ± 0.8
F值	5.325	6.343	6.743
P值	0.183	0.112	0.085

表 2 4组患者食物反流及吸入性肺炎发生率比较 n(%)

分组	食物反流发生率	吸入性肺炎发生率
A组	19(63.33)	17(56.67)
B组	12(40.00)	11(36.67)
C组	11(36.67)	10(33.33)
D组	3(10.00)	2(6.67)

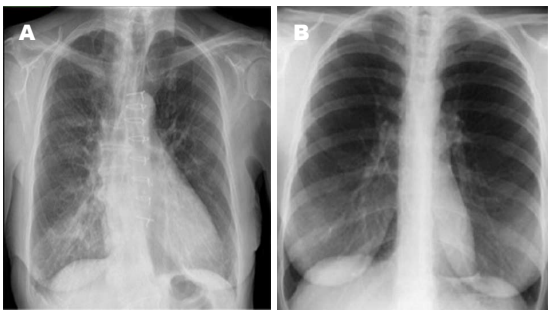


图 1 传统鼻饲法与改良鼻饲法发生吸入性肺炎胸片比较. A: 传统鼻饲法; B: 改良鼻饲法.

χ^2检验或四格表确切概率分析. 所有统计检验均为双侧概率检验, 检验水准为$\alpha = 0.05$. $P<0.05$为差异具有统计学意义,

2 结果

对患者进行置入深度及体位的改变后, 可发现X线示患者肺炎症状明显减轻(图1). 将4组患者食物反流与吸入性肺炎发生率结果进行比较, 与A组进行传统鼻饲及平卧体位的患者相比, B、C、D 3组患者的两种疾病发生率均低于A组, 其中进行改良后鼻饲方法D组患者食物反流发生率(10.00%)及吸入性肺炎发生率(6.67%)均明显低于其他3组, 差异均有统计学意义($P<0.05$). B组与C组相比无突出优势, 差异无统计学意义($P>0.05$)(表2, 3).

3 讨论

近年来, 由于生活质量提高以及交通发达, 营养结构改变、交通事故增多等因素导致脑出血、脑挫裂伤、脑梗死等急危重症患者增多[8], 这此类患者由于伤及脑神经及呼吸系统等导致不能自主进食摄取营养, 需放置鼻胃管进行能量输入. 但是由于部分患者因长期卧床而导致呼吸道纤毛活动减少, 使抵抗力降低造成环状括约肌损伤, 而增加了发生食物反流及吸入性肺炎的可能性[9]. 临床应用鼻胃管过程中发现患者体位可能是引起误吸的一个重要因素, 因此探寻合适的置入长度及操作体位对改善患者预后情况具有极为重要的意义[10].

本研究发现半卧位及改良鼻饲法具有独立降低患者疾病发生率的作用, 而两者相结合后效果更为明显. 当鼻胃管插入长度较短时, 食物匀浆易进入气囊陷窝处而在胃肠蠕动时误吸, 进入下呼吸道, 引起肺部感染[11]. 因此本研究选用将传统鼻饲法延长10 cm的改良措施使胃管侧孔全部进入胃内, 降低鼻饲过程中侧孔液体流出对食管的刺激. 而平卧位时不符合食物在消化道内的正常运行方向, 易增加反流物及分泌物逆向进入呼吸道的机会[12], 半卧位(30-45度)符合胃排空的最佳角度, 是长期卧床患者进行鼻饲的最佳体位. 该法简便、有效, 无需药物, 不产生不良反应, 对长期维持危重症患者生命体征具有重要意义[13].

放置胃管并长期保留是一项与患者消化系黏膜直接接触的过程, 易诱发机械损伤及感染从而危及患者生命安全[14], 因此对患者进行科学合理的护理以减少并发症极为重要. 具体措施如下: (1)口腔护理. 每日进行口腔湿润、消毒处理, 密切观察黏膜变化[15], 防止条件性真菌感染. 鼻饲期间患者口腔干燥, 易因呛咳引起咽部等不适. 因此护理人员应在鼻饲前将患者呼吸道分泌物清理干净, 保持呼吸道畅通而最大可能的预防其他肺部并发症的发生, 提高患者生理性舒适度; (2)鼻饲前护理: 从鼻部插

表 3 4组患者食物反流及吸入性肺炎发生率两两比较概率统计表

分组		A与B	A与C	A与D	B与C	B与D	C与D
食物反流	χ^2值	4.012	4.267	21.172	0.071	7.954	9.317
	*P*值	0.031	0.039	0.000	0.791	0.005	0.002
吸入性肺炎	χ^2值	3.924	3.883	14.700	0.071	5.963	7.200
	*P*值	0.043	0.045	0.000	0.791	0.015	0.007

入胃管并长期保留会在一定程度上给患者及家属造成心理压力, 从而易产生焦虑情绪甚至拒绝治疗[16]. 医护人员应与患者或家属进行有效沟通, 确保患者相信此过程安全有效. 鼻饲前应先抽吸痰液及患者胃内容物, 在常规鼻饲方法上使用改良措施, 多插入10 cm并做好标记. 安全妥善固定鼻胃管并检查是否松动及移位, 确定导管在胃内后缓缓注入食物匀浆. 控制食物输入量及输入速度、温度, 以免过冷或过热引起胃痉挛而造成食物反流, 应用药物时应溶解以免滞留在消化系内[17]; (3)鼻饲中护理: 鼻饲过程中密切关注患者反应, 出现呛咳、呼吸困难等现象, 说明胃管可能误入气管, 应重新插好. 换管动作要轻柔, 以免损伤呼吸道黏膜, 鼻饲保持半卧位, 以利于胃肠蠕动及食物消化, 防止因体位低而加重食物逆流引起吸入性肺炎[18]. 若发生误吸应及时予以处理, 停止鼻饲并吸出分泌物, 对症使用抗生素等, 预防呼吸衰竭的发生; (4)鼻饲后护理: 意识尚清的患者应鼓励或协助进行活动, 以促进患者胃肠功能恢复. 不能活动者由护理人员进行被动运动, 如按摩腹部、定时翻身, 在膳食中增加粗纤维保持大便畅通[19]. 定期更换胃管, 鼻饲前后用温开水冲洗胃管, 防止液体残留硬化而堵塞管道增加更换胃管次数损伤黏膜. 具体流程机制: 危重患者不能进食→鼻胃管深度不足, 食物侧空流出刺激呼吸道使逆流→患者平卧体位, 胃肠道蠕动紊乱, 加重食物逆行→食物反流致吸入性肺炎→鼻胃管置入加深10 cm→患者采取半卧体位→食物直接入胃, 减少反流机会→保持胃正常蠕动排空最佳角度→食物反流减少, 肺炎发病降低.

总之, 鼻饲法是对不能自主进食的患者来说是一种安全、经济、有效的营养补充方法, 虽然在操作及实施过程中会产生不同种类及严重程度的不良反应, 但随着临床实践和研究的深入, 各类问题正在被有效解决[20]. 本文通过改良鼻胃管的置入深度及鼻饲时体位发现, 加深鼻胃管放入位置及使用半卧体位可有效减少食物反流引起的吸入性肺炎发病率, 对减少危重症患者的病死率作用显著, 可在临床上广泛推广.

■应用要点
鼻饲法是对不能自主进食的患者来说是一种安全、经济、有效的营养补充方法, 虽然在操作及实施过程中会产生不同种类及严重程度的不良反应, 但随着临床实践和研究的深入, 各类问题正在被有效解决.

4 参考文献

1 董春辉, 马兰军, 张建华, 刘文茹. 卧床高龄鼻饲患者进餐体位与吸入性肺炎关系的探讨. 中华护理杂志 2001; 36: 21-22
2 Bauer VP. The Evidence against Prophylactic Nasogastric Intubation and Oral Restriction. *Clin Colon Rectal Surg* 2013; 26: 182-185 [PMID: 24436672 DOI: 10.1055/s-0033-1351136]
3 Ho CH, Rainer TH, Graham CA. Nurse initiated reinsertion of nasogastric tubes in the emergency department: a randomised controlled trial. *Australas Emerg Nurs J* 2013; 16: 136-143 [PMID: 24199898 DOI: 10.1016/j.aenj.2013.08.005]
4 张瞿璐, 吕健, 戴芳德. 颅脑损伤昏迷病人鼻饲并发症的预防及护理. 中华护理杂志 2000; 35: 164-165
5 Metheny NA, Meert KL. A review of published case reports of inadvertent pulmonary placement of nasogastric tubes in children. *J Pediatr Nurs 2014*; 29: e7-12 [PMID: 24071621 DOI: 10.1016/j.pedn.2013.08.009]
6 McClave SA, Martindale R, Taylor B, Gramlich L. Appropriate use of parenteral nutrition through the perioperative period. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 2013; 37: 73S-82S [PMID: 24009252 DOI: 10.1177/0148607113495570]
7 Malta MA, Carvalho-Junior AF, Andreollo NA, Freitas MI. [Anthropometric measures for the introduction of the nasogastric tube for enteral nutrition employing the esophagogastroduodenoscopy]. *Arq Bras Cir Dig* 2013; 26: 107-111 [PMID: 24000021 DOI: 10.1590/S0102-67202013000200007]
8 Gor P. Placement of nasogastric tubes must be checked thoroughly. *Nurs Stand* 2013; 27: 32 [PMID: 23987715 DOI: 10.7748/ns2013.06.27.43.32.s48]
9 Guo Z, Wu R, Zhu W, Gong J, Zhang W, Li Y, Gu L, Li N, Li J. Effect of exclusive enteral nutrition on health-related quality of life for adults with active Crohn's disease. *Nutr Clin Pract* 2013; 28: 499-505 [PMID: 23851180 DOI: 10.1177/0884533613487218]
10 Curtis K. Caring for adult patients who require nasogastric feeding tubes. *Nurs Stand* 2013; 27: 47-56; quiz 58 [PMID: 23841371]
11 Cereda E, Costa A, Caccialanza R, Pedrolli C. A malfunctioning nasogastric feeding tube. *Nutr Hosp* 2013; 28: 229-231 [PMID: 23808455]
12 Green S, Dinenage S, Gower M, Van Wyk J. Home enteral nutrition: organisation of services. *Nurs*

■同行评价
本研究可操作性强，结果实用，有一定的参考价值.

Older People 2013; 25: 14-18 [PMID: 23789239]
13 Bakiner O, Bozkirli E, Giray S, Arlier Z, Kozanoglu I, Sezgin N, Sariturk C, Ertorer E. Impact of early versus late enteral nutrition on cell mediated immunity and its relationship with glucagon like peptide-1 in intensive care unit patients: a prospective study. *Crit Care* 2013; 17: R123 [PMID: 23786864]
14 Chang YS, Fu HQ, Xiao YM, Liu JC. Nasogastric or nasojejunal feeding in predicted severe acute pancreatitis: a meta-analysis. *Crit Care* 2013; 17: R118 [PMID: 23786708 DOI: 10.1186/cc12790]
15 Gunn CA, Dickson JL, Hewett JN, Lynn A, Rose HJ, Clarkson SH, Shaw GM, Chase JG. Nasogastric aspiration as an indicator for feed absorption in model-based glycemic control in neonatal intensive care. *J Diabetes Sci Technol* 2013; 7: 717-726 [PMID: 23759405]
16 De Luis DA, Izaola O, Cuellar LA, Terroba MC, Cabezas G, De La Fuente B. Experience over 12 years with home enteral nutrition in a healthcare area of Spain. *J Hum Nutr Diet* 2013; 26 Suppl 1: 39-44 [PMID: 23651049]
17 Liu SY, Yang CP, Wei TS, Chen YC, Liang CH, Wu CH, Chen CL, Wu TJ. Feasibility of a novel two-piece nasogastric feeding tube for patients with dysphagia. *Singapore Med J* 2013; 54: 227-230 [PMID: 23624452]
18 谭英葵, 张燕燕, 黄美香. 老年鼻饲患者每次鼻饲量及间隔时间的研究. 护士进修杂志 2010; 25: 303-305
19 Ostedgaard KL, Schleiffarth JR, Hoffman HT. Preventing nasogastric tube injury: is there a better way? *Laryngoscope* 2013; 123: 2083-2084 [PMID: 23553366 DOI: 10.1002/lary.23990]
20 Marco J, Barba R, Lázaro M, Matía P, Plaza S, Canora J, Zapatero A. Bronchopulmonary complications associated to enteral nutrition devices in patients admitted to internal medicine departments. *Rev Clin Esp* 2013; 213: 223-228 [PMID: 23566479 DOI: 10.1016/j.rce.2013.01.009]

编辑 田滢 电编 都珍珍

世界华人消化杂志 2014年6月28日; 22(18): 2593-2597
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

健胃消食口服液治疗儿童功能性消化不良临床症状的改善及胃电图的影响

程伟伟, 刘海峰, 胡志红, 苗 芸, 顾竹珺

程伟伟, 刘海峰, 胡志红, 苗芸, 顾竹珺, 上海市儿童医院, 上海交通大学附属儿童医院 上海市 200040
程伟伟, 上海交通大学医学院在读硕士研究生, 主要从事小儿消化内镜学与胃肠动力学的研究.
上海交通大学医学院科技基金资助项目, No. YZ1062
作者贡献分布: 此课题由刘海峰与程伟伟设计; 胡志红与苗芸提供患者临床资料; 数据分析与论文写作由程伟伟与顾竹珺完成.
通讯作者: 刘海峰, 主任医师, 200040, 上海市北京西路1400弄24号, 上海市儿童医院, 上海交通大学附属儿童医院.
haifengliu006@sina.com
电话: 021-62544010
收稿日期: 2014-04-08 修回日期: 2014-04-22
接受日期: 2014-04-24 在线出版日期: 2014-06-28

Influence of Jianwei Xiaoshi Koufuye treatment on clinical symptoms and electrogastrogram in children with functional dyspepsia

Wei-Wei Cheng, Hai-Feng Liu, Zhi-Hong Hu, Yun Miao, Zhu-Jun Gu

Wei-Wei Cheng, Hai-Feng Liu, Zhi-Hong Hu, Yun Miao, Zhu-Jun Gu, Children's Hospital of Shanghai, Children's Hospital Affiliated to Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200040, China
Supported by: Science and Technology Fund of Shanghai Jiaotong University School of Medicine, No. YZ1062
Correspondence to: Hai-Feng Liu, Chief Physician, Children's Hospital of Shanghai, Children's Hospital Affiliated to Shanghai Jiaotong University, 24 Beijing West Road, Shanghai 200040, China. haifengliu006@sina.com
Received: 2014-04-08 Revised: 2014-04-22
Accepted: 2014-04-24 Published online: 2014-06-28

Abstract

AIM: To investigate the influence of treatment with Jianwei Xiaoshi Koufuye on gastric motility and electrogastrogram (EGG) in children with functional dyspepsia.

METHODS: Eighty out-patient children with functional dyspepsia treated at our hospital from September 2012 to December 2013 were randomly divided into two groups: a control group and a treatment group. Children in the treatment group at the age between 1 and 2 years received 5 mL of Jianwei Xiaoshi Koufuye every time, twice a day, while those at the age between 3-12 years received 10 mL of Jianwei Xiaoshi Koufuye every time, twice a day. Children in the control group under age of 2 years received vitamin B_{12} 2.5 mL every time, three times a day, while those at the age between 2 to 7 years received vitamin B_{12} 5 mL every time, three times a day. After 15 days of treatment, the efficacy was compared between the two groups.

RESULTS: Improvement of symptoms was more significant in the treatment group than in the control group. The total response rate was significantly higher in the treatment group than in the control group (92.5% *vs* 77.5%, $P < 0.05$). The rate of preprandial normal EGG after treatment was significantly higher than that before treatment in the treatment group (73.1 ± 3.0 *vs* 38.5 ± 4.6, $P < 0.05$), while the rate of bradygastria after treatment were significantly lower than that before treatment (25.4 ± 3.3 *vs* 52.4 ± 6.2, $P < 0.05$). The basic frequency after treatment was significantly higher than that before treatment in the treatment group (2.8 ± 0.3 *vs* 1.6 ± 0.4, $P < 0.05$), while the rates of pre- and post-prandial bradygastria and abnormal EGG rhythm before treatment were significantly higher than those after treatment ($P < 0.05$). No side effects were observed in both groups.

CONCLUSION: Jianwei Xiaoshi Koufuye in children with functional dyspepsia has good curative effect and few adverse reactions.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Children; Functional dyspepsia; Jianwei Xiaoshi Koufuye; Electrogastrogram

Cheng WW, Liu HF, Hu ZH, Miao Y, Gu ZJ. Influence of Jianwei Xiaoshi Koufuye treatment on clinical symptoms and electrogastrogram in children with functional dyspepsia. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(18): 2593-2597 URL: http://www.wjgnet.

■背景资料
中华医学会2012年发布的中国儿童功能性消化不良(functional dyspepsia, FD)诊断和治疗共识, 制定了儿童FD的评估与诊断标准, 并建议对症状严重或常规治疗效果不佳的FD患儿, 可进行胃电图、胃排空、胃肠道压力检测等胃肠功能性检查, 对其胃动力及感知功能进行评估, 指导调整治疗方案. 药物治疗是儿童FD综合治疗方案的重要组成部分, 其中健胃消食口服液在临床应用较为普遍.

■同行评议者
白玉作, 教授, 博士研究生导师, 中国医科大学附属盛京医院小儿外科

com/1009-3079/22/2593.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i18.2593

摘要

目的: 探讨健胃消食口服液治疗儿童功能性消化不良(functional dyspepsia, FD)的临床效果.

方法: 对1-14岁的80例门诊就诊的FD儿童进行随机分组, 治疗组作治疗前后自身配对对照研究. 治疗组予健胃消食口服液治疗, 1-2岁1次5 mL(半支), 2次/d; 3-12岁1次10 mL(1支), 2次/d. 疗程15 d后复诊. 对照组只给予赖氨酸肌醇维生素B_{12}溶液口服, <2岁2.5 mL/次, 3次/d, 2-7岁5 mL/次, 3次/d. 应用消化动力检测系统监测患儿胃电图相关指标变化比较分析两组患者的临床疗效.

结果: 治疗组腹痛、腹胀、食少早饱、恶心呕吐临床症状改善比例明显优于对照组(95% *vs* 70%、92.5% *vs* 75%、97.5% *vs* 60%、90% *vs* 72.5%), 差异有统计学意义($P<0.05$); 治疗组总有效率明显高于对照组(92.5% *vs* 77.5%, $P<0.05$); 治疗组患儿餐前胃电节律在治疗后与治疗前有明显差异(N, 73.1±3.0 *vs* 38.5±4.6)、(B, 25.4±3.3 *vs* 52.4±6.2), 治疗后胃动过缓明显降低, 正常节律升高, 差异有统计学意义($P<0.05$); 治疗组治疗后餐前的主频明显高于治疗组治疗前(2.8±0.3 *vs* 1.6±0.4), 差异有统计学意义($P<0.05$); 治疗组在治疗前餐前发生胃动过缓及胃电节律异常的几率分别为22.5%、32.5%, 餐后发生胃动过缓及胃电节律异常的几率分别为17.5%、27.5%, 均高于治疗组治疗后的发生率($P<0.05$). 两组均未观察到明显的药物不良反应.

结论: 健胃消食口服液对儿童功能性消化不良有较好的临床治疗效果且不良反应较少.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 儿童; 功能性消化不良; 健胃消食口服液; 胃电图

核心提示: 本研究中使用健胃消食口服液作为治疗功能性消化不良(functional dyspepsia, FD)的常规治疗方式, 主要成份为太子参、陈皮、山药、麦芽(炒)、山楂. 太子参为常用补气中药, 可以起到理气健脾、补中益气、行气消食的功效, 并能增加胃中消化酶的分泌, 可促进肉食分解消化. 本研究中治疗组患者治疗总有效率为92.5%, 治疗后患者临床症状得到明显改善, 经胃电图检测正常胃电节律比例明显身高, 表明健胃消食口服液治疗儿童FD具有确切临床疗效.

程伟伟, 刘海峰, 胡志红, 苗芸, 顾竹珺. 健胃消食口服液治疗儿童功能性消化不良临床症状的改善及胃电图的影响. 世界华人消化杂志 2014; 22(18): 2593-2597 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2593.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i18.2593

0 引言

功能性消化不良(functional dyspepsia, FD)主要临床表现为呕吐、餐后饱胀、上腹痛、嗳气、早饱、恶心等, 该疾病需排除器质性、系统性、代谢性等因素, 在临床上也有非溃疡性、原发性、特发性消化不良之称, 现行罗马III标准对FD的诊断有明确的规范[1]. 儿童FD是儿科门诊的常见疾病之一, 目前多采取改变生活方式、调整饮食、药物治疗及精神心理调整等方式综合治疗. 本研究旨在观察健胃消食口服液对该疾病的临床治疗效果.

1 材料和方法

1.1 材料 入选病例为2012-09/2013-11至我院消化专科门诊就诊的患儿80例, 且患儿均符合FD诊断标准, 并根据门诊顺序, 将患儿随机分为对照组与治疗组, 每组中均有40例患儿. 对照组中男22例, 女18例, 年龄1-12岁, 平均6.2岁±1.0岁, 病程6-14 mo, 平均7.2 mo±2.5 mo. 治疗组中男24例, 女16例, 年龄2-12岁, 平均6.4岁±1.2岁, 病程6-12 mo, 平均6.8 mo±3.0 mo. 两组患者在性别比较、病程比较、年龄比较中, 其差异没有统计学意义($P>0.05$), 具有一定可比性. 治疗组和对照组分别予以健胃消食口服液(江苏济川制药有限公司, 批准文号: 国药准字Z20030094号)和赖氨酸肌醇维生素B_{12}溶液口服. 胃电图仪器设备为荷兰Medical Measure制造厂生产的消化动力系统, 规格Solar GI.

1.2 方法

1.2.1 儿童功能性消化不良诊断标准: 引用2012年中华儿科杂志中华医学会儿科学分会消化学组共识[2]: 有消化不良症状至少2 mo, 每周至少出现1次, 并符合以下3项条件: (1)反复发作以及持续发作恶心、上腹部疼痛、早饱、嗳气、呕吐; (2)症状在排便后不能缓解, 或症状发作与排便频率或粪便性状的改变无关(即除外肠易激综合征); (3)无炎症性、解剖学、代谢性或肿瘤性

■研发前沿
FD的发病机制尚不清楚, 目前认为是多因素综合作用的结果, 如胃肠运动功能障碍、内脏高敏感性、胃酸分泌异常、Hp感染、精神心理因素等. 目前对于临床表现不同的FD患儿, 多建议依据其可能存在的发病机制进行整体治疗, 选择个体化方案, 旨在迅速缓解症状, 提高生活质量.

■相关报道
中华医学会2012年发布了儿童FD的诊断和治疗共识, 王志华等对FD患儿胃排空功能检测的意义进行了探讨, 李冰冰等对FD及厌食患儿的胃电节律变化进行了深入研究, 高源等对猴头菌提取物联合西甲硅油治疗幼儿FD的疗效进行了探讨. 中成药及微生态制剂如四磨汤、双歧杆菌四联活菌片治疗儿童FD也多有报道.

表 1 两组功能性消化不良患儿主要临床症状改善情况比较 (n = 40, n/%)

分组	腹痛	腹胀	厌食早饱	恶心呕吐
对照组	28/70	30/75	24/60	29/72.5
治疗组	38/95	37/92.5	39/97.5	36/90
χ^2值	8.6	4.5	16.8	4.0
P值	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

表 2 两组临床疗效比较 (n = 40)

分组	显效	有效	无效	总有效率(%)
治疗组	20	17	3	92.5%[a]
对照组	12	18	10	75%

[a]P<0.05 *vs* 对照组.

疾病的证据可以解释患儿的症状.

1.2.2 治疗: 在餐间或饭后服用健胃消食口服液治疗, 1-2岁1次5 mL(半支), 2次/d; 3-12岁1次10 mL(1支), 2次/d, 疗程15 d. 对照组只给予赖氨酸肌醇维生素B_{12}溶液口服, <2岁1次2.5 mL, 3次/d, 2-7岁1次5 mL, 3次/d. 治疗期间均不用其他健脾和胃、促消化及止痛药.

1.2.3 胃电标记: 治疗前行体表胃电图(electrogastrogram, EGG)描记, 记录患儿空腹胃电图相关指标的数据变化, 达到治疗疗程后再行胃电图检查, 并评价治疗前后患儿临床症状的改善及胃电图的改变情况, 进行比较性分析[3].

1.2.4 评价标准: (1)主要症状程度的判定标准: 可以根据《中药新药临床研究指导原则》中的标准, 采用4级记分法, 观察对患儿治疗前后的症状改善情况, 针对患儿上腹痛、厌食、脘腹胀、恶心、早饱以及呕吐等主要症状, 观察患儿的临床改善状况[4]. 0分: 患儿临床无症状; 1分: 患儿临床中有轻微症状; 2分: 患儿临床症状较明显, 但不会影响患儿正常生活、学习; 3分: 患儿临床症状较严重, 已影响到患儿正常的生活与学习. 之后可以根据单项症状的疗效评定标准, 并能够依据4级计分方法, 每改善1个等级就少1分. 有效: 患儿治疗后改善1个等级; 显效: 临床症状改善2个等级; 治愈: 患儿临床症状消失; 无效: 患儿临床未达改善级别. 其中有效、显效与治愈合计为总有效. 由专职人员在治疗前及治疗后第2周末对上述症状分别进行评估及积分, 统计方法以百分率计算, 对比治疗前后的改善率; (2)胃电图餐前、餐后数据变化: 分别比较治疗组患儿在治疗前进餐前胃电指标正常胃电节律、进餐前胃电节律过缓、进餐前胃电节律过速百分比、进餐前主频的差异、进餐前胃动过缓, 以及患儿在治疗后的胃电指标、胃电节律、主频差异数据[5]; (3)胃电观察指标: 正常胃电节律(normal rhythm, N)则2.4-3.7次/min, 胃电节律过缓(bradygastria, B)则小于2.4次/min , 胃电节律过速(tachygastria, T)则大于3.7次/min, 只有主频(dominantc freguence, DF)在2.4-3.7次/min, 才是正常的主频范围. 应用记录软件分析N、B、T百分比, 当N百分比< 65%时, 胃电节律异常, 当主频<2.4次/min时, 胃电节律过缓[6,7].

1.2.5 总疗效判定标准: 可以根据患儿治疗前后的主要症状积分, 以此来计算出患儿疗效指数, 该疗效指数为治疗前与治疗后症状总分数之差在治疗前症状总分数中所占的比例. 临床治愈: 患儿在治疗后主要症状基本消失, 患儿疗效指数≥90%; 显效: 患儿的临床主要症状明显减轻, 患儿疗效指数在60%-89%之间; 有效: 患儿主要症状有所减轻, 患者疗效指数为30%-59%; 无效: 患儿的主要症状无减轻, 临床疗效指数<30%. 其中有效、显效与治愈合计为总有效[5].

统计学处理 应用SPSS17.0统计软件进行统计分析处理, 计数资料用率表示, 组间比较采用χ^2检验, 胃电图参数以mean±SD表示, 均数比较采用t检验与χ^2检验, P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 两组FD患儿主要临床症状改善情况比较 治疗组腹痛、腹胀、食少早饱、恶心呕吐临床症状改善比例分别为95%、92.5%、97.5%、90%, 明显优于对照组(P<0.05)(表1).

2.2 两组临床疗效比较 治疗组总有效率为92.5%, 高于对照组75.0%, 差异有统计学意义(χ^2 = 4.5, P<0.05)(表2).

2.3 治疗组胃电指标比较 治疗组中, 治疗前患儿餐前正常胃电节律百分比低于治疗后(P<0.05), 患儿餐前胃电节律过缓百分比高于治疗后(P<0.05), 治疗组中患儿餐前主频低于治疗后(P<0.05)(表3).

2.4 治疗组治疗前后胃动过缓和胃电节律异常的发生率比较 治疗组在治疗前餐前发生胃动过缓及胃电节律异常的几率分别为22.5%、32.5%,

■创新盘点

中成药治疗儿童消化不良由来已久, 其中健胃消食口服液治疗儿童FD临床上取得比较满意的效果, 利用胃电图检测儿童胃动力功能也多有报道, 本文将健胃消食口服液临床疗效评估与胃肠动力检测系统有效结合, 更直观的评估患儿胃动力的改变, 具有一定的临床意义.

■应用要点

健胃消食口服液能够显著改善FD患儿腹痛、腹胀、食少早饱、恶心呕吐等临床症状, 通过胃电图的辅助检查, 可以具体、直观的反映患儿胃动力功能的改变, 具有较好的应用价值.

■名词解释
胃电观察指标: 正常胃电节律(normal rhythm, N)在2.4-3.7次/min, 胃电节律过缓(bradygastria, B)则小于2.4次/min, 胃电节律过速(tachygastria, T)则大于3.7次/min, 只有主频(dominantc freguence, DF)在2.4-3.7次/min, 才是正常主频范围.

表 3 治疗组患儿治疗前后胃电指标数据 (%, mean ± SD)

时间	治疗组患儿餐前				治疗组患儿餐后			
	N	B	T	DF	N	B	T	DF
治疗前	38.5 ± 4.6	52.4 ± 6.2	7.1 ± 1.7	1.6 ± 0.4	53.4 ± 5.9	35.8 ± 7.2	11.3 ± 3.1	2.7 ± 0.4
治疗后	73.1 ± 3.0[a]	25.4 ± 3.3[a]	3.8 ± 1.4	2.8 ± 0.3[a]	68.1 ± 4.2	24.3 ± 2.7	9.5 ± 2.1	3.2 ± 0.1

[a]P<0.05 *vs* 治疗前. N: 正常胃电节律; B: 胃电节律过缓; T: 胃电节律过速; DF: 主频.

表 4 治疗组患儿胃动过缓及胃电节律异常发生率数据 (*n*/%)

时间	治疗组患儿餐前		治疗组患儿餐后	
	胃动过缓	胃电节律异常	胃动过缓	胃电节律异常
治疗前	9/22.5	13/32.5	7/17.5	11/27.5
治疗后	3/7.5[a]	5/12.5[a]	2/5[a]	4/10[a]

[a]P<0.05 *vs* 治疗前.

餐后发生胃动过缓及胃电节律异常的几率分别为17.5%、27.5%, 均高于治疗组治疗后的发生率(P<0.05)(表4).

3 讨论

针对临床中的上消化系统症候群疾病, FD临床中多表现为慢性及复发性上腹部疼痛[8], 因该病的发病机制与病因尚无定论, 因此医学界中多认为是由胃动力障碍、过高内脏感觉敏感性以及胃肠激素等引起的[9]. 在临床治疗FD中, 多以治疗胃动力药为主, 以抗酸治疗为原则来治疗该疾病. 中医文献中, 多将与消化不良症状相似的病情定义是痞满证, 认为该病的主要原因是由寒气侵犯、情志不和饮食不节以及表邪内陷等因素造成的[10]. 现代医家徐敏[11]就认为脾虚是发病基础, 该病与饮食、精神因素有关系, 肝郁则胃气不降, 从而引发病情.

应用胃电图可以检测胃电参数变化, 从而能够客观反映出人体胃肠运动状态, 通过胃肠动力仪, 准确反映人体的胃电活动信息. 医学常规中指出, 正常胃电频率和正常胃动力有一定关系, 而节律失常与动力障碍有一定关系, 胃电节律过速也与胃动力低下有一定关系. 通过胃电图检测到胃电变化, 可以有效观察到人体胃肠的运动状态, 从而使人们对胃肠动力障碍有更多的认识. 因此, 临床治疗中, 对患儿多应用促动力药物以及可以调整胃肠道的药物进行治疗, 从而可以具有较好的治疗效果[12].

健胃消食口服液主要成份为太子参、陈皮、山药、麦芽(炒)、山楂、太子参为常用补气中药. 主治脾虚体倦、食欲不振、气阴不足等症[13]. 太子参中富含人体所必需的微量元素与氨基酸, 并且这些氨基酸与微量元素不仅可以参与到机体内的某些代谢环节, 同时对恢复消化功能也有一定补益功效[14]. 陈皮长于理气健脾, 研究发现陈皮、对胃排空的有促进作用, 且能促进小肠推进运动. 山药为补中益气调中药, 对人体消化系统功能有很好的调节作用. 研究表明山药可以有效缓解胃肠平滑肌痉挛, 并且还可以对抗神经介质, 同时, 山药在临床中还能增强人体小肠的吸收功能[15]. 麦芽, 味甘平, 可以行气消食, 健脾开胃. 现代药理研究表明麦芽中含转化糖酶、蛋白分解酶、酯酶、VB、淀粉酶、磷脂、VC等成分. 麦芽的淀粉酶可以消食, 淀粉可以在酶作用下分解成麦芽糖与糊精, 而糊精又可以被分解成麦芽糖, 从而利于被机体吸收, 促进肠胃消化[16]. 山楂具有消食健胃的作用, 其含VC、VB、胡萝卜素及多种有机酸, 口服能增加胃中消化酶的分泌, 所含蛋白酶、脂肪酸, 可促进肉食分解消化. 对胃肠功能紊乱有明显调节作用[17].

本组病例研究发现, FD患儿服用健胃消食口服液后餐前的正常胃电节律百分比明显升高, 患儿的胃电节律过缓百分比显著降低. 治疗组患儿在治疗前的餐前主频, 也明显低于治疗组患儿治疗后主频. 治疗组在治疗前患儿胃动过缓及胃电节律异常发生率均高于治疗组治疗后. 经健胃消食口服液治疗后, 患儿胃动节律明显

改善, 胃肠功能明显好转.

通过本组病例临床观察发现, 儿童FD治疗中应用健胃消食口服液方案, 治疗组患儿主要临床症状改善疗效以及总有效率均明显高于对照组, 经胃电图检查反映疗效较满意, 且未发现明显的药物不良反应. 因此, 健胃消食口服液是治疗儿童FD安全、有效、价廉的方法.

4 参考文献

1 Drossman DA. The functional gastrointestinal disorders and the Rome III process. *Gastroenterology* 2006; 130: 1377-1390 [PMID: 16678553 DOI: 10.1053/j.gastro.2006.03.008]
2 中华医学会儿科学分会消化学组. 中国儿童功能性消化不良诊断和治疗共识. 中华儿科杂志 2012; 50: 423-424
3 唐海英, 王英德, 张延军, 解静慧. 功能性消化不良患者的胃排空和胃内食物分布. 世界华人消化杂志 2006; 14: 350-353
4 杨蓓, 叶枫. 功能性消化不良的中医证候研究. 北京中医药 2008; 27: 12-14
5 颜洪亮. 功能性消化不良的临床研究方法与中医药临床研究的启示. 四川中医 2007; 25: 22-24
6 Foryś S, Rudnicki C, Walecka-Kapica E, Chojnacki J. [Electrogastrography in various clinical forms of functional dyspepsia]. *Pol Merkur Lekarski* 2009; 26: 373-377 [PMID: 19606677]
7 刘理, 任惠茹, 李刚. 胃电图的记录、分析及其应用. 生物医学工程学杂志 2003; 20: 567-570
8 Kovacic K, Williams S, Li BU, Chelimsky G, Miranda A. High prevalence of nausea in children with pain-associated functional gastrointestinal disorders: are Rome criteria applicable? *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2013; 57: 311-315 [PMID: 23591912 DOI: 10.1097/MPG.0b013e3182964203]
9 Tack J, Talley NJ, Camilleri M, Holtmann G, Hu P, Malagelada JR, Stanghellini V. Functional gastroduodenal disorders. *Gastroenterology* 2006; 130: 1466-1479 [PMID: 16678560 DOI: 10.1053/j.gastro.2005.11.059]
10 刘汶, 范萌, 王仲霞, 韩偎偎, 夏志伟, 陈諠. 功能性消化不良中医辨证与西医分型的调查分析. 北京中医药 2008; 27: 764-765
11 徐敏, 卜平, 时乐, 李瑶瑶, 张瑜. 功能性消化不良222例证候病机分析. 实用中医药杂志 2006; 22: 246-247
12 徐晓华, 刘凤霖, 甄丽娜. 儿童功能性消化不良胃电节律变化探讨. 临床儿科杂志 2004; 22: 668-670
13 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部. 北京: 化学工业出版社, 2010: 176-182
14 晏春耕. 药用植物太子参的研究及其应用. 现代中药研究与实践 2008; 22: 61-65
15 李树英, 陈家畅, 苗利军, 梁拥军, 王学超. 山药健脾胃作用的研究. 中药药理与临床 1994; 14: 19-21, 16
16 方向梅, 吕红叶. 麦芽的研究进展. 中国伤残医学 2010; 18: 167-169
17 吴士杰, 李秋津, 肖学凤, 李美, 杨晓芮, 吕涛. 山楂化学成分及药理作用的研究. 药物评价研究 2010; 33: 316-319

编辑 郭鹏 电编 都珍珍

■同行评价

本文对儿童FD的治疗和疗效评估研究设计合理, 思路清晰, 具有一定的临床实用价值和参考价值.

世界华人消化杂志 2014年6月28日; 22(18): 2598-2601
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

计划、实施、检查、处理循环式护理干预对胃溃疡患者生活质量的影响

陈咏敏, 沈丽芬, 孙景华

陈咏敏, 沈丽芬, 孙景华, 湖州市中医院内科四病区 浙江省湖州市 313000
陈咏敏, 主管护师, 主要从事内科护理的研究.
作者贡献分布: 本论文的课题设计与研究过程由陈咏敏完成; 研究过程、论文写作及其他工作由陈咏敏、沈丽芬及孙景华共同完成.
通讯作者: 陈咏敏, 主管护师, 313000, 浙江省湖州市吴兴区南街82号, 湖州市中医院内科四病区. 157972625@qq.com
收稿日期: 2014-03-19 修回日期: 2014-04-20
接受日期: 2014-04-28 在线出版日期: 2014-06-28

■背景资料
胃溃疡是临床中常见的疾病之一, 在临床中具有较高的发病率, 严重的影响患者的身体健康与生活质量. 临床治疗的过程中加强针对性的护理能够有效的提高患者的生活质量, 而计划、实施、检查、处理(plan do check action, PDCA)循环式护理干预属于一种新型护理方法, 且应用效果明显, 尤其对改善患者生活质量方面具有重要意义.

Nursing intervention using the plan-do-check-act cycle improves quality of life in patients with gastric ulcer

Yong-Min Chen, Li-Fen Shen, Jing-Hua Sun

Yong-Min Chen, Li-Fen Shen, Jing-Hua Sun, the Fourth Ward, Department of Internal Medicine, Huzhou Hospital of Traditional Chinese Medicine, Huzhou 313000, Zhejiang Province, China
Correspondence to: Yong-Min Chen, Charge Nurse, the Fourth Ward, Department of Internal Medicine, Huzhou Hospital of Traditional Chinese Medicine, 82 South Street, Wuxing District, Huzhou 313000, Zhejiang Province, China. 157972625@qq.com
Received: 2014-03-19 Revised: 2014-04-20
Accepted: 2014-04-28 Published online: 2014-06-28

Abstract

AIM: To investigate the effect of nursing intervention using the plan-do-check-act (PDCA) cycle on the quality of life in patients with gastric ulcer.

METHODS: One hundred patients with gastric ulcer treated at our hospital from January 2012 to December 2013 were included and randomly divided into either a study group or a control group. The control group was given conventional nursing, while the study group received nursing intervention using the PDCA cycle. The patient's quality of life and satisfaction degree were compared between the two groups.

RESULTS: Before nursing care, the quality of life score did not differ significantly between the study group and control group (68.8 ± 4.2 *vs* 67.2 ± 4.8, $P > 0.05$). After nursing care, the quality of life score differed significantly between the study group and control group (87.5 ± 3.8 *vs* 76.2 ± 3.4, $P < 0.05$). The quality of life scores after nursing care in both group were significantly higher than those before nursing care ($P < 0.05$ for both). The rate of satisfaction to nursing was significantly higher in the study group than in the control group (94.0% *vs* 72.0%, $P < 0.05$).

CONCLUSION: Nursing intervention using the PDCA cycle in patients with gastric ulcer is feasible and can effectively improve the patient's quality of life and satisfaction.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Gastric ulcer; PDCA cycle; Quality of life; Application effect

Chen YM, Shen LF, Sun JH. Nursing intervention using the plan-do-check-act cycle improves quality of life in patients with gastric ulcer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(18): 2598-2601 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2598.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i18.2598

摘要

目的: 探讨临床中计划、实施、检查、处理(plan do check action, PDCA)循环式护理干预对胃溃疡患者的生活质量影响.

方法: 选取2012-01/2013-12我院收治的胃溃疡患者100例为研究对象, 将其按照随机数字法分为研究组与对照组, 对照组给予常规护理, 而研究组在常规的护理基础上实施PDCA循环式护理干预措施, 观察两组患者的生活质量和临床护理满意度变化.

结果: 护理前研究组与对照组护理前生活质量评分为68.8分±4.2分、67.2分±4.8分; 护理后研究组与对照组护理前生活质量评分为

■同行评议者
卜平, 教授, 主任医师, 扬州大学医学院, 苏北人民医院消化科308病区

87.5分±3.8分、76.2分±3.4分; 护理前研究组和对照组生活质量评分比较无明显的差异(P>0.05); 护理后研究组和对照组患者的生活质量评分较护理前有明显的提高, 且组间的数据比较差异有统计学意义(P<0.05). 研究组护理满意度为94.0%, 对照组护理满意度为72.0%, 研究组的护理满意度明显地高于对照组的护理满意度, 数据的比较差异有统计学意义(P<0.05).

结论: 临床中对于胃溃疡患者在常规护理的基础上实施PDCA循环式护理干预是可行的, 能够有效地提高患者的生活质量, 并提高护理满意度, 值得临床中应用与推广.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 胃溃疡; 计划、实施、检查、处理循环式; 生活质量; 应用效果

核心提示: 胃溃疡患者在常规护理的基础上实施计划、实施、检查、处理(plan do check action)循环式护理干预是可行的, 能够有效的提高患者的生活质量, 并提高护理满意度. 同时, 这种护理模式也比较新颖, 且临床应用也比较广泛, 科学性强, 能够有效的提高护理服务质量.

陈咏敏, 沈丽芬, 孙景华. 计划、实施、检查、处理循环式护理干预对胃溃疡患者生活质量的影响. 世界华人消化杂志 2014; 22(18): 2598-2601 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2598.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i18.2598

0 引言

胃溃疡是临床中常见的疾病之一, 在临床中具有较高的发病率, 严重的影响患者的身体健康与生活质量. 传统的护理模式已经越来越满足不了患者的需求, 如何有效地提高患者的生活质量是医护人员关注的重点[1]. 随着临床中护理模式的不断改变, 计划、实施、检查、处理(plan do check action, PDCA)循环式逐渐的应用临床中, 是一种质量管理科学化和标准化的循环体系, 一般包括P计划和D实施以及C检查与A处理的4个步骤[2]. 我们的护理团队结合多年的临床工作经验, 对胃溃疡患者实施PDCA循环式护理干预, 取得了较好的应用效果, 有效的提高患者的生活质量, 具体的分析如下.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2012-01/2013-12我院收治的胃溃疡患者100例为研究对象, 将其按照随机数字法分为研究组与对照组. 研究组50例, 男性患者24例, 女性患者26例, 患者的年龄为22-67岁, 平均年龄为48.2岁±4.1岁. 文化程度: 高中以上文化28例, 高中以下文化22例. 对照组50例, 男性患者25例, 女性患者25例, 患者的年龄为22-69岁, 平均年龄为47.7岁±4.3岁. 文化程度: 高中以上文化30例, 高中以下文化20例. 研究组和对照组患者的基本资料比较无明显的差异(P>0.05), 统计学无意义, 具有可比性.

1.2 方法

1.2.1 护理: 本次研究的对照组患者给予常规的护理方法进行治疗与康复指导, 而对于研究组的患者在此基础上实施PDCA循环式护理干预, 具体的实施方法如下.

1.2.2 P计划: 临床中影响胃溃疡患者的生活质量的主要因素如下: (1)患者的自身因素, 多数的患者心理因素的影响, 导致对疾病的认识不足, 甚至存在有误区, 使得对整个治疗缺乏信心, 最终会导致患者产生不良的心理反应. 例如, 恐惧和焦虑以及孤单等; (2)饮食、用药不合理, 临床中多数的患者对饮食的认识不足, 甚至产生有不良的生活习惯, 并且不能够保证自己充足的睡眠. 同时, 患者对用药的认识不足, 护理人员不能够及时的调整临床用药, 甚至不遵医嘱进行用药; (3)护理人员因素, 护理人员对患者的个性化评估不够全面, 甚至不能对其身体状况进行全面的评估[3].

1.2.3 D实施: (1)护理人员应及时的了解患者的病情状况, 并改善患者的生理状况, 及时的与患者进行沟通了解患者的需求, 并加强健康教育, 使其对疾病有正确的认识. 同时, 加强针对性的心理疏导, 使其能够主动的克服疾病, 并正确的认识, 消除疑虑; (2)加强患者的饮食干预, 纠正不良饮食习惯, 多以消化和低脂以及高蛋白与高维生素的食物, 避免刺激和辛辣的食物摄入, 并保持其充足的睡眠, 并且合理的安排其休息时间, 养成良好的生活习惯; (3)加强临床用药指导, 护理人员应及时的调整患者的临床用药, 并详细的讲解胃溃疡的发病原因与发病机制以及具体的治疗方案, 从而使得患者对疾病有良好的认识. 同时, 告诉患者间断服药并且告诉其不同药物的服用方式和剂量以及时间等, 遵医嘱服药; (4)完善护理制度, 建立护士长-责任组长-责任护士的三级质控体系, 并且针对健康教育与护理实施情况进行细化考评, 并且严格的

■研发前沿
本研究重点分析在胃溃疡患者的临床护理过程中实施PDCA循环式护理干预的可行性, 并且重点对患者护理前后的生活质量和临床护理满意度进行评估, 从而客观公正的分析其临床应用优越性, 更好地为临床中提高患者的生活质量提供依据.

■相关报道
胃溃疡的临床治疗过程中, 多数的患者伴生活质量下降. 加强针对性的护理干预能够有效的提高其生活质量. 本研究重点分析PDCA循环干预效果, 整个实施中包括P计划和D实施以及C检查与A处理的四个步骤, 全面的提高患者护理效果. 同时, 文章中从客观的角度分析, 从而提高科学研究价值.

■创新盘点
本研究重点分析, 胃溃疡患者在常规护理的基础上实施PDCA循环式护理干预是可行的, 能够有效的提高患者的生活质量, 并提高护理满意度. 整个实施的过程中全面的应用PDCA循环式护理, 提高整体效果. 这一结果与临床中众多研究一致, 认为能够提高整体护理效果.

表 1 研究组和对照组护理前后的生活质量评分比较 (mean ± SD, n = 50)

分组	护理前	护理后
研究组	68.8 ± 4.2	87.5 ± 3.8
对照组	67.2 ± 4.8	76.2 ± 3.4
t值	0.2417	8.1731
P值	> 0.05	< 0.05

落实[4].

1.2.4 C检查: 护理人员应全面的检查计划与实施的具体情况与效果, 且需要做到三级质量控制, 从而确保每个环节的质量均控制到位. 同时, 需要定期地对患者进行个性化的评估, 且能够通过评估反映出患者的实施效果. 最后, 将重点问题进行讨论, 不断的总结与分析, 达到理想的效果[5].

1.2.5 A处理: 需要针对不同的检查结果进行给予处理, 且在实施的过程中出现的问题与偏差, 应及时的纠正处理, 找出具体的原因. 同时, 整个实施的过程中, 好的方法与措施进行全面的归纳与总结, 且达到循环渐进的效果, 提高整体服务质量[6].

1.2.6 观察指标: (1)生活质量; (2)护理满意度.

1.2.7 评定: (1)生活质量评定: 生活质量量表(SF-36)进行评估, SF-36量表36小项目, 8个大项目, 主要包括: 精神健康、情感职能、生理职能、生理功能、社会功能、活力、躯体疼痛、总体健康. 分值为0-100分, 分值越高则表示生活质量越高[7]. (2)护理满意度评定: 患者的临床护理满意度主要采取百分制进行评估[8], 分值为0-100分, 将其分为4个等级: 非常满意: 评分在90分以上; 满意: 评分在70-89分; 一般: 评分在60-79分; 不满意: 评分不足60分. 护理满意度 = 非常满意(%)+满意(%)+一般(%). 均是在护理前和护理后对患者的生活质量和护理满意度进行评定.

统计学处理 本次研究的数据资料均采取SPSS19.0的统计学软件进行数据分析与处理, 计量资料采取mean±SD表示, 两独立样本主要采取t进行检验, 计数资料采取χ^2进行检验. P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 护理前后生活质量变化比较 护理前研究组和对照组生活质量评分比较无明显的差异. 护理后研究组和对照组患者的生活质量评分较护理前有明显的提高, 且组间的数据比较差异有统计学意义(P<0.05)(表1).

2.2 护理满意度对比 研究组护理满意度为94.0%, 对照组护理满意度为72.0%, 研究组的护理满意度明显地高于对照组的护理满意度, 数据的比较差异有统计学意义(P<0.05)(表2).

3 讨论

胃溃疡在临床中属于常见的疾病之一, 严重的影响患者的身体健康, 尤其对患者的生活质量影响较大. 临床治疗的过程中, 加强针对性的护理干预是可行的, 并且能够有效的改善患者生活质量.

随着人们生活水平的不断提高, 传统的护理模式已经远远不能够满足患者的需求. 而PDCA循环式护理干预是近年来临床中的一种新型护理模式, 这种模式主要是针对性患者的病情状况进行全面的评估, 对不同阶段的患者制定针对性的护理措施, 加强干预, 这种护理模式更加规范化、标准化以及制度化, 提高临床的护理服务质量[9]. 经过本次的临床研究显示, 临床中对于胃溃疡患者实施PDCA循环式护理干预是可行的, 能够有效的提高患者的临床护理满意度, 且对提高其生活质量具有明显的优势. 本组的数据显示, 护理前研究组和对照组生活质量评分比较无明显的差异. 护理后研究组和对照组患者的生活质量评分较护理前有明显的提高, 且组间的数据比较差异有统计学意义(P<0.05). 主要是由于这种护理模式从患者的根本角度出发, 使得整个护理过程更加规范化, 且对患者躯体和心理上均有较大的帮助, 从而改善患者的不良情绪, 并且进一步提高生活质量[10]. 同时, 数据还显示, 研究组护理满意度为94.0%, 对照组护理满意度为72.0%, 研究组的护理满意度明显地高于对照组的护理满意度, 数据的比较差异有统计学意义(P<0.05). 主要是在PDCA循环式护理的过程中, 重点以患者为中心进行施护, 从而充分的考虑患者的感受, 并且采取舒适的临床护理, 进一步提高患者的临床护理满意度.

总之, 临床中对于胃溃疡患者实施PDCA循环式护理干预是可行的, 能够有效地提高患者的生活质量, 并提高护理满意度, 值得临床中应用与推广.

■应用要点
本研究中主要是从临床科学的角度出发, 为胃溃疡患者的临床护理提供参考依据. 整个护理的过程中, 通过P计划和D实施以及C检查与A处理的4个步骤, 使得整个护理更加系统化和流程化, 提高患者的认识, 更好的配合临床护理, 提高其生活质量. 同时, 这种护理模式在未来的护理过程中具有广泛的应用前景.

4 参考文献

1 孙晶, 王六尼. 系统护理干预对慢性胃炎及胃溃疡患者疗效、不良心理及生活质量的影响研究. 中国医药

表 2 研究组与对照组患者的临床护理满意度对比分析 [n = 50, n(%)]

分组	非常满意	满意	一般	不满意	满意度(%)
研究组	30(60.0)	12(24.0)	5(10.0)	3(6.0)	94.0
对照组	22(44.0)	8(16.0)	6(12.0)	14(28.0)	72.0
χ^2	7.29	0.27	0.13	9.21	8.56
P值	< 0.05	> 0.05	> 0.05	< 0.05	< 0.05

■同行评价
本文从临床实际的角度出发, 具有一定指导意义.

导报 2013; 10: 130-132
2 吕春梅, 师海霞. 循证护理对胃溃疡患者生活质量及并发症的影响. 河北医药 2013; 35: 2395-2396
3 刘朝瑾. 胃溃疡76例护理体会. 基层医学论坛 2013; 17: 1127-1128
4 杨瑛, 郑阿娟. 针对性护理在慢性胃溃疡患者护理中的应用效果. 国际护理学杂志 2013; 32: 2527-2528
5 钱颖红. 胃炎胃溃疡患者饮食干预的护理体会. 按摩与康复医学(下旬刊) 2012; 3: 108
6 Cuker A, Coles AJ, Sullivan H, Fox E, Goldberg M, Oyuela P, Purvis A, Beardsley DS, Margolin DH. A distinctive form of immune thrombocytopenia in a phase 2 study of alemtuzumab for the treatment of relapsing-remitting multiple sclerosis. *Blood* 2011; 118: 6299-6305 [PMID: 21960587 DOI: 10.1182/blood-2011-08-371138]
7 肖昌定. 胃溃疡并出血的观察与护理. 中外医学研究 2013; 11: 123-124
8 Heigl F, Hettich R, Arendt R, Durner J, Koehler J, Mauch E. Immunoadsorption in steroid-refractory multiple sclerosis: clinical experience in 60 patients. *Atheroscler Suppl* 2013; 14: 167-173 [PMID: 23357160 DOI: 10.1016/j.atherosclerosissup.2012.10.025]
9 Xu L, Qian H, Gu J, Shi J, Gu X, Tang Z. Heart failure in hospitalized patients with diabetic foot ulcers: clinical characteristics and their relationship with prognosis. *J Diabetes* 2013; 5: 429-438 [PMID: 23650983 DOI: 10.1111/1753-0407.12062]
10 王洋. 护理干预在幽门螺杆菌阳性消化性溃疡的应用观察. 世界最新医学信息文摘(电子版) 2013; 12: 421

编辑 田滢 电编 都珍珍

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2014年6月28日; 22(18): 2602-2606
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

微创胃十二指肠穿孔修补术与传统开腹术治疗胃穿孔患者临床效果的比较

张东红, 叶文婧, 任瑞芳

■背景资料
胃十二指肠穿孔是常见的消化系统疾病, 该病具有起病急、危害大、预后差等特点, 严重威胁患者的健康. 一旦患者发生穿孔, 若不及时清理修补患者可能会出现脓毒血症、腹膜炎等严重并发症, 甚至导致患者死亡. 早期手术是胃十二指肠穿孔的主要治疗方式, 目前临床上主要有开腹及腹腔镜下胃十二指肠穿孔术, 相比较于传统开腹手术, 腹腔镜具有损伤小、出血少、术后恢复快等优点, 因而受到广大临床医生的青睐.

张东红, 叶文婧, 任瑞芳, 瑞安市人民医院手术室 浙江省瑞安市 325200
张东红, 副主任护师, 主要从事手术室护理的研究.
作者贡献分布: 张东红负责文章编写与数据分析; 叶文婧负责手术患者记录与数据统计; 任瑞芳负责术后患者愈合记录与数据统计.
通讯作者: 张东红, 副主任护师, 325200, 浙江省瑞安市安阳镇万松路108号, 瑞安市人民医院手术室. zdh510@163.com
收稿日期: 2014-05-23 修回日期: 2014-06-09
接受日期: 2013-06-16 在线出版日期: 2014-06-28

Efficacy of laparoscopy *vs* laparotomy for gastroduodenal perforation

Dong-Hong Zhang, Wen-Jing Ye, Rui-Fang Ren

Dong-Hong Zhang, Wen-Jing Ye, Rui-Fang Ren, Operating Room, Ruian People's Hospital, Ruian 325200, Zhejiang Province, China
Correspondence to: Dong-Hong Zhang, Associate Chief Physician, Operating Room, Ruian People's Hospital, 108 Wansong Road, Ruian 325200, Zhejiang Province, China. zdh510@163.com
Received: 2014-05-23 Revised: 2014-06-09
Accepted: 2013-06-16 Published online: 2014-06-28

Abstract

AIM: To compare the efficacy of laparoscopy *vs* laparotomy in the management of gastroduodenal perforation.

METHODS: One hundred and sixty patients with gastroduodenal perforation treated at our hospital were randomly and equally divided into either an observation group or a control group. The control group underwent conventional gastroduodenal perforation repair, while the observation group underwent laparoscopic gastroduodenal perforation repair. The total effective rate, time to gastrointestinal motility recovery and complications were compared between the two groups.

RESULTS: The total effective rate was significantly higher in the observation group than in the control group (93.75% *vs* 78.75%, $\chi^2 = 9.486$, $P < 0.05$). The operative time and bleeding volume were significantly less, and the time to gastrointestinal function recovery and postoperative hospital stay were significantly shorter in the observation group than in the control group ($P < 0.05$). In addition, the observation group had significantly shorter anal exhaust time, time to recovery of bowel sounds, and decompression time than the control group ($P < 0.05$). The rates of wound infection and abdominal abscess were significantly lower in the observation group than in the control group ($P < 0.05$).

CONCLUSION: Laparoscopic gastroduodenal perforation repair is minimally invasive, more effective and has less complications than traditional open surgery.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Laparoscopy; Gastroduodenal perforation repair; Gastrointestinal motility; Efficacy

Zhang DH, Ye WJ, Ren RF. Efficacy of laparoscopy *vs* laparotomy for gastroduodenal perforation. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(18): 2602-2606 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2602.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i18.2602

摘要

目的: 比较腹腔镜与传统开腹胃十二指肠穿孔修补术的临床疗效.

方法: 将我院收治的160例胃十二指肠穿孔患者随机分为观察组和对照组各80例, 对照组行传统胃十二指肠穿孔修补术, 观察组在腹腔镜下行胃十二指肠穿孔修补术. 比较两组患者术后总有效率、术后胃肠动力恢复时间以及并发症发生情况.

结果: 观察组术后总有效率为93.75%, 明显高于对照组(78.75%), 两组相比差异具有统计学意义($\chi^2 = 9.486$, $P<0.05$). 观察组手术时间、

■同行评议者
蔡开琳, 副教授, 华中科技大学同济医学院附属协和医院普通外科

术中出血量明显少于对照组, 胃肠功能恢复时间、术后住院时间也较对照组明显缩短, 两组间相比差异具有统计学意义(P<0.05); 观察组术后肛门排气时间、肠鸣音恢复时间、胃肠减压解除时间显著少于对照组(P<0.05). 观察组切口感染、腹腔脓肿发生率显著低于对照组, 两组间相比差异具有统计学意义(P<0.05).

结论: 腹腔镜下胃十二指肠穿孔修补术具有微创、疗效确切、胃肠动力恢复速度快、并发症少等优点, 优于传统开腹术, 值得临床推广.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 腹腔镜; 胃十二指肠穿孔修补术; 胃肠动力; 疗效

核心提示: (1)主操作孔的选择: 尽量选择左上腹锁骨中线周围, 这样距离穿孔病灶胶原, 扩大操作范围, 便于缝合; (2)缝合时尽量选择弧形针无损伤缝合, 从而避免术后针线脱落, 有效防止撕裂或再次穿孔; (3)缝合距离不宜过短, 一般缝合部位距穿孔缘0.5 cm以上, 进针后再由穿孔处出针, 缝合3-4针可以有效避免缝合后壁.

张东红, 叶文婧, 任瑞芳. 微创胃十二指肠穿孔修补术与传统开腹术治疗胃穿孔患者临床效果的比较. 世界华人消化杂志 2014; 22(18): 2602-2606 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2602.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i18.2602

0 引言

胃十二指肠穿孔是常见的消化系统疾病, 该病具有起病急、危害大、预后差等特点[1,2], 严重威胁患者的健康. 一旦患者发生穿孔, 若不及时清理修补患者可能会出现脓毒血症、腹膜炎等严重并发症[3], 甚至导致患者死亡. 早期手术是胃十二指肠穿孔的主要治疗方式, 目前临床上主要有开腹及腹腔镜下胃十二指肠穿孔术, 相比较于传统开腹手术, 腹腔镜具有损伤小、出血少、术后恢复快等优点, 因而受到广大临床医生的青睐. 本研究对我院收治的胃十二指肠穿孔患者分别行传统开腹手术及腹腔镜下修补术, 并对两种术式后患者疗效及安全性进行评价, 以期为临床治疗提供一些参考, 现将治疗经验总结如下.

1 材料和方法

1.1 材料 选择2010-03/2013-03我院收治的胃十二指肠穿孔患者160例作为研究对象, 男117例, 女43例; 年龄23-67岁, 平均43.4岁±6.4岁. 穿孔部位: 胃穿孔108例, 包括胃窦前壁48例, 胃窦后壁31例, 胃幽门管18例, 胃体小弯部11例; 十二指肠穿孔52例. 穿孔时间4-11 h, 平均6.1 h±3.1 h; 穿孔直径0.3-1.0 cm, 平均0.5 cm±0.4 cm. 纳入标准[4]: (1)所有患者均经病理学检查确诊; (2)发病时患者表现为上腹剧痛, 体格检查发现有上腹部反跳痛、压痛及腹肌紧张; (3)取得患者或家属同意, 并签署知情同意书. 排除标准: (1)胃肠恶性肿瘤患者; (2)幽门梗阻或上消化道出血史. 将160例患者随机分为观察组和对照组各80例, 对照组行传统胃十二指肠穿孔修补术, 观察组在腹腔镜下行胃十二指肠穿孔修补术.

1.2 方法

1.2.1 手术: 两组患者均于术前行前置胃管, 留置导尿管, 并采用全身麻醉. 观察组采用头高足低位, 在脐缘作一弧形切口建立气腹, 保持气腹压力12-14 mmHg. 脐部插入套管行腹腔探查, 确定无损伤后, 在剑突下约1 mm处置入10 mm Trocar, 腹腔镜观察下以左上腹锁骨中线、右肋骨下缘锁骨中线作为主操作孔, 右侧置入10 mm Trocar, 左侧置入5 mm Trocar; 将腹腔内积液抽尽, 并将肝脏牵开, 寻找到穿孔部位后将溃疡处常规取活检, 根据穿孔大小采用可吸收线在镜下间断全层或“8”字缝合, 大网膜覆盖后固定, 确认修补处无渗漏后用生理盐水对腹腔进行反复冲洗, 并将冲洗液充分吸尽. 术后在盆腔及Winslow孔各放置1根引流管, 术后3 d拔出. 对照组: 在上腹部做一长约10 cm切口, 行常规穿孔修补术, 术后留置引流管, 术后3 d拔出. 两组患者均术后给予胃肠减压、预防感染、禁食、补液等常规治疗, 术后2 mo胃镜复查.

1.2.2 观察指标: (1)比较两组患者术后疗效; (2)记录两组患者手术时间、术中出血量、术后胃肠功能恢复时间、术后住院时间等一般手术指标; (3)记录两组患者术后胃肠动力恢复时间, 肛门排气时间: 术后患者首次自主排气时间; 肠鸣音恢复时间: 术后每隔2 h对腹部进行听诊1次, 当在两个区域以上肠鸣音>3次/min认为是肠鸣音恢复时间; 胃肠减压解除时间: 完成上述两种指标后胃管拔出时间; (4)记录两组患者并发症发生情况.

1.2.3 疗效评价: 显效: 患者手术顺利, 术后恢复快, 未见严重并发症, 住院时间≤7 d; 有效: 手术较为顺利, 无严重并发症, 住院时间≤14 d; 无

■相关报道
有研究认为, 胃酸和胃蛋白酶对胃肠黏膜的侵蚀作用是导致穿孔的主要原因, 此外胃肠黏膜防御功能较低也是造成胃十二指肠穿孔的原因之一.

■应用要点
腹腔镜下胃十二指肠穿孔修补术具有微创、疗效确切、胃肠动力恢复速度快、并发症少等优点, 显著优于传统开腹术.

表 1 两组患者一般资料比较 (n = 80, mean ± SD)

分组	性别(男/女)	穿孔时间(h)	穿孔直径(cm)
观察组	60/20	5.9 ± 2.9	0.4 ± 0.6
对照组	57/23	6.1 ± 4.3	0.5 ± 0.3
t(或χ^2)	0.358	0.345	1.333
P值	0.549	0.365	0.092

效: 术后再次穿孔, 或患者因严重梗阻或穿孔瘘而需要再次手术; 其中总有效率 = 显效率+有效率[5].

统计学处理 采用SPSS17.0统计学软件进行检验, 患者资料均用mean±SD表示, 采用t检验, 率的比较采用χ^2检验, $\alpha = 0.05$, $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 两组患者一般资料比较 两组患者在性别、年龄、穿孔时间、穿孔直径等一般资料差异无统计学意义($P>0.05$), 具有可比性(表1).

2.2 两组患者术后疗效比较 观察组术后总有效率为93.75%, 明显高于对照组(78.75%), 两组相比差异具有统计学意义($\chi^2 = 9.486$, $P = 0.002$)(表2).

2.3 两组患者手术一般指标比较 观察组手术时间、术中出血量明显少于对照组, 胃肠功能恢复时间、术后住院时间也较对照组明显缩短, 两组间相比差异具有统计学意义($P<0.05$)(表3).

2.4 两组患者术后胃肠动力恢复时间比较 观察组术后肛门排气时间、肠鸣音恢复时间、胃肠减压解除时间显著少于对照组, 两组间相比差异具有统计学意义($P<0.05$)(表4).

2.5 两组患者术后并发症发生情况比较 两组患者主要并发症有切口感染、切口疝、幽门梗阻、腹腔脓肿、肠梗阻等, 其中观察组切口感染、腹腔脓肿发生率显著低于对照组, 两组间相比差异具有统计学意义($P<0.05$)(表5).

3 讨论

调查显示[6,7]胃十二指肠穿孔约占消化系溃疡住院患者的17%, 约30%消化系溃疡手术患者为胃十二指肠穿孔. 目前对该病的发病机制尚不完全清楚, 有研究认为[8]胃酸和胃蛋白酶对胃肠黏膜的侵蚀作用是导致穿孔的主要原因, 此外胃肠黏膜防御功能较低也是造成胃十二指肠穿孔的原因之一. 由于胃十二指肠穿孔直径较大, 导

表 2 比较两组患者术后疗效 (n = 80)

分组	显效	有效	无效	总有效率(%)
观察组	55	20	5	93.75
对照组	36	27	17	78.75

致胃肠内酸性内容物外漏, 一旦进入腹腔可能会导致严重腹腔感染, 甚至出现感染性休克, 最终发展成多器官衰竭[9,10], 导致该病死亡率较高. 目前对于本病主要有保守和手术两种治疗手段, Lal[11]发现非窄体抗炎药的滥用以及幽门螺杆菌感染时导致穿孔的独立危险因素, 而及时手术治疗可以降低患者的死亡率.

腹腔镜下胃十二指肠穿孔修补术是近来年发展的一项新技术, 该病适应症与疗效甚至超过传统开腹术. 相比较于传统开腹术, 腹腔镜有以下优势[12,13]: (1)手术创伤小, 患者术后恢复快, 住院时间短, 能够减轻患者痛苦, 经济型较高; (2)手术出血少, 对患者血流动力学影响较小; (3)术后并发症少, 与传统手术相比, 腹腔镜切口小, 因而切口感染几率低. 另外腹腔镜下手术视野开阔, 能够清楚发现穿孔部位, 因而术后腹腔感染、梗阻发生率低. 在本研究中, 观察组总有效率显著高于对照组, 且观察组手术时间、术中出血量明显减少, 胃肠功能恢复时间、术后住院时间也较对照组明显缩短, 与莫春连[14]报道结论一致, 说明腹腔镜下胃十二指肠穿孔修补术在提高疗效的同时能够减少手术对机体的刺激, 节省了人力、财力. 另外观察组切口感染、腹腔脓肿发生率显著低于对照组, 进一步证实了腹腔镜手术的安全性较高. 胃肠手术后常见胃肠动力障碍, 因为腹部手术难以避免对胃肠的刺激, 直接影响术后胃肠功能的恢复速度[15]. 本研究观察组术后肛门排气时间、肠鸣音恢复时间、胃肠减压解除时间显著少于对照组, 说明腹腔镜术后患者胃肠动力恢复更快, 有助于胃肠功能的恢复, 对提高患者术后生活质量有着重要作用.

在操作中我们有以下体会: (1)主操作孔的选择: 尽量选择左上腹锁骨中线周围, 这样距离穿孔病灶胶原, 扩大操作范围, 便于缝合; (2)缝合时尽量选择弧形针无损伤缝合, 从而避免术后针线脱落, 有效防止撕裂或再次穿孔; (3)缝合距离不宜过短, 一般缝合部位距穿孔缘0.5 cm以上, 进针后再由穿孔处出针, 缝合3-4针可以有效

表 3 比较两组患者手术一般指标 (n = 80, mean ± SD)

分组	手术时间(min)	术中出血量(mL)	胃肠功能恢复时间(d)	术后住院时间(d)
观察组	67.1 ± 10.8	36.8 ± 8.9	3.0 ± 0.7	9.5 ± 3.3
对照组	83.5 ± 11.7	51.5 ± 11.3	4.1 ± 1.6	13.1 ± 3.7
t值	9.212	9.141	5.634	6.495
P值	0.000	0.000	0.000	0.000

表 4 比较两组患者术后胃肠动力恢复时间 (n = 80, mean ± SD, h)

分组	肛门排气	肠鸣音恢复	胃肠减压解除
观察组	21.32 ± 3.57	12.49 ± 4.07	24.97 ± 4.94
对照组	45.31 ± 7.79	24.19 ± 4.45	50.17 ± 8.83
t值	25.040	17.353	22.272
P值	0.000	0.000	0.000

表 5 两组患者术后并发症发生情况比较 [n = 80, n(%)]

分组	切口感染	切口疝	幽门梗阻	腹腔脓肿	肠梗阻
观察组	3(3.75)	0	2(2.50)	1(1.25)	1(1.25)
对照组	12(15.00)	2(2.50)	3(3.75)	6(7.50)	4(5.00)
χ^2	7.448	2.532	0.258	4.669	2.323
P值	0.006	0.112	0.611	0.031	0.128

避免缝合后壁.

虽然在本研究中腹腔镜手术具有明显优势, 但是我们认为还需要注意以下几点: (1)术前应该全面评估风险, 早期控制合并疾病, 术后密切观测患者疾病发展情况; (2)掌握腹腔镜手术的适应症, 若穿孔直径>1.5 cm、伴有消化系出血、肠壁水肿严重以及恶性肿瘤的患者应该选择开腹手术; (3)气腹压力适中, 一般以10-15 mmHg为宜; 压力过高可能会造成细菌异位或高碳酸血症, 导致异位感染.

总之, 腹腔镜下胃十二指肠穿孔修补术具有微创、疗效确切、胃肠动力恢复速度快、并发症少等优点, 显著优于传统开腹术, 值得临床推广.

4 参考文献

1 Oida T, Kano H, Mimatsu K, Kawasaki A, Kuboi Y, Fukino N, Kida K, Amano S. Percutaneous drainage in conservative therapy for perforated gastroduodenal ulcers. *Hepatogastroenterology* 2012; 59: 168-170 [PMID: 22251532 DOI: 10.5754/hge09716]

2 Min SY, Kim YH, Park WS. Acute phlegmonous gastritis complicated by delayed perforation. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 3383-3387 [PMID: 24696618 DOI: 10.3748/wjg.v20.i12.3383]

3 詹世林, 吴良平, 蒲淼水. 胃十二指肠隐匿性穿孔的诊断与治疗4例. 世界华人消化杂志 2004; 12: 492-494

4 解寒冰, 孙德利, 夏云展. 腹腔镜手术与开腹手术治疗老年胃十二指肠穿孔的疗效对比. 中国老年学杂志 2013; 33: 2556-2558

5 刘强, 罗海平, 杨兴龙, 赵艳平. 腹腔镜下胃十二指肠穿孔修补术的临床观察.现代预防医学 2011; 38: 2912-2912,2915

6 吴安定, 金朝霞. 胃十二指肠穿孔手术临床治疗探讨. 胃肠病学和肝病学杂志 2013; 22: 667-668

7 Pua U. Strut perforation of the duodenum by a WallFlex duodenal stent: detection using multidetector CT. *Gastrointest Endosc* 2010; 71: 220-221 [PMID: 20105481 DOI: 10.1016/j.gie.2009.03.1165]

8 Lim CH, Park JM, Park CH, Cho YK, Lee IS, Kim SW, Choi MG, Chung IS. Endoscopic submucosal dissection of gastric neoplasia involving the pyloric channel by retroflexion in the duodenum. *Dig Dis Sci* 2012; 57: 148-154 [PMID: 21842239 DOI: 10.1007/s10620-011-1863-z]

9 赵海剑, 平洪, 左洪生, 刘春满. 腹腔镜胃十二指肠穿孔修补25例治疗体会.中华临床医师杂志(电子版) 2011; 05: 6815-6816

10 Kim MG, Park HK, Park JJ, Lee HG, Nam YS. The applicability of laparoscopic gastrectomy in the surgical treatment of giant duodenal ulcer perforation. *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech* 2012; 22: 122-126 [PMID: 22487624]

11 Lal P, Vindal A, Hadke NS. Controlled tube duodenostomy in the management of giant duodenal ulcer perforation: a new technique for a surgically challenging condition. *Am J Surg* 2009; 198: 319-323 [PMID:

■同行评价
本研究选题不是很新颖, 但有一定的实用性, 有一定参考价值.

19306982 DOI: 10.1016/j.amjsurg.2008.09.028]
12 毛宏铭, 王光远. 腹腔镜与开腹手术治疗老年胃十二指肠穿孔的临床疗效对比. 中国老年学杂志 2013; 33: 3194-3195
13 杨建锋, 张啸, 张筱凤. 内镜下逆行胰胆管造影并发十二指肠穿孔15例诊治分析. 中华胃肠外科杂志 2012; 15: 682-686
14 莫春连, 卢永刚. 腹腔镜下胃十二指肠穿孔修补术与开腹手术的对比研究. 实用医学杂志 2012; 28: 2814
15 黄习忠, 邓宏达, 邓生智. 腹腔镜下急性胃十二指肠穿孔修补术后胃肠动力恢复情况临床观察. 安徽医学 2010; 31: 1202-1203

编辑 田滢 电编 鲁亚静

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费

本刊讯 为了方便作者来稿, 保证稿件尽快公平、公正的处理, 《世界华人消化杂志》编辑部研究决定, 从2011年开始对所有来稿不再收取审稿费. 审稿周期及发表周期不变. (《世界华人消化杂志》编辑部)

世界华人消化杂志 2014年6月28日; 22(18): 2607-2611
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

不同部位胃癌组织临床病理特点和生物学行为的差异

周思宁, 周小兰

周思宁, 周小兰, 浙江嵊州市中医院病理科 浙江省嵊州市 312400
周思宁, 主治医师, 主要从事临床病理诊断的研究.
作者贡献分布: 本文由周思宁撰写完成; 周小兰修改.
通讯作者: 周思宁, 主治医师, 312400, 浙江省嵊州市官河路228号, 浙江嵊州市中医院病理科. zhousining@yeah.net
收稿日期: 2014-04-11 修回日期: 2014-05-10
接受日期: 2014-05-19 在线出版日期: 2014-06-28

Comparative analysis of clinicopathologic features and lymph node metastasis between patients with upper and lower gastric carcinoma

Si-Ning Zhou, Xiao-Lan Zhou

Si-Ning Zhou, Xiao-Lan Zhou, Department of Pathology, Shengzhou Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shengzhou 312400, Zhejiang Province, China
Correspondence to: Si-Ning Zhou, Attending Physician, Department of Pathology, Shengzhou Hospital of Traditional Chinese Medicine, 228 Guanhe Road, Shengzhou 312400, Zhejiang Province, China. zhousining@yeah.net
Received: 2014-04-11 Revised: 2014-05-10
Accepted: 2014-05-19 Published online: 2014-06-28

Abstract

AIM: To compare the clinicopathologic features and lymph node metastasis between patients with upper and lower gastric carcinoma.

METHODS: One hundred and seven patients with upper gastric carcinoma and 505 patients with lower gastric carcinoma were analyzed. The clinicopathologic features and the relationship between lymph node metastasis and clinicopathologic features were analyzed.

RESULTS: There were significant difference between patients with upper gastric carcinoma and those with lower gastric carcinoma ($P < 0.05$) in sex, age, tumor size, subtype, histologic type, growth pattern, stage, depth of invasion, organ invasion, serosal involvement and margin residue. The main factors significantly differently affecting lymph node metastasis between patients with upper gastric carcinoma and those with lower gastric carcinoma were subtype, growth pattern, depth of invasion, and serosal involvement ($P < 0.05$), while tumor size and histological type showed no significant impact. There was no significant difference in the rate of lymph node metastasis between patients with upper and lower gastric carcinoma (53.27% *vs* 51.68%), indicating that there was no relationship between tumor location and rate of lymph node metastasis.

CONCLUSION: There are significant differences in clinicopathological parameters and lymph node metastasis between patients with upper and lower gastric carcinoma. Compared with patients with lower gastric carcinoma, those with upper gastric carcinoma often have larger tumors, infiltrating growth, poor differentiation, serosal invasion and advanced stage. This is the possible reason for poor prognosis of upper gastric carcinoma.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Upper gastric carcinoma; Lower gastric carcinoma; Pathological characteristics; Lymph node metastasis

Zhou SN, Zhou XL. Comparative analysis of clinicopathologic features and lymph node metastasis between patients with upper and lower gastric carcinoma. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(18): 2607-2611
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2607.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i18.2607

摘要

目的: 探讨胃上部癌与胃下部癌临床病理特点和生物学行为差异.

方法: 回顾性分析我院收治的107例胃上部癌和505例胃下部癌患者临床病理相关因素, 并对癌淋巴转移与病理因素的关系进行分析.

结果: 胃上部癌与下部癌患者在性别(86.92% *vs* 69.31%)、(13.08% *vs* 31.09%), 年龄(3.74% *vs* 10.50%)、(14.02% *vs* 20.00%)、(36.45% *vs* 29.31%), 病灶大小(43.93% *vs*

■背景资料
胃上部癌指发生于胃体上1/3部位的癌, 包括贲门癌和非贲门上部癌. 其中贲门癌指癌中心位于食管-胃连接上下2 cm以内的癌, 非贲门上部癌指病灶中心在胃底或胃体上1/3处的癌, 病变范围多侵及贲门. 贲门癌和非贲门上部癌临床病理特点、病情进展、治疗方法及预后效果十分相似. 临床统计表明, 胃下部癌发病率高于胃上部癌, 且随患者年龄增加, 二者发病率差异逐渐增大. 但近几年国外及国内相关研究表明, 胃上部癌发病率呈现逐年增加的趋势.

■同行评议者
王鲁平, 主任医师, 北京军区总医院病理科

■研发前沿
目前, 临床上外科手术治疗术式的选择已经从单纯以解剖学为基础转变为以肿瘤生物学、免疫学及解剖学为基础. 因此, 研究不同部位胃癌的临床病理特点和生物学行为差异对合理选择手术治疗方案尤为重要.

51.88%)、(5.61% *vs* 2.18%), 大体类型(2.80% *vs* 8.71%)、(29.91% *vs* 35.84%)、(67.29% *vs* 55.45%), 组织分型(48.60% *vs* 56.44%)、(51.40% *vs* 43.56%), 生长方式(20.56% *vs* 35.05%)、(46.73% *vs* 32.28%), 病理分期(6.54% *vs* 23.37%)、(12.15% *vs* 32.48%)、(51.40% *vs* 27.13%)、(29.91% *vs* 17.03%), 浸润深度(2.80% *vs* 8.71%)、(32.71% *vs* 29.11%)、(13.08% *vs* 6.34%)分布以及器官受侵(27.10% *vs* 28.51%), 浆膜受侵(63.55% *vs* 34.65%), 断端残留(9.35% *vs* 0.99%)发生率上存在显著差异, 差异具有统计学意义(P<0.05); 胃上部癌、胃下部癌患者肿瘤大体类型(33.33% *vs* 40.63% *vs* 59.72%)、(9.09% *vs* 44.20% *vs* 62.86%)、生长方式(13.64% *vs* 57.14% *vs* 68.00%)、(24.86% *vs* 35.15% *vs* 74.85%)、浸润深度(33.33% *vs* 38.18% *vs* 60.00% *vs* 100.00%)、(9.09% *vs* 43.62% *vs* 70.07% *vs* 96.88%)以及是否发生浆膜入侵(30.77% *vs* 66.18%)、(40.91% *vs* 72.00%)均为影响淋巴结转移的主要因素, 差异具有统计学意义(P<0.05); 胃上部癌、胃下部癌患者肿瘤病灶大小(40.43% *vs* 61.11% *vs* 83.33%)、(42.75% *vs* 60.78% *vs* 72.73%), 组织分型(53.85% *vs* 52.73%)、(54.39% *vs* 48.18%)均与淋巴结转移无关, 差异无统计学意义(P>0.05); 胃上部癌患者淋巴结总转移率与胃下部癌患者比较(53.27% *vs* 51.68%), 差异无统计学意义(P>0.05), 表明肿瘤发生部位与淋巴结转移率无关.

结论: 胃上部癌与胃下部癌临床病理生物学行为和淋巴结转移规律存在多方面差异, 与胃下部癌相比, 胃上部癌具有病灶较大、呈浸润型弥漫生长、分化程度低、浆膜易受侵、病期偏晚等特点, 而淋巴转移方面并不突出, 这可能是导致胃上部癌预后较差的重要原因.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 胃上部癌; 胃下部癌; 病理特点; 淋巴结转移

核心提示: 本研究通过对胃上部癌与下部癌进行系统的临床病理因素比较, 发现胃上部癌与下部癌患者在性别、年龄、病灶大小、大体类型、组织分型、生长方式、病理分期、浸润深度分布以及器官受侵、浆膜受侵、断端残留发生率上存在显著差异, 与胃下部癌相比, 胃上部癌表现为病灶较大、呈浸润型弥漫生长、分化程度低、浆膜易受侵、病期偏晚等比较恶的特点, 而淋巴转移方面并不突出, 这就是上部癌生物学行为的核心特征, 可能是导致胃上部癌预后较差的重要原因.

周思宁, 周小兰. 不同部位胃癌组织临床病理特点和生物学行为的差异. 世界华人消化杂志 2014; 22(18): 2607-2611 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2607.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i18.2607

0 引言

胃癌属于常见消化系恶性肿瘤之一, 手术切除是治疗胃癌的主要手段, 但手术方式的选择对患者预后具有重要影响[1]. 目前, 临床上外科手术治疗术式的选择已经从单纯以解剖学为基础转变为以肿瘤生物学、免疫学及解剖学为基础[2]. 因此, 研究不同部位胃癌的临床病理特点和生物学行为差异对合理选择手术治疗方案尤为重要. 现回顾性分析我院收治的612例胃癌患者临床病理的特点及淋巴结转移规律, 报道如下.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2000-03/2014-03我院和我市人民医院收治的行胃癌标准根治术及扩大根治术治疗的612例胃癌患者作为研究对象. 所有患者均符合中华人民共和国卫生部医政司发布的《胃癌诊疗规范(2011年版)》[3]中胃癌相关诊断标准, 手术根治程度为A级或B级. 其中男性患者443例, 女性患者169例, 患者年龄为13-75岁, 107例为胃上部癌, 505例为胃下部癌. 所有患者均经手术病理检查证实且术后淋巴结剪取个数均大于或等于15个.

1.2 方法 所有标本均来自手术切除, 经患者知情同意后常规进行病理检查. 按照患者发病部位, 将612例患者分为胃上部癌和胃下部癌两组, 比较两组患者临床病理相关因素, 并对癌淋巴转移与病理因素的关系进行分析. 其中大体类型包括早期、局限和浸润, BorrmmannⅠ+Ⅱ型为局限型, BorrmmannⅢ+Ⅳ+Ⅴ型列为浸润型[4]; 组织分型包括分化和未分化, 高、中分化乳头腺癌和管状腺癌为分化良好, 低分化腺癌、印戒细胞癌、勃液腺癌和未分化癌为分化不良; 生长方式包括团块状、巢状、弥漫生长; 参照国际抗癌联盟(Union for International Cancer Control, UICC)和美国抗癌联合会(American Joint Committee on Cancer, AJCC)

表 1 胃上部癌与下部癌临床病理比较 *n*(%)

项目	胃上部癌	胃下部癌
n	107	505
性别		
男性	93(86.92)[a]	350(69.31)
女性	14(13.08)[a]	155(30.69)
年龄(岁)		
<40	4(3.74)[a]	53(10.50)
40–50	15(14.02)[a]	101(20.00)
50–60	39(36.45)	161(31.88)
60–70	39(36.45)[a]	148(29.31)
>70	10(9.35)	42(8.32)
平均年龄	59.29±11.97	56.22±10.06
病灶大小(cm)		
<4	47(43.93)[a]	262(51.88)
4–10	54(50.47)	232(45.94)
>10	6(5.61)[a]	11(2.18)
大体类型		
早期	3(2.80)[a]	44(8.71)
局限	32(29.91)[a]	181(35.84)
浸润	72(67.29)[a]	280(55.45)
组织分型		
分化	52(48.60)[a]	285(56.44)
未分化	55(51.40)[a]	220(43.56)
生长方式		
团块	22(20.56)[a]	177(35.05)
巢状	35(32.71)	165(32.67)
弥漫	50(46.73)[a]	163(32.28)
淋巴结转移总数(个)		
0	51(47.66)	244(48.32)
1–6	38(35.51)	172(34.06)
7–15	15(14.02)	75(14.85)
≥16	3(2.80)	14(2.77)
淋巴结转移站数		
N0	50(46.73)	244(48.32)
N1	28(26.17)	134(26.53)
N2以上	29(27.10)	127(25.15)
病理分期		
Ⅰ期	7(6.54)[a]	118(23.37)
Ⅱ期	13(12.15)[a]	164(32.48)
Ⅲ期	55(51.40)[a]	137(27.13)
Ⅳ期	32(29.91)[a]	86(17.03)
浸润深度		
T1	3(2.80)[a]	44(8.71)
T2	55(51.40)	282(55.84)
T3	35(32.71)[a]	147(29.11)
T4	14(13.08)[a]	32(6.34)
器官受侵	29(27.10)[a]	144(28.51)
浆膜受侵	68(63.55)[a]	175(34.65)
断端残留	10(9.35)[a]	5(0.99)

[a]*P*<0.05 *vs* 胃下部癌.

最新版TNM分期标准[5]进行病理分期; 浸润深度(T1-T4)和淋巴结转移分站(N0-N3)标准参照第14版日本《胃癌处理规约》[6]; 浆膜分型包括浆膜未受侵(正常型、反映型和结节型)和浆膜受侵(多采弥漫型).

统计学处理 使用Microsoft Excel 2007和SPSS17.0进行统计分析, 各组淋巴结转移率及其与病理生物学特征进行相关性分析, 用百分比表示记数资料, 采用χ^2检验. *P*<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 胃上部癌与下部癌临床病理比较 胃上部癌与下部癌患者在性别、年龄、病灶大小、大体类型、组织分型、生长方式、病理分期、浸润深度分布以及器官受侵、浆膜受侵、断端残留发生率上存在显著差异, 差异具有统计学意义(*P*<0.05); 胃上部癌与下部癌患者在淋巴结转移总数、淋巴结转移站数以及平均年龄上差异无统计学意义(*P*>0.05)(表1).

2.2 胃上部癌、胃下部癌淋巴转移与病理因素分析 胃上部癌、胃下部癌患者肿瘤大体类型、生长方式、浸润深度以及是否发生浆膜入侵均为影响淋巴结转移的主要因素, 差异具有统计学意义(*P*<0.05); 胃上部癌、胃下部癌患者肿瘤病灶大小、组织分型均与淋巴结转移无关, 差异无统计学意义(*P*>0.05). 即浸润型弥漫生长、浸润程度深、浆膜受累的患者淋巴结转移率高、远处淋巴结阳性率也高. 胃上部癌患者淋巴结总转移率与胃下部癌患者比较, 差异无统计学意义(*P*>0.05), 表明肿瘤发生部位与淋巴结转移率无关(表2).

3 讨论

胃上部癌指发生于胃体上1/3部位的癌, 包括贲门癌和非贲门上部癌[7]. 其中贲门癌指癌中心位于食管-胃连接上下2 cm以内的癌, 非贲门上部癌指病灶中心在胃底或胃体上1/3处的癌, 病变范围多侵及贲门[8]. 贲门癌和非贲门上部癌临床病理特点、病情进展、治疗方法及预后效果十分相似, 因此广义上来说, 贲门癌可代表胃上部癌. 胃下部癌指胃窦癌、胃角癌、幽门管癌等幽门窦部癌[9]. 临床统计表明, 胃下部癌发病率高于胃上部癌, 且随患者年龄增加, 二者发病率差异逐渐增大. 但近几年国外及国内

■应用要点

肿瘤的生物学行为决定肿瘤的发生、发展和病理特点, 是反映肿瘤性质及恶性程度的标志. 不同部位的胃癌在生物学行为表现上存在较大差异. 胃癌的大体形态、生长方式及分化程度能够正确反映胃癌生物学行为, 是胃癌恶性积蓄、浸润扩展能力的标志.

■同行评价
本文有一定的参考价值.

表 2 胃上部癌、胃下部癌淋巴转移与病理因素分析 *n*(%)

项目	胃上部癌						胃下部癌					
	n	转移	N1	N2	N3	*P*值	*n*	转移	N1	N2	N3	*P*值
病灶大小(cm)												
<4	47	19(40.43)	10	7	2	0.053	262	112(42.75)	56	37	19	0.051
4–10	54	33(61.11)	16	9	8	0.050	232	141(60.78)	74	44	23	0.064
>10	6	5(83.33)	2	2	1	0.632	11	8(72.73)	3	3	2	2.031
大体类型												
早期	3	1(33.33)	1	0	0	0.012	44	4(9.09)	3	1	0	0.013
局限	32	13(40.63)	8	4	1	0.030	181	80(44.20)	40	27	13	0.023
浸润	72	43(59.72)	19	14	10	0.044	280	176(62.86)	89	56	31	0.034
组织分型						6.350						6.341
分化	52	28(53.85)	14	9	5		285	155(54.39)	83	46	26	
未分化	55	29(52.73)	15	8	6		220	106(48.18)	50	38	18	
生长方式												
团块	22	3(13.64)	3	0	0	0.021	177	44(24.86)	37	7	0	0.031
巢状	35	20(57.14)	10	6	4	0.033	165	58(35.15)	27	19	12	0.051
弥漫	50	34(68.00)	15	12	7	0.015	163	122(74.85)	52	45	25	0.022
浸润深度												
T1	3	1(33.33)	1	0	0	0.020	44	4(9.09)	3	1	0	0.010
T2	55	21(38.18)	11	6	4	0.023	282	123(43.62)	64	37	22	0.021
T3	35	21(60.00)	10	7	4	0.010	147	103(70.07)	52	35	16	0.015
T4	14	14(100.00)	7	4	3	0.003	32	31(96.88)	14	11	6	0.003
浆膜受侵						0.001						0.001
无	39	12(30.77)	9	2	1		330	135(40.91)	101	21	13	
有	68	45(66.18)	19	16	10		175	126(72.00)	32	63	31	
合计	107	57(53.27)	28	18	11		505	261(51.68)	133	84	44	

相关研究表明, 胃上部癌发病率呈现逐年增加的趋势[10].

肿瘤的生物学行为决定肿瘤的发生、发展和病理特点, 是反应肿瘤性质及恶性程度的标志[11]. 不同部位的胃癌在生物学行为表现上存在较大差异. 胃癌的大体形态、生长方式及分化程度能够正确反映胃癌生物学行为, 是胃癌恶性积蓄、浸润扩展能力的标志[12]. 本研究通过对胃上部癌与下部癌进行系统的临床病理因素比较, 发现胃上部癌与下部癌患者在性别、年龄、病灶大小、大体类型、组织分型、生长方式、病理分期、浸润深度分布以及器官受侵、浆膜受侵、断端残留发生率上存在显著差异, 与胃下部癌相比, 胃上部癌表现为病灶较大、呈浸润型弥漫生长、分化程度低、浆膜易受侵、病期偏晚等比较恶的特点, 而淋巴转移方面并不突出, 这就是上部癌生物学行为的核心特征, 可能是导致胃上部癌预后较差的重要原因[13]. 临床研究表明, 胃上部癌患者5年生存率显著低于胃下部癌患者[14]. 分析胃上部癌患者预后较差的原因主要包括: 早期症状不明显导致确诊困难; 分化程度较低、呈浸润性生长、蔓延情况较严重[15]; 淋巴转移广泛且隐蔽; 特殊解剖部位以及癌残留率较高等[16]. 因此, 在胃上部癌的临床治疗中要充分明确其生物学行为特征, 以此指导手术治疗.

本研究对胃癌的临床病理因素与淋巴结转移规律进行了分析, 结果显示胃上部癌、胃下部癌患者肿瘤大体类型、生长方式、浸润深度以及是否发生浆膜入侵均为影响淋巴结转移的主要因素, 即浸润型弥漫生长、浸润程度深和浆膜受累的患者淋巴结转移率显著升高, 且远处远处淋巴结阳性概率也较大.

总之, 胃上部癌与胃下部癌生物学行为特征存在较大差异, 胃上部癌的这种不良生物学行为是导致其癌肿的大范围浸润和转移、术后癌残留率较高及预后不佳的主要原因. 对于病理生物学行为均较恶、浸透浆膜、淋巴移转移多、分期晚的肿瘤要充分掌握适应症, 选择合适的外科手术方式, 以提高预后效果.

4 参考文献

1 胡霜久, 龙克艰, 马小庆. 胃上部癌92例临床治疗分析.

河北医学 2012; 18: 1416-1418
2 邵永胜, 彭开勤, 张应天, 余阳, 冯燕, 朱岭, 刘文, 吴文良. 进展期近端胃癌淋巴结转移86例. 世界华人消化杂志 2011; 19: 1300-1306
3 中华人民共和国卫生部医政司. 胃癌诊疗规范(2011年版). 中国医学前沿杂志(电子版) 2012; 4: 62-71
4 黄宝俊, 徐惠绵. Borrmann Ⅰ型胃癌临床病理特点及预后分析. 中国实用外科杂志 2013; 33: 328-330
5 Patel MI, Rhoads KF, Ma Y, Ford JM, Visser BC, Kunz PL, Fisher GA, Chang DT, Koong A, Norton JA, Poultsides GA. Seventh edition (2010) of the AJCC/UICC staging system for gastric adenocarcinoma: is there room for improvement? *Ann Surg Oncol* 2013; 20: 1631-1638 [PMID: 23149854 DOI: 10.1245/s10434-012-2724-5]
6 胡祥. 第14版日本《胃癌处理规约》的重要变更. 中国实用外科杂志 2010; 30: 241-246
7 Mohri Y, Tanaka K, Ohi M, Yokoe T, Miki C, Kusunoki M. Prognostic significance of host- and tumor-related factors in patients with gastric cancer. *World J Surg* 2010; 34: 285-290 [PMID: 19997918 DOI: 10.1007/s00268-009-0302-1]
8 Kosuga T, Ichikawa D, Okamoto K, Komatsu S, Shiozaki A, Fujiwara H, Otsuji E. Survival benefits from splenic hilar lymph node dissection by splenectomy in gastric cancer patients: relative comparison of the benefits in subgroups of patients. *Gastric Cancer* 2011; 14: 172-177 [PMID: 21331530 DOI: 10.1007/s10120-011-0028-2]
9 徐岩, 孙哲, 王振宁, 徐惠绵. 胃癌不同部位淋巴结转移率及其临床意义的研究. 中国普外基础与临床杂志 2012; 19: 16-19
10 徐惠绵, 徐岩. 胃癌转移规律研究新进展. 中国实用外科杂志 2011; 31: 666-669
11 Tian Y, Wan H, Lin Y, Xie X, Li Z, Tan G. Androgen receptor may be responsible for gender disparity in gastric cancer. *Med Hypotheses* 2013; 80: 672-674 [PMID: 23414681 DOI: 10.1016/j.mehy.2013.01.023]
12 王征, 周志祥, 梁建伟, 张兴茂, 胡俊杰, 赵平. 早期胃癌的淋巴结转移规律及预后分析. 癌症进展 2011; 9: 315-319
13 Hu JK, Yang K, Zhang B, Chen XZ, Chen ZX, Chen JP. D2 plus para-aortic lymphadenectomy versus standardized D2 lymphadenectomy in gastric cancer surgery. *Surg Today* 2009; 39: 207-213 [PMID: 19280279 DOI: 10.1007/s00595-008-3856-x]
14 李涛, 徐惠绵, 徐岩, 王江, 朱志, 赵大鹏, 吕元军. 不同部位胃癌临床病理特征、淋巴结转移规律及预后的对比研究. 中国当代医药 2013; 20: 4-9
15 Bu Z, Zheng Z, Li Z, Zhang L, Wu A, Wu X, Sun Y, Ji J. Lymphatic vascular invasion is an independent correlated factor for lymph node metastasis and the prognosis of resectable T2 gastric cancer patients. *Tumour Biol* 2013; 34: 1005-1012 [PMID: 23292920 DOI: 10.1007/s13277-012-0637-3]
16 李威, 孙晓卫, 詹友庆. 胃近端癌与远端癌病理特点及预后的比较分析. 现代预防医学 2011; 38: 167-171

编辑 田滢 电编 都珍珍

世界华人消化杂志 2014年6月28日; 22(18): 2612-2616
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

门冬氨酸鸟氨酸联合纳洛酮对肝性脑病患者认知功能和预后及其神经肽类水平的影响

丰化微, 惠 凯, 孙庆文, 于 宁

■背景资料
肝性脑病(hepatic encephalopathy, HE)是一种中枢神经系统疾病, 是由于严重的肝脏疾病导致机体代谢异常所致. 作为肝病最常见的一种并发症, 其对患者造成了巨大的痛苦, 他可导致患者出现意识障碍、行为异常, 严重者会出现昏迷甚至死亡. 目前针对肝性脑病的研究大多认为其发病机制复杂, 是多因素共同作用的结果, 但广泛被认可的致病机制主要为氨中毒理论和β-内啡肽诱导机制.

丰化微, 惠凯, 齐齐哈尔医学院第五附属医院大庆龙南医院神经内科 黑龙江省大庆市 163453
孙庆文, 于宁, 齐齐哈尔医学院第五附属医院大庆龙南医院消化内科 黑龙江省大庆市 163453
丰化微, 主治医师, 主要从事神经电生理的研究.
作者贡献分布: 丰化微负责课题的设计及论文写作; 研究过程与数据分析由惠凯与孙庆文完成; 于宁提供研究所需试剂.
通讯作者: 丰化微, 主治医师, 163453, 黑龙江省大庆市让胡路区爱国路35号, 齐齐哈尔医学院第五附属医院大庆龙南医院神经内科. 13304694699@163.com
电话: 0459-5910127
收稿日期: 2014-05-31 修回日期: 2014-06-08
接受日期: 2014-06-16 在线出版日期: 2014-06-28

Ornithine aspartate combined with naloxone improves cognitive function, prognosis, and neuropeptide levels in patients with hepatic encephalopathy

Hua-Wei Feng, Kai Hui, Qin-Wen Sun, Ning Yu

Hua-Wei Feng, Kai Hui, Department of Neurology, Qiqihar Medical College Affiliated Fifth Hospital, Daqing Longnan Hospital, Daqing 163453, Heilongjiang Province, China
Qin-Wen Sun, Ning Yu, Department of Gastroenterology, Qiqihar Medical College Affiliated Fifth Hospital, Daqing Longnan Hospital, Daqing 163453, Heilongjiang Province, China
Correspondence to: Hua-Wei Feng, Attending Physician, Qiqihar Medical College Affiliated Fifth Hospital, Daqing Longnan Hospital, Daqing 163453, Heilongjiang Province, China. 13304694699@163.com
Received: 2014-05-31 Revised: 2014-06-08
Accepted: 2014-06-16 Published online: 2014-06-28

Abstract

AIM: To investigate the effect of combination therapy with ornithine aspartate plus naloxone on cognitive function, prognosis, and neuropeptide levels in patients with hepatic encephalopathy.

METHODS: One hundred and two patients diagnosed with hepatic encephalopathy were randomly divided into two equal groups: a control group (n = 51) and a study group (n = 51). The control group received traditional medical treatment, and the research group was additionally given combination therapy with ornithine aspartate plus naloxone on the basis of traditional medical treatment. The cognitive function of the patients was assessed. The response rate and time duration from coma to consciousness were recorded. Changes in blood ammonia level, markers of liver function, and neuropeptide levels were measured by standard biochemical assays.

RESULTS: The response rate was significantly higher in the study group than in the control group (86.27% *vs* 68.63%, $P < 0.05$). After treatment, the level of blood ammonia in both groups was decreased ($P < 0.05$). The level of blood ammonia in the study group was significantly lower than that in the control group (52.01 μmol/L ± 7.49 μmol/L *vs* 75.44 μmol/L ± 5.86 μmol/L, $P < 0.01$). The liver function markers in the two groups were also significantly improved after treatment ($P < 0.05$). The levels of alanine aminotransferase, gamma glutamine transferase and total bilirubin in the study group were significantly lower than those in the control group (38.5 U/L ± 5.8 U/L *vs* 55.3 U/L ± 4.4 U/L, 149.3 U/L ± 19.2 U/L *vs* 174.2 U/L ± 23.6 U/L, 65.6 μmol/L ± 10.8 μmol/L *vs* 81.3 μmol/L ± 12.9 μmol/L, $P < 0.01$). After treatment, the time duration from coma to consciousness in the study group was significantly lower than in the control group (7.53 h ± 2.68 h *vs* 21.02 h ± 9.83 h, $P < 0.05$). The MMSE and HDS-R scores in the study group were significantly higher than those in the control group (22.09 ± 2.41 *vs* 17.76 ± 2.02, 24.11 ± 4.12 *vs* 16.18 ± 3.19, $P < 0.05$). After treatment, the levels of arginine vasopressin and beta-endorphin in both groups were decreased ($P < 0.05$). The levels of arginine vasopressin and beta-endorphin in the study group were significantly lower than those in the control group (11.28 pg/mL ± 2.08 pg/mL *vs* 15.35 pg/mL ± 1.65 pg/mL, 42.02 pg/mL ± 7.66 pg/mL *vs* 53.66 pg/mL ± 6.81 pg/mL, $P < 0.01$).

CONCLUSION: Ornithine aspartate combined

■同行评议者
杨钦河, 教授, 暨南大学医学院中医系

with naloxone can improve cognitive function in patients with hepatic encephalopathy, and the treatment effect is superior compared to conventional treatment.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Ornithine aspartate; Naloxone; Hepatic encephalopathy; Neuropeptide; Cognitive function

Feng HW, Hui K, Sun QW, Yu N. Ornithine aspartate combined with naloxone improves cognitive function, prognosis, and neuropeptide levels in patients with hepatic encephalopathy, prognosis, and neuropeptide levels. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(18): 2612-2616 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2612.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i18.2612

摘要

目的: 探讨门冬氨酸鸟氨酸联合纳洛酮对肝性脑病患者认知功能、预后及神经肽类水平的影响.

方法: 102例肝性脑病患者随机分为研究组和对照组, 每组各51例患者. 对照组患者应用常规治疗方案, 研究组患者在常规治疗的基础上加用门冬氨酸鸟氨酸联合纳洛酮进行治疗. 评估两组患者治疗后的认知功能改变情况, 观察两组患者的总有效率、神智清醒时间, 同时测定治疗前后的肝功能指标、血氨浓度以及神经肽类的变化水平.

结果: (1)研究组患者治疗后的总有效率显著高于对照组的, 差异有统计学意义(86.27% *vs* 68.63%, $P<0.05$); (2)研究组治疗后血氨水平明显低于对照组, 差异有统计学意义(52.01 μmol/L±7.49 μmol/L *vs* 75.44 μmol/L±5.86 μmol/L, $P<0.01$); (3) 治疗后, 两组患者肝功能指标均显著好转. 研究组ALT、γ谷氨酰转移酶和总胆红素水平均明显低于对照组, 差异有统计学意义(38.5 U/L±5.8 U/L *vs* 55.3 U/L±4.4 U/L, 149.3 U/L±19.2 U/L *vs* 174.2 U/L±23.6 U/L, 65.6 μmol/L±10.8 μmol/L *vs* 81.3 μmol/L±12.9 μmol/L, 均$P<0.01$); (4)治疗后, 研究组神志清醒时间明显低于对照组(7.53 h±2.68 h *vs* 21.02 h±9.83 h, $P<0.05$), MMSE评分、HDS-R评分均明显高于对照组(22.09±2.41 *vs* 17.76±2.02, 24.11±4.12 *vs* 16.18±3.19, $P<0.05$); (5)治疗后, 两组患者的精氨酸加压素、β-内啡肽相比治疗前均明显下降. 研究组治疗后精氨酸加压素、β-内啡肽相比对照组明显下降, 两组相比差异有统计学意义(11.28 pg/mL±2.08 pg/mL *vs* 15.35 pg/mL±1.65 pg/mL, 42.02 pg/mL±7.66 pg/mL *vs* 53.66 pg/mL±6.81 pg/mL, 均$P<0.01$).

结论: 门冬氨酸鸟氨酸联合纳洛酮对可改善肝性脑病患者的认知功能, 治疗效果优于常规治疗, 值得推广应用.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 门冬氨酸鸟氨酸; 纳洛酮; 肝性脑病; 神经肽; 认知功能

核心提示: 门冬氨酸鸟氨酸联合纳洛酮治疗肝性脑病患者, 可以降低患者血氨水平, 改善肝功能, 促进患者神智清醒, 改善认知功能, 降低神经肽类物质水平, 是一种治疗肝性脑病安全有效的方法.

丰化微, 惠凯, 孙庆文, 于宁. 门冬氨酸鸟氨酸联合纳洛酮对肝性脑病患者认知功能和预后及其神经肽类水平的影响. 世界华人消化杂志 2014; 22(18): 2612-2616 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2612.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i18.2612

■研发前沿
临床目前缺乏对肝性脑病的有效治疗手段, 多使用去除诱因的常规治疗. 因此, 如何在常规治疗的基础上有效的降低血氨浓度, 控制内啡肽的产生就显得至关重要.

0 引言

肝性脑病(hepatic encephalopathy, HE)是一种中枢神经系统疾病, 是由于严重的肝脏疾病导致机体代谢异常所致[1-3]. 作为肝病最常见的一种并发症, 其对患者造成了巨大的痛苦, 他可导致患者出现意识障碍、行为异常, 严重者会出现昏迷甚至死亡[4-7]. 目前针对肝性脑病的研究大多认为其发病机制复杂, 是多因素共同作用的结果, 但广泛被认可的致病机制主要为氨中毒理论和β-内啡肽诱导机制[8-11]. 门冬氨酸鸟氨酸可降低血氨, 协助清除体内自由基, 是治疗肝炎的有效药物之一[12-14]. 纳洛酮作为阿片受体拮抗药, 可以降低体内β-内啡肽水平, 对肝昏迷起到治疗作用[15-18]. 本研究通过观察门冬氨酸鸟氨酸联合纳洛酮治疗对肝性脑病患者认知功能预后及神经肽类水平的影响, 为临床提供依据.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2012-03/2014-03我院收治的肝性脑病患者102例作为研究对象, 入选者均满足肝性脑病的诊断标准: (1)严重肝病患者; (2)发生昏迷或昏睡现象, 精神紊乱引出扑翼样震颤者; (3)存在摄入氮过多、便秘、感染、血容量低下等肝性脑病诱因者; (4)血氨异常升高及肝功能血生化参数异常者; (5)影像学检查或脑电图检

■相关报道
肝性脑病发病机制复杂, 针对肝性脑病的研究也产生了多种学说和理论, 包括氨基酸失衡、神经递质学说、锰中毒等. 目前, 为研究者所广泛接受的是氨中毒学说, 高血氨是各个理论的最终结果.

查异常者. 患者平均年龄50.2岁±11.4岁, 其中男性患者62例, 女性患者40例. 将其根据随机数字表分为两组, 研究组51例, 平均年龄51.7岁±10.5岁, 其中男性患者33例, 女性患者18例; 对照组51例, 平均年龄48.3岁±12.3岁, 其中男性患者29例, 女性患者20例. 两组患者年龄、性别构成、肝性脑病分期、HE诱因等一般资料比较无显著差异, 具有可比性(P>0.05).

1.2 方法

1.2.1 治疗: 所有患者入院后均先排除可能的HE诱因, 通过对饮食的调整来控制蛋白摄入量. 同时采取保肝、调节酸碱平衡、改善电解质紊乱、降低血氨等常规治疗方案. 研究组在常规治疗方案的基础上, 给予患者门冬氨酸鸟氨酸10 g+5%葡萄糖溶液(glucoss, GS), 250 mL静滴, 1次/d, 同时给予纳洛酮2 mg+5%GS 100 mL静滴, 1次/天, 疗程为14 d.

1.2.2 观察指标: 在治疗后对患者再次进行肝性脑病分期并对疗效进行判定. 判定标准: 显效: 治疗后肝性脑病改善两个期段及以上或者恢复到0期; 有效: 治疗后肝性脑病改善1期; 无效: 治疗后肝性脑病分期维持不变、恶化或者患者死亡. 其中, 总有效率 = (显效+有效)/总例数×100%. 记录患者治疗前和治疗后的血氨浓度、谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、谷草转氨酶(aspartate transaminase, AST)、γ谷氨酰转移酶、总胆红素的水平以及神智清醒持续的时间.

1.2.3 认知功能评价: 采用简易精神状态评价量表(minimum mental state examination, MMSE)和改良长谷川式简易智能量表(hasegawa dementia scale revised, HDS-R)对两组患者的认知功能进行评价. MMSE量表满分30分, 分别考察定向力、记忆力、注意力和计算力、回忆能力及语言能力.

1.2.4 检测脑脊液神经肽类物质: 分别于治疗前和治疗结束后的清晨对患者行腰椎穿刺, 取得3-5 mL脑脊液后加入抑肽酶(300-500 kIU/mL), 高速离心20 min(4 ℃, 5000 r/min), 取上清-20℃保存备用. 采用顺序饱和加样法测定不同神经肽的水平. 以^{125}I标记上清液, 使用胎牛血清白蛋白平衡的层析柱(P2或P4)分离检测.

统计学处理 采用SPSS19.0软件进行统计学分析. 计量资料以mean±SD表示, 以t检验进行分析; 计数资料以率表示, 以卡方检验进行分析. 所有统计结果, P<0.05为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 肝性脑病患者的影像学检查 对肝性脑病患者行脑部MR检查发现基底神经节有T1WI信号增强.

2.2 两组患者疗效比较 研究组显效、有效、无效分布为27、17、7例, 治疗总有效率为86.27%, 对照组显效、有效、无效分布为6、29、16例, 治疗总有效率为68.63%, 两组相比有显著差异(χ^2 = 4.547, P = 0.033).

2.3 治疗前后两组血氨水平比较 治疗前, 两组血氨水平比较无显著差异(133.18 μmol/L±10.34 μmol/L *vs* 128.65 μmol/L±13.51 μmol/L, t = 1.902, P>0.05). 相比治疗前, 治疗后两组的血氨水平均明显下降(P<0.05), 研究组治疗后血氨水平明显低于对照组(52.01 μmol/L±7.49 μmol/L *vs* 75.44 μmol/L±5.86 μmol/L), 两组相比有显著差异(t = 17.596, P<0.05).

2.4 两组治疗前后肝功能指标比较 治疗前, 两组患者各项肝功能指标比较无显著差异(P>0.05). 治疗后, 两组患者肝功能指标均显著好转(P<0.05). 治疗后, 研究组ALT(t = 16.480, P = 0.000)、γ谷氨酰转移酶(t = 5.845, P = 0.000)和总胆红素水平(t = 6.664, P = 0.000)均明显低于对照组, 两组相比有显著差异(表1).

2.5 两组治疗后神智清醒时间和认知功能比较 治疗后, 研究组神志清醒时间明显低于对照组, MMSE评分、HDS-R评分均明显高于对照组, 两组相比有显著差异(P<0.05)(表2).

2.6 两组治疗前后神经肽类指标比较 治疗前, 两组患者各项神经肽类指标比较无显著差异(P>0.05). 治疗后, 两组患者的精氨酸加压素、β-内啡肽相比治疗前均明显下降(P<0.05). 研究组治疗后精氨酸加压素(t = 10.948, P = 0.000)、β-内啡肽(t = 8.110, P = 0.000)相比对照组明显下降, 两组相比有显著差异(表3).

3 讨论

肝性脑病发病机制复杂, 针对肝性脑病的研究也产生了多种学说和理论, 包括氨基酸失衡、神经递质学说、锰中毒等[19,20]. 目前, 为研究者所广泛接受的是氨中毒学说, 高血氨是各个理论的最终结果[21]. 血液中氨浓度的增高主要是由于肠道中蛋白质、氨基酸被分解所致[22]. 此外, 严重肝病患者机体内会产生内啡肽, 有研究表明[23], β-内啡肽可影响细胞膜的稳定, 抑制中枢神经传导, 导致患者出现意识障碍. 临床目前缺

■同行评价
门冬氨酸鸟氨酸联合纳洛酮对可改善肝性脑病患者的认知功能, 治疗效果优于常规治疗, 值得推广与应用.

表 1 两组治疗前后肝功能指标比较 (mean ± SD)

分组	ALT(U/L)	AST(U/L)	γ谷氨酰转移酶(U/L)	总胆红素(μmol/L)
研究组				
治疗前	69.0 ± 9.4	111.2 ± 11.8	262.7 ± 42.3	116.1 ± 19.6
治疗后	38.5 ± 5.8[a]	80.7 ± 9.5	149.3 ± 19.2[a]	65.6 ± 10.8[a]
对照组				
治疗前	65.4 ± 8.2	107.9 ± 10.6	253.6 ± 45.7	104.1 ± 24.3
治疗后	55.3 ± 4.4	79.5 ± 9.3	174.2 ± 23.6	81.3 ± 12.9

[a]*P*<0.05 *vs* 对照组. ALT: 谷丙转氨酶; AST: 谷草转氨酶.

表 2 两组治疗后神智清醒时间和认知功能比较 (mean ± SD)

分组	神智清醒时间(h)	MMSE评分	HDS-R评分
研究组	7.53 ± 2.68	22.09 ± 2.41	24.11 ± 4.12
对照组	21.02 ± 9.83	17.76 ± 2.02	16.18 ± 3.19
*t*值	9.455	9.833	10.868
*P*值	0.000	0.000	0.000

MMSE: 简易精神状态评价量表; HDS-R: 改良长谷川式简易智能量表.

表 3 两组治疗前后神经肽类指标比较 (mean ± SD, pg/mL)

分组	精氨酸加压素	催产素	β-内啡肽	生长抑素	神经降压素
研究组					
治疗前	19.16 ± 1.54	2.74 ± 0.66	77.26 ± 6.96	15.22 ± 6.85	63.09 ± 11.86
治疗后	11.28 ± 2.08[ac]	2.58 ± 0.55	42.02 ± 7.66[ac]	14.32 ± 8.31	59.44 ± 13.32
对照组					
治疗前	18.12 ± 1.06	2.66 ± 0.56	76.54 ± 9.77	13.30 ± 7.91	64.10 ± 10.58
治疗后	15.35 ± 1.65[c]	2.75 ± 0.48	53.66 ± 6.81[c]	15.44 ± 9.46	61.19 ± 15.72

[a]*P*<0.05 *vs* 对照组; [c]*P*<0.05 *vs* 同组治疗前.

乏对肝性脑病的有效治疗手段, 多使用去除诱因的常规治疗. 因此, 如何在常规治疗的基础上有效的降低血氨浓度、控制内啡肽的产生就显得至关重要.

本研究选用了两种药物联合治疗肝性脑病. 门冬氨酸鸟氨酸是一种合成复合物, 他在体内可分解为*L*-门冬氨酸和鸟氨酸. *L*-门冬氨酸与血中氨结合, 促进谷氨酸和谷氨酰胺的生成, 降低血中氨的浓度[24,25]. 同时, *L*-门冬氨酸还在核酸合成中发挥重要作用, 对受损肝细胞有一定的保护修复作用. 鸟氨酸可活化参与尿素合成的相关酶, 进而加速血中氨的代谢, 降低其浓度. 纳洛酮是一种阿片受体拮抗剂, 可抑制体内β-内啡肽的合成, 同时加速其分解, 降低其对神经传导的影响, 改善患者的精神状态.

本研究中, 研究组治疗有效率达到86.27%, 明显高于对照组, 血氨水平也出现明显下降, 说明门冬氨酸鸟氨酸在体内加速血氨代谢, 从而降低了血氨的浓度. 此外, 在肝功能各项指标的比较中, 治疗后研究组ALT、γ谷氨酰转移酶和总胆红素水平均明显低于对照组, 两组相比有显著差异(*P*<0.05). 这说明治疗后研究组的肝功能相比对照组有明显好转, 反映出药物对受损肝细胞具有明显的修复作用. 研究组神志清醒时间及认知功能评分均明显优于对照组, 这也说明药物治疗后可以减轻肝性脑病对中枢系统的影响, 考虑主要是由于纳洛酮对神经传导的保护以及减轻中枢抑制的作用. 在对两组各神

经肽类指标的比较发现, 治疗后两组患者的精氨酸加压素、β-内啡肽相比治疗前均明显下降(P<0.05), 而研究组下降更为明显. 这也更加确切的证实了药物发挥作用的机制, 通过降低患者脑脊液中的神经肽类指标来发挥治疗效果.

总之, 本研究使用门冬氨酸鸟氨酸联合纳洛酮治疗肝性脑病患者, 可以降低血氨水平、改善肝功能, 促进患者神智清醒, 改善认知功能, 降低神经肽类物质水平, 是一种治疗肝性脑病安全有效的方法, 值得推广应用.

4 参考文献

1 中华医学会消化病学分会, 中华医学会肝病学分会. 中国肝性脑病诊治共识意见(2013年, 重庆). 中华肝脏病杂志 2013; 21: 641-651
2 张鸣, 段志军. 乙肝后肝硬化合并肝性脑病的影响因素. 世界华人消化杂志 2012; 20: 1148-1155
3 张玉波. 肝性脑病发病机制的研究进展. 世界华人消化杂志 2012; 20: 2358-2363
4 孙趁意, 崔轶, 李想. 醒脑静联合门冬氨酸鸟氨酸治疗肝性脑病疗效观察. 中国实用神经疾病杂志 2011; 14: 80-81
5 Yamamoto Y, Nishiyama Y, Katsura K, Yamazaki M, Katayama Y. Hepatic encephalopathy with reversible focal neurologic signs resembling acute stroke: case report. *J Stroke Cerebrovasc Dis* 2011; 20: 377-380 [PMID: 20634097 DOI: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2010.01.011]
6 李晶莹, 顾锡炳. 门冬氨酸鸟氨酸治疗肝性脑病的临床研究. 实用肝脏病杂志 2011; 14: 298-299
7 孙芳. 门冬氨酸鸟氨酸治疗肝性脑病50例疗效观察. 中国现代药物应用 2011; 5: 103-104
8 宋学平. 门冬氨酸鸟氨酸治疗肝性脑病56例疗效观察. 中国现代药物应用 2012; 6: 67-68
9 Ahboucha S, Talani G, Fanutza T, Sanna E, Biggio G, Gamrani H, Butterworth RF. Reduced brain levels of DHEAS in hepatic coma patients: significance for increased GABAergic tone in hepatic encephalopathy. *Neurochem Int* 2012; 61: 48-53 [PMID: 22490610 DOI: 10.1016/j.neuint.2012.03.020]
10 孙文锦, 王立志, 王运东, 汪燕. 门冬氨酸鸟氨酸联合乳果糖灌肠治疗肝性脑病疗效观察. 实用肝脏病杂志 2014; (1): 86-87
11 袁翠云, 张长青. 门冬氨酸鸟氨酸治疗肝性脑病的临床观察. 白求恩军医学院学报 2011; 9: 346-347
12 Phongsamran PV, Kim JW, Cupo Abbott J, Rosenblatt A. Pharmacotherapy for hepatic encephalopathy. *Drugs* 2010; 70: 1131-1148 [PMID: 20518580 DOI: 10.2165/10898630-000000000-00000]
13 荆燕, 赵秀华. 乳果糖联合门冬氨酸鸟氨酸预防消化道出血诱发肝性脑病的疗效观察. 山东医药 2013; 53: 72-73
14 侯林毅, 赵骞, 舒静. 更昔洛韦联合门冬氨酸鸟氨酸治疗婴儿巨细胞病毒性肝炎疗效观察. 中国综合临床 2012; 28: 546-549
15 王立鹏, 陈晓, 高峻. 肝性脑病中氧化应激参与氨中毒的研究进展. 国际消化病杂志 2011; 31: 95-96
16 高燕琴, 高雪芹. 门冬氨酸鸟氨酸联合纳洛酮治疗肝性脑病疗效观察. 中国实用神经疾病杂志 2012; 15: 77-78
17 刘翠萍, 余祖江. 全程门冬氨酸鸟氨酸治疗延缓乙型肝炎病毒相关慢加急性肝衰竭的进展. 中华肝脏病杂志 2011; 19: 63-64
18 韦善学. 纳洛酮治疗慢性肝性脑病疗效观察. 实用心脑肺血管病杂志 2012; 20: 1180
19 Thompson JR. Treatment guidelines for hepatic encephalopathy. *Pharmacotherapy* 2010; 30: 4S-9S [PMID: 20412034 DOI: 10.1592/phco.30.pt2.4S]
20 王群, 张晨光. 锰在肝性脑病中作用的研究进展. 淮海医药 2010; 28: 282-282, F0003, F0004
21 Rose CF. Ammonia-lowering strategies for the treatment of hepatic encephalopathy. *Clin Pharmacol Ther* 2012; 92: 321-331 [PMID: 22871998 DOI: 10.1038/clpt.2012.112]
22 吴清华. 门冬氨酸鸟氨酸联合纳洛酮治疗肝性脑病疗效观察. 中国实用神经疾病杂志 2013; 16: 90-91
23 Asvadi NH, Morgan M, Herath HM, Hewavitharana AK, Shaw PN, Cabot PJ. Beta-endorphin 1-31 biotransformation and cAMP modulation in inflammation. *PLoS One* 2014; 9: e90380 [PMID: 24618600 DOI: 10.1371/journal.pone.0090380]
24 Ryu M, Kim H, Lim M, You K, Ahn J. Comparison of dissolution and surface reactions between calcite and aragonite in L-glutamic and L-aspartic acid solutions. *Molecules* 2010; 15: 258-269 [PMID: 20110889 DOI: 10.3390/molecules15010258]
25 Park JH, Lee SY. Metabolic pathways and fermentative production of L-aspartate family amino acids. *Biotechnol J* 2010; 5: 560-577 [PMID: 20518059 DOI: 10.1002/biot.201000032]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年6月28日; 22(18): 2617-2621
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

综合护理干预对慢性丙型肝炎并发糖尿病患者的临床效果

石慧芬, 傅旭丹

石慧芬, 傅旭丹, 义乌市中心医院内二科 浙江省义乌市 322000
石慧芬, 主管护师, 主要从事消化护理的工作.
作者贡献分布: 石慧芬与傅旭丹对此文所作贡献均等; 此课题由石慧芬与傅旭丹设计; 研究过程由石慧芬与傅旭丹操作完成; 数据分析由石慧芬完成; 本论文写作由石慧芬与傅旭丹完成.
通讯作者: 石慧芬, 主管护师, 322000, 浙江省义乌市江东路699号, 义乌市中心医院内二科, shihuifen998@sina.com
收稿日期: 2014-04-16 修回日期: 2014-05-05
接受日期: 2014-05-12 在线出版日期: 2014-06-28

Comprehensive nursing intervention to improve quality of life in chronic hepatitis C patients with diabetes mellitus

Hui-Fen Shi, Xu-Dan Fu

Hui-Fen Shi, Xu-Dan Fu, Second Department of Internal Medicine, the Central Hospital of Yiwu City, Yiwu 322000, Zhejiang Province, China
Correspondence to: Hui-Fen Shi, Nurse, Second Department of Internal Medicine, the Central Hospital of Yiwu City, 699 Jiangdong Road, Yiwu 322000, Zhejiang Province, China. shihuifen998@sina.com
Received: 2014-04-16 Revised: 2014-05-05
Accepted: 2014-05-12 Published online: 2014-06-28

Abstract

AIM: To explore if comprehensive nursing intervention can improve quality of life in chronic hepatitis C (CHC) patients with diabetes mellitus (DM).

METHODS: Ninety-two CHC patients with DM were randomly divided into either an experiment group or a control group. The patients received the same treatments. The control group received routine nursing intervention, while the experiment group received comprehensive nursing intervention. Fasting blood-glucose (FBG), glycosylated hemoglobin (HbA1c) and the quality of life (QOL) were compared between the two groups.

RESULTS: In both groups, the levels of FBG at 3 and 6 mo after nursing intervention were significantly lower than those before nursing intervention (7.33 mmol/L ± 2.12 mmol/L *vs* 8.43 mmol/L ± 3.52 mmol/L, 6.77 mmol/L ± 1.57 mmol/L *vs* 8.43 mmol/L ± 3.52 mmol/L; 8.48 mmol/L ± 1.67 mmol/L *vs* 8.55 mmol/L ± 3.65 mmol/L, 7.68 mmol/L ± 1.50 mmol/L *vs* 8.55 mmol/L ± 3.65 mmol/L, $P < 0.05$). After nursing intervention, the levels of FBG at 3 and 6 mo in the experiment group were significantly lower than those in the control group (7.33 mmol/L ± 2.12 mmol/L *vs* 8.48 mmol/L ± 1.67 mmol/L, 6.77 mmol/L ± 1.57 mmol/L *vs* 7.68 mmol/L ± 1.50 mmol/L, $P < 0.05$). In both groups, the levels of HbA1c at 3 and 6 months after nursing intervention were significantly lower than those before nursing intervention (7.61% ± 2.18% *vs* 9.19% ± 3.53%, 6.73% ± 1.38% *vs* 9.19% ± 3.53%; 8.28% ± 2.45% *vs* 9.16% ± 3.56%, 7.73% ± 1.79% *vs* 9.16% ± 3.56%, $P < 0.05$). After nursing intervention, the levels of HbA1c at 3 and 6 mo in the experiment group were significantly lower than those in the control group (7.61% ± 2.18% *vs* 8.28% ± 2.45%, 6.73% ± 1.38% *vs* 7.73% ± 1.79%, $P < 0.05$). After nursing intervention, the scores of physical performance, role-physical, bodily pain, general health, vitality, social function and role-emotional in the experiment group were significantly higher than those in the control group (81.03 ± 2.55 *vs* 79.63 ± 1.25, 50.68 ± 2.78 *vs* 49.07 ± 3.20, 74.38 ± 1.61 *vs* 73.27 ± 1.53, 37.86 ± 1.34 *vs* 36.87 ± 1.22, 65.46 ± 0.81 *vs* 63.86 ± 0.78, 87.69 ± 1.52 *vs* 85.78 ± 1.28, 53.59 ± 3.31 *vs* 47.47 ± 3.60, 75.74 ± 1.87 *vs* 72.31 ± 0.56, $P < 0.05$).

CONCLUSION: Comprehensive nursing intervention can improve the levels of FBG and HbA1c and QOL in CHC patients with DM.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Nursing intervention; CHC; DM; QOL; Clinical effects

Shi HF, Fu XD. Comprehensive nursing intervention to improve quality of life in chronic hepatitis C patients with diabetes mellitus. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(18): 2617-2621 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2617.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i18.2617

■背景资料
慢性丙型肝炎合并糖尿病的发病机制主要为丙型肝炎病毒感染导致慢性丙型肝炎发生, 从而引起肝功能受损, 进而合并肝源性糖尿病, 肝源性糖尿病反过来又加重肝功能损害, 造成恶性循环, 加速了慢性丙型肝炎患者肝硬化、肝癌进度, 是威胁患者生命的重要因素. 尤其是在临床治疗和护理的过程中, 两种疾病之间还存在着诸多矛盾点. 采取有效护理措施, 提高患者的生命质量是临床医生普遍关注的问题.

■同行评议者
范学工, 教授, 中南大学湘雅医院感染病科

■研发前沿
由于慢性丙型肝炎与糖尿病患者在临床治疗及护理过程中存在诸多矛盾点，给治疗和护理带来了较大难度.

摘要

目的: 探讨护理干预提高慢性丙型肝炎(chronic hepatitis C, CHC)诱发糖尿病(diabetes mellitus, DM)患者生命质量的临床效果.

方法: 按照随机数字表法将92例CHC合并DM患者均分为实验组和对照组, 两组患者均给予相同治疗方案, 对照组患者采取常规护理, 实验组患者采取综合护理, 比较两组患者护理干预前后空腹血糖(fasting blood-glucose, FBG)、糖化血红蛋白(glycosylated hemoglobin, HbA1c)水平及生命质量评分.

结果: 两组患者护理干预后3、6 mo FBG水平均显著下降, 与干预前比较(7.33 mmol/L±2.12 mmol/L *vs* 8.43 mmol/L±3.52 mmol/L, 6.77 mmol/L±1.57 mmol/L *vs* 8.43 mmol/L±3.52 mmol/L; 8.48 mmol/L±1.67 mmol/L *vs* 8.55 mmol/L±3.65 mmol/L, 7.68 mmol/L±1.50 mmol/L *vs* 8.55 mmol/L±3.65 mmol/L), 差异具有统计学意义(P<0.05); 实验组患者干预后3、6 mo FBG水平均显著低于对照组(7.33 mmol/L±2.12 mmol/L *vs* 8.48 mmol/L±1.67 mmol/L, 6.77 mmol/L±1.57 mmol/L *vs* 7.68 mmol/L±1.50 mmol/L), 差异具有统计学意义(P<0.05); 两组患者护理干预后3、6 mo HbA1c水平均显著下降, 与干预前比较(7.61%±2.18% *vs* 9.19%±3.53%, 6.73%±1.38% *vs* 9.19%±3.53 %; 8.28%±2.45% *vs* 9.16%±3.56%, 7.73%±1.79% *vs* 9.16%±3.56%), 差异具有统计学意义(P<0.05); 实验组患者干预后3、6 mo HbA1c水平均显著低于对照组(7.61%±2.18 % *vs* 8.28%±2.45%, 6.73%±1.38% *vs* 7.73%±1.79%)(P<0.05), 差异具有统计学意义(P<0.05); 实验组患者护理干预后躯体功能、躯体角色、肌体疼痛、一般健康状况、生命力、社会功能、情感角色及心理健康评分均显著高于对照组(81.03±2.55 *vs* 79.63±1.25, 50.68±2.78 *vs* 49.07±3.20, 74.38±1.61 *vs* 73.27±1.53, 37.86±1.34 *vs* 36.87±1.22, 65.46±0.81 *vs* 63.86±0.78, 87.69±1.52 *vs* 85.78±1.28, 53.59±3.31 *vs* 47.47±3.60, 75.74±1.87 *vs* 72.31±0.56), 差异具有统计学意义(P<0.05).

结论: 综合护理干预能够有效改善患者FBG和HbA1c水平, 提高生命质量, 临床效果显著.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 护理干预; 慢性丙型肝炎; 糖尿病; 生命质量; 临床效果

核心提示: 本研究对两组患者采取相同的治疗方案, 目的在于排除药物治疗的影响, 分析综合护理干预能够对患者哪些临床指标产生影响. 两组患者治疗后空腹血糖(fasting blood-glucose)和糖化血红蛋白(glycosylated hemoglobin)水平均有显著改善, 表明本研究中治疗方案疗效确切.

石慧芬, 傅旭丹. 综合护理干预对慢性丙型肝炎并发糖尿病患者的临床效果. 世界华人消化杂志 2014; 22(18): 2617-2621
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2617.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i18.2617

0 引言

慢性丙型肝炎(chronic hepatitis C, CHC)是由丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)感染引起的慢性感染性肝脏疾病, 可导致肝源性糖尿病(diabetes mellitus, DM)的发生[1]. DM可加剧CHC患者肝脏损害, 加速CHC患者肝硬化、肝癌的病情进展, 形成恶性循环[2]. 由于CHC与DM患者在临床治疗及护理过程中存在诸多矛盾点, 给治疗和护理带来了较大难度. 现回顾性分析我院采取包括心理、饮食和运动在内的综合护理方案的临床应用效果, 为制定科学合理的护理方案, 最大限度提高患者生命质量提供临床指导, 报道如下.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2012-06/2013-06收治的92例CHC合并DM患者作为研究对象. 所有患者均符合中华医学会肝病学分会发布的《丙型肝炎防治指南》[3]中CHC相关诊断标准和中华医学会糖尿病学分会发布的《中国糖尿病诊治指南简介》[4]中DM相关诊断标准, 经抗-HCV抗体检测结果均为阳性[5]. 按照随机数字表法将92例患者均分为实验组和对照组, 两组患者在性别、年龄、HCV RNA、空腹血糖(fasting blood-glucose, FBG)、糖化血红蛋白(glycosylated hemoglobin, HbA1c)、心理量表评分等上差异无统计学意义(P>0.05)(表1), 具有可比性.

1.2 方法

1.2.1 护理: 两组患者均给予相同治疗方案, 抗HCV病毒治疗采用复合干扰素联合应用利巴韦林, DM治疗采用胰岛素控制血糖[6]. 对照组患者给予常规护理, 包括心理干预和用药干预. 实验组患者给予综合护理干预, 具体如下: (1)心理干预. 部分患者存在认知误区, 认为CHC没有慢

表 1 两组患者临床资料比较 (n = 46)

分组	性别n(%)		平均年龄(岁)	HCV RNA($\times 10^6$)	FBG(mmol/L)	HbA1c(%)
	男性	女性				
实验组	29(63.04)	17(36.96)	43.82 ± 8.13	2.78 ± 8.77	7.02 ± 1.32	9.19 ± 3.53
对照组	28(60.87)	18(39.13)	44.57 ± 8.76	2.85 ± 9.18	7.25 ± 1.75	9.16 ± 3.56

FBG: 空腹血糖; HbA1c: 糖化血红蛋白.

表 2 两组患者护理干预前后FBG变化情况比较 (n = 46, mean ± SD, mmol/L)

分组	干预前	干预后	
		3 mo	6 mo
实验组	8.43 ± 3.52	7.33 ± 2.12[ac]	6.77 ± 1.57[ac]
对照组	8.55 ± 3.65	8.48 ± 1.67[a]	7.68 ± 1.50[a]

[a]P<0.05 *vs* 同组治疗前; [c]P<0.05 *vs* 对照组. FBG: 空腹血糖.

表 3 两组患者护理干预前后HbA1c变化情况比较 (n = 46, mean ± SD, %)

分组	干预前	干预后	
		3 mo	6 mo
实验组	9.19 ± 3.53	7.61 ± 2.18[ac]	6.73 ± 1.38[ac]
对照组	9.16 ± 3.56	8.28 ± 2.45[a]	7.73 ± 1.79[a]

[a]P<0.05 *vs* 同组治疗前; [c]P<0.05 *vs* 对照组. HbA1c: 糖化血红蛋白.

■创新盘点
本研究从护理角度上对慢性丙型肝炎合并糖尿病患者进行护理干预提供了一种新思路, 重视护理干预的长期性、复杂性和矛盾性, 同时寻找影响患者遵医嘱行为的主要因素, 进而进行强化护理干预, 进一步改善患者的康复效果.

性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)危害大, 对CHC防范和治疗不够重视, 易导致患者错失治疗最佳时机; 部分患者对病情产生焦虑、恐惧等不良心理状态, 易导致患者治疗依从性较差. 护理人员通过详细讲解CHC病理知识、治疗方案及效果, 通过与患者进行沟通帮助患者解答疑惑, 疏导心理压力, 建立治疗信心, 提高治疗依从性[7]; (2)饮食营养干预. CHC和DM均对患者饮食有严格要求, 饮食营养干预的主要原则是结合慢性肝病与DM的饮食要求, 避开二者的矛盾. 护理人员注意控制患者治疗和康复期间禁止饮酒, 日常饮食以少脂肪、低糖或无糖饮食、少铁饮食、足量蛋白质饮食、高维生素、高纤维饮食为主[8]; (3)有氧运动. CHC合并DM患者临床治疗中需保证充足的卧床休息, 以保障肝脏血流量充足, 使肝细胞的氧和营养供给充分. 但不进行活动可导致血糖升高, 对DM控制不利, 因此患者需进行适量有氧运动. 由护理人员根据患者的年龄、体质、病情、个人爱好等拟定个性化有氧运动计划, 运动形式以骑自行车、慢跑、快步走、太极拳、爬楼梯、跳舞等, 运动强度注意循序渐进[9]. 注意有氧运动时间安排在餐后1-2 h为宜, 运动时随身携带巧克力、糖果等预防运动过程中出现低血糖, 每周至少保证3-4次有氧运动[10]; (4)用药干预. 指导患者遵医嘱用药, 抗病毒药物需按时、足量服用, 并定期复查治疗效果.

1.2.2 观察指标: 比较两组患者护理干预前后FBG、HbA1c水平及生命质量评分. 生命质量评分采用生命质量量表SF-36, 包括躯体活动功能、躯体角色功能、疼痛、健康总体自评、活力、社会功能、情绪角色功能、心理功能8个维度, 每个维度2-10个问题, 共计36题. 其中躯体角色功能和情绪角色功能的问题仅回答是或否, 其余问题的回答分4-5个等级每个问题根据其代表的功能损害的严重程度, 赋予相应的权重, 并将各维度得分转换成百分制, 每一个维度最大可能评分100分, 最小可能评分为0分. 8个维度评分之和为综合评分, 评分越高功能损害越轻, 生命质量越高[11].

统计学处理 使用SPSS17.0统计分析, 用mean±SD表示计量资料, 采用t检验, 用百分比表示记数资料, 采用χ^2检验, P<0.05表示差异有统计学意义.

2 结果

2.1 两组患者护理干预前后FBG变化情况比较 两组患者护理干预后3、6 mo FBG水平均显著下降, 与干预前比较, 差异具有统计学意义(P<0.05); 实验组患者干预后3、6 mo FBG水平均显著低于对照组, 差异具有统计学意义(P<0.05)(表2).

2.2 两组患者护理干预前后HbA1c变化情况比较 两组患者护理干预后3、6 mo HbA1c水平均显著下降, 与干预前比较, 差异具有统计学意

■同行评价
本研究选题新颖性一般, 但实用性尚可, 内容具体实用, 值得鼓励.

表 4 两组患者护理干预前后生命质量评分比较 (n = 46, mean ± SD, 分)

分组	躯体功能	躯体角色	肌体疼痛	一般健康状况	生命力	社会功能	情感角色	心理健康
实验组	81.03 ± 2.55[a]	50.68 ± 2.78[a]	74.38 ± 1.61[a]	37.86 ± 1.34[a]	65.46 ± 0.81[a]	87.69 ± 1.52[a]	53.59 ± 3.31[a]	75.74 ± 1.87[a]
对照组	79.63 ± 1.25	49.07 ± 3.20	73.27 ± 1.53	36.87 ± 1.22	63.86 ± 0.78	85.78 ± 1.28	47.47 ± 3.60	72.31 ± 0.56

[a]P<0.05 *vs* 对照组.

义(P<0.05); 实验组患者干预后3、6 mo HbA1c水平均显著低于对照组, 差异具有统计学意义(P<0.05)(表3).

2.3 两组患者护理干预后生命质量评分比较 实验组患者护理干预后躯体功能、躯体角色、肌体疼痛、一般健康状况、生命力、社会功能、情感角色及心理健康评分均显著高于对照组, 差异具有统计学意义(P<0.05)(表4).

3 讨论

CHC合并DM的发病机制主要为HCV感染导致CHC发生, 从而引起肝功能受损, 进而合并肝源性DM, 肝源性DM反过来又加重肝功能损害, 造成恶性循环, 加速了CHC患者肝硬化、肝癌进度, 是威胁患者生命的重要因素[12]. 尤其是在临床治疗和护理的过程中, 两种疾病之间还存在着诸多矛盾点. 采取有效护理措施, 提高患者的生命质量是临床医生普遍关注的问题. 本研究对两组患者采取相同的治疗方案, 目的在于排除药物治疗的影响, 分析综合护理干预能够对患者哪些临床指标产生影响. 两组患者治疗后FBG和HbA1c水平均有显著改善, 表明本研究中治疗方案疗效确切.

由于人的血糖水平24 h是波动的, 且易受到进食、劳累、紧张等因素的影响, 这对于血糖控制是不利的[13]. 本研究中实验组患者采取综合护理干预后3、6 mo FBG水平显著低于对照组, 表明综合护理干预在控制患者血糖水平上具有显著效果, 实现血糖的有效控制也是提高患者生命质量的重要手段.

HbA1c是监控血糖的重要指标, 本研究中实验组患者在给予饮食控制的同时指导患者进行有氧运动, 通过控制葡萄糖摄入和增加血糖消耗的方法保持HbA1c的稳定, 即达到控制血糖的目的[14]. 实验组患者护理干预后3、6 mo HbA1c水平均显著低于对照组, 表明综合护理干预对维持患者HbA1c水平具有显著效果, 而将患者HbA1c控制在7%以下可大大降低DM并发症的发生率.

生命质量量表(SF-36)能够对患者生命质量进行全面、准确的评估患者生理、心理、社会等方面的功能状况, 反映生命质量, 通过生命质量评估能够让护理人员明确患者哪些功能受损严重, 然后采取针对性护理干预[15]. 本研究结果显示, 综合护理干预组患者治疗后生命质量各项评分均高于常规护理组, 表明综合护理干预在提高患者生命质量上具有积极意义.

本研究从护理角度上对CHC合并DM患者进行护理干预提供了一种新思路, 重视护理干预的长期性、复杂性和矛盾性, 同时寻找影响患者遵医嘱行为的主要因素, 进而进行强化护理干预, 进一步改善患者的康复效果. 但本研究并未准确计算患者摄入食物的热量与有氧运动强度之间的比例, 需进一步深入研究, 优化有氧运动指导方案[16].

总之, 综合护理干预能够有效改善患者FBG和HbA1c水平, 提高生命质量, 临床应用和推广价值较高.

4 参考文献

1 袁征, 邵铭, 何晶. 丙型肝炎的研究进展. 世界华人消化杂志 2011; 19: 3046-3052
2 张慧, 张庆. 糖尿病参与肝炎病毒相关性肝癌发生的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21: 2655-2660
3 中华医学会肝病学分会, 中华医学会传染病与寄生虫病学分会. 丙型肝炎防治指南. 中华肝脏病杂志 2004; 12: 194-198
4 中华医学会糖尿病学分会. 中国糖尿病诊治指南简介. 中国全科医学 2013; 10: 679
5 陈仕珠, 韩永战, 陈瑞琴, 张增平. 血清HCV RNA阴性慢性丙型肝炎的诊断及抗病毒治疗. 世界华人消化杂志 2010; 18: 3031-3034
6 Andrade LJ, Melo PR, Atta AM, Atta ML, Jesus LS, Sousa GM, Silva CA, Paraná R. Smooth muscle antibodies and cryoglobulinemia are associated with advanced liver fibrosis in Brazilian hepatitis C virus carriers. *Braz J Infect Dis* 2011; 15: 66-68 [PMID: 21412592]
7 徐代霞. 慢性重症肝炎合并糖尿病的护理. 安徽医学 2012; 33: 759-760

8 李敏. 35例慢性重症肝炎合并糖尿病的护理体会. 医学动物防制 2011; 27: 468-469
9 曾庆红, 郑向荣, 周来知. 96例病毒性肝炎合并糖尿病的护理体会. 齐齐哈尔医学院学报 2010; 31: 2972-2973
10 李永红, 杨德生, 庞妩燕. 护理干预对丙型肝炎合并糖尿病抗病毒患者血糖的影响. 中国实用医药 2012; 7: 215-216
11 刘孙琴, 董明国, 门诚虹, 杨明建, 刘蔚. 慢性丙型肝炎与2型糖尿病关系研究. 中华实用诊断与治疗杂志 2011; 25: 83-84
12 Nagaoki Y, Hyogo H, Aikata H, Tanaka M, Naeshiro N, Nakahara T, Honda Y, Miyaki D, Kawaoka T, Takaki S, Hiramatsu A, Waki K, Imamura M, Kawakami Y, Takahashi S, Chayama K. Recent trend of clinical features in patients with hepatocellular carcinoma. *Hepatol Res* 2012; 42: 368-375 [PMID: 22151896 DOI: 10.1111/j.1872-034X.2011.00929.x]
13 Murthy GD, Vu K, Venugopal S. Prevalence and treatment of hyperlipidemia in patients with chronic hepatitis C infection. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2009; 21: 902-907 [PMID: 19398918 DOI: 10.1097/MEG.0b013e32831b4698]
14 Jha DK, Mittal A, Gupta SP, Pandeya DR, Sathian B. Association of type II diabetes mellitus with hepatocellular carcinoma occurrence--a case control study from Kathmandu Valley. *Asian Pac J Cancer Prev* 2012; 13: 5097-5099 [PMID: 23244117]
15 邓文君, 张海蓉, 石围. 肝硬化患者生存质量及相关因素的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21: 1945-1949
16 Podevin P, Carpentier A, Pène V, Aoudjehane L, Carrière M, Zaïdi S, Hernandez C, Calle V, Méritet JF, Scatton O, Dreux M, Cosset FL, Wakita T, Bartenschlager R, Demignot S, Conti F, Rosenberg AR, Calmus Y. Production of infectious hepatitis C virus in primary cultures of human adult hepatocytes. *Gastroenterology* 2010; 139: 1355-1364 [PMID: 20600021 DOI: 10.1053/j.gastro.2010.06.058]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年6月28日; 22(18): 2622-2625
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床中肝硬化患者胃肠道状态与血氨水平的相关性

曹月琴, 陈晓敏, 范海波, 董 燕, 顾静燕

■背景资料
肝硬化是临床中常见的肝脏疾病, 很容易导致肝脏组织正常结构被破坏, 纤维增生而导致肝脏出现变形和变硬的综合征. 而肝硬化患者常常很容易发生肝性脑病, 但是血氨在该过程中发挥着重要的作用. 因此, 加强二者治疗的临床研究, 对其临床治疗和预后具有重要意义.

曹月琴, 陈晓敏, 范海波, 董燕, 顾静燕, 上海市嘉定区安亭医院 上海市 201805
曹月琴, 副主任护师, 主要从事内科护理方面的研究.
作者贡献分布: 本文主要由曹月琴完成; 陈晓敏、范海波、董燕及顾静燕在课题的设计、试剂的提供和论文的写作等方面提供了一定帮助.
通讯作者: 曹月琴, 副主任护师, 201805, 上海市嘉定区安亭昌吉路204号, 上海市嘉定区安亭医院.
caoyueqinshanghai@163.com
电话: 021-59579394
收稿日期: 2014-04-28 修回日期: 2014-05-19
接受日期: 2014-05-20 在线出版日期: 2014-06-28

Relationship between blood ammonia levels and gastrointestinal condition in patients with cirrhosis

Yue-Qin Cao, Xiao-Min Chen, Hai-Bo Fan, Yan Dong, Jing-Yan Gu

Yue-Qin Cao, Xiao-Min Chen, Hai-Bo Fan, Yan Dong, Jing-Yan Gu, the Anting Hospital of Jiading District, Shanghai 201805, China
Correspondence to: Yue-Qin Cao, Deputy Chief Nurse, the Anting Hospital of Jiading District, 204 Changji Road, Shanghai 201805, China. caoyueqinshanghai@163.com
Received: 2014-04-28 Revised: 2014-05-19
Accepted: 2014-05-20 Published online: 2014-06-28

Abstract

AIM: To investigate the relationship between gastrointestinal condition and blood ammonia levels in cirrhotic patients to provide a basis for reducing the intestinal absorption of ammonia and lowering blood ammonia in the clinical setting.

METHODS: Patients with simple cirrhosis, cirrhosis with gastrointestinal bleeding, liver cirrhosis with constipation, simple intestinal obstruction, or simple gastrointestinal bleeding treated at our hospital from January 2011 to December 2012 were studied. Healthy subjects were also included as controls. The changes in ammonia in each group, and ammonia changes in cirrhotic patients with gastrointestinal disorders before and after treatment were compared.

RESULTS: Blood ammonia was significantly higher in patients with simple cirrhosis than in those with simple gastrointestinal bleeding or intestinal obstruction and normal subjects (t = 6.251, 6.802, 7.328, $P < 0.05$), in cirrhotic patients with gastrointestinal bleeding than in those with simple gastrointestinal bleeding or simple intestinal obstruction and normal subjects (t = 5.152, 5.738, 6.173, $P < 0.05$), in cirrhotic patients with constipation than in those with simple gastrointestinal bleeding or simple intestinal obstruction and normal objects (t = 8.402, 8.477, 9.132, $P < 0.05$), and in cirrhotic patients with gastrointestinal bleeding or constipation than in those with simple cirrhosis (t = 7.241, 11.374, $P < 0.05$). In 42 cirrhotic patients with gastrointestinal bleeding or constipation, blood ammonia levels after acidification treatment were significantly lower than those before treatment (51.4 μmol/L ± 18.5 μmol/L *vs* 85.3 μmol/L ± 33.7 μmol/L, t = 21.402, $P < 0.05$).

CONCLUSION: The gastrointestinal condition has a close relationship with blood ammonia levels in patients with cirrhosis. Cirrhotic patients with intestinal disorders have significantly increased blood ammonia levels. Acidification treatment can effectively reduce intestinal ammonia levels and prevent hepatic encephalopathy.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Cirrhosis; Gastrointestinal condition; Ammonia changes

Cao YQ, Chen XM, Fan HB, Dong Y, Gu JY. Relationship between blood ammonia levels and gastrointestinal condition in patients with cirrhosis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(18): 2622-2625 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2622.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i18.2622

摘要

目的: 探讨临床中肝硬化患者胃肠道状态与血氨水平的相关性, 为临床中减少肠道氨吸收和降低血氨提供治疗依据.

方法: 选取2011-01/2012-12我院收治的单纯性

■同行评议者
姚登福, 教授, 南通大学附属医院

肝硬化、肝硬化伴消化系出血、肝硬化伴便秘、单纯性肠梗阻、单纯性消化系出血患者为研究对象. 正常健康者为对照, 分析各组中血氨的变化以及肝硬化伴胃肠道障碍治疗前后的血氨变化.

结果: 单纯性肝硬化患者血氨水平均明显的高于单纯性消化系出血、单纯性肠梗阻和正常对象血氨水平($t = 6.251$, $t = 6.802$, $t = 7.328$, $P<0.05$); 肝硬化伴消化系出血患者血氨水平均明显高于单纯性消化系出血、单纯性肠梗阻和正常对象血氨水平($t = 5.152$, $t = 5.738$, $t = 6.173$, $P<0.05$); 肝硬化伴便秘患者血氨水平明显高于单纯性消化系出血、单纯性肠梗阻和正常对象血氨水平($t = 8.402$, $t = 8.477$, $t = 9.132$, $P<0.05$); 且肝硬化伴消化系出血、肝硬化伴便秘患者血氨水平明显高于单纯性肝硬化血氨水平($t = 7.241$, $t = 11.374$, $P<0.05$). 42例肝硬化伴消化系出血和便秘患者酸化肠道及输血治疗前血氨为85.3 μmol/L±33.7 μmol/L, 治疗后血氨为51.4 μmol/L±18.5 μmol/L, 42例肝硬化伴消化系出血和便秘患者酸化肠道及输血治疗后患者血氨水平明显的低于治疗前($t = 21.402$, $P<0.05$).

结论: 临床中肝硬化患者胃肠道状态与血氨水平具有紧密的联系, 肝硬化伴肠道障碍患者血氨明显的升高, 加强肝硬化伴肠道障碍的酸化肠道及合理用血治疗能够有效降低血氨水平, 预防肝性脑病的发生.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 肝硬化; 胃肠道状态; 血氨变化; 合理用血

核心提示: 临床中肝硬化患者消化系状态与血氨水平具有紧密的联系, 肝硬化伴肠道障碍患者血氨明显的升高. 因此, 临床中加强肝硬化患者消化系状态的血氨水平检测, 对其临床预后具有重要的意义. 同时, 加强肝硬化伴肠道障碍的酸化肠道治疗能够有效降低血氨水平, 预防肝性脑病的发生.

曹月琴, 陈晓敏, 范海波, 董燕, 顾静燕. 临床中肝硬化患者胃肠道状态与血氨水平的相关性. 世界华人消化杂志 2014; 22(18): 2622-2625 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2622.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i18.2622

0 引言

肝硬化是临床中常见的肝脏疾病, 主要是由于长期的反复作用于肝脏, 最终导致肝脏组织正常结构被破坏, 纤维增生而导致肝脏出现变形和变硬的综合征[1]. 临床中肝硬化患者常常很容易发生肝性脑病, 而血氨在该过程中发挥着重要的作用[2]. 血氨一般主要是由肠道所产生, 经肝脏逐渐的转化为尿素与谷氨酰胺, 并经过肾脏排出尿素与氨. 临床中血氨水平主要是取决于常-肝-肾三个气管功能状态[3]. 因此, 本研究重点分析肝硬化患者不同胃肠道状况下血氨的变化, 以及肝硬化伴肠道功能障碍患者治疗前后血氨变化, 旨在探讨胃肠道状态对肝硬化患者血氨的影响, 从而临床中降低血氨提供依据. 具体的分析如下.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2011-01/2012-12我院收治的单纯性肝硬化32例、肝硬化伴消化系出血22例、肝硬化伴便秘20例、单纯性肠梗阻40例、单纯性消化系出血45例、正常健康者60名对象为研究对象, 男性110例, 女性109例, 年龄为44-77岁, 平均年龄为55.3岁±4.5岁.

1.2 方法

1.2.1 血氨检测: 本次研究的所有对象均需要隔夜禁食8 h, 并且次日清晨空腹静脉采血3.0 mL, 加入2000.0 μg肝素钠进行抗凝处理, 紧接着进行离心处理, 离心率为3500 r/min, 离心时间为10 min. 然后, 采取VITROS-250型干化学分析仪(美国强生公司提供)及配套的试剂进行测定, 严格的按照说明术进行操作, 并且做好详细的记录.

1.2.2 酸化肠道治疗: 本次研究对于肝硬化伴消化系出血和便秘患者42例均给予酸化肠道治疗, 主要包括口服乳果糖和白醋以及白醋灌肠处理, 均是临床中常规的剂量. 乳果糖: 15.0 mL/次, 3次/d; 白醋灌肠: 1次/d; 口服白醋: 250 mL/d. 患者在治疗前后均空腹采血, 分析其治疗前后的血氨水平[4].

1.2.3 输血治疗方法: 对42例肝硬化伴消化系出血患者依据病情输注红细胞、冷沉淀、单采血小板等成分血产品, 如表1, 分析治疗前后血氨水平.

1.2.4 不同患者的护理: 由于肝硬化患者病程一般较长, 长期的身体疾病容易使患者产生抑郁、恐惧的心理. 入院后应详细了解患者病史, 加强健康教育, 增强医患沟通, 与患者之间建立和谐的医患关系, 消除患者的焦虑与不安, 使患者的治疗依从性得到提高.

■研发前沿
临床中对血氨的研究比较广泛, 且临床中通过对其检测而预防、指导治疗相关疾病具有重要的作用. 临床中血氨主要是由肠道所产生, 经肝脏逐渐的转化为尿素与谷氨酰胺, 并经过肾脏排出尿素与氨. 临床中血氨水平主要是取决于常-肝-肾三个气管功能状态. 因此, 加强消化系状态与血氨的研究具有重要的价值.

■相关报道
临床中多数的研究显示, 血氨水平与肝性脑病之间存在着紧密的联系, 且氨中毒学说是临床中用于诊断与治疗肝性脑病的重要依据. 而临床中肝硬化患者消化系疾病患者很容易引发肝性脑病. 因此, 血氨在肝硬化患者消化系疾病引发肝性脑病中发挥着一定的作用.

■创新盘点
本次临床研究总结出肝硬化患者消化系状态与血氨水平具有紧密的联系，并且不同状态的消化系患者其血氨的水平含量也明显的不同. 且整个研究中将肝硬化患者消化系状态细细划分，从而更合理的明确二者的关系，使得整个研究更加合理化.

表 1 42例肝硬化伴消化系出血用血统计

出血量(mL)	n	红细胞	血浆	冷沉淀	单采血小板
<500	14	30	20		6
500–	15	30	26	10	8
1000–	8	32	40	12	8
≥2000	5	56	60	30	11

对于肝硬化消化系出血的患者，可能合并食管胃底静脉曲张破裂，呕血量大，患者不免出现恐惧、害怕. 医护人员需在积极抢救的同时安慰和鼓励患者. 出血期患者应禁食，出血控制后可根据病情给予流质或半流质饮食，嘱患者忌食用质地坚硬、刺激性的食物，忌酒，减少对消化系的刺激. 出血期间患者需绝对卧床，头偏于一侧避免出血影响呼吸道通畅，及时清理口腔内残余出血，酌情给予镇静剂消除不安情绪，吸氧，备血. 嘱患者常翻身，保持病床整洁，避免褥疮生成.

由于肝硬化属于肝病晚期阶段，一般合并消化功能障碍，且长时间卧床，活动少，因此患者大多存在食欲不振现象. 由于食量下降后导致胃肠容量减少，排便次数和排便量均有所减少，引发便秘. 医护人员应对肝硬化伴便秘患者制定个体化饮食方案，嘱患者多食瓜果蔬菜，宜进食柔软易消化的食物，并可于食物中加入香油起到润滑肠道的效果. 鼓励患者做适宜的运动，帮助肠胃运动. 酸化肠道治疗后必要时应用开塞露助排便.

统计学处理 采取SPSS19.0进行数据分析与处理，计量资料采取mean±SD表示，独立样本采取t进行检验. $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 不同患者和正常对象血氨水平变化比较 通过对不同患者与正常对象血氨的水平测定分析，单纯性肝硬化患者血氨水平均明显高于单纯性消化系出血、单纯性肠梗阻和正常对象血氨水平($t = 6.251$, $t = 6.802$, $t = 7.328$, $P<0.05$)；肝硬化伴消化系出血患者血氨水平均明显高于单纯性消化系出血、单纯性肠梗阻和正常对象血氨水平($t = 5.152$, $t = 5.738$, $t = 6.173$, $P<0.05$)；肝硬化伴便秘患者血氨水平明显高于单纯性消化系出血、单纯性肠梗阻和正常对象血氨水平($t = 8.402$, $t = 8.477$, $t = 9.132$, $P<0.05$)；且肝硬化伴消化出血、肝硬化伴便秘患者血氨水平明显高于单纯性肝硬化血氨水平($t = 7.241$, $t = 11.374$, $P<0.05$). 单纯性肠梗阻、单纯性消化系出血和正常健康对象的血氨比较无明显的差异($P>0.05$)(表2).

表 2 不同患者与正常对象血氨的水平观察 (mean ± SD, μmol/L)

类型	n	血氨
单纯性肝硬化	32	45.2 ± 21.6
肝硬化伴消化系出血	22	66.9 ± 23.7
肝硬化伴便秘	20	97.3 ± 36.4
单纯性肠梗阻	40	24.3 ± 10.5
单纯性消化系出血	45	24.1 ± 11.1
正常健康对象	60	23.5 ± 9.6

2.2 肝硬化伴肠道障碍治疗前后血氨变化 通过对42例肝硬化伴消化系出血和便秘患者酸化肠道治疗前后血氨测定，肝硬化伴消化系出血和便秘患者酸化肠道治疗前血氨为85.3 μmol/L±33.7 μmol/L，治疗后血氨为51.4 μmol/L±18.5 μmol/L，治疗前后数据的比较差异有统计学意义($t = 21.402$, $P<0.05$)(表1).

3 讨论

肝硬化是临床中常见的疾病之一，在临床中具有较高的发病率，严重的影响患者的身体健康. 该病常常会发展为肝性脑病，但是肝性脑病的发生机制尚未完全明确，多数的学者提出是由于氨中毒导致的[5,6]. 临床中大量的研究显示，血氨水平与肝性脑病之间存在着紧密的联系，且氨中毒学说是临床中用于诊断与治疗肝性脑病的重要依据[7]. 由于氨代谢器官主要包括肝、肾和肠，而肠道是氨主要来源，肝脏是其转化的场所，肾脏是其代谢的器官[8]. 因此，本次的临床研究中对肝硬化消化系状态患者血氨水平进行测定，探讨消化状态与血氨的相关性.

通过本次的临床研究分析，肝硬化患者消化系状态与血氨水平具有紧密的联系，肝硬化伴肠道障碍患者血氨明显的升高，加强肝硬化伴肠道障碍的治疗能够有效降低血氨水平. 本次研究的数据显示，单纯性肝硬化、肝硬化伴消化系出血、肝硬化伴便秘患者血氨水平均明显的高于单纯性消化系出血、单纯性肠梗阻和正常对象血氨水平($P<0.05$). 主要是由于肝脏功能正常的情况下，消化系出血生成和吸收人血液中的氨，并逐渐的被肝脏所转化，导致其血氨水平降低[9,10]. 同时，肝硬化患者由于门静脉高压，很容

■应用要点
肝硬化患者消化系状态与血氨水平具有紧密的联系，肝硬化伴肠道障碍患者血氨明显的升高，加强肝硬化伴肠道障碍的酸化肠道治疗能够有效降低血氨水平，有效预防肝性脑病发生. 同时，临床中加强肝硬化患者消化系基本患者的血氨检测，对指导其临床治疗具有重要的意义.

易造成食道静脉曲张破裂出血, 进一步促使血红白在肠道内逐渐的分解, 最终导致血氨水平增加[11]. 数据还显示, 肝硬化伴消化系出血、肝硬化伴便秘患者血氨水平明显高于单纯性肝硬化血氨水平(P<0.05). 主要是由于肝硬化患者发生肠道功能障碍时, 肠内容物的停留时间加长, 而蛋白质被肠菌酶逐渐的分解, 使得血氨的含量增加[12,13]. 同时, 患者肝脏氨转化功能也逐渐的降低, 吸收入血的氨不能够被转化, 最终导致血氨水平升高[14,15]. 同时数据还显示, 肝硬化伴消化系出血和便秘患者酸化肠道治疗后患者血氨水平明显低于治疗前(P<0.05). 进一步分析, 肝硬化肠道的酸碱度直接影响血氨水平. 控制出血对肝硬化伴消化系大出血患者是一个重要措施, 大量输血时, 早期高比例应用新鲜冰冻血浆或适当血浆与红细胞比例(1∶1.2)可降低患者大出血死亡率及血氨水平, 大量输血血小板会被稀释性减少, 因此, 兼顾血小板的及时补充[16].

此外, 肝硬化患者住院期间的护理工作对患者的治疗也起着至关重要的作用. 肝硬化晚期患者一般病情较凶险, 医护人员应密切观察患者病情进展, 随时做好抢救准备. 治疗过程中应根据患者不同病情和一般情况制定个体化治疗和护理方案, 提高治疗依从性, 加速治疗进程.

总之, 肝硬化患者消化系状态与血氨水平具有紧密的联系, 肝硬化伴肠道障碍患者血氨明显的升高, 加强肝硬化伴肠道障碍的酸化肠道及控制出血治疗能够有效降低血氨水平, 有效预防肝性脑病发生.

4 参考文献

1 严莉莉. 原发性胆汁性肝硬化免疫发病机制的研究探析. 中外医学研究 2013; 7: 137

2 罗明. 肝硬化致肝性脑病患者中血氨与血清白细胞介素-6水平相关性的初步研究. 天津: 天津医科大学, 2013: 50-57

3 李萍. 轻微肝性脑病与血氨及血清炎性细胞因子水平的相关性研究. 天津: 天津医科大学, 2013: 65-78

4 姚国鹏. 乳果糖预防消化系出血后诱发肝性脑病的临床观察. 医学理论与实践 2013; 37: 2289-2290

5 徐玉振, 薛琨, 高毅, 潘明新, 简国登, 刘晓明, 饶军华. 非人灵长类动物急性肝功能衰竭模型的建立. 世界华人消化杂志 2010; 18: 1985-1989

6 Butt Z, Jadoon NA, Salaria ON, Mushtaq K, Riaz IB, Shahzad A, Hashmi AM, Sarwar S. Diabetes mellitus and decompensated cirrhosis: risk of hepatic encephalopathy in different age groups. *J Diabetes* 2013; 5: 449-455 [PMID: 23731902]

7 吴杭源. 乙型肝炎后肝硬化合并肝性脑病发生与发展的相关因素. 中国老年学杂志 2013; 33: 5343-5344

8 Telles-Correia D, Cortez-Pinto H, Barbosa A, Mega I, Monteiro E. Quality of life following liver transplantation: a comparative study between Familial Amyloid Neuropathy and liver disease patients. *BMC Gastroenterol* 2009; 9: 54 [PMID: 19604387]

9 刘果霞, 杨丽, 薄晋魏, 孙海凤, 白强. 肝脏疾病血氨检测的临床应用及分析. 中国医学创新 2013; 6: 119

10 盛大平, 徐元宏, 李涛, 王中新, 沈继录, 凌华志. 血氨检测的临床适应证及其价值探讨. 国际检验医学杂志 2010; 31: 565-567

11 De Bock L, Boussery K, Van Winckel M, De Paepe P, Rogiers X, Stephenne X, Sokal E, Van Bocxlaer J. In vitro cytochrome p450 activity decreases in children with high pediatric end-stage liver disease scores. *Drug Metab Dispos* 2013; 41: 390-397 [PMID: 23150427]

12 王艳荣, 齐艳荣. 血氨对不明原因上消化系出血的鉴别意义. 内蒙古中医药 2013; 32: 66-68

13 贺勇, 高宝秀, 杨正兵, 聂鑫, 李贵星, 余霆, 胥劲, 宋昊岚. 肝硬化患者消化系状态与血氨的关系研究. 检验医学 2012; 27: 44-47

14 刘华, 韩涛, 朱争艳, 李莹. 肝性脑病患者的临床特征及预后影响因素. 武警医学院学报 2011, 20: 253-256

15 汪杨, 辛桂杰, 王峰, 李玉香, 牛俊奇. 重型肝炎血氨检测的价值的研究. 临床肝胆病杂志 2008; 24: 185-186

16 大量输血现状调研协作组. 全国多中心大量输血凝血指标调研分析. 中国输血杂志 2012; 25: 632-635

编辑 田滢 电编 鲁亚静

■同行评价

本文具有一定指导意义.

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com
世界华人消化杂志 2014年6月28日; 22(18): 2626-2631
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

谷氨酰胺联合膳食纤维强化肠内营养对重症医学科患者的支持效果

王舜尧, 柴 滨

■背景资料
早期营养支持能够纠正危重患者已经或即将出现的营养不良, 提高患者对治疗的耐受性, 纠正负氮平衡, 增强机体免疫力, 改善患者代谢状态, 对预防并发症和降低死亡率具有重要意义.

王舜尧, 柴滨, 衢州市人民医院重症医学科 浙江省衢州市 324000
王舜尧, 副主任医师, 主要从事重症医学的研究.
作者贡献分布: 本课题的设计、研究过程由王舜尧完成; 数据分析由王舜尧与柴滨共同完成.
通讯作者: 王舜尧, 副主任医师, 324000, 浙江省衢州市柯城区下街钟楼底2号, 衢州市人民医院重症医学科.
wangshunyaoquzhou@163.com
电话: 0570-3045610
收稿日期: 2014-04-16 修回日期: 2014-05-04
接受日期: 2014-05-12 在线出版日期: 2014-06-28

Clinical effects of glutamine and dietary fiber enhanced enteral nutrition in critically ill trauma patients

Shun-Yao Wang, Bin Chai

Shun-Yao Wang, Bing Chai, Department of ICU, Quzhou People's Hospital, Quzhou 324000, Zhejiang Province, China
Correspondence to: Shun-Yao Wang, Associate Chief Physician, Department of ICU, Quzhou People's Hospitai, 2 Xiajiezhongloudi, Kecheng Area, Quzhou 324000, Zhejiang Province, China. wangshunyaoquzhou@163.com
Received: 2014-04-16 Revised: 2014-05-04
Accepted: 2014-05-12 Published online: 2014-06-28

Abstract

AIM: To explore the clinical effects of glutamine and dietary fiber enhanced enteral nutrition (EN) in critically ill trauma patients.

METHODS: Eighty-six patients with critically ill trauma were randomly divided into either an experiment group or a control group. Patients in both groups were treated by conventional EN. On the basis of conventional EN, the experiment group was additionally given glutamine (Gln) and soluble dietary fiber. The levels of heamoglobin (HGB), total serum protein (TP), albumin (ALB), $CD4^+$, $CD8^+$, $CD4^+/CD8^+$, IgA, IgG, IgM, fasting blood glucose (FBG), C-reactive protein (CRP) and the gastrointestinal adverse effects were compared between the two groups and between before and after treatment.

RESULTS: In both groups, the levels of HGB, TP, ALB, $CD4^+$, $CD4^+/CD8^+$, IgA, IgG, and IgM were significantly higher (130.77 g/L ± 10.21 g/L *vs* 94.55 g/L ± 7.24 g/L, 67.87 g/L ± 2.21 g/L *vs* 50.95 g/L ± 10.23 g/L, 36.87 g/L ± 2.41 g/L *vs* 21.55 g/L ± 4.24 g/L, 50.02% ± 8.62% *vs* 42.19% ± 9.52%, 2.37 ± 0.06 *vs* 1.61 ± 0.08, 3.32 g/L ± 0.67 g/L *vs* 2.20 g/L ± 0.69 g/L, 15.11 g/L ± 3.85 g/L *vs* 10.40 g/L ± 2.59 g/L, 1.79 g/L ± 0.45 g/L *vs* 1.39 g/L ± 0.49 g/L, 110.39 g/L ± 9.88 g/L *vs* 97.72 g/L ± 8.36 g/L, 59.39 g/L ± 3.00 g/L *vs* 40.77 g/L ± 3.06 g/L, 30.79 g/L ± 2.33 g/L *vs* 20.59 g/L ± 5.54 g/L, 46.22% ± 6.58% *vs* 41.44% ± 7.87%, 2.53 ± 0.06 *vs* 1.67 ± 0.07, 2.45 g/L ± 0.51 g/L *vs* 2.19 g/L ± 0.65 g/L, 12.24 g/L ± 3.82 g/L *vs* 10.48 g/L ± 3.03 g/L, 1.69 g/L ± 0.53 g/L *vs* 1.24 g/L ± 0.44 g/L; $P < 0.05$ or $P < 0.01$), and the levels of $CD8^+$, FBG, and CRP were significantly lower (19.94% ± 2.66% *vs* 25.20% ± 5.27%, 8.11 mmol/L ± 2.06 mmol/L *vs* 14.57 mmol/L ± 2.12 mmol/L, 1.49 mg/L ± 0.39 mg/L *vs* 6.53 mg/L L ± 1.33 mg/L, 19.13% ± 2.15% *vs* 25.17% ± 3.32%, 10.79 mmol/L ± 1.33 mmol/L *vs* 14.64 mmol/L ± 2.31 mmol/L, 5.19 mg/L ± 2.11 mg/L *vs* 6.51 mg/L ± 1.44 mg/L; $P < 0.05$ or $P < 0.01$) after EN than before EN. After EN, the levels of HGB, TP, ALB, $CD4^+$, IgA, and IgG in the experiment group were significantly higher than those in the control group (130.77 g/L ± 10.21 g/L *vs* 110.39 g/L ± 9.88 g/L, 67.87 g/L ± 2.21 g/L *vs* 59.39 g/L ± 3.00 g/L, 36.87 g/L ± 2.41 g/L *vs* 30.79 g/L ± 2.33 g/L, 50.02% ± 8.62% *vs* 46.22% ± 6.58%, 3.32 g/L ± 0.67 g/L *vs* 2.45 g/L ± 0.51 g/L, 15.11 g/L ± 3.85 g/L *vs* 12.24 g/L ± 3.82 g/L; $P < 0.05$ or $P < 0.01$), while the levels of FBG, CRP and the rate of constipation were significantly lower in the experiment group than in the control group (8.11 mmol/L ± 2.06 mmol/L *vs* 10.79 mmol/L ± 1.33 mmol/L, 1.49 mg/L ± 0.39 mg/L *vs* 5.19 mg/L ± 2.11 mg/L, 13.95% *vs* 30.23%; $P < 0.05$ or $P < 0.01$).

CONCLUSION: Glutamine and dietary fiber enhanced enteral nutrition can improve the nutritional status and immune function, promote the gastrointestinal vermicular motion, and thereby

■同行评议者
郭长江, 研究员, 军事医学科学院卫生学环境医学研究所营养研究室

improve the gastrointestinal function.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Glutamine; Dietary fiber; Enteral nutrition; Critically ill patients; Supports effects

Wang SY, Chai B. Clinical effects of glutamine and dietary fiber enhanced enteral nutrition in critically ill trauma patients. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(18): 2626-2631
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2626.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i18.2626

摘要

目的: 探讨谷氨酰胺(glutamine, Gln)、膳食纤维(dietary fiber, DF)强化的肠内营养(enteral nutrition, EN)对创伤危重患者的支持效果.

方法: 按照随机数字表法将86例需行EN的危重患者均分为实验组和对照组, 两组患者均给予常规EN治疗, 实验组患者在此基础上添加Gln和可溶性膳食纤维(soluble dietary fiber, SDF), 比较两组患者EN前后血红蛋白(heamoglobin, HGB)、血清总蛋白(total serum protein, TP)、白蛋白(albumin, ALB)、T淋巴细胞亚群($CD4^+$、$CD8^+$及$CD4^+/CD8^+$)、免疫球蛋白(IgA、IgG、IgM)、空腹血糖值(fasting blood glucose, FBG)和C反应蛋白(C-reactive protein, CRP)水平变化情况以及胃肠道不良反应发生情况.

结果: 两组患者EN后HGB、TP、ALB、$CD4^+$、$CD4^+/CD8^+$、IgA、IgG、IgM水平均显著升高(130.77 g/L±10.21 g/L *vs* 94.55 g/L±7.24 g/L, 67.87 g/L±2.21 g/L *vs* 50.95 g/L±10.23 g/L, 36.87 g/L±2.41 g/L *vs* 21.55 g/L±4.24 g/L, 50.02%±8.62% *vs* 42.19%±9.52%, 2.37±0.06 *vs* 1.61±0.08, 3.32 g/L±0.67 g/L *vs* 2.20 g/L±0.69 g/L, 15.11 g/L±3.85 g/L *vs* 10.40 g/L±2.59 g/L, 1.79 g/L±0.45 g/L *vs* 1.39 g/L±0.49 g/L, 110.39 g/L±9.88 g/L *vs* 97.72 g/L±8.36 g/L, 59.39 g/L±3.00 g/L *vs* 40.77 g/L±3.06 g/L, 30.79 g/L±2.33 g/L *vs* 20.59 g/L±5.54 g/L, 46.22%±6.58% *vs* 41.44%±7.87%, 2.53±0.06 *vs* 1.67±0.07, 2.45 g/L±0.51 g/L *vs* 2.19 g/L±0.65 g/L, 12.24 g/L±3.82 g/L *vs* 10.48 g/L±3.03 g/L, 1.69 g/L±0.53 g/L *vs* 1.24 g/L±0.44 g/L(P<0.05 or P<0.01), $CD8^+$、FBG、CRP水平均显著下降(19.94%±2.66% *vs* 25.20%±5.27%, 8.11 mmol/L±2.06 mmol/L *vs* 14.57 mmol/L±2.12 mmol/L, 1.49 mg/L±0.39 mg/L *vs* 6.53 mg/L L±1.33 mg/L, 19.13 mmol/L±2.15 mmol/L *vs* 25.17 mmol/L±3.32 mmol/L, 10.79 mmol/L±1.33 mmol/L *vs* 14.64 mmol/L±2.31 mmol/L, 5.19 mg/L±2.11 mg/L *vs* 6.51 mg/L±1.44 mg/L), 与EN前比较, 差异具有统计学意义(P<0.05或P<0.01); 实验组患者EN后HGB、TP、ALB、$CD4^+$、IgA、IgG水平均显著高于对照组(130.77 g/L±10.21 g/L *vs* 110.39 g/L±9.88 g/L, 67.87 g/L±2.21 g/L *vs* 59.39 g/L±3.00 g/L, 36.87 g/L±2.41 g/L *vs* 30.79 g/L±2.33 g/L, 50.02%±8.62% *vs* 46.22%±6.58%, 3.32 g/L±0.67 g/L *vs* 2.45 g/L±0.51 g/L, 15.11 g/L±3.85 g/L *vs* 12.24 g/L±3.82 g/L(P<0.05或P<0.01), FBG、CRP水平和便秘发生率均显著低于对照组(8.11 mmol/L±2.06 mmol/L *vs* 10.79 mmol/L±1.33 mmol/L, 1.49 mg/L±0.39 mg/L *vs* 5.19 mg/L±2.11 mg/L, 13.95% *vs* 30.23%)(P<0.05或P<0.01), 差异具有统计学意义.

结论: Gln、DF强化的肠内营养能够有效改善患者营养状态、增强免疫力、减轻应激反应、改善胃肠功能、防止并发症发生, 疗效显著, 应用和推广价值较高.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 谷氨酰胺; 膳食纤维; 肠内营养; 危重症; 支持效果

核心提示: 本研究在常规肠内营养(enteral nutrition)标准营养配方中添加谷氨酰胺(glutamine, Gln)和可溶性膳食纤维(soluble dietary fiber), 取得了较为满意的临床效果. 其中Gln为免疫营养要素, 能够为人体氨基酸、蛋白质和核酸的合成提供氮源, 也能够为碳链氧化提供能量, 是免疫细胞以及肠道黏膜、肝脏、肾脏等多种组织细胞的能量来源和核酸合成的前体物质, 在人体内含量丰富.

王舜尧, 柴滨. 谷氨酰胺联合膳食纤维强化肠内营养对重症医学科患者的支持效果. 世界华人消化杂志 2014; 22(18): 2626-2631
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2626.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i18.2626

0 引言

早期营养支持是重症患者临床治疗过程中的重要环节, 应激初期给予适量肠内营养(enteral nutrition, EN)不仅能够保证机体的能量需求, 也可保护胃肠黏膜屏障的完整性, 防止菌群失调和应激性溃疡的发生[1]. 大量临床研究指出, 在EN标准营养配方中添加特殊营养素组合成免疫调

■研发前沿
近几年肠内免疫营养作为一种新型营养方式逐渐开始被临床医生所重视, 这种营养方式主要是通过向标准营养配方中补充谷氨酰胺、膳食纤维等特殊营养素组成免疫调节饮食, 利用自身药理作用刺激机体免疫细胞保持正常、适度的免疫反应, 降低有害或过度的炎症反应, 并对肠屏障功能的完整性进行保护.

■相关报道
临床研究表明, 正常状态下人体可大量合成Gln, 其为非必需氨基酸, 但处于应激状态下为必需氨基酸, 是小肠黏膜细胞唯一的能量来源和肠道修复最重要的营养物质. 尤其是创伤或大手术后患者机体Gln耗竭, 急需进行大量补充, 否则易引起肠黏膜结构和功能受损、免疫功能下降和蛋白质代谢紊乱等.

表 1 两组患者临床资料比较 [n = 43, n(%)]

分组	性别		平均年龄(岁)	致病原因			
	男性	女性		交通事故	高处坠落	钝器击伤	砸伤
实验组	30(69.77)	13(30.23)	40.12±8.13	22(51.16)	10(23.26)	8(18.60)	2(4.65)
对照组	28(65.12)	15(34.88)	41.57±8.76	21(48.84)	8(18.60)	10(23.26)	2(4.65)

节饮食能够在提高机体免疫力、减轻炎症反应及保护胃肠道功能上具有积极意义[2]. 我院在常规EN标准营养配方中添加谷氨酰胺(glutamine, Gln)和可溶性膳食纤维(soluble dietary fiber, SDF), 取得了较为满意的临床效果, 现报道如下.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2013-02/2014-02我院住院部收治的86例需行EN的危重患者作为研究对象. 所有患者均经营养风险筛查有EN指征[3], 住院15 d以上. 排除合并严重心脏、肝肾及造血功能疾病者、发生严重消化系出血者以及已应用其他有Gln、膳食纤维制剂可对本研究结果产生影响的患者[4]. 按照随机数字表法将86例患者均分为实验组和对照组, 两组患者在性别、年龄、致病原因等上差异无统计学意义(P>0.05)(表1), 具有可比性. 所有患者及家属均签署知情同意书. Coulter hxm五分类血细胞分析仪(美国), Beckman LX-20全自动生化分析仪(美国), 试剂盒均购自中科院中生北控生物科技有限公司.

1.2 方法

1.2.1 EN治疗: 两组患者均给予常规EN治疗, 包括鼻饲、营养液供给等, 每日能量供给通过公式: 基础代谢率×应激因子×1.25×24 h计算, 能量: 氮为100∶1-120∶1[5]. 实验组患者在此基础上添加Gln[大元素组件Gln, 浙江海力生生物科技有限公司, 生产许可证编号QS: 330922020025, 0.5 g/(kg·d)]和SDF(上怡生安康牌膳食纤维咀嚼片, 海益生源生物工程有限公司, 国食健字G20060417, 3.0 g/1000 kcal).

1.2.2 相关指标检测: 分别于EN实施前1 d及EN实施后15 d抽取患者清晨空腹静脉血3 mL, 分离血浆并对患者血红蛋白(heamoglobin, HGB)、血清总蛋白(total serum protein, TP)、白蛋白(albumin, ALB)、T淋巴细胞亚群($CD4^+$、$CD8^+$及$CD4^+/CD8^+$)、免疫球蛋白(IgA、IgG、IgM)、空腹血糖值(fasting blood glucose, FBG)和C反应蛋白(C-reactive protein, CRP)进行检测. 所有患者抽血前禁食12 h, 血液样本在3 h内处理和检测. 检测: 使用Coulter hxm五分类血细胞分析仪检测HGB; 使用Beckman LX-20全自动生化分析仪检测ALB(酶联免疫法)、TP(酶联免疫法)和FBG(葡萄糖氧化酶法)[6]; 采用酶联免疫法检测IgA、IgG和IgM; 使用流式细胞计数仪检测$CD4^+$、$CD8^+$及$CD4^+/CD8^+$; 采用免疫透射比浊终点测定法检测CRP. 所有操作均按照试剂盒说明书进行.

1.2.3 观察指标: 比较两组患者EN前后HGB、TP、ALB、$CD4^+$、$CD8^+$、$CD4^+/CD8^+$、IgA、IgG、IgM、FBG和CRP水平变化情况以及胃肠道不良反应发生情况.

统计学处理 使用SPSS17.0统计分析, 用mean±SD表示计量资料, 采用t检验, 用百分比表示记数资料, 采用χ^2检验, P<0.05表示差异有统计学意义.

2 结果

2.1 两组患者EN前后营养指标比较 两组患者EN后HGB、TP、ALB水平均显著升高, 与EN前比较, 差异具有统计学意义(P<0.05或P<0.01); 实验组患者EN后HGB、TP、ALB水平均显著高于对照组, 差异具有统计学意义(P<0.01)(表2).

2.2 两组患者EN前后T淋巴细胞亚群水平比较 两组患者EN后$CD4^+$、$CD4^+/CD8^+$水平均显著升高, $CD8^+$水平均显著下降, 与EN前比较, 差异具有统计学意义(P<0.05); 实验组患者EN后$CD4^+$水平显著高于对照组, 差异具有统计学意义(P<0.05)(表3).

2.3 两组患者EN前后免疫球蛋白水平比较 两组患者EN后IgA、IgG、IgM水平均显著升高, 与EN前比较, 差异具有统计学意义(P<0.05); 实验组患者EN后IgA、IgG水平显著高于对照组, 差异具有统计学意义(P<0.01)(表4).

2.4 两组患者EN前后应激指标水平比较 两组患者EN后FBG、CRP水平均显著下降, 与EN前比较, 差异具有统计学意义(P<0.05或P<0.01); 实

表 2 两组患者营养支持前后营养指标比较 (n = 43, mean ± SD, g/L)

分组	时间	HGB	TP	ALB
实验组	治疗前	94.55 ± 7.24	50.95 ± 10.23	21.55 ± 4.24
	治疗后	130.77 ± 10.21^{df}	67.87 ± 2.21^{df}	36.87 ± 2.41^{df}
对照组	治疗前	97.72 ± 8.36	40.77 ± 3.06	20.59 ± 5.54
	治疗后	110.39 ± 9.88^{a}	59.39 ± 3.00^{a}	30.79 ± 2.33^{a}

^{a}P<0.05, ^{d}P<0.01 *vs* 同组治疗前; ^{f}P<0.01 *vs* 对照组. HGB: 血红蛋白; TP: 血清总蛋白; ALB: 白蛋白.

表 3 两组患者营养支持前后T淋巴细胞亚群水平比较 (n = 43, mean ± SD)

分组	时间	$CD4^+$(%)	$CD8^+$(%)	$CD4^+/CD8^+$
实验组	治疗前	42.19 ± 9.52	25.20 ± 5.27	1.61 ± 0.08
	治疗后	50.02 ± 8.62^{ac}	19.94 ± 2.66^{a}	2.37 ± 0.06^{a}
对照组	治疗前	41.44 ± 7.87	25.17 ± 3.32	1.67 ± 0.07
	治疗后	46.22 ± 6.58^{a}	19.13 ± 2.15^{a}	2.53 ± 0.06^{a}

^{a}P<0.05 *vs* 同组治疗前; ^{c}P<0.05 *vs* 对照组.

表 4 两组患者营养支持前后免疫球蛋白水平比较 (n = 43, mean ± SD, g/L)

分组	时间	IgA	IgG	IgM
实验组	治疗前	2.20 ± 0.69	10.40 ± 2.59	1.39 ± 0.49
	治疗后	3.32 ± 0.67^{ad}	15.11 ± 3.85^{ad}	1.79 ± 0.45^{a}
对照组	治疗前	2.19 ± 0.65	10.48 ± 3.03	1.24 ± 0.44
	治疗后	2.45 ± 0.51^{a}	12.24 ± 3.82^{a}	1.69 ± 0.53^{a}

^{a}P<0.05 *vs* 同组治疗前; ^{d}P<0.01 *vs* 对照组.

表 5 两组患者营养支持前后应激指标水平比较 (n = 43, mean ± SD)

分组	时间	FBG(mmol/L)	CRP(mg/L)
实验组	治疗前	14.57 ± 2.12	6.53 ± 1.33
	治疗后	8.11 ± 2.06^{df}	1.49 ± 0.39^{df}
对照组	治疗前	14.64 ± 2.31	6.51 ± 1.44
	治疗后	10.79 ± 1.33^{a}	5.19 ± 2.11^{a}

^{a}P<0.05, ^{d}P<0.01 *vs* 同组治疗前; ^{f}P<0.01 *vs* 对照组. FBG: 空腹血糖值; CRP: C反应蛋白.

验组患者EN后FBG、CRP水平显著低于对照组, 差异具有统计学意义(P<0.01)(表5).

2.5 两组患者EN后胃肠道不良反应发生情况比较 两组患者均未发生恶心、呕吐、消化系出血等明显不良反应或机械性及代谢并发症, 少数患者出现轻微腹胀、腹泻, 均自行消失. 实验组发生6例便秘, 对照组发生13例便秘, 两组患者便秘发生率比较, 差异具有统计学意义(P<0.05).

3 讨论

早期营养支持能够纠正危重患者已经或即将出现的营养不良, 提高患者对治疗的耐受性, 纠正负氮平衡, 增强机体免疫力, 改善患者代谢状态, 对预防并发症和降低死亡率具有重要意义. 近几年肠内免疫营养作为一种新型营养方式逐渐开始被临床医生所重视, 这种营养方式主要是通过向标准营养配方中补充Gln、膳食纤维等特殊营养素组成免疫调节饮食, 利用自身药理作用刺激机体免疫细胞保持正常、适度的免疫反应, 降低有害或过度的炎症反应, 并对肠屏障功能的完整性进行保护[7].

本研究在常规EN标准营养配方中添加Gln和SDF, 取得了较为满意的临床效果. 其中Gln为

■同行评价
本研究设计合理, 结果可靠, 但新颖性一般, 作者值得鼓励做进一步深入探讨.

免疫营养要素, 能够为人体氨基酸、蛋白质和核酸的合成提供氮源, 也能够为碳链氧化提供能量, 是免疫细胞以及肠道黏膜、肝脏、肾脏等多种组织细胞的能量来源和核酸合成的前体物质, 在人体内含量丰富[8]. 临床研究表明, 正常状态下人体可大量合成Gln, 其为非必需氨基酸, 但处于应激状态下为必需氨基酸, 是小肠黏膜细胞唯一的能量来源和肠道修复最重要的营养物质[9]. 尤其是创伤或大手术后患者机体Gln耗竭, 急需进行大量补充, 否则易引起肠黏膜结构和功能受损、免疫功能下降和蛋白质代谢紊乱等[10]. 而膳食纤维(dietary fiber, DF)在改善机体肠道形态结构和黏膜功能方面有重要作用, 主要包括不溶性膳食纤维(insoluble dietary fiber, IDF)和SDF两种[11]. IDF不易被结肠内细菌酵解, 主要用于增加粪便体积、减少粪便在结肠内停留时间和排除肠道内毒素; SDF则在肠道内呈溶液状态, 被肠内细菌酵解后吸收至结肠黏膜细胞中促进细胞增殖, 从而达到保护结肠黏膜、防止细菌移位的作用[12].

本研究中除医用食品Gln和SDF外均为天然食物, 符合人体正常生理需要, 不易引起胃肠道并发症. 本研究结果显示Gln和SDF强化EN组患者营养指标改善情况优于常规EN组, 表明Gln和SDF强化的肠内营养能够有效改善危重症患者营养状态, 纠正机体负氮平衡[13]; Gln和SDF强化EN组患者T淋巴细胞亚群和免疫球蛋白水平改善情况优于常规EN组, 表明Gln和SDF强化的肠内营养能够有效改善危重症免疫功能, 减少并发症发生[14]; Gln和SDF强化EN组患者应激指标水平改善情况优于常规EN组, 表明Gln和SDF强化的肠内营养能够有效降低患者血糖水平, 减少高血糖的危害, 减轻应激反应[15]; Gln和SDF强化EN组患者胃肠道不良反应发生率明显低于常规EN组, 表明Gln和SDF强化的肠内营养能够有效促进患者胃肠道蠕动, 改善胃肠功能, 减轻过度炎症反应, 纠正胃肠功能紊乱, 防止肠源性感染发生[16].

总之, 随着EN在临床上的广泛应用, 提高EN效果、有效改善患者的营养状况及其免疫功能已经成为了普遍关注的问题. 采取肠内免疫营养作为营养支持方案, 在常规EN标准营养配方中添加Gln和SDF, 对改善患者营养状态、增强免疫力、减轻应激反应、改善胃肠功能、防止并发症发生具有积极意义, 临床应用和推广价值较高.

4 参考文献

1 华晨, 刘励军. 早期肠内营养在危重症病人营养支持中的临床价值. 肠外与肠内营养 2011; 18: 12-14
2 陈博, 伍晓汀. 肠内免疫营养及其临床应用. 中国普外基础与临床杂志 2009; 16: 978-981
3 智绪亭, 寿楠海. 肠内营养的适应证和禁忌证. 世界华人消化杂志 2000; 21: 2434-2439
4 Williams TA, Leslie GD. Should gastric aspirate be discarded or retained when gastric residual volume is removed from gastric tubes? *Aust Crit Care* 2010; 23: 215-217 [PMID: 20558081 DOI: 10.1016/j.aucc.2010.05.001]
5 路秦龙, 郑锴, 张鹏. 术前肠内营养对食道狭窄食管癌患者术后感染及营养指标的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21: 2434-2439
6 Rotovnik Kozjek N, Kompan L, Soeters P, Oblak I, Mlakar Mastnak D, Možina B, Zadnik V, Anderluh F, Velenik V. Oral glutamine supplementation during preoperative radiochemotherapy in patients with rectal cancer: a randomised double blinded, placebo controlled pilot study. *Clin Nutr* 2011; 30: 567-570 [PMID: 21733605 DOI: 10.1016/j.clnu.2011.06.003]
7 宋怀宇, 杨建荣. 肝病患者肠黏膜屏障功能的变化及谷氨酰胺干预的研究进展. 世界华人消化杂志 2009; 17: 2798-2802
8 曾钧发, 肖宏, 桂培根. 早期肠内营养添加谷氨酰胺对老年重型颅脑损伤患者免疫功能和营养代谢的影响. 中南医学科学杂志 2012; 40: 490-492
9 梁秋实, 赵滢, 王强. 谷氨酰胺强化早期肠内营养对胃癌患者术后营养及免疫功能的影响. 山东医药 2009; 49: 46-48
10 刘骅, 凌伟, 沈志勇, 金鑫, 曹晖. 谷氨酰胺强化肠内营养支持对全胃切除术后营养及免疫功能影响的研究. 中国实用外科杂志 2010; 30: 938-941
11 陆军, 赵滋苗, 王飞, 丁月平, 马丹女, 叶肖琳, 宋希玲. 高膳食纤维肠内营养改善危重症患者营养状况及耐受. 中华危重症医学杂志(电子版) 2011; 4: 300-305
12 赵永华, 杨开敏, 贾秀艳, 晁怀宇, 孟伟. 早期应用含膳食纤维的肠内营养与全肠外营养对重型颅脑损伤患者肠黏膜屏障的影响比较. 实用医学杂志 2013; 29: 3508-3510
13 Nguyen NQ, Grgurinovich N, Bryant LK, Burgstad CM, Chapman MJ, Holloway RH, Mangoni AA, Fraser RJ. Plasma erythromycin concentrations predict feeding outcomes in critically ill patients with feed intolerance. *Crit Care Med* 2011; 39: 868-871 [PMID: 21297459 DOI: 10.1097/CCM.0b013e318206d57b]
14 邓志云, 郭光华, 邢娟娟, 赵晓雷, 崔泉, 杨毅. 早期肠内谷氨酰胺补给对烫伤大鼠Peyer's结淋巴细胞亚群的影响. 世界华人消化杂志 2009; 17: 2679-2685
15 Wernerman J, Kirketeig T, Andersson B, Berthelson H, Ersson A, Friberg H, Guttormsen AB, Hendrikx S, Pettilä V, Rossi P, Sjöberg F, Winsö O. Scandinavian glutamine trial: a pragmatic multi-centre randomised clinical trial of intensive care unit patients. *Acta Anaesthesiol Scand* 2011; 55: 812-818 [PMID: 21658010 DOI: 10.1111/j.1399-6576.2011.02453.x]
16 Limburg PJ, Mahoney MR, Ziegler KL, Sontag SJ, Schoen RE, Benya R, Lawson MJ, Weinberg DS, Stoffel E, Chiorean M, Heigh R, Levine J,

Della'Zanna G, Rodriguez L, Richmond E, Gostout C, Mandrekar SJ, Smyrk TC. Randomized phase II trial of sulindac, atorvastatin, and prebiotic dietary fiber for colorectal cancer chemoprevention. *Cancer Prev Res* (Phila) 2011; 4: 259-269 [PMID: 21209397 DOI: 10.1158/1940-6207.CAPR-10-0215]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

• 消息 •

中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》影响因子0.873

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

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

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com
世界华人消化杂志 2014年6月28日; 22(18): 2632-2636
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

小肠梗阻诊断和治疗的优化流程

吴 彪, 王春友

■背景资料
肠梗阻虽是临床常见疾病, 但至今仍是医学的难题. 本研究通过泛影葡胺和多排CT的三维重建在肠梗阻中联合, 序贯使用, 希望为肠梗阻的诊治寻找到一个新的途径.

吴彪, 湖北省武汉市第一医院胃肠外科 湖北省武汉市 430022
王春友, 华中科技大学同济医学院附属协和医院胰腺外科 湖北省武汉市 430022
吴彪, 副主任医师, 主要研究胃肠道肿瘤的微创治疗.
作者贡献分布: 临床资料整理、文章起草、数据分析由吴彪完成; 文章修改和审阅由王春友完成.
通讯作者: 王春友, 教授, 主任医师, 430022, 湖北省武汉市解放大道1277号, 华中科技大学同济医学院附属协和医院胰腺外科. wubiao2008@126.com
收稿日期: 2014-03-12 修回日期: 2014-05-09
接受日期: 2014-05-19 在线出版日期: 2014-06-28

Optimization of algorithms for diagnosis and treatment of small bowel obstruction

Biao Wu, Chun-You Wang

Biao Wu, Department of Gastrointestinal Surgery, Wuhan No.1 Hospital, Wuhan 430022, Hubei Province, China
Chun-You Wang, Department of Pancreatic Surgery, Union Hospital of Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, Hubei Province, China
Correspondence to: Chun-You Wang, Professor, Chief Physician, Department of Pancreatic Surgery Department of Union Hospital of Huazhong University of Science and Technology, 1227 Jiefang Street, Wuhan 430022, Hubei Province, China. 915766973@qq.com
Received: 2014-03-12 Revised: 2014-05-09
Accepted: 2014-05-19 Published online: 2014-06-28

Abstract

AIM: To investigate the role of multi-slice CT three-dimensional reconstruction combined with meglumine diatrizoate in the diagnosis and treatment of intestinal obstruction and to optimize the algorithms for diagnosis and treatment of small bowel obstruction.

METHODS: Clinical data for 89 patients with small bowel obstruction were prospectively collected from January 2011 to January 2012 at the First Hospital of Wuhan City. All patients were randomly divided into either a conventional therapy group or a conventional therapy plus meglumine diatrizoate group (two doses of meglumine diatrizoate *via* a gastric tube with a 24 h interval). The time to first flatus, indwelling time of the stomach tube, and hospitalization time were compared between the two groups. After injection of meglumine diatrizoate via the tube, the patients received gastrointestinal radiographic examination every 24 h to observe whether the contrast agent went into the colon. The therapeutic effect of meglumine diatrizoate on small bowel obstruction, and the association between whether meglumine diatrizoate could enter the colon within 24 h and surgery necessity were evaluated.

RESULTS: In patients of the conventional therapy plus meglumine diatrizoate group, the indwelling time of gastric tube was 3.0 d ± 1.1 d, the time to first flatus was 26.0 h ± 19.1 h, and the length of hospital stay was 7 d ± 2.5 d. These parameters were significantly shorter compared with those for the conventional treatment group ($P < 0.05$ for all). There was a significant correlation between the observation that meglumine diatrizoate could not enter the colon within 24 h and surgery necessity. Preoperative multi-slice CT three-dimensional reconstruction could help to investigate the cause and sites of obstruction and to evaluate the local conditions to ensure the surgical safety.

CONCLUSION: Meglumine diatrizoate via the gastric tube can effectively alleviate adhesive intestinal obstruction, reduce the rate of operation and provide an important reference for the timing of surgery. Preoperative multi-slice CT three-dimensional reconstruction can provide effective protection for patients undergoing operation. Sequential application of meglumine diatrizoate and multi-slice CT three-dimensional reconstruction in small bowel obstruction can greatly improve the accuracy of diagnosis and treatment effectiveness and thus can be used as the optimized algorithm for clinical diagnosis and treatment.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Multi-slice CT; Meglumine diatrizoate; Small bowel obstruction; Process

Wu B, Wang CY. Optimization of algorithms for diagnosis and treatment of small bowel obstruction. Shijie

■同行评议者
陈海龙, 教授, 大连医科大学附属第一医院院办

Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(18): 2632-2636 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2632.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i18.2632

摘要

目的: 探讨多排CT(multidetector CT, MDCT)的三维重建联合泛影葡胺在小肠梗阻诊治中的作用, 寻找一个诊断治疗小肠梗阻的优化临床流程.

方法: 前瞻性性分析2011-01/2012-01武汉市第一医院收治的89例小肠梗阻患者的临床病例资料. 所有患者按随机数字表随机分成常规治疗组和加用泛影葡胺(两次胃管注入泛影葡胺, 间隔24 h), 比较两组患者排气时间、胃管置留时间和住院时间; 在每次给予泛影葡胺后24 h点片, 观察造影剂是否进入结肠, 探讨泛影葡胺对小肠梗阻的治疗效果以及泛影葡胺24 h内能否进入结肠与是否需要手术之间的一致性; 了解肠梗阻术前行MDCT三维重建的意义.

结果: 泛影葡胺组在留置胃管时间为3.0 d±1.1 d, 排气时间为26.0 h±19.1 h, 出院时间为7 d±2.5 d, 与常规治疗组相比明显缩短, 存在显著性差异(P<0.05); 胃管注入泛影葡胺24 h内能否进入结肠与是否需要手术存在较强的一致性; 术前行MDCT三维重建有利于判断梗阻原因, 部位及其周围关系, 利于保障手术安全.

结论: 两次胃管注入泛影葡胺能够有效缓解黏连性肠梗阻, 明显降低手术率, 同时能够为手术时机的选择提供重要参考依据; 术前进行MDCT三维重建可以为手术安全提供有效保障. 泛影葡胺和MDCT三维重建联合, 序贯在小肠梗阻中应用可以大大提高其治疗有效性和诊断的准确性. 可以作为临床上推广的一个诊断和治疗的优化流程.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 多排CT; 泛影葡胺; 肠梗阻; 流程

核心提示: 通过了解两次应用泛影葡胺在肠梗阻中的作用, 了解多排CT的三维重建的作用, 将两者结合起来, 序贯应用于肠梗阻的诊治中. 为肠梗阻的诊治寻找一个可能的优化流程.

吴彪, 王春友. 小肠梗阻诊断和治疗的优化流程. 世界华人消化杂志 2014; 22(18): 2632-2636 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2632.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i18.2632

0 引言

小肠梗阻是外科常见的急腹症之一, 诊断困难, 发展快、病情重, 常需紧急处置. 仅次于急性阑尾炎、胆道疾病, 居第3位. 若处理不当, 不能及时解除梗阻, 则会引起肠坏死、肠穿孔, 甚至出现感染、中毒性休克而危及生命. 因此, 对小肠梗阻患者如何选择合适的治疗方案, 正确把握手术时机, 是临床医师常面临的难题. 我们前瞻性研究了应用胃管两次注入泛影葡胺联合多排CT(multidetector CT, MDCT)三维重建在小肠梗阻重的作用, 希望为小肠梗阻的诊断和治疗寻找到一个优化的临床流程, 现报告如下.

■研发前沿
本研究的重点和热点是寻找一个能快速, 准确解决临床上对肠梗阻诊断和治疗的判断方法, 寻找一个适合各级医院的肠梗阻的诊治流程.

1 材料和方法

1.1 材料 收集2011-01/2012-01我科收治的有完整资料的小肠梗阻患者共89例. 纳入标准: (1)均为当时起病, 出现急性呕吐、腹胀、腹痛和肛门停止排气排便等急性肠梗阻症状或上述症状反复发作; (2)腹平片可见小肠阶梯状气液平或胀气肠袢, 符合小肠梗阻诊断; (3)起病时均未出现绞窄性肠梗阻症状. 按随机数字表随机分为常规治疗组: 41例, 男31例, 女11例, 平均年龄67岁; 加用泛影葡胺组: 48例, 男35例, 女12例, 平均年龄70岁.

1.2 方法

1.2.1 治疗: 常规治疗组: 禁食、胃肠减压、抗感染、补液、纠正酸碱平衡电解质紊乱和灌肠等. 泛影葡胺组: 在常规治疗基础上分两次胃管注入泛影葡胺(每次80 mL), 间隔24 h, 在两次给药过程中, 密切观察患者病情, 一旦出现绞窄性肠梗阻征象则立即改为手术治疗.

1.2.2 观察指标: 观察两组患者留置胃管的时间、排气/排便时间和住院时间; 两组所有未缓解的患者在术前均行MDCT三维重建. 常规治疗组以术者经验和第8版外科学教材肠梗阻章节所述: (1)腹痛发作急骤, 初始即为持续性剧烈疼痛, 或在阵发性加重之间仍有持续性疼痛. 有时出现背部疼痛; (2)病情发展迅速, 早期出现休克, 抗休克治疗后缓解不明显; (3)有腹膜炎表现, 体温上升、脉率加快、白细胞计数增高; (4)腹胀不对称, 腹部有局部隆起或触及有压痛的肿块; (5)呕吐出现早而频繁, 呕吐物、胃肠减压抽出液、肛门排出物为血性. 腹腔穿刺抽出血性液体; (6)腹部X线检查见孤立扩大的肠袢; (7)经积极非手术治疗症状体征无明显缓解等相结合作

■相关报道
国外对于泛影葡胺在肠梗阻中的应用有不少报道，但对于两次使用泛影葡胺的报道未见，同时将泛影葡胺和多排CT的三维重建在肠梗阻中联合，序贯使用的报道也不多.

表 1 泛影葡胺组和常规治疗组的各项观察指标比较 (mean ± SD)

分组	*n*	留置胃管天数(d)	第1次排气/排便时间(h)	住院天数(d)
常规治疗组	28	6 ± 1.2	124 ± 30.2	12 ± 1.6
泛影葡胺组	36	3 ± 1.1[a]	26 ± 19.1[a]	7 ± 2.5[a]

[a]*P*<0.05 *vs* 常规治疗组.

表 2 泛影葡胺造影法判定肠梗阻是否需要手术的诊断试验结果 (*n*)

诊断试验	金标准		合计
	手术	保守治疗	
泛影葡胺未进入结肠	11	1	12
泛影葡胺进入结肠	1	35	36
合计	12	36	48

Kappa统计分析: Kappa = 0.8888, *P*<0.01.

为选择手术的指征; 泛影葡胺组以两次给予泛影葡胺, 分别观察24 h内能否进入结肠作为手术标准. 最终以术中情况作为判定的金标准.

统计学处理 使用SPSS11.0软件. 两组留置胃管时间, 第1次排气/排便时间, 住院天数均用mean±SD表示, 两组间数据采用*t*检验. 计算Kappa统计量, 验证泛影葡胺造影结果(注入泛影葡胺24 h泛影葡胺后是否进入结肠)与最终是否手术之间的一致性. 诊断试验评估泛影葡胺造影法判定患者是否需要手术的价值. *P*<0.05被差异具有统计学意义. 以最后术中情况作为对照, 评价MDCT三维重建在肠梗阻中诊断价值.

2 结果

常规治疗组患者41例, 缓解28例, 中转手术率31.70%, 泛影葡胺组48例, 缓解36例, 中转手术率25%. 在中转手术率方面, 两组存在显著性差异; 两组在留置胃管时间, 第1次排气/排便时间, 住院天数均存在显著性差异(表1).

常规治疗组中, 有13例在保守治疗无效后, 出现绞窄性肠梗阻的症状立即进行剖腹探查. 泛影葡胺组中在两次口服泛影葡胺后, 其中有36例患者造影剂进入结肠, 其中31例24 h内缓解, 解出大量稀水便或排除大量气体. 4例在48 h内缓解. 1例观察72 h缓解. 12例患者造影剂未进入结肠, 其中1例在96 h内缓解, 11例行手术治疗, 术中发现这些梗阻是无法用保守治疗缓解的, 其中黏连成团6例, 黏连内疝形成3例, 黏连成角、扭转1例, 黏连带压迫1例(表2). 提示泛影葡胺是否进入结肠与最终是否手术之间具有很强的一致性, 并具有统计学意义, 以最后是否手术作为金标准, 以泛影葡胺是否进入结肠作为手术指征, 灵敏度 = 91.66%, 特异度 = 97.22%, 阳性预测值 = 91.66%, 阴性预测值 = 97.22%, 准确度 = 95.83%. 结果表明泛影葡胺造影法能够作为小肠梗阻手术时机判断的有效预测因子(表2).

所有未缓解的25例病例在术前均行MDCT三维重建, 其中肠黏连成角2例, 黏连成团8例, 黏连带压迫5例, 小肠肿瘤1例, 内疝2例, 肠绞窄5例, 肠套叠2例(表3).

术前MDCT三维重建诊断与临床术后结果对照, 梗阻部位符合23例(两例术前判断高位肠管黏连, 术后证实为回肠末端的黏连), 部位符合率为92%; 梗阻病因符合24例(1例术前判断回盲部套叠, 术后证实为横结肠肿瘤), 病因符合率为95.83%.

3 讨论

小肠梗阻是腹部外科中常见的一种疾患, 一般仅次于急性阑尾炎和胆道疾病, 而居急腹症的第3位[1]. 肠道一旦发生梗阻或肠道内容物的运行有障碍时, 可造成患者全身生理上的紊乱和肠管本身解剖和机能上的变化, 严重者往往危及生命. 至晚期即使梗阻的情况获得解除, 其严重的病理生理和病理解剖变化, 亦可能使患者趋于死亡. 故肠梗阻是一种常见而严重的疾病, 在腹部外科中有其特殊的重要性[2]. 小肠梗阻的现象在多种情况下均可发生, 病因各异, 其病理变化和临床表现亦不同, 即使是有经验的外科医生, 术前诊断为单纯性机械性肠梗阻的病例中有31%手术证实为绞窄性肠梗阻[3], 何时才认为保守治疗无效和何时采取外科手术依然未取得一致性意见. 目前肠梗阻患者入院后没有一个标准的诊疗流程, 该做什么检查? 是保守还是手术? 何时手术? 做什么切口? 怎么做? 常常是该做的做晚了, 不该做的做了, 这永远是外

表 3 MDCT三维重建和手术结果的对比

	梗阻原因	手术结果	符合情况
高位小肠梗阻	肠黏连呈角(2例)	末端回肠黏连	部位不符合
	肿瘤(2例)	上段小肠肿瘤	部位病因符合
	内疝(2例)	黏连形成内疝	部位病因符合
低位小肠梗阻	肠扭转, 绞窄(5例)	肠绞窄坏死	部位病因符合
	黏连带压迫(5例)	黏连带压迫	部位病因符合
	回盲部套叠(1例)	横结肠肿瘤	病因不符合
	黏连成团(8例)	肠管黏连成团	部位病因符合

■创新盘点
本研究的创新点是在肠梗阻中两次使用泛影葡胺, 并将泛影葡胺和多排CT的三维重建在肠梗阻中联合, 序贯使用, 这在国内外文章中使用此方法不多见.

科医生的梦魇, 是一个古老的医学难题.

小肠梗阻的定性诊断并不难, 通过仔细询问病史, 结合临床症状、体征, 必要时加照腹部X线平片便可做出诊断, 但要确定具体梗阻部位却不容易, 即使在X线平片上也只能够粗略判断是高位或低位肠梗阻, 对于梗阻的具体部位及真正病因缺乏准确显示.

76%泛影葡胺是一种离子型高渗性对比剂, 以往主要应用于食管病变的检查, 而应用于胃肠道造影检查少, 我们近年来将泛影葡胺用于肠梗阻的诊治中取得了良好效果. 76%泛影葡胺是一种离子型高渗性对比剂, 在肠腔内的渗透压约1900 mmol/L(为细胞外液渗透压的6倍), 可将细胞外液、血管内液引入肠腔, 从而稀释、增加肠内容物, 同时减轻局部肠管水肿, 增加肠管梯度压, 刺激肠管蠕动, 缓解肠梗阻[4], 因此临床可用于肠梗阻患者的保守治疗.

本研究中使用泛影葡胺组的患者的手术中转率明显低于常规治疗组, 且患者排气/排便时间, 住院时间也明显低于常规治疗组. 说明泛影葡胺对黏连性肠梗阻有较好的治疗作用. 对保守治疗48 h仍无好转的患者, 通过泛影葡胺消化系造影, 观察对比剂在胃肠道中的位置及通过情况, 可确定梗阻部位以及梗阻是否完全, 判断有无黏连松懈手术指征[5], 一般情况下24 h内对比剂在结肠内显影且病情缓解者, 可继续保守治疗, 否则需手术探查[6]. 目前的文献大多为单次使用泛影葡胺的研究结果[7], 我们认为根据24 h内造影剂未进入结肠就行手术治疗, 也许会给一部分不该手术的患者带来手术损伤. 本研究也提示: 肠梗阻的患者在口服泛影葡胺后, 有相当一部分患者24 h后解大量稀水便, 肠梗阻症状明显缓解, 避免手术治疗. 但仍有部分患者在第1次口服泛影葡胺24 h后不能有效缓解症状, 也无明显肠绞窄征象, 对于这部分患者, 我们再次给予泛影葡胺, 经过两次给药后有部分患者从中受益, 肠梗阻症状得到缓解, 从而避免了手术治疗, 从而提示两次泛影葡胺应用48 h后, 造影剂未进入结肠, 临床症状无改善的患者继续保守治疗很难成功, 必须采取手术治疗. 但是临床上也出现由于各种原因保守48 h无效, 但并没有手术, 48 h后出现肠梗阻缓解的, 这也说明了肠梗阻的治疗的多样性, 复杂性和无规律性. 本研究中就出现1例72 h后缓解的. 我们认为以上情况毕竟是少数, 不能以点带面. 本研究显示: 口服泛影葡胺判断肠梗阻是否需要手术的灵敏度为91.66%, 特异度为97.22%, 和国外相关研究结果基本相同[8]. 说明口服泛影葡胺是判断肠梗阻手术时机的一个简便有效的办法, 特别适合在基层医院推广.

近年来, 多层CT检查技术的发展, 极大提高了小肠梗阻的诊断水平. MDCT拥有各向同性的特征, 能提供高质量的多平面重建 (multiplanar reformation, MPR)显像, 更有助于判断肠梗阻部位、病因及其他并发症[9]. 胃肠道走行于腹膜间或腹膜后, 周围有良好的脂肪间隙作衬托, 同时由于管腔内以粪便和水分为主, MDCT可以很好地显示肠壁厚度及肠腔形态的变化[10]. 在发现梗阻部位后又可采用多平面重建的方式, 不仅可以显示病灶本身, 还可显示周围情况, 这对梗阻原因的判断有很大帮助. MDCT在肠系膜血管的显示上也具有很大的优势, 快速扫描可以保证在增强扫描时抓住准确的时间窗, 以获得最佳增强效果[11]; 薄层扫描又可以很好地显示肠系膜血管; 在配合最大密度投影MIP、多平面重建MPR、容积再现VRT等图像后处理技术, 能够更有效显示肠系膜血管的全貌, 对于伴有血运障碍的绞窄性肠梗阻的诊断有很大的帮助, 尤其对于减少绞窄性肠梗阻切除肠管有积极预防意义[12]. 关于MDCT征象对肠梗阻病因的诊断

■同行评价
本文方法独特, 具有一定的创新性和实用性.

如下: (1)黏连性肠梗阻: 黏连性肠梗阻的原因有可能是术后及炎症导致. MDCT征象为: 肠管走行突然扭曲成角, 且清晰可见条带状黏连或压迫带. 另外, 临床上若排除其他原因引起的肠梗阻, 即使无确切黏连带显示也应考虑黏连性肠梗阻的可能; (2)肿瘤性肠梗阻: MDCT征象为: 移行区肠腔狭窄僵硬, 肠壁增厚伴强化, 而梗阻上端肠管扩张, 积气积液; (3)腹部疝气所致肠梗阻: 多见腹外疝, MPR图像冠状位可完整显示疝全貌及与腹部肠管的关系; (4)麻痹性肠梗阻: 因各种原因导致肠胃丧失动力, 而肠内容物通过障碍. MDCT征象显示为大小肠充气扩张及气液平面外, 还有可能为腹膜炎等原发病变; (5)血运性肠梗阻: 是绞窄性肠梗阻, 指除肠管梗阻外, 还出现肠壁的血运障碍. MDCT征象为: 肠壁对称变厚, 密度变高, 分布阶段性, 有分层征象, 增强扫描病变段肠壁强化不明显. 延迟扫描有缓慢强化征象; 肠系膜模糊积液; 有肠扭转时可见“鸟嘴征”与“漩涡征”; 肠壁, 门脉内积气、短期出现腹水; 肠系膜缺血, 水肿, 呈现“缆绳征”[13]; (6)其他原因肠梗阻: 像是肠扭转、肠套叠, 以及腹腔内邻近恶性肿瘤的累及浸润等. 一般会有原发灶, 较容易诊断.

本组病例显示: MDCT三维重建诊断肠梗阻病变部位符合率92%, 病因符合率95.83%, 说明MDCT三维重建对肠梗阻的病变部位和原因有较高的诊断价值, 能够为制定手术方案提供更为详细的信息, 最大限度地减少手术损伤, 减少剖腹探查, 保障手术安全. 但MDCT对于肠梗阻的诊断也有其局限性: 由于受到患者结肠内残留物、充气、移动等影响导致成像效果不佳, 有可能在诊断中出现假阳性或者假阴性结果[14]. 本组病例中有3例在病变部位和病因上出现误判. 另外, MDCT的三维重建的效果与操作者的经验有很大关系, 存在人为将病变排除在外或将非病变划入. 另外, MDCT的射线剂量大, 不宜重复检查.

本研究认为所有小肠梗阻患者入院后在病情允许的情况下可以首先胃管注入泛影葡胺两次, 观察造影剂是否在48 h内进入结肠且缓解, 以决定是否需要手术; 决定手术的在术前行MDCT三维重建, 以利于梗阻原因的了解和部位的确定. 为手术安全提供保障. 将口服泛影葡胺和MDCT三维重建联合, 序贯使用在肠梗阻的诊断和治疗过程中可以大大提高诊断和治疗的效率和效果, 做到及时、准确和经济最优化.

4 参考文献

1 钱礼. 腹部外科学. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 323
2 Losacco T, Santacroce L. [Treatment of bowel obstruction in our own experience]. *Clin Ter* 2005; 156: 89-92 [PMID: 16048027]
3 Napierkowski JJ, Maydonovitch CL, Belle LS, Brand WT, Holtzmuller KC. Wireless capsule endoscopy in a community gastroenterology practice. *J Clin Gastroenterol* 2005; 39: 36-41 [PMID: 15599208]
4 李可. 经胃管注入泛影葡胺治疗粘连性小肠不全梗阻. 基层医学论坛 2011; 9: 859-859
5 Choi HK, Law WL, Ho JW, Chu KW. Value of gastrografin in adhesive small bowel obstruction after unsuccessful conservative treatment: a prospective evaluation. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 3742-3745 [PMID: 15968731]
6 张毅, 侯勇, 侯昌映, 徐茂林, 潘雷. 泛影葡胺胃肠道造影在粘连性肠梗阻中的临床应用. 中国普外基础与临床杂志 2011; 5: 595-596
7 Yen CH, Chen JD, Tui CM, Chou YH, Lee CH, Chang CY, Yu C. Internal hernia: computed tomography diagnosis and differentiation from adhesive small bowel obstruction. *J Chin Med Assoc* 2005; 68: 21-28 [PMID: 15742859]
8 Chen SC, Lee CC, Hsu CY, Yen ZS, Fang CC, Ma MH, Chen WJ, Lai HS, Lee PH, Lin FY, Chen WJ. Progressive increase of bowel wall thickness is a reliable indicator for surgery in patients with adhesive small bowel obstruction. *Dis Colon Rectum* 2005; 48: 1764-1771 [PMID: 15991069]
9 Horton KM, Fishman EK. Multidetector-row computed tomography and 3-dimensional computed tomography imaging of small bowel neoplasms: current concept in diagnosis. *J Comput Assist Tomogr* 2004; 28: 106-116 [PMID: 14716243]
10 Iyer RB, Silverman PM, DuBrow RA, Charnsangavej C. Imaging in the diagnosis, staging, and follow-up of colorectal cancer. *AJR Am J Roentgenol* 2002; 179: 3-13 [PMID: 12076894]
11 Chung CC, Meng WC, Yu SC, Leung KL, Lau WY, Li AK. A prospective study on the use of water-soluble contrast follow-through radiology in the management of small bowel obstruction. *Aust N Z J Surg* 1996; 66: 598-601 [PMID: 8859158]
12 Farid M, Fikry A, El Nakeeb A, Fouda E, Elmetwally T, Yousef M, Omar W. Clinical impacts of oral gastrografin follow-through in adhesive small bowel obstruction (SBO). *J Surg Res* 2010; 162: 170-176 [PMID: 19524265 DOI: 10.1016/j.jss.2009.03.092]
13 刘静, 冯美意, 周志娟, 陈丽芸, 潘汝群. 结肠低张灌注法提高结肠癌CT成像质量的临床研究. 护理研究 2010; 18: 800-801
14 Holmdahl L, Risberg B. Adhesions: prevention and complications in general surgery. *Eur J Surg* 1997; 163: 169-174 [PMID: 9085057]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年6月28日; 22(18): 2637-2640
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

异丙酚联合瑞芬太尼与七氟醚麻醉方式的临床对比

金学勇, 李玉石

金学勇, 李玉石, 新疆生产建设兵团第二师库尔勒医院麻醉科 新疆维吾尔自治区库尔勒市 841000
金学勇, 副主任医师, 主要从事临床麻醉、疼痛治疗的研究.
作者贡献分布: 金学勇负责论文研究的设计、资料收集及撰写; 李玉石负责文章的资料收集与统计处理.
通讯作者: 金学勇, 副主任医师, 841000, 新疆库尔勒市交通西路, 新疆生产建设兵团第二师库尔勒医院麻醉科. tmnf624@126.com
收稿日期: 2014-03-24 修回日期: 2014-04-22
接受日期: 2014-05-26 在线出版日期: 2014-06-28

Anesthetic effect of propofol plus fentanyl *vs* sevoflurane

Xue-Yong Jin, Yu-Shi Li

Xue-Yong Jin, Yu-Shi Li, Department of Anesthesiology, the Xinjiang Production and Construction Corps Second Division Korla Hospital, Korla 841000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China
Correspondence to: Xue-Yong Jin, Associate Chief Physician, Department of Anesthesiology, the Xinjiang Production and Construction Corps Second Division Korla Hospital, Jiaotong West Road, Korla 841000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. tmnf624@126.com
Received: 2014-03-24 Revised: 2014-04-22
Accepted: 2014-05-26 Published online: 2014-06-28

Abstract

AIM: To compare the anesthetic effect of propofol plus fentanyl *vs* sevoflurane in gynecological laparoscopic operations and assess their effect on the digestive system and the patient's quality of life.

METHODS: One hundred and fifty-eight gynecologic patients who underwent elective laparoscopic operations at our hospital between June 2011 and June 2013 were randomly divided into two groups (n = 79 for each group): an observation group and a control group. The observation group was anesthetized with propofol combined with fentanyl, while the control group received sevoflurane for anesthesia. The anesthetic effect, adverse reactions of the digestive system, and the patient's quality of life were compared between the two groups.

RESULTS: The operations were successful in all the subjects. There was no significant difference in the anesthetic effect between the observation group and control group ($P > 0.05$). The number of patients who developed nausea and vomiting and their severity in the observation group were significantly lower than those in the control group ($P < 0.05$). The patient's quality of life was significantly better in the observation group than in the control group ($P < 0.05$).

CONCLUSION: Propofol combined with fentanyl in gynecological laparoscopic operations has better anesthetic effect and less impact on the digestive system and can therefore improve the quality of life of patients.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Anesthesia; Gynecological operation; Laparoscopy; Digestive system; Quality of life

Jin XY, Li YS. Anesthetic effect of propofol plus fentanyl *vs* sevoflurane. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(18): 2637-2640 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2637.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i18.2637

摘要

目的: 对两种妇科腹腔镜麻醉方式对患者消化系统及生活质量的影响进行比较, 寻求较佳的麻醉方式用于临床推广使用.

方法: 选取2011-06/2013-06于我院行腹腔镜择期手术的妇科患者158例为研究对象, 采用随机数字表法将其分为两组, 每组79例. 一组使用异丙酚联合瑞芬太尼进行麻醉, 为观察组; 一组使用七氟醚进行麻醉, 为对照组. 对两组研究对象麻醉效果、术后出现的消化系统不良反应及生活质量进行比较及统计学分析.

结果: 两组研究对象均顺利完成手术, 麻醉效果的比较中观察组略高于对照组, 但不具有显著差异性(P>0.05); 在对消化系统的影响比较中, 观察组出现恶心呕吐症状的病例数及程度均低于对照组, 且具有显著差异性(P<0.05); 在生活质量的比较中观察组优于对照组, 且具有显著差异性(P<0.05).

■背景资料
因妇科腹腔镜手术需要建立CO_2气腹增加腹部的压力, 导致胃肠道缺氧, 增加胃肠道的黏膜敏感性, 使得肠道血流灌注减少, 增加了缺血损伤的发生率, 进而导致机体多器官, 多系统的功能障碍, 临床表现为患者常出现恶心呕吐等典型的胃肠道反应. 异丙酚联合瑞芬太尼的麻醉方式应用于妇科腹腔镜手术的麻醉中, 在确保麻醉效果的基础上, 降低了恶心呕吐的发生率, 降低了手术对患者消化系统的影响, 从而改善了患者的生活质量, 具有重要的临床价值, 成为妇科腹腔镜手术最佳麻醉方式.

■同行评议者
唐文富, 副教授, 四川大学华西医院中西医结合科

■研发前沿
异丙酚联合瑞芬太尼麻醉用于妇科腹腔镜手术麻醉中能够有效降低恶心呕吐等胃肠道的不良反应. 有研究证实, 异丙酚联合瑞芬太尼麻醉能够改善胃肠道的血清变化, 进而改善腹腔手术对消化系统的影响, 具有重要的临床价值.

结论: 异丙酚联合瑞芬太尼麻醉用于妇科腹腔镜手术的麻醉中具有疗效显著, 对消化系统影响小等优势, 从而改善患者的生活质量, 具有重要的临床价值.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 麻醉方法; 妇科手术; 腹腔镜; 消化系统; 生活质量

核心提示: 异丙酚联合瑞芬太尼麻醉用于妇科腹腔镜手术的麻醉在确保麻醉效果的基础上, 减轻了药物对胃肠道的影响, 从而减少恶心呕吐等并发症发生, 进而改善患者的生活质量. 应用于临床具有重要的价值.

金学勇, 李玉石. 异丙酚联合瑞芬太尼与七氟醚麻醉方式的临床对比. 世界华人消化杂志 2014; 22(18): 2637-2640 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2637.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i18.2637

0 引言

随着微创技术的发展, 腹腔镜微创手术以其疗效显著、创伤小、安全性高等优势, 在临床广泛应用, 并得到了医患的认可. 但由于手术中使用的麻醉药物具有一定的不良反应, 常影响消化、呼吸及神经等系统的功能, 导致不良反应, 不仅给患者带来痛苦, 影响其生活质量, 而且还会麻醉的效果, 进而影响手术的成败[1]. 我院对异丙酚联合瑞芬太尼和七氟醚两种麻醉方式对妇科腹腔镜手术患者的消呼吸系统及生活质量的影响进行比较, 旨在需求安全有效的手术方式用于临床推广. 现将研究的过程及结果简介如下.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2011-06/2013-06于我院行腹腔镜择期手术的妇科患者158例为研究对象, 采用随机数字表法将其分为两组, 每组79例. 其基本临床资料如下: (1)观察组: 最小22岁, 最大68岁, 平均年龄42.6岁±12.5岁; 体质量40-68 kg, 平均体质量53.8 kg±4.9 kg; 手术方式: 子宫肌瘤切除术28例; 卵巢肿瘤剥除术32例; 异位妊娠病灶清除术19例; (2)对照组: 年龄22-68岁, 平均年龄42.6岁±12.5岁; 体质量最轻40 kg, 最重68 kg, 平均体质量53.8 kg±4.9 kg; 手术方式: 子宫肌瘤切除术30例; 卵巢肿瘤剥除术29例; 异位妊娠病灶清除术20例(表1). 所有研究对象术前均不伴有消化系统、免疫系统及内分泌系统疾病, 且自愿参与研究. 就年龄、体质量、手术方式等一般资料进行组间比较, 无显著差异性(P>0.05).

1.2 方法

1.2.1 术前准备: 所有研究对象均禁食12 h, 术前半小时肌肉给予0.5 mg阿托品注射液及0.1 g苯巴比妥钠注射液. 进入手术室后按常规建立静脉通道, 并予以静脉滴注300 mL的复方氯化钠溶液进行扩容治疗[2]. 术中按8 mL/(kg·h)静脉滴注复方氯化钠溶液. 术前静脉注射3 mg格拉司琼[3]. 取并按常规建立CO_2气腹, 气腹压维持在15 mmHg.

1.2.2 观察组麻醉: 观察组研究对象采用异丙酚联合瑞芬太尼进行麻醉, 麻醉前给予0.08 mg/kg的咪唑安定、2 μg/kg的瑞芬太尼、2 mg/kg的异丙酚及0.1 mg/kg的维库溴铵进行麻醉诱导. 按常规行气管插管, 连接麻醉机予以间歇性的正压通气. 按照前5 min按10 mg/(kg·h); 6-10 min按7 mg/(kg·h); 10 min后按4 mg/(kg·h)的剂量泵注给予异丙酚维持麻醉[4]. 分别于切皮前和术中每30 min追加1 μg/kg的瑞芬太尼. 若手术过程中患者出现麻醉浅的表现, 则按0.5 mg/kg的剂量静脉推注异丙酚, 同时增加异丙酚的泵注剂量[5].

1.2.3 对照组麻醉: 对照组研究对象采七氟醚进行麻醉, 麻醉诱导使用的药物及剂量与观察组一致, 参照操作. 诱导后以呼出浓度维持在1.5%的剂量, 吸入异氟醚维持麻醉[6]. 分别于切皮前和术中每30 min追加1 μg/kg的芬太尼. 若手术过程中患者出现麻醉浅的表现, 则将呼气末的七氟醚浓度增加0.5%. 手术过程中均分次给予适量的维库溴铵, 静脉推注给药以维持肌松. 麻醉过程中所有研究对象均进行血压、脉搏、心电图、氧饱和度、呼气末二氧化碳分压、麻醉气体吸入及呼出浓度等指标的监测[7]. 术后24 h内出现疼痛的患者可给予曲马多栓剂, 肛门给药, 无效时可肌注定量的强痛定进行止痛.

1.2.4 观察项目及标准: (1)麻醉效果: 分别对研究对象手术过程中麻醉浅、术中疼痛、追加药物等对麻醉的效果进行评价: 优秀: 未出现疼痛及麻醉浅表现; 良好: 出现轻微的疼痛或感知, 无需追加药物, 完成手术; 一般: 出现疼痛, 追加药物后完成手术; 无效: 追加药物后仍无法完成手术, 需更换麻醉方法; 麻醉效果: 有效率 = [(优秀+良好+一般)/研究病例数×100%]为比较内容[8]; (2)消化系统: 统计研究对象术后24 h内出现恶心

■相关报道
目前, 国内对妇科腹腔镜手术麻醉方式的研究较多, 研究均证实异丙酚联合瑞芬太尼麻醉的麻醉效果及安全性较好, 且能改善因CO_2气腹对消化系统的影响, 具有重要的临床价值.

表 1 两组研究对象手术对比 (n = 79)

分组	子宫肌瘤切除术	卵巢肿瘤剥除术	异位妊娠病灶清除术
观察组	28	32	19
对照组	30	29	20

表 2 两组研究对象麻醉效果比较 (n = 79)

分组	优秀	良好	一般	无效	优良率(%)	有效率(%)
观察组	28	32	16	3	75.9	96.2
对照组	22	28	24	5	63.3	93.8

表 3 两组研究对象消化系统影响情况比较 (n = 79)

分组	1级	2级	3级	4级	发生率(%)
观察组	67	5	5	2	15.2
对照组	61	2	6	10	22.8

表 4 两组研究对象临床疗效比较 (n = 79)

分组	血压下降	牵拉反应	低血压综合征	术后疼痛	发生率(%)
观察组	3	2	3	8	20.3
对照组	5	4	4	11	30.4

■**创新盘点**
在妇科腹腔镜手术中使用异丙酚联合瑞芬太尼麻醉, 在常规对麻醉效果及安全性研究的基础上, 对麻醉对患者消化系统及生活质量的影响进行比较, 更加科学、合理、有效地证实异丙酚联合瑞芬太尼麻醉用于妇科腹腔镜手术中的临床价值, 为临床推广使用提供依据.

呕吐的病例数及程度, 作为药物对消化系统影响的评价内容. 按照WHO的标准对恶心呕吐进行分级: 1级: 未出现恶心呕吐症状; 2级: 出现轻微的恶心和腹部不适等症状, 不伴有呕吐; 3级: 同时出现恶心呕吐等症状, 但未吐出胃内容物; 4级: 出现严重的呕吐, 呕出胃液等胃内容物, 且不经药物治疗无法好转. 恶心呕吐发生率 = 发生病例/研究病例数×100%[9]; (3)生活质量: 对患者出现的血压下降、牵拉反应、仰卧位低血压综合征及术后疼痛等进行统计, 作为生活质量的评价内容. 发生率越低, 生活质量越高[10].

统计学处理 由专人收集数据并录入SPSS19.0软件进行统计处理, 研究数据以mean±SD表示, 组间数据比较采用方差分析(F). 采用χ^2检验. P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 麻醉效果 两组研究对象均顺利完成手术, 麻醉效果的比较中观察组略高于对照组, 但不具有显著差异性(P>0.05), 但在麻醉优良率的比较中, 观察组优于对照组, 且具有显著差异性(P<0.05)(表2).

2.2 消化系统 在对消化系统的影响比较中, 观察组出现恶心呕吐症状的病例数及程度均低于对照组, 且具有显著差异性(P<0.05), 由此证实观察组麻醉方法对患者的消化系统影响较小(表3).

2.3 生活质量 对患者出现的血压下降、牵拉反应、仰卧位低血压综合征及术后疼痛等进行统计以评价麻醉对其生活质量的影响. 在生活质量的比较中观察组优于对照组, 且具有显著差异性(P<0.05)(表4).

3 讨论

消化系统是接受食物、吸收营养的重要系统, 也是人体最大的系统, 维持着人体的各项基本功能. 在病理状态下, 消化系统的重要器官胃肠道的黏膜敏感性较高, 其血流灌注减少, 增加了缺血损伤的发生率, 进而导致机体多器官、多系统的功能障碍, 导致不良预后[11]. 因此临床麻醉及治疗方法对消化系统功能的影响, 不仅直接影响临床疗效, 而且还会影响患者的生活质量及治疗依从性, 甚至会导致疾病恶化[12]. 因此对患者消化系统功能的影响成为评价妇科麻醉方式选择的重要指标, 应引起临床和研究的重视.

随着腹腔镜微创手术技术的发展, 其在妇科疾病治疗中的应用越来越多, 临床研究证实, 腹腔镜手术因需建立CO_2气腹, 对患者的消化系统有着直接的影响, 临床表现为患者常出现恶心呕吐等典型的胃肠道反应[13]. 近年来, 临床将异丙酚联合瑞芬太尼的麻醉方式用于妇科腹腔镜手术的麻醉中, 在确保麻醉效果的基础上, 降低了恶心呕吐的发生率, 降低了手术对患者消化系统的影响, 从而改善了患者的生活质量, 具有重要的临床价值[14]. 虽然临床研究对异丙酚的镇吐作用机制尚未得出明确的结论, 但研究数据已证实丙酚联合瑞芬太尼用于妇科腹腔镜手术麻醉中能够改善治疗对患者消化系统的影响[15].

我院以腹腔镜择期手术的妇科患者为研究对象, 分别采用异丙酚联合瑞芬太尼和七氟醚两种麻醉方法进行麻醉, 对其麻醉效果、消化系统影响及生活质量等进行比较, 旨在寻求最佳的麻醉方式用于临床推广使用. 研究结果证实, 异丙酚联合瑞芬太尼麻醉组的麻醉效果优于七氟醚组, 但无显著差异性(P>0.05), 而麻醉优良率的比较中, 异丙酚联合瑞芬太尼优于七氟醚组, 且具有显著差异性(P<0.05). 在异丙

■**应用要点**
将异丙酚联合瑞芬太尼麻醉方式用于妇科腹腔镜手术麻醉中的麻醉效果、对消化系统的影响等与七氟醚麻醉进行对比.

■同行评价

异丙酚联合瑞芬太尼麻醉用于妇科腹腔镜手术麻醉的临床价值已得到临床的广泛认可, 但由于妇科腹腔镜手术治疗的疾病繁多, 患者身体素质各异, 异丙酚联合瑞芬太尼麻醉对消化系统的影响机制还有但研究等问题, 使得对异丙酚联合瑞芬太尼麻醉用于妇科腹腔镜手术麻醉的临床价值更具有可行性和必要性.

酚联合瑞芬太尼组出现恶心呕吐症状的病例数及程度均低于七氟醚组, 且具有显著差异性(P<0.05), 由此证实异丙酚联合瑞芬太尼麻醉方法对患者的消化系统影响较小. 就其他并发症发生率比较以衡量麻醉方法对生活质量的影响, 异丙酚联合瑞芬太尼麻醉仍具有显著优势. 由此证实, 异丙酚联合瑞芬太尼麻醉具有较好的麻醉效果, 对患者消化系统及生活质量的影响相对较小, 应用于妇科腹腔镜手术中具有重要的价值.

总之, 异丙酚联合瑞芬太尼麻醉用于妇科腹腔镜手术的麻醉中具有疗效显著, 对消化系统影响小等优势, 从而改善患者的生活质量, 具有重要的临床价值.

4 参考文献

1 宋瑞凤, 程桥, 田首元, 王建华. 不同全身麻醉方式对老年消化道肿瘤患者手术后早期认知功能的影响. 中国药物与临床 2012; 22: 426-428
2 孟庆贤. 低剂量布比卡因联合芬太尼与布比卡因在剖宫产术中麻醉效果的比较. 中国医疗前沿 2011; 24: 233-235
3 何三江. 七氟烷麻醉在妇科腹腔镜手术中的临床应用效果观察. 中国保健营养•上旬刊 2014; 21: 126-128
4 钟爱彬. 硬膜外阻滞复合静脉全麻在腹腔镜辅助阴式子宫全切术中的应用. 中国现代药物应用 2010; 4: 632-635
5 Bax C, de Jong M, Koppenjan J. Implementing evidence-based policy in a network setting: road safety policy in the Netherlands. *Public Adm* 2010; 88: 871-884 [PMID: 20925155]
6 姜慧萍, 陆美英, 张琦. 不同麻醉方式对宫外孕腹腔镜手术患者排尿功能影响的研究. 全科医学临床与教育 2011; 22: 322-323
7 Tonelli SM, Donham KJ, Leedom-Larson K, Sanderson W, Purschwitz M. Retrofitting tractors with rollover protective structures: perspective of equipment dealers. *J Agric Saf Health* 2009; 15: 365-375 [PMID: 19967910]
8 尚利伟. 曲马多与芬太尼静脉复合麻醉的效果比较分析. 医药论坛杂志 2012; 33: 92-95
9 马双成, 李艳琴. 两种麻醉方式在妇科腹腔镜手术中的效果观察. 医学理论与实践 2012; 25: 465-468
10 张立冬. 硬膜外阻滞复合静脉全麻在腹腔镜辅助阴式子宫全切术中的应用. 辽宁医学杂志 2012; 28: 232-235
11 杨艳辉. 2种麻醉方法在妇科腹腔镜手术中胃肠道保护作用的比较. 现代中西医结合杂志 2013; 22: 2592-2594
12 秦文燕. 妇科全麻腹腔镜手术患者术后麻醉恢复期躁动的影响分析. 中国保健营养•上旬刊 2013; 23: 566-568
13 胡兵. 妇科腹腔镜手术两种麻醉方式对比研究. 医药前沿 2013; 20: 194-195
14 耿一博. 昂丹司琼预防妇科腹腔镜手术恶心呕吐的Meta分析. 国际麻醉学与复苏杂志 2013; 34: 363-365
15 满忠, 袁瑞侠, 高志秋, 王厚清. 两种麻醉方法对妇科腹腔镜手术患者应激反应的影响. 腹腔镜外科杂志 2010; 21: 136-139

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年6月28日; 22(18): 2641-2644
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

复方枸橼酸阿尔维林治疗功能性腹痛综合征的疗效

刘 宁, 练海燕, 郭伟强, 潘美云

刘宁, 练海燕, 郭伟强, 潘美云, 柳州市人民医院消化内科 广西壮族自治区柳州市 545006
刘宁, 主治医师, 主要从事消化系统疾病的临床与内镜诊治工作.
作者贡献分布: 此课题由刘宁设计; 研究过程由刘宁、郭伟强及潘美云共同完成; 练海燕对此研究提供指导、技术支持; 数据分析、论文写作由刘宁完成.
通讯作者: 刘宁, 主治医师, 545006, 广西壮族自治区柳州市城中区文昌路8号, 柳州市人民医院消化内科.
october001@163.com
电话: 0772-2662769
收稿日期: 2014-03-14 修回日期: 2014-04-30
接受日期: 2014-05-06 在线出版日期: 2014-06-28

Clinical efficacy of compound alverine citrate in treatment of functional abdominal pain syndrome

Ning Liu, Hai-Yan Lian, Wei-Qiang Guo, Mei-Yun Pan

Ning Liu, Hai-Yan Lian, Wei-Qiang Guo, Mei-Yun Pan, Department of Gastroenterology, Liuzhou People's Hospital, Liuzhou 545006, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China
Correspondence to: Ning Liu, Attending Physician, Department of Gastroenterology, Liuzhou People's Hospital, 8 Wenchang Road, Chengzhong District, Liuzhou 545006, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. october001@163.com
Received: 2014-03-14 **Revised:** 2014-04-30
Accepted: 2014-05-06 **Published online:** 2014-06-28

Abstract

AIM: To investigate the efficacy, cost-effectiveness and adverse reactions of compound alverine citrate in treating patients with functional abdominal pain syndrome (FAPS).

METHODS: Eighty-two patients with FAPS were randomized into a study group and a control group to receive compound alverine citrate soft capsules and trimebutine maleate, respectively, for 6 wk. The efficacy, cost-effectiveness ratio and adverse reactions were compared between the two groups.

RESULTS: The overall response rate in the study group was superior to that in the control group (75.76% *vs* 30.00%, $P < 0.01$). The abdominal pain score in the study group was decreased significantly compared with pretreatment value ($P < 0.01$). The abdominal pain score in the study group was significantly lower than that in the control group ($P < 0.05$). No adverse reactions were found in this study.

CONCLUSION: Compound alverine citrate is effective in treating FAPS patients with few adverse reactions.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Compound alverine citrate; Functional abdominal pain syndrome; Cost-effectiveness; Adverse reactions

Liu N, Lian HY, Guo WQ, Pan MY. Clinical efficacy of compound alverine citrate in treatment of functional abdominal pain syndrome. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(18): 2641-2644 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2641.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i18.2641

摘要

目的: 观察复方枸橼酸阿尔韦林治疗功能性腹痛综合征(functional abdominal pain syndrome, FAPS)的疗效、费用和不良反应.

方法: 67例功能性腹痛综合征患者随机分为两组, 分别口服复方枸橼酸阿尔韦林软胶囊、马来酸曲美布汀分散片治疗, 共6 wk, 评价疗效、费用-效益比(C/E)及药物不良反应.

结果: 研究组治疗总有效率明显优于对照组, 分别为75.76%和30.00%($P<0.01$). 研究组腹痛评分较治疗前显著下降($P<0.01$), 且显著低于对照组治疗后评分($P<0.05$). 两组患者均未发现严重不良反应.

结论: 复方枸橼酸阿尔韦林治疗功能性腹痛综合征疗效显著且不良反应发生率低.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 复方枸橼酸阿尔韦林; 功能性腹痛; 费用-

■背景资料
功能性腹痛综合征(functional abdominal pain syndrome, FAPS)是以腹痛为主要临床表现的功能性胃肠病, 在消化内科临床工作中时常遇到, 常常治疗效果差, 患者多次、反复就诊, 花费大量医疗资源. 临床予复方枸橼酸阿尔韦林治疗该病的临床研究目前尚较少.

■同行评议者
刘克辛, 教授, 大连医科大学临床药理学教研室

■研发前沿
当前缓解症状是FAPS的主要治疗目标, 故探索个性化和选择更针对病理生理学发病机制的治疗策略是临床治疗学研究的重点之一. 功能性胃肠病新罗马Ⅲ亚型分类为临床药物治疗提供新的思路. 复方枸橼酸阿尔韦林通过调节肠道的基础和刺激运动、减少5-HT对内脏的早期痛觉作用来缓解腹痛症状.

■相关报道
Bueno的一项大鼠模型动物实验表明阿尔维林和二甲硅油联合能有效改善直肠扩张应激引起的内脏高敏感性. 钟英强、袁耀宗分别用复方枸橼酸阿尔韦林软胶囊和曲美布汀治疗肠易激综合征均取得理想疗效. 在2010年《肠易激综合征亚洲共识》中复方枸橼酸阿尔韦林被推荐为一线选择.

效益; 药物不良反应

核心提示: 复方枸橼酸阿尔韦林治疗功能性腹痛综合征(functional abdominal pain syndrome)疗效显著且不良反应发生率低.

刘宁, 练海燕, 郭伟强, 潘美云. 复方枸橼酸阿尔维林治疗功能性腹痛综合征的疗效. 世界华人消化杂志 2014; 22(18): 2641-2644
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2641.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i18.2641

0 引言

功能性腹痛综合征(functional abdominal pain syndrome, FAPS)是以持续或近乎持续的腹痛为主要临床表现的功能性胃肠病(functional gastrointestinal disorders, FGIDs)[1], 我国不明原因腹痛的重要原因之一. FAPS的病因和发病机制至今尚未完全明确, 治疗上主要是以缓解症状为主的个体化治疗, 往往治疗周期长、症状反复、治疗效果不理想. 以复方枸橼酸阿尔韦林治疗FAPS的随机对照临床研究目前尚较少, 本研究旨在观察该制剂治疗功能性腹痛综合征的疗效、费用和不良反应, 并予马来酸曲美布汀进行比较.

1 材料和方法

1.1 材料 选择2013-03/2014-01于柳州市人民医院消化内科门诊就诊的患者67例, 年龄16-60岁; 功能性腹痛综合征诊断符合罗马Ⅲ标准[1], 均完善胃肠镜、胶囊内镜或小肠钡餐检查排除胃肠道器质性疾病; 无心血管、肝、肾、脑、造血系统等严重原发病, 无恶性肿瘤、精神或严重神经症; 无枸橼酸阿尔韦林、西甲硅油和马来酸曲美布汀过敏史; 非妊娠或哺乳期妇女; 患者书面知情同意. 剔除依从性差、不按医嘱服药、使用其他影响疗效判断的药物、拒绝继续服药及服药期间出现严重药物不良反应的病例.

1.2 方法

1.2.1 研究设计: 随机分入研究组和对照组. 研究组36例, 男15例, 女21例, 男女性别比: 1∶1.4, 年龄25-57岁, 平均34.4岁±7.4岁, 其中有3例未复诊而失访, 完成研究者33例; 对照组31例, 男12例, 女19例, 男女性别比: 1∶1.58, 年龄20-59岁, 平均32.6岁±8.2岁, 其中有1例未复诊而失访, 完成研究者30例. 研究组口服复方枸橼酸阿尔韦林软胶囊(商品名: 乐健素, 法国优德制药厂, 每粒胶囊含枸橼酸阿尔韦林60 mg, 西甲硅油300 mg, 进口药品注册证号: JX20090207)1粒, *tid*, 共6 wk. 对照组口服马来酸曲美布汀分散片(商品名: 尼为孚, 浙江昂利康制药有限公司, 100 mg/片, 国药准字: H20040882)200 mg, *tid*, 共6 wk. 分别观察比较两组治疗2及6 wk末的疗效.

1.2.2 观察指标: 腹痛程度采用0-10数字分级法评分, 0为无疼痛(0分), 1-3为轻度疼痛(1分), 4-6为中度疼痛(2分), 7-10为重度疼痛(3分); 每周发作次数为0、<3、3-4和≥5次分别评为0、1、2、3分; 每周累计腹痛时间为0、1-2和≥3 d分别评为0、1、2、3分; 疼痛范围为0、1、2、3和>3个部位分别评为0、1、2、3分. 以上4项评分之和为腹痛积分.

1.2.3 疗效评价标准: 腹痛症状疗效分为缓解、有效、进步和无效. 缓解: 用药后症状消失, 症状积分为0; 有效: 症状明显减轻, 症状积分较用药前下降≥70%, <100%; 进步: 症状有所减轻, 症状积分较用药前下降≥30%, <70%; 无效: 症状较服药前无明显减轻, 症状积分较用药前下降<30%. 总有效率 = 缓解率+有效率.

1.2.4 药物经济学分析: 比较两组药物费用, 以药物经济学方法计算费用-效益比(C/E). C/E = 6 wk总费用(元)/总疗效(%).

统计学处理 采用SPSS13.0软件包进行数据处理. 计量资料以mean±SD表示, 两组间比较采用*t*检验; 计数资料以率或比值表示, 组间比较采用χ^2检验. $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 腹痛症状评分 两组治疗前腹痛程度评分无明显差异; 治疗第6周末, 研究组腹痛评分较治疗前显著下降($P<0.01$), 且显著低于对照组治疗后评分($P<0.01$); 对照组较治疗前腹痛评分无明显差异(表1).

表 1 研究组和对照组治疗前后腹痛症状评分比较 (mean ± SD)

分组	*n*	腹痛积分	*P*值
研究组			<0.01
治疗前	36	10.56 ± 1.07	
治疗后	33	3.26 ± 0.42[b]	
对照组			>0.05
治疗前	31	10.20 ± 0.94	
治疗后	30	8.52 ± 0.79	

[b]$P<0.01$ *vs* 对照组治疗后.

表 2 研究组和对照组疗效比较

分组	*n*	缓解(*n*)	有效(*n*)	进步(*n*)	无效(*n*)	总有效率(%)
研究组	33	10	15	5	3	75.76[a]
对照组	30	5	4	16	5	30.00

[a]*P*<0.05 *vs* 对照组.

2.2 *疗效分析* 治疗第6周末研究组疗效显著优于对照组(*P*<0.05)(表2).

2.3 *药物经济学分析* 复方枸橼酸阿尔韦林软胶囊价格为6.50元/粒, 马来酸曲美布汀分散片价格为0.96元/片. 研究组和对照组6 wk总费用分别为819.00元/例和241.92元/例. 以药物经济学方法计算C-E比得出研究组和对照组C/E值分别为10.81和8.06, 表明研究组与对照组相比并无C-E优势.

2.4 *药物不良反应* 研究组出现便秘1例, 对照组出现口干、头晕各1例; 均无严重不良反应出现. 以上不良反应病例均较轻微, 对日常生活、工作无影响, 并坚持至疗程结束, 停药后上述症状自行消失.

3 讨论

FAPS是一种少见的功能性胃肠病, 患者腹痛程度较重, 部位多不固定, 与进食、排便等生理活动不相关, 常合并焦虑、抑郁等心理精神问题, 明显影响患者的日常活动[2]. 近年来随着相关学科的进展, 如神经胃肠病学、功能性影像学、心理学以及受体药物学的新发现, 人们对FAPS的认识已提高到一个新的层次, 目前认为其发病机制复杂, 涉及脑-肠轴的多个层面, 可能与内脏高敏感、中枢神经系统认知和处理异常、精神心理因素等有关[3-6]. 当前缓解症状是FAPS的主要治疗目标, 故探索个性化和选择更针对病理生理学发病机制的治疗策略是FAPS临床治疗学研究的重点之一[7]. FGIDs的新罗马III亚型分类利用症状特征对病理生理学环节的提示作用, 为临床医生选择更个性化和合理的治疗药物提供新的思路[8,9].

复方枸橼酸阿尔韦林软胶囊含有枸橼酸阿尔维林(一种源于罂粟碱的活性物质)和西甲硅油(含有二氧化硅的二甲硅油). 在欧洲, 复方枸橼酸阿尔韦林软胶囊(乐健素, ACS)用于治疗功能性肠道紊乱相关疾病已有20多年的用药经验, 其成分中的枸橼酸阿尔维林通过调节钙离子通道来影响肠道的基础和刺激运动, 还能与5-HT1A受体结合发挥5-HT拮抗剂的作用, 以减少5-HT对内脏早期痛觉的作用[10], 二甲硅油可改变消化系中存在食糜和黏液内的气泡的表面张力, 使之分解释放已被肠壁吸收, 并通过肠蠕动排出, 有效缓解由胃肠道聚集过多气体而引起的不适, 如腹胀. 一项大鼠模型的动物实验表明阿尔维林和二甲硅油联合能有效改善直肠扩张应激引起的内脏高敏感性[11]. 马来酸曲美布汀是一种胃肠道运动节律调节剂, 对消化系的运动有兴奋和抑制双向调节作用[12]. 复方枸橼酸阿尔韦林软胶囊和曲美布汀在治疗肠易激综合征中均取得理想疗效[13-15], 并在2010年《肠易激综合征亚洲共识》中推荐为一线选择[16]. 本研究结果显示, 复方枸橼酸阿尔韦林软胶囊对FAPS腹痛症状的疗效显著, 且明显优于马来酸曲美布汀. 两种药物不良反应发生率无明显差异且程度轻微, 耐受性均良好. 本研究仅基于复方枸橼酸阿尔维林调节肠道运动及降低内脏高敏感性理论, 但考虑到FAPS发病机制复杂其常合并心理精神问题, 目前未见到该药治疗FAPS的大规模、多中心、随机、双盲研究, 故复方枸橼酸阿尔韦林在FAPS治疗中的地位仍需大量且长时间的临床观察.

总之, 本研究显示复方枸橼酸阿尔韦林治疗FAPS总有效率令人满意, 为FAPS的临床治疗提供了一种安全、有效的选择.

4 参考文献

1 Drossman DA. The functional gastrointestinal disorders and the Rome III process. *Gastroenterology* 2006; 130: 1377-1390 [PMID: 16678553 DOI: 10.1053/j.gastro.2006.03.008]

2 廖常奎, 王佩秋. 功能性胃肠病的腹痛分型、鉴别诊断与罗马 Ⅲ 诊断标准的应用. 世界华人消化杂志 2008; 16: 675-679

3 Sperber AD, Drossman DA. Review article: the functional abdominal pain syndrome. *Aliment Pharmacol Ther* 2011; 33: 514-524 [PMID: 21204888 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2010.04561.x]

4 侯渊涛, 方秀才. 功能性腹痛综合征发病机制研究进展. 中华临床医师杂志(电子版) 2013; 7: 1178-1180

5 Devanarayana NM, Rajindrajith S, Rathnamalala

■创新盘点

功能性胃肠病临床治疗的报道中多是针对功能性消化不良及肠易激综合征, 功能性腹痛综合征临床治疗的文章较少, 且复方枸橼酸阿尔韦林在国内用药经验报道少见. 本研究介绍了方枸橼酸阿尔韦林治疗功能性腹痛综合征的临床经验, 有一定的临床意义.

■应用要点

本研究显示复方枸橼酸阿尔韦林治疗FAPS总有效率令人满意, 为该病的临床治疗提供了一种安全、有效的选择.

■同行评价
本文疗效分析、症状评分以及药物经济学分析得当，具有一定临床指导意义.

N, Samaraweera S, Benninga MA. Delayed gastric emptying rates and impaired antral motility in children fulfilling Rome III criteria for functional abdominal pain. *Neurogastroenterol Motil* 2012; 24: 420-425, e207 [PMID: 22273006 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2011.01871.x]

6 崔立红, 彭丽华, 杨云生. 功能性胃肠病发病机制的研究进展. 胃肠病学和肝病学杂志 2013; 22: 488-491

7 Oshima T, Miwa H. Treatment of functional dyspepsia: where to go and what to do. *J Gastroenterol* 2006; 41: 718-719 [PMID: 16933015 DOI: 10.1007/s00535-006-1865-3]

8 Tack J, Talley NJ, Camilleri M, Holtmann G, Hu P, Malagelada JR, Stanghellini V. Functional gastroduodenal disorders. *Gastroenterology* 2006; 130: 1466-1479 [PMID: 16678560 DOI: 10.1053/j.gastro.2005.11.059]

9 Suzuki H, Nishizawa T, Hibi T. Therapeutic strategies for functional dyspepsia and the introduction of the Rome III classification. *J Gastroenterol* 2006; 41: 513-523 [PMID: 16868798 DOI: 10.1007/s00535-006-1847-5]

10 Grundy D, Al-Chaer ED, Aziz Q, Collins SM, Ke M, Taché Y, Wood JD. Fundamentals of neurogastroenterology: basic science. *Gastroenterology* 2006; 130: 1391-1411 [PMID: 16678554 DOI: 10.1053/j.gastro.2005.11.060]

11 Bueno L, Beaufrand C, Theodorou V, Andro-Delestrain MC. Influence of simethicone and alverine on stress-induced alterations of colonic permeability and sensitivity in rats: beneficial effect of their association. *J Pharm Pharmacol* 2013; 65: 567-573 [PMID: 23488786 DOI: 10.1111/jphp.12021]

12 Thompson WG, Longstreth GF, Drossman DA, Heaton KW, Irvine EJ, Müller-Lissner SA. Functional bowel disorders and functional abdominal pain. *Gut* 1999; 45 Suppl 2: II43-II47 [PMID: 10457044 DOI: 10.1136/gut.45.2008.ii43]

13 钟英强, 刘娟, 李山山, 曾志勇. 复方枸橼酸阿尔维林治疗腹泻型肠易激综合征的随机对照临床研究. 胃肠病学 2009; 14: 324-327

14 袁耀宗, 许斌, 莫剑忠, 王吉耀, 李兆申. 马来酸曲美布汀治疗肠易激综合征的疗效和安全性研究. 胃肠病学 2005; 10: 143-147

15 Ducrotte P, Grimaud JC, Dapoigny M, Personnic S, O'Mahony V, Andro-Delestrain MC. On-demand treatment with alverine citrate/simeticone compared with standard treatments for irritable bowel syndrome: results of a randomised pragmatic study. *Int J Clin Pract* 2014; 68: 245-254 [PMID: 24147869 DOI: 10.1111/ijcp.12333]

16 Gwee KA, Bak YT, Ghoshal UC, Gonlachanvit S, Lee OY, Fock KM, Chua AS, Lu CL, Goh KL, Kositchaiwat C, Makharia G, Park HJ, Chang FY, Fukudo S, Choi MG, Bhatia S, Ke M, Hou X, Hongo M. Asian consensus on irritable bowel syndrome. *J Gastroenterol Hepatol* 2010; 25: 1189-1205 [PMID: 20594245 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2010.06353.x]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年6月28日; 22(18): 2645-2649
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

肛管直肠恶性黑色素瘤25例

邓昌林, 周淑蓉, 谢 明, 邹文俊, 许 辉

邓昌林, 周淑蓉, 邹文俊, 许辉, 中国人民解放军第四二二医院普外科 广东省湛江市 524005
谢明, 中国人民解放军第四二二医院病理科 广东省湛江市 524005
邓昌林, 主治医师, 主要从事腹部外科和腹部肿瘤的研究.
作者贡献分布: 此课题设计、数据分析及论文写作均由邓昌林独立完成; 研究资金及课题指导由许辉提供; 研究所用试剂与病理图片由谢明提供; 研究过程由邓昌林、周淑蓉、谢明、邹文俊及许辉共同完成.
通讯作者: 许辉, 主任医师, 524005, 广东省湛江市海滨三路40号, 中国人民解放军第四二二医院普外科. xuhui6862@163.com
收稿日期: 2014-03-25 修回日期: 2014-04-20
接受日期: 2014-04-28 在线出版日期: 2014-06-28

Anorectal malignant melanoma: Analysis of 25 cases

Chang-Lin Deng, Shu-Rong Zhou, Ming Xie, Wen-Jun Zou, Hui Xu

Chang-Lin Deng, Shu-Rong Zhou, Wen-Jun Zou, Hui Xu, Department of General Surgery, 422nd Hospital of PLA, Zhanjiang 524005, Guangdong Province, China
Ming Xie, Department of Pathology, 422nd Hospital of PLA, Zhanjiang 524005, Guangdong Province, China
Correspondence to: Hui Xu, Chief Physician, Department of General Surgery, 422nd Hospital of PLA, 40 Haibin San Road, Zhanjiang 524005, Guangdong Province, China. xuhui6862@163.com
Received: 2014-03-25 Revised: 2014-04-20
Accepted: 2014-04-28 Published online: 2014-06-28

Abstract

AIM: To investigate the clinical features, diagnosis, treatment and prognosis of anorectal malignant melanoma (ARMM).

METHODS: Clinical records of 25 patients diagnosed with ARMM between January 2000 and August 2010 were reviewed, and the major clinical features, treatment modalities and outcomes were analyzed.

RESULTS: ARMM was associated with a high misdiagnosis rate because of nonspecific symptoms, and of all the patients, 18 (72%) were misdiagnosed with polyposis or haemorrhoids at other hospitals. Pathologic examination and specific immunohistochemical markers HMB45, S-100, and Vimentin were helpful in the differential diagnosis of ARMM. The 1- and 3-year survival rates were 52% and 20%, respectively. The survival was related to clinical stage and the depth of invasion ($P < 0.05$), but not with sex, age, tumor size, operation mode or chemotherapy ($P > 0.05$).

CONCLUSION: The primary treatment for rectal ARMM is surgery, and the type of treatment is not correlated with survival. Clinical stage and the depth of invasion are the main factors affecting survival. Early diagnosis and treatment are crucial to improve the prognosis of these patients.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Anorectal malignant melanoma; Prognostic factors; Surgical management

Deng CL, Zhou SR, Xie M, Zou WJ, Xu H. Anorectal malignant melanoma: Analysis of 25 cases. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(18): 2645-2649 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2645.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i18.2645

摘要

目的: 探讨肛管直肠恶性黑色素瘤的临床特点、诊断治疗方法与预后的关系.

方法: 选择2000-01/2010-08我院收治的肛管直肠恶性黑色素瘤25例的临床资料、诊疗方法及结果进行回顾性分析.

结果: 肛管直肠恶性黑色素瘤的临床表现无特异性, 误诊率高, 18例患者在外院被误诊为痔疮或息肉, 误诊率达72%; 病理检查及特异性免疫标记蛋白HMB45、S-100、Vimentin等有助于鉴别诊断; 肿瘤患者1和3年生存率分别为52%和20%; 肿瘤患者1年生存率和3年生存率与临床分期、肿瘤浸润深度相关($P<0.05$), 而与患者性别、年龄、肿瘤大小、手术方式和术后是否化疗均不相关.

结论: 手术切除仍是肛门直肠黑色素瘤治疗

■**背景资料**
肛管直肠恶性黑色素瘤是一种罕见的肿瘤, 有报道其手术治疗后的5年生存率仅为6%-15%. 因此肿瘤的早期诊断十分必要. 国内对该疾病的报道较少. 因此, 正确认识肛管直肠恶性黑色素瘤的临床诊断和治疗特点有助于提高肛管直肠恶性黑色素瘤的诊治水平.

■**同行评议者**
顾国利, 副主任医师, 空军总医院普通外科

■研发前沿
研究从传统的临床手段丰富到临床与病理组织学结合，并且从分子病理学方面提供重要研究手段，为肿瘤患者的早期诊断提供可靠依据.

的第一选择，预后与治疗方式无关，肿瘤临床分期、浸润深度是影响预后的重要因素，提高生存率的关键是早期发现、早期治疗.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 肛管直肠恶性黑色素瘤; 预后因素; 手术治疗

核心提示: 肛管直肠恶性黑色素瘤是一种恶性程度很高并且罕见的肿瘤，目前国内对其研究手段大多集中于临床方面，而诊断手段多集中于血清学、影像学检查，而分子病理学的应用为其研究方向提供了新的途径.

邓昌林, 周淑蓉, 谢明, 邹文俊, 许辉. 肛管直肠恶性黑色素瘤25例. 世界华人消化杂志 2014; 22(18): 2645-2649 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2645.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i18.2645

0 引言

肛管直肠恶性黑色素瘤(anorectal malignant melanoma, ARMM)是一种极为少见的恶性肿瘤[1], 恶性程度高、生长速度快、容易复发和转移, 预后极差. 在大多数情况下, 当患者被诊断患有肛管直肠恶性黑色素瘤时多数已经存在局部浸润或远处转移, 并且其对放、化疗不敏感[2], 治疗方法的选择有限. 目前, 手术治疗仍然是主要的临床治疗方法, 腹会阴联合切除术(abdominoperimeal resection, APR)和局部广泛切除术(wide local resection, WLE)为最常用的方法. 关于这两种手术方式的选择, 长期以来, 一直存在争议[3]. 现将我院2000-01/2010-08收治的25例肛管直肠恶性黑色素瘤患者的临床资料结合文献进行回顾性分析, 探讨其生物学特性、临床表现、诊断、治疗及预后关系.

1 材料和方法

1.1 材料 收集2000-01/2010-08中国人民解放军第四二二医院普外科收治的肛管直肠恶性黑色素瘤患者25例, 回顾分析其临床特征, 诊断、治疗及结果. 其中男性14例, 女性11例; 年龄38-65岁(中位年龄51岁); 肿瘤直径1.2-6.5 cm(中位直径约为3.2 cm); 临床Ⅰ期的病例12例, Ⅱ-Ⅲ期的病例13例; 术后病理提示肿瘤局限于黏膜、黏膜下层11例, 侵及肌层11例、外膜3例; 肿瘤患者采用腹会阴联合切除术17例, 局部扩大切除术8例; 术后进行化疗的14例, 未进行化疗的11例.

1.2 方法

1.2.1 治疗: 25例肛管直肠恶性黑色素瘤患者的病史被重新复习, 所有病例均行病理HE染色和免疫组织化学染色, HMB-45、S-100、Vimentin等免疫组织化学蛋白检测结果判定: 阳性细胞表现为细胞质内出现棕黄色颗粒, 瘤细胞无棕色颗粒者为阴性, 相应的所有病理切片由两名病理科医师复查. 临床分期根据Ballo分期法: Ⅰ期, 病灶局限于肛管直肠; Ⅱ期, 腹股沟或盆腔淋巴结转移; Ⅲ期, 远处转移. 分析的内容包括: (1)发病年龄与性别构成; (2)首发症状和误诊率; (3)治疗方式; (4)肿瘤的病理: 包括肿瘤大小、浸润深度、淋巴结转移、脉管/神经侵犯等. 手术方式选择: 肿瘤局限于黏膜层及黏膜下层以内的选择保留括约肌的局部切除术并保证2 cm的安全切缘, 肿瘤侵犯肌层及外膜时行腹会阴联合切除手术, 对伴腹股沟淋巴结转移或可疑转移的患者, 行腹股沟淋巴结清扫. 化疗药主要为氮烯咪胺、长春新碱、争光霉素、环己亚硝脲等.

1.2.2 随访: 全部患者出院后随访至死亡, 并以1和3年生存率作为反映预后的指标, 1年后存活为13例, 3年后存活为5例.

统计学处理 采用SPSS17.0统计软件对所得数据进行学统计分析, 组间数据用χ^2检验或确切概率法, 检验水准$\alpha = 0.05$. $P<0.05$为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 临床特点 肛管直肠恶性黑色素瘤缺乏特异性的症状, 首次就诊症状依次为便血15例(60%), 肛门不适7例(28%), 肛门肿物3例(12%); 多数肿瘤突出于肠黏膜, 有蒂或无蒂, 呈结节样或息肉样; 颜色黑色或褐色16例(64%), 与周围组织颜色区别不明显的9例(36%); 18例患者在外院被误诊为痔疮或息肉, 误诊率达72%. 所有患者均否认有恶性黑色素瘤家族.

2.2 病理 肿瘤标本直径1.2-6.5 cm(中位直径约为3.2 cm), 全部为单发; 肿瘤局限于黏膜、黏膜下层11例, 侵及肌层11例、外膜3例; 镜下见肿瘤细胞胞浆内黑色素沉着16例, 无黑色素沉着9 例. 全部组织行HE染色和免疫组织化学检查, 其中HMB-45标记阳性23例(92%), S-100标记阳性 18 例(76%), Vimentin标记阳性25例(100%). HE染色镜下肿瘤细胞胞浆内无黑色素沉着者,

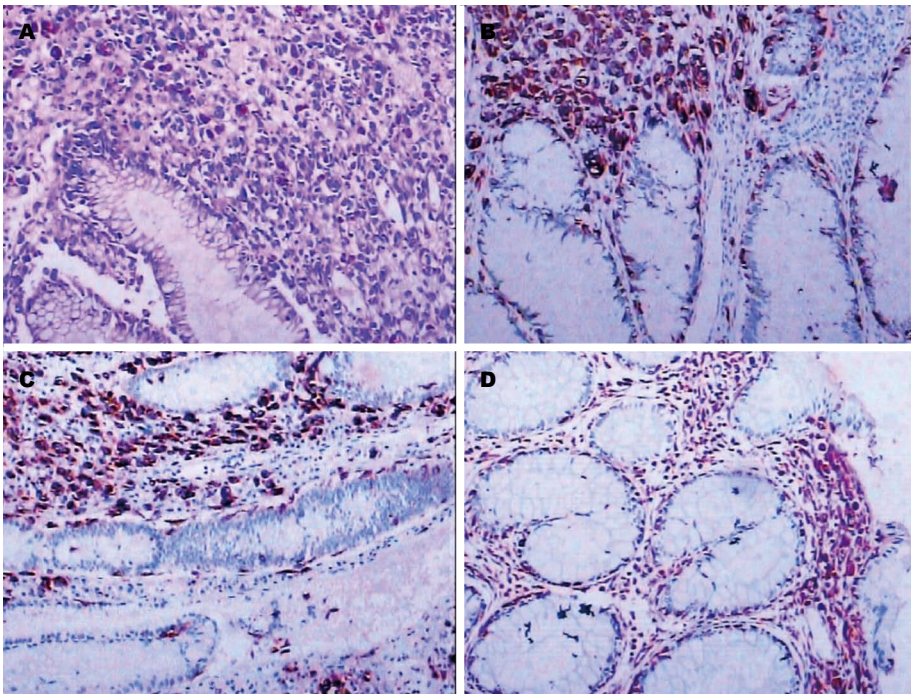


图 1 肛管直肠恶性黑色素瘤的组织学图片(×100). A: HE染色; B: HMB-45免疫组织化学染色(SP法); C: S-100免疫组织化学染色(SP法); D: Vimentin免疫组织化学染色(SP法).

表 1 25例肛管直肠恶性黑色素瘤患者临床因素治疗方式与预后的关系

项目	*n*	1年存活	1年内死亡	*P*值	3年存活	3年内死亡	*P*值
性别				0.428			1.000
男	14	6	8		3	11	
女	11	7	4		2	9	
年龄(岁)				0.434			0.645
≥51	13	8	5		2	11	
<51	12	5	7		3	9	
肿瘤大小(cm)				0.238			0.322
≥3.2	13	5	8		4	9	
<3.2	12	8	4		1	11	
临床分期				0.047			0.015
Ⅰ期	12	9	3		5	7	
Ⅱ-Ⅲ期	13	4	9		0	13	
浸润深度				0.015			0.009
黏膜, 黏膜下层以内	11	9	2		5	6	
肌层及外膜层	14	4	10		0	14	
手术方式				0.673			1.000
腹会阴联合切除术	17	8	9		3	14	
局部广泛切除术	8	5	3		2	6	
术后化疗				0.695			0.341
有	14	8	6		4	10	
无	11	5	6		1	10	

HMB-45、S-100、Vimentin标记均为阳性(图1).

2.3 肛管直肠恶性黑色素瘤患者临床因素治疗方式与预后的关系 肿瘤患者1年和3年生存率分别为52%(13/25)和20%(5/25). 1年生存率和3年生存率与患者性别、年龄、肿瘤大小、手术方式和术后是否化疗均不相关($P>0.05$), 而与临床

■相关报道
肛管直肠恶性黑色素瘤是一种罕见的肿瘤, 国内对该疾病的报道较少. 特别是从分子病理学方面研究的更少见.

■创新盘点
从分子病理学结合临床方面研究入手, 为临床早期诊断提供可靠依据, 并且从分子病理学方面为临床的诊断, 个体化治疗和综合治疗提出新的研究热点.

分期、肿瘤浸润深度相关, 差异有统计学意义(P<0.05)(表1).

3 讨论

肛管直肠恶性黑色素瘤是一种罕见的肿瘤, 其组织来源于肛管直肠黏膜内丰富的黑色素细胞, 占所有恶性黑素瘤比率的0.4%-3.0%, 在肛管直肠原发性肿瘤中的发病率为0.1%-4.6%[4,5]. 有报道其手术治疗后的5年生存率为6%-15%[6]. 因此肿瘤的早期诊断十分必要. 国内对该疾病的报道较少. 因此, 正确认识肛管直肠恶性黑色素瘤的临床诊断和治疗特点有助于提高肛管直肠恶性黑色素瘤的诊治水平. 因为该肿瘤的特殊解剖部位及缺乏特异性的症状. 因此根据临床表现诊断十分困难. 本文患者最常见的症状为便血、肛门不适或肛门区肿物. 多数肿瘤突出于肠黏膜, 有蒂或无蒂, 呈结节样或息肉样. 早期肿瘤较小时, 可以出现直肠肿物脱出, 并可自行还纳. 肿瘤大时常呈菜花样, 表面常有糜烂和溃疡形成. 肿瘤颜色呈多样性, 黑、紫、褐、红均可见, 部分肿瘤的周围黏膜亦可见到斑片状色素. 少数患者首发症状可为腹股沟淋巴结肿大, 活检时才被确诊. 晚期患者肛门部可见巨大溃疡肿物, 出现下腹疼痛, 腹股沟有肿大坚硬的淋巴结, 同时伴体质量减轻、重度贫血等. 由于肛管直肠恶性黑色素瘤发病率极低, 许多医师对该病认识不足, 加之患者首发症状多为大便出血, 故容易与痔疮、直肠息肉等良性疾病混淆而延误诊治, 导致30%-60%的患者就诊时已有不同程度的转移[7,8], 本研究提示外院误诊率达72%. 对于出现以上临床症状应常规行直肠指诊及结肠镜检查. 病理检查是确诊的唯一方法, 直肠指诊如发现肛管直肠交界处肿物应警惕肛管直肠恶性黑色素瘤的可能, 及时行结肠镜检查并行活检以明确诊断, 对可疑病变应及时行肿块完整切除, 行病理检查(包括术中冰冻切片诊断)以提高确诊率. 由于30%-70%的肛管直肠恶性黑色素瘤是无色素的, 常规病理诊断十分困难, 因此免疫组织化学标志物的作用就十分重要. 免疫组织化学标志蛋白HMB45、S-100和Vimentin经常被用来帮助确诊[6,9], 本研究中免疫组织化学示HMB45、S-100、Vimentin阳性率分别为92%、76%、100%, HE染色镜下肿瘤细胞胞浆内无黑色素沉着者, S-100、HMB45、Vimentin标记均为阳性, 免疫组织化学对肿瘤的早期诊断起着重要作用. 超声学检查和影像检查CT等有助于判断肿瘤浸润深度和淋巴结转移情况[10].

肛管直肠恶性黑色素瘤的治疗方式已经发展到多学科综合治疗, 包括手术、化疗已被使用, 手术仍是主要的治疗手段, 手术目的是尽可能延长生存时间和提高生活质量. 传统观点认为该肿瘤早期属于局部病变, 后期属于全身系统性疾病, 肿瘤的浸润深度应对手术方式有绝对性影响. 现在许多研究关于选择局部广泛切除术抑或腹会阴联合切除术, 争议一直存在. 推荐腹会阴联合切除术的人认为: 腹会阴联合切除术能更广泛的切除肛管、直肠及其周围组织, 使肿瘤的切除更彻底, 减少了术后淋巴结转移率和局部复发率. 推荐局部广泛切除术的人认为: 虽然腹会阴联合切除术对控制局部复发有利, 但在延长生存期方面并不比局部扩大切除术优越. 因为肛管直肠恶性黑色素瘤外科治疗失败的主要原因是远处转移, 而不是局部复发; 而局部扩大切除术降低了手术创伤, 避免了结肠腹部造瘘, 提高了患者术后生活质量, 因而提出局部扩大切除术可替代腹会阴联合切除术, 成为治疗肛管直肠恶性黑色素瘤的最佳手术方式[3,11]. 本组研究表明, 肿瘤患者进行局部广泛切除术抑或腹会阴联合切除术后, 患者的1和3年生存率统计学上并无显著意义(P>0.05), 这一结果与Yap等[9]和Carcoforo等[12]的研究结果类似. 除手术外, 尚可采用化疗、放疗及生物治疗. 但肛管直肠黑色素瘤对化疗、放疗的敏感性较差[2,13]. 化疗药主要为氮烯咪胺、长春新碱、争光霉素、环己亚硝脲等; 生物制剂主要为干扰素和白介素-2; Ballo等[14]报道放疗可对局部复发有一定控制, 与本研究经术后化疗或无化疗的患者对比一样, 生存率上并无显著的统计学意义(P>0.05). 这表明肛管直肠黑色素瘤是一种恶性程度很高的疾病, 一旦确诊后, 无论是否接受全身治疗, 对患者的生存期意义不是很大. 不过有一些报道说, 尽管这些全身治疗对预后的影响很小, 但他们在控制症状或改善患者的质量生活方面有一定的效果[15], 中位生存期也明显长于后者. 因此, 我们应根据肿瘤不同阶段选择合适的治疗方案. 肛管直肠恶性黑色素瘤预后极差, 本研究中肿瘤患者1和3年生存率分别为52%和20%, 由于现有的回顾性研究组间差异大, 样本量较少, 要做一个前瞻性的评估很困难. 尽管如此, 有学者统计一例患者的生存期已经超过10年[16]. 因此对患者进行积极的治疗十分必

要. 本研究中, 肿瘤患者的1和3年生存率与患者性别、年龄、肿瘤大小及治疗方式均无显著的统计学意义(P>0.05), 而与患者的临床分期及肿瘤的浸润深度相关(P<0.05), 肿瘤未发生转移及瘤组织局限于黏膜及黏膜下层的患者预后较好, 生存率较高. 因此肿瘤的早期诊断早期治疗十分必要.

总之, 肛管直肠恶性黑色素瘤是一种恶性程度很高的疾病, 预后差, 极易发生转移, 中位生存期短, 手术切除是肛门直肠黑色素瘤治疗的第一选择, 就诊时肿瘤临床分期、浸润深度是影响预后的重要因素, 与性别、年龄、肿瘤大小治疗方式无关. 因此提高对本病的认识, 力争做到早期诊断、早期治疗是提高本病生存率的关键.

4 参考文献

1 Falch C, Stojadinovic A, Hann-von-Weyhern C, Protic M, Nissan A, Faries MB, Daumer M, Bilchik AJ, Itzhak A, Brücher BL. Anorectal malignant melanoma: extensive 45-year review and proposal for a novel staging classification. *J Am Coll Surg* 2013; 217: 324-335 [PMID: 23697834]

2 Kim KB, Sanguino AM, Hodges C, Papadopoulos NE, Eton O, Camacho LH, Broemeling LD, Johnson MM, Ballo MT, Ross MI, Gershenwald JE, Lee JE, Mansfield PF, Prieto VG, Bedikian AY. Biochemotherapy in patients with metastatic anorectal mucosal melanoma. *Cancer* 2004; 100: 1478-1483 [PMID: 15042682]

3 Malik A, Hull TL, Floruta C. What is the best surgical treatment for anorectal melanoma? *Int J Colorectal Dis* 2004; 19: 121-123 [PMID: 12942268]

4 Tharpe AS, Vega KJ, Trotman BW. Primary anorectal melanoma. *Turk J Gastroenterol* 2012; 23: 820-821 [PMID: 23864471]

5 Heyn J, Placzek M, Ozimek A, Baumgaertner AK, Siebeck M, Volkenandt M. Malignant melanoma of the anal region. *Clin Exp Dermatol* 2007; 32: 603-607 [PMID: 17376215]

6 Ishizone S, Koide N, Karasawa F, Akita N, Muranaka F, Uhara H, Miyagawa S. Surgical treatment for anorectal malignant melanoma: report of five cases and review of 79 Japanese cases. *Int J Colorectal Dis* 2008; 23: 1257-1262 [PMID: 18633625]

7 Pessaux P, Pocard M, Elias D, Duvillard P, Avril MF, Zimmerman P, Lasser P. Surgical management of primary anorectal melanoma. *Br J Surg* 2004; 91: 1183-1187 [PMID: 15449271]

8 Cazenave H, Maubec E, Mohamdi H, Grange F, Bressac-de Paillerets B, Demenais F, Avril MF. Genital and anorectal mucosal melanoma is associated with cutaneous melanoma in patients and in families. *Br J Dermatol* 2013; 169: 594-599 [PMID: 23647170]

9 Yap LB, Neary P. A comparison of wide local excision with abdominoperineal resection in anorectal melanoma. *Melanoma Res* 2004; 14: 147-150 [PMID: 15057046]

10 Podnos YD, Tsai NC, Smith D, Ellenhorn JD. Factors affecting survival in patients with anal melanoma. *Am Surg* 2006; 72: 917-920 [PMID: 17058735]

11 Droesch JT, Flum DR, Mann GN. Wide local excision or abdominoperineal resection as the initial treatment for anorectal melanoma? *Am J Surg* 2005; 189: 446-449 [PMID: 15820458]

12 Carcoforo P, Raiji MT, Palini GM, Pedriali M, Maestroni U, Soliani G, Detroia A, Zanzi MV, Manna AL, Crompton JG, Langan RC, Stojadinovic A, Avital I. Primary anorectal melanoma: an update. *J Cancer* 2012; 3: 449-453 [PMID: 23193431]

13 Stefanou A, Nalamati SP. Anorectal melanoma. *Clin Colon Rectal Surg* 2011; 24: 171-176 [PMID: 22942799]

14 Ballo MT, Gershenwald JE, Zagars GK, Lee JE, Mansfield PF, Strom EA, Bedikian AY, Kim KB, Papadopoulos NE, Prieto VG, Ross MI. Sphincter-sparing local excision and adjuvant radiation for anal-rectal melanoma. *J Clin Oncol* 2002; 20: 4555-4558 [PMID: 12454112]

15 Kiran RP, Rottoli M, Pokala N, Fazio VW. Long-term outcomes after local excision and radical surgery for anal melanoma: data from a population database. *Dis Colon Rectum* 2010; 53: 402-408 [PMID: 20305438]

16 徐烨, 彭俊杰, 蔡三军, 水若红, 胡育前, 汤德峰. 原发性肛管直肠恶性黑色素瘤27例报告. 中国癌症杂志 2007; 17: 722-725

■同行评价
本文具有一定指导意义.

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年6月28日; 22(18): 2650-2656
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

替吉奥单药在晚期结直肠癌辅助化疗中的疗效

高 波, 李兴华

■背景资料
随着老龄化人口的增多和肿瘤发病率在我国的增加, 急切需要一种给药方便, 且能被各年龄层的肿瘤患者耐受的药物, 抗癌活性高毒不良反应小的口服化疗药物-替吉奥S-1带来了福音.

高波, 李兴华, 江苏大学附属上海市第八人民医院消化内科 上海市 200235
高波, 在读硕士, 主要从事胃肠道肿瘤的化疗.
作者贡献分布: 高波与李兴华对此文所作贡献均等; 此课题由李兴华与高波设计; 研究过程由李兴华与高波操作完成; 研究所用药物及分析工具由李兴华提供; 数据分析由高波完成; 本论文写作由高波与李兴华完成.
通讯作者: 李兴华, 教授, 主任医师, 200235, 上海市徐汇区漕宝路8号, 江苏大学附属上海市第八人民医院消化内科.
lixinghua2002@aliyun.com
电话: 021-34284588-5130
收稿日期: 2014-03-24 修回日期: 2014-04-20
接受日期: 2014-04-28 在线出版日期: 2014-06-28

Gimeracil and oteracil porassium capsules as a single drug in adjuvant treatment of patients with advanced colorectal cancer: A randomized clinical study

Bo Gao, Xing-Hua Li

Bo Gao, Xing-Hua Li, Department of Gastroenterology, Jiangsu University Affiliated Shanghai Eighth People's Hospital, Shanghai 200235, China
Correspondence to: Xing-Hua Li, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Jiangsu University Affiliated Shanghai Eighth People's Hospital, 8 Caobao Road, Xuhui District, Shanghai 200235, China. lixinghua2002@aliyun.com
Received: 2014-03-24 Revised: 2014-04-20
Accepted: 2014-04-28 Published online: 2014-06-28

Abstract

AIM: To evaluate the efficacy and safety of gimeracil and oteracil porassium capsules (S-1) as a single drug in the adjuvant treatment of patients with advanced colorectal cancer.

METHODS: Eligible patients with advanced colorectal cancer were randomly assigned to either a control group or an experimental group. The patients of the control group received routine symptomatic treatment, while the experimental group was additionally given S-1 [60 mg/(m^2•d), *bid*, P.O. on days 1-14, then drug withdrawal for 1 wk, repeated every 3 wk, stopped until disease progression or unacceptable toxicity occurred] beside the routine symptomatic treatment.

RESULTS: A total of 83 eligible patients were enrolled, including 4 in the control group and 41 in the experimental arm. Median follow-up period was 54 wk. The baseline characteristics were comparable between the two groups. S-1 treatment improved the progression-free survival (PFS), though there was no statistical difference (HR = 0.52, 95%CI: 0.22-1.23, P = 0.1384). For all patients with advanced colorectal cancer, the 1-year PFS for the control arm and experimental arm was 78.6% and 97.6%, respectively, favoring the S-1 regimen. For patients with advanced colon cancer, the improvement of PFS did not differ significantly between the two arms (HR = 0.62, 95%CI: 0.20-1.95, P = 0.4156). The 1-year PFS for the control arm and experimental arm was 76.2% and 95.0%, favoring the S-1 regimen. For patients with advanced rectal cancer, the improvement of PFS did not differ significantly between the two arms (HR = 0.42, 95%CI: 0.11-1.58, P = 0.2005). The 1-year PFS for the control arm and experimental arm was 76.2% and 95.2%, respectively. Three cases developed S-1-induced adverse reactions, including one case of grade Ⅱ and two cases of grade Ⅰ, which, however, did not cause treatment discontinuation.

CONCLUSION: S-1 can improve the PFS in patients with advanced colorectal cancer, indicating that such patients may benefit from S-1 regimen in the adjuvant setting.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: S-1; Adjuvant treatment; Advanced colorectal cancer; Progression free survival

Gao B, Li XH. Gimeracil and oteracil porassium capsules as a single drug in adjuvant treatment of patients with advanced colorectal cancer: A randomized clinical study. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(18): 2650-2656
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2650.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i18.2650

■同行评议者
白雪, 副主任医师, 中国人民解放军北京军区总医院普通外科

摘要

目的: 评估单药替吉奥(gimeracil and oteracil porassium capsules, S-1)方案在放弃静脉化疗晚期结直肠癌患者辅助化疗中有效性和安全性.

方法: 采用诊断位置(结肠癌 *vs* 直肠癌)作为分层因子, 对有明确组织学或细胞学诊断且放弃全身静脉化疗的83例晚期老年结直肠癌患者随机分为两组: 对照组(常规支持对症组)42例, 试验组(S-1治疗组)41例, 将所有合格受试者应用随机数字表随机分配到对照组和试验组. 试验组接受常规支持对症治疗+单药S-1治疗方案: S-1 60 mg/(m^2·d), *bid*, 连续服用2 wk后休息1 wk, 每3 wk重复1次, 6 wk为一疗程, 直至患者出现疾病进展或不可耐受的毒性反应才停止治疗. 对照组只接受常规支持对症治疗.

结果: 本试验共入组83例受试者, 对照组42例, 试验组41例. 两组间基线资料分布平衡, 中位随访时间为54 wk. 虽然S-1单药治疗组PFS较对照组PFS在统计学上未达到显著差异(HR = 0.52, 95%CI: 0.22-1.23, P = 0.1384>0.05), 但对照组1年无进展生存期(progression free survival, PFS)为78.6%, 试验组1年PFS为97.6%. 试验组较对照组1年PFS提高19%, 有明显临床获益趋势. 进一步分析所有晚期结肠癌患者, 试验组和对照组相比, PFS差异未有统计学意义(HR = 0.62, 95%CI: 0.20-1.95, P = 0.4156>0.05), 对照组1年PFS为76.2% , 试验组1年PFS为95.0%, 试验组较对照组1年PFS显著提高18.8%, 有明显临床获益趋势. 进一步分析所有晚期直肠癌患者, 虽然试验组较对照组PFS差异未达到统计学意义(HR = 0.42, 95%CI: 0.11-1.58, P = 0.2005>0.05), 但对照组1年PFS为76.2%, 试验组1年PFS为95.2%, 试验组较对照组1年PFS提高19%, 有明显获益趋势. S-1引起的不良反应有3例, 其中1例为2级不良反应, 2例为1级不良反应, 未因不良反应而停药.

结论: S-1单药用于晚期结直肠癌患者, 能够使结肠癌患者PFS显著提高, 有明显获益趋势, 同时降低转移复发风险, 提示应用S-1辅助化疗可能使晚期结直肠癌患者生存获益, 且安全性良好.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 替吉奥; 辅助化疗; 晚期结直肠癌; 无进展生存期

核心提示: S-1单药用于晚期结直肠癌患者治疗, 能够使结肠癌患者无进展生存期(progression free survival, PFS)显著提高, 有明显获益趋势, 同时降低转移复发风险, 提示应用S-1辅助化疗可能使晚期结直肠癌患者生存获益, 且安全性良好.

高波, 李兴华. 替吉奥单药在晚期结直肠癌辅助化疗中的疗效. 世界华人消化杂志 2014; 22(18): 2650-2656 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2650.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i18.2650

■研发前沿
替吉奥(S-1)在我国的适应症只是针对于胃癌而言, 而日本研究显示S-1对治疗晚期胃癌、头颈部癌、直肠癌、非小细胞肺癌、转移性乳腺癌和胰腺癌等有显著疗效, 本研究就S-1在中国晚期结直肠癌患者中的疗效进行评价, 尚需多中心的临床随机试验进一步验证.

0 引言

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是为临床常见的恶性肿瘤之一, 其在全球的发病率和病死率占前3位[1]. 据统计, 全球每年CRC新发病例约120万例, 死亡病例高达近60万例[1]. 近年, 随着生活水平的提高, 我国CRC发病率呈逐年升高趋势, 特别是在东部沿海经济发达地区, CRC发病率已接近发达国家水平, 在大城市中已成为导致死亡的主要原因[2], 预计我国CRC新发病例仍将逐年增多[3]. CRC的高发病率和高死亡率, 已成为人类的一大疾病负担[1,2]. 在我国, CRC的发病呈老年趋向化[4]. 现今, 我国老龄化人口的日益增加, 因老年患者体弱, 各组织器官功能的下降, 机体不能很好地耐受静脉全身化疗, 而我国作为人口大国, 随着老龄化人口的增多和肿瘤发病率在我国的增加, 急切需要一种给药方便, 且能被各年龄层的肿瘤患者耐受的药物. 于CRC患者而言, 外科手术治疗是最有效的治疗方法, 而对于部分失去手术机会的晚期CRC患者或术后复发处于特晚期的患者, 不愿再接受如放疗或全身静脉化疗, 多数晚期CRC患者选择支持对症的姑息治疗, 但仍有一些晚期及复发转移患者, 愿意口服低毒性化疗药物[5], 如FT-207、替吉奥胶囊等. 化疗已成为晚期大肠癌的主要治疗手段. 目前, CRC的辅助化疗方案主要以FOLFOX、FOLFIRI或CAPE/L-OHP联合方案为主[6]. 由于静脉给药不方便, 上述方案药物引起的不良反应较为严重使患者不能耐受, 导致患者依从性差. 治疗CRC的基本化疗药物5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-Fu)半衰期短, 与癌细胞作用时间短, 影响了其抗癌效应, 近几年, 作为氟尿嘧啶的衍生物-S-1在CRC的治疗方面越来越受到重视.

S-1是一种氟尿嘧啶衍生物口服抗癌剂, 他包括活性成分替加氟(FT)和以下两种生物调节剂: 吉美嘧啶(gimeracil, CDHP)及奥替拉西(oteracil potassium, Oxo). 三者按摩尔比为1∶0.4∶1制成

■相关报道
Ohtsu等研究显示单药S-1治疗转移性结直肠癌(colorectal cancer, CRC)有效率可达35%-40%, 62例患者总生存期12 mo(378 d), 两年生存率达21%, 单药取得了和持续静滴5-Fu/LV类似的效果.

的口服胶囊制剂, 是5-Fu的增效减毒改良制剂[7]. 其三种组分的作用如下: FT是5-Fu的前体药物, 具有良好的口服生物利用度, 能在活体内转化为5-Fu, 能干扰和阻断DNA、RNA及蛋白质合成. CDHP能够抑制在二氢嘧啶脱氢酶(dihydropyrimidine dehydrogenase, DPD)作用下从FT释放出来的5-Fu的分解代谢, 有助于长时间血中和肿瘤组织中5-Fu有效浓度, 从而取得与5-Fu持续静脉输注类似的疗效. Oxo能够阻断5-Fu的磷酸化, 口服给药之后, Oxo在胃肠组织中具有很高的分布浓度, 从而影响5-Fu在胃肠道的分布, 进而降低5-Fu不良反应. 替吉奥与5-Fu相比具有以下优势: (1)维持较高的血药浓度并提高抗癌活性; (2)明显减少药物不良反应; (3)给药方便.

在日本, 替吉奥目前已被批准用于治疗晚期胃癌、头颈部癌、直肠癌、非小细胞肺癌、转移性乳腺癌和胰腺癌等7类肿瘤疾病, 已经成为日本治疗晚期胃癌的一线用药. 在中国首先获批的适应症为不能切除的局部晚期或转移性胃癌. 既往国外研究显示, 单药S-1治疗转移性CRC有效率可达35%-40%, 62例患者总生存期12 mo(378 d), 两年生存率达21%, 单药取得了和持续静滴5-Fu/LV类似的效果[8]; SIR(S-1/CPT-11)方案比传统方案在安全性和生存期上能提供更多益处: SIR联合治疗方案有效率(response rate, RR)为62.5%, 5-Fu civ/LV/CPT-11传统方案RR为31%-62%, CAPE/CPT-11方案RR为47%-61%[9], 更多的研究[10]也证实了这一点; 国内一项S-1联合依立替康(观察组)与5-Fu、亚叶酸钙联合依立替康(对照组)在CRC二线治疗中的对比研究显示[11]: 观察组的中位无进展时间为6.5 mo, 明显优于对照组的, 4.7 mo(P<0.05). 观察组的疾病控制率比较无明显差异性(观察组: 73.1%, 对照组: 68.0%, P>0.05). 主要不良反应比较也无明显差异性(观察组的中性粒细胞减少52.0%, III-IV度腹泻19%, 对照组的中性粒细胞减少34.6%, III-IV度腹泻4.0%, P>0.05), 因样本量不大, 要观察SIR方案比5-Fu civ/LV/CPT-11方案临床优势, 有待进一步研究. 最近, 国外的一项大型、多中心的II期临床试验也证实在晚期CRC的治疗中, SIR方案比传统的FOLFIRI和IRIS方案更有效、方便、更安全[12].

SOX(S-1/L-OHP)方案有望成为转移性CRC安全有效的治疗方案, SOX方案RR: 50.0%, 中位PFS(median PFS, mPFS)196 d, 1年生存期78.6%[13]. 国内一项以36例未接受过化疗的晚期CRC患者为对象的研究[14], 对比分析了S-1联合奥沙利铂(试验组)和奥沙利铂联合5-氟尿嘧啶、亚叶酸钙(对照组)一线治疗晚期CRC的临床疗效, 结果显示, RR分别为56.1%和44.4%, 中位生存时间(medium survival time, MST)分别为18.6和16.2 mo, 中位疾病进展时间(medium time to progression, MTTP)分别为9.3和8.8 mo. 主要不良反应为血液学毒性和胃肠道反应, 试验组白细胞下降发生率66.7%, 对照组77.8%, 试验组恶心、呕吐发生率44.4%, 对照组66.7%. 鉴于多数临床试验表明, S-1在临床应用中具有良好的临床获益和安全性. 因此, 本研究拟评估S-1单药方案在晚期CRC患者辅助化疗中的有效性和安全性.

1 材料和方法

1.1 材料 选择2011-12/2013-08我院收治的晚期CRC患者83例, 随机分配到试验组和对照组, 常规支持对症组(对照组)42例, 其中结肠癌21例, 直肠癌21例; 常规支持对症+S-1组(试验组)41例, 其中结肠癌20例, 直肠癌21例. 本试验中位随访时间为12 mo. 入组标准: 所有的受试者均需明确病理证实为结直肠腺癌; 年龄≥60岁; KPS评分>60分; 预计生存期>6 mo; 无其他危及生命的重大疾病; 有恶性肿瘤化疗指征; 放弃静脉所有静脉化疗方案; 所有受试者均需在随访开始的2 wk内进行随机分配; 且在随机分配后2 wk内应用辅助化疗; 同意参加研究并能完成治疗计划者. 排除标准: 参与试验前2 mo内已经进行过化疗或放疗者; 有明显肝肾功能异常者(ALT高于正常上限的1.5倍, 血肌酐高于正常上限者); 试验前12 mo内有心肌梗死者; 重度心衰者等. 统计学处理: 本试验假定试验组1年无进展生存期(progression free survival, PFS)为95%和对照组为75%, 试验组较对照组有20%PFS提高, 应用80%(β = 0.20)的检验效能, I类错误为5%(α = 0.05)的情况下, 则需入组88例患者, 但现实中在2011-12/2013-08本试验总共入组83例患者. 应用Kaplan-Meier方法绘制PFS曲线. 应用Log-rank双侧检验对生存率进行分析, 本研究截止日期为2014-01-31.

1.2 方法

1.2.1 试验设计: 本研究为单中心临床随机对照试验. 该试验通过本中心伦理委员会批准, 符合赫尔辛基及其修订版本宣言. 所有受试者在入组参加临床试验前均需签署知情同意书.

表 1 晚期结直肠癌患者基线特征资料

特征变量	对照组	试验组	κ^2	*P*值
诊断			0.012	>0.05
结肠癌	21	20		
直肠癌	21	21		
性别			0.303	>0.05
男	20	22		
女	22	19		
年龄(岁)			0.055	>0.05
<65	8	7		
≥65	34	34		
分期			0.012	>0.05
Ⅲ期	21	21		
Ⅳ期	21	20		
分化程度			0.931	>0.05
分化差	12	8		
分化好	30	33		
肿瘤浸润程度			2.233	>0.05
未突破浆膜层	10	16		
突破浆膜层	32	25		
淋巴结转移			0.404	>0.05
否	6	8		
是	36	33		

1.2.2 *治疗方案*: 本研究采用诊断位置(结肠癌 *vs* 直肠癌)作为分层因素, 应用随机数字表使所有受试者被随机分配到试验组和对照组. 本研究定义治疗方案如下: 试验组接受常规支持对症治疗+单药S-1治疗方案: S-1 60 mg/(m^2·d), *bid*, 连续服用2 wk后休息1 wk, 每3 wk重复1次, 6 wk为一疗程, 直至患者出现疾病进展或不可耐受的毒性反应才停止治疗. 对照组只接受常规支持对症治疗. S-1在试验中不接受剂量调整. 但是受试者如果有3级以上的缺血性损害或者任何4级的不良反应, 则中断S-1治疗. 毒性评估标准参考NCI CTCAE 3.0版(National Cancer Institute Common Terminology Criteria for Adverse Events version 3.0).

1.2.3 *评估与随访*: 所有受试者需在入组后进行第一次辅助化疗前2 wk内进行完整的体格检查, 肝肾功能、肿瘤指标检测、心电图、KPS评估、上下腹部、胸部CT扫描评估等. 随后进行每次辅助化疗前也必须进行体检, 肝肾功能、肿瘤指标检查. 在第1次化疗后前2年, 每3 mo进行一次CT扫描肿瘤评估, 以后每隔6 mo复查1次. 肠镜检查每半年1次. 但是, 如果患者临床表现提示有疾病进展可能, 则需立即进行CT扫描和肠镜检查评估. 临床疗效评估采用RECIST1.1版(Response Evaluation Criteria for Solid Tumors 1.1).

统计学处理 采用SPSS16.0统计软件包进行统计分析. $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 晚期CRC PFS 两组患者间所有基线指标基本平衡, 两组间具有可比性(表1). 至2014-01-31, 对照组有13例(31.0%)患者, 试验组有8例患者(19.5%)发生进展或死亡. 如图1A所示, 我们观察到试验组和对照组PFS, 虽然尚未达到差异有统计学意义(HR = 0.52, 95%CI: 0.22-1.23, P = 0.1384), 但PFS曲线有明显提高. 对照组1年PFS为78.6%, 试验组1年PFS为97.6%. 试验组对照组1年PFS提高19%, 说明S-1可能使晚期CRC患者长期持续显著获益. 由于疾病位置是影响患者预后的主要影响因素之一, 因此, 有必要对结肠癌和直肠癌患者分别进一步深入分析.

2.2 晚期结肠癌患者PFS 两组患者间所有基线指标基本平衡, 两组间具有可比性(表2). 在晚期结肠癌患者中, 对照组有5例(23.8%), 试验组有3例(15.0%)发生进展或死亡. 如图1B所示, 我们观察到试验组较对照组PFS有明显提高, 但尚未达到差异有统计学意义(HR = 0.62, 95%CI: 0.20-1.95, P = 0.4156). 对照组1年PFS为76.2%, 试验组1年PFS为95.0%, 试验组较对照组1年PFS显著提高18.8%, 说明S-1在1年内对结肠癌患者有显著疗效, 有明显获益趋势现象.

2.3 晚期直肠癌患者PFS 两组患者间所有基线指标平衡, 两组间具有可比性(表3). 在晚期直肠癌患者中, 对照组有8例(38.1%), 试验组有5例(23.8%)发生进展或死亡. 如图1C所示, 试验组较对照组PFS差异无统计学意义(HR = 0.42, 95%CI: 0.11-1.58, P = 0.2005). 对照组1年PFS为76.2%, 试验组1年PFS为95.2%, 试验组较对照组1年PFS提高19%, 有明显获益趋势. 说明S-1对晚期直肠癌患者有显著疗效, 有明显的临床获益趋势.

3 讨论

目前, CRC作为全世界排名第3位的常见恶性肿瘤(在男性常见肿瘤中排名第3位, 女性中排名第2位), 2012年全球新增约1410万例癌症病例, 癌症死亡人数达820万例, 其中CRC病例有140万例, 占9.7%, 死亡人数占发病人数的一半以上, 其高发病率和死亡率已成为人类疾病负担之一[1,15].

■创新盘点
本研究主要以无进展生存期(progression free survival, PFS)为主要观察指标, 尚无S-1应用于晚期结直肠癌患者的此类观察研究.

■应用要点
本文通过研究S-1在结直肠癌的研究, 显示良好的疗效, 表示S-1在临床上应用有一定价值, 因为口服方便且不良反应小, 可提高患者的依从性, 既有临床实用价值, 又有经济效益价值.

表 2 晚期结肠癌患者基线特征资料

特征变量	对照组	试验组	κ^2	*P*值
结肠癌	21	20	0.012	>0.05
性别			0.210	>0.05
男	9	10		
女	12	10		
年龄(岁)			0.671	>0.05
<65	4	2		
≥65	17	18		
分期			0.631	>0.05
Ⅲ期	11	8		
Ⅳ期	10	12		
分化程度			0.176	>0.05
分化差	3	2		
分化好	18	18		
肿瘤浸润程度			2.172	>0.05
未突破浆膜层	4	8		
突破浆膜层	17	12		
淋巴结转移			0.287	>0.05
否	2	3		
是	19	17		

表 3 晚期直肠癌患者基线特征资料

特征变量	对照组	试验组	κ^2	*P*值
直肠癌	21	21	0.012	>0.05
性别			0.096	>0.05
男	11	12		
女	10	9		
年龄(岁)			0.141	>0.05
<65	4	5		
≥65	17	16		
分期			0.865	>0.05
Ⅲ期	10	13		
Ⅳ期	11	8		
分化程度			0.933	>0.05
分化差	9	6		
分化好	12	15		
肿瘤浸润程度			0.429	>0.05
未突破浆膜层	6	8		
突破浆膜层	15	13		
淋巴结转移			0.141	>0.05
否	4	5		
是	17	16		

在新发病例中, 局部进展期CRC约占75.0%, 根治术后远处转移或复发是致死的主要原因[16,17]. 研究表明, 辅助化疗后CRC远处转移或复发和死亡风险的降低可能是通过化疗药物根除隐匿性转移灶来实现[18,19], 使CRC患者获得临床治愈的可能, 因此, 晚期CRC的辅助化疗对提高患者生存率具有重大临床意义.

在CRC患者中, 直肠癌约占1/3, 因以往直肠癌患者的生存率比结肠癌患者的低, 故认为直肠癌比结肠癌的恶性程度高[20-23]. 因近二十年来直肠癌的治疗水平有很大的进步, 直肠癌患者的生存率有了很大提高. 有研究报道称, 直肠癌患者生存率已接近或达到与结肠癌结果[24]. 既往的CRC的临床试验中, 结肠癌和直肠癌的治疗都是相同的方案, 临床上针对直肠癌的治疗方案是来自既往对结肠癌的研究, 并非来自对直肠癌的研究. 因此, 本试验同时将结肠癌和直肠癌纳入研究中具有合理性. 因结肠和直肠的淋巴引流和解剖结构上的差异[23], 直肠癌与结肠癌可能具有不同生物学特性, 对化疗药物的反应可能也会有所不同, 所以, 本试验将结肠癌和直肠癌作为一分层因子, 对CRC作一整体分析后, 有必要对结肠癌和直肠癌再单独做进一步研究分析. 既往有研究表明, 单药S-1治疗转移性CRC有效率可达35%-40%, 两年生存率达21%[8]. Lee等[25]研究表明单药S-1治疗一线化疗方案(FOLFOX、XELOX、FOLFIRI、XELOX+阿瓦斯汀和西妥珠单抗+伊立替康)失败的转移性CRC患者疗效肯定, 且安全性好. 本试验中, 试验组和对照组PFS虽然尚未达到差异有统计学意义, 但DFS曲线有明显提高, 试验组对照组1年PFS提高19%(HR = 0.52, 95%CI: 0.22-1.23, *P* = 0.1384), 有明显临床获益趋势. 进一步单独分析结肠癌和直肠癌, 虽然结肠癌组和直肠癌组中试验组和对照组PFS未达到差异有统计学意义, 但结肠癌组中试验组较对照组1年PFS显著提高18.8%(HR = 0.62, 95%CI: 0.20-1.95, *P* = 0.4156), 直肠癌组中试验组较对照组1年PFS提高19%(HR = 0.42, 95%CI: 0.11-1.58, *P* = 0.2005), 临床获益还是明显可见的. 对S-1单药治疗CRC的长期获益趋势, 未来有必要进一步对结肠癌和直肠癌患者单药S-1治疗后3、5年的生存率进行深入研究.

S-1作为5-Fu的衍生物, 他包括活性成分替加氟(tegafur, FT)和以下两种生物调节剂: CDHP及Oxo, 是5-Fu的增效减毒改良制剂[7]. FT是5-Fu的前体药物, 具有良好的口服生物利用度, 能在活体内转化为5-Fu, 能干扰和阻断DNA、RNA及蛋白质合成. 5-Fu在体内被二氢嘧啶脱氢酶(dihydropyrimidine dehydrogenase, DPD)降解, 使

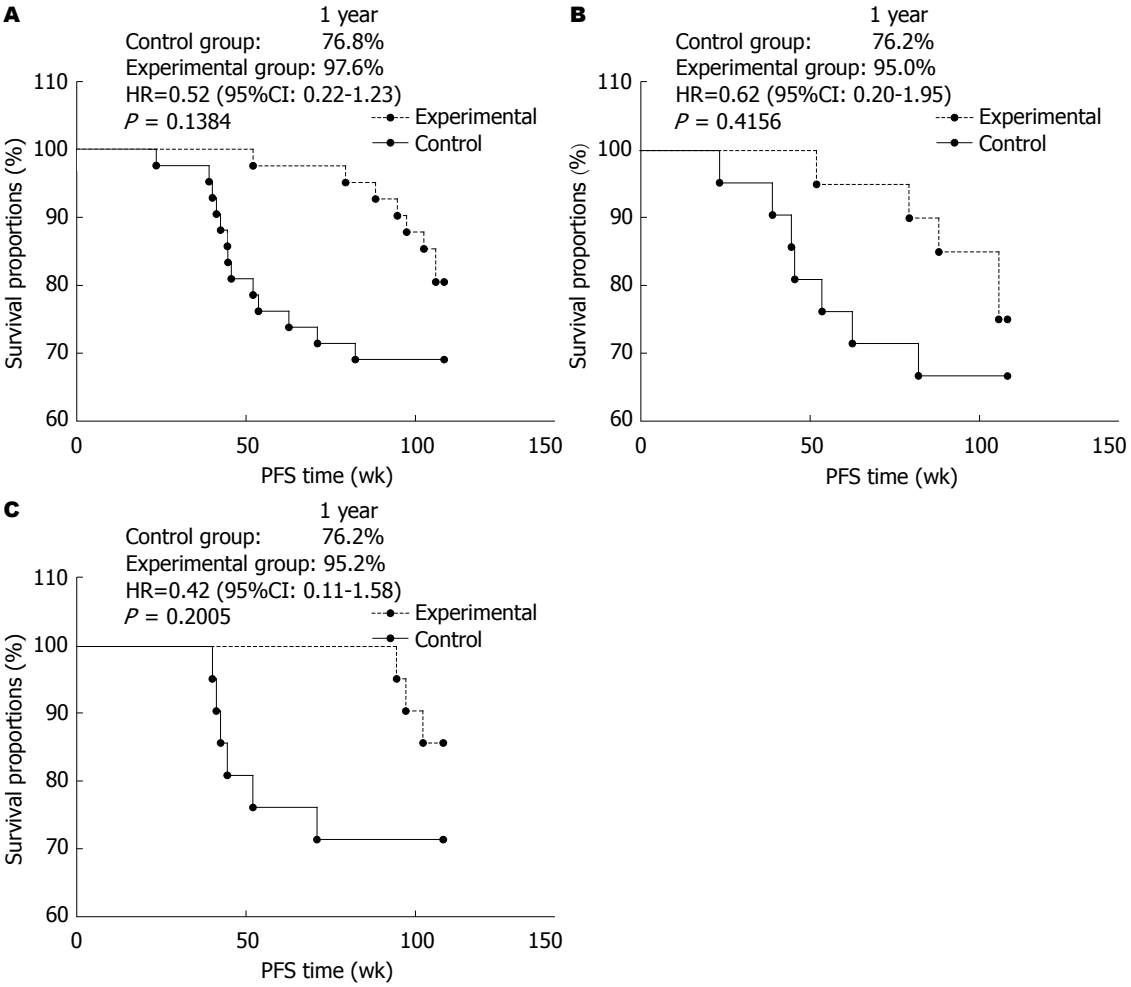


图 1 PFS曲线图. A: 晚期结直肠癌患者PFS曲线图; B: 晚期结肠癌患者PFS曲线图; C: 晚期直肠癌患者PFS曲线图. Control group: 对照组(常规支持对症治疗); Experimental group: 试验组(S-1+常规支持对症治疗); PFS: 无进展生存时间; HR: 风险比.

得其活性降低. DPD是一种细胞溶质酶, 为5-FU降解代谢中的第一个酶, 可以将85%的5-FU去活性[26,27]. 而CDHP能够抑制在DPD作用下从FT释放出来的5-Fu的分解代谢, 有助于长时间血中和肿瘤组织中5-Fu有效浓度, 从而取得与5-Fu持续静脉输注类似的疗效. 5-Fu单独口服时吸收不完全且难以预测, 如果其在胃肠道中的分布浓度很高且被磷酸化, 就会引起严重的胃肠道不良反应, 而Oxo能够阻断5-Fu的磷酸化, 口服给药之后, Oxo在胃肠组织中具有很高的分布浓度, 从而影响5-Fu在胃肠道的分布, 进而降低5-Fu的不良反应. S-1抗肿瘤过程中既产生了明显的临床效益, 安全性又得到了一定保障, 且口服方便, 适用于晚期老年的肿瘤患者.

总之, S-1单药用于晚期CRC患者, 能够使结肠癌患者PFS显著提高, 有明显获益趋势, 同时降低转移复发风险, 提示应用S-1辅助化疗可能使晚期CRC患者生存获益, 且安全性良好.

4 参考文献

1 Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 69-90 [PMID: 21296855 DOI: 10.3322/caac.20107]

2 陈万青. 2004-2005年中国恶性肿瘤发病与死亡的估计. 中华肿瘤杂志 2009; 9: 664-668

3 代珍, 郑荣寿, 邹小农, 张思维, 曾红梅, 李霓, 陈万青. 中国结直肠癌发病趋势分析和预测. 中华预防医学杂志 2012; 46: 598-603

4 李明, 顾晋. 中国结直肠癌20年来发病模式的变化趋势. 中华胃肠外科杂志 2004; 7: 214-217

5 方伟达, 陈昌南, 张呈, 梁文勇, 潘岐作, 苏铭俊, 谢峰. 低剂量替吉奥口服治疗放弃静脉化疗的晚期结直肠癌. 现代肿瘤医学 2011; 19: 1823-1825

6 徐瑞华, 邱妙珍. 晚期结直肠癌化疗的研究进展. 癌症 2008; 27: 661-666

7 Benson AB. S-1: another oral agent for patients with colorectal cancer. *Lancet Oncol* 2013; 14: 1244-1245 [PMID: 24225156 DOI: 10.1016/S1470-2045(13)70533-3]

8 Ohtsu A, Baba H, Sakata Y, Mitachi Y, Horikoshi N, Sugimachi K, Taguchi T. Phase II study of S-1, a novel oral fluorophyrimidine derivative, in patients with metastatic colorectal carcinoma. S-1 Cooperative Colorectal Carcinoma Study Group. *Br J Cancer*

■同行评价

本文选题较新颖, 提供了充足有意义的信息, 具有一定指导意义.

2000; 83: 141-145 [PMID: 10901361]
9 Goto A, Yamada Y, Yasui H, Kato K, Hamaguchi T, Muro K, Shimada Y, Shirao K. Phase II study of combination therapy with S-1 and irinotecan in patients with advanced colorectal cancer. *Ann Oncol* 2006; 17: 968-973 [PMID: 16603600]
10 Shiozawa M, Akaike M, Sugano N, Tsuchida K, Yamamoto N, Morinaga S. A phase II study of combination therapy with irinotecan and S-1 (IRIS) in patients with advanced colorectal cancer. *Cancer Chemother Pharmacol* 2010; 66: 987-992 [PMID: 20623226 DOI: 10.1007/s00280-010-1278-0]
11 钟亮, 凌华晃, 韦华军, 蔡茂德, 曾湖. 替吉奥联合依立替康治疗转移性结直肠癌的临床观察. 吉林医学 2012; 33: 2520-2521
12 Ogata Y, Tanaka T, Akagi Y, Ishibashi N, Tsuji Y, Matono K, Isobe M, Sueyoshi S, Kaibara A, Shirouzu K. Multicenter Phase II Study of a New Effective S-1 and Irinotecan Combination Schedule in Patients with Unresectable Metastatic or Recurrent Colorectal Cancer. *Clin Med Insights Oncol* 2013; 7: 21-30 [PMID: 23439317 DOI: 10.4137/CMO.S10769]
13 Yamada Y, Tahara M, Miya T, Satoh T, Shirao K, Shimada Y, Ohtsu A, Sasaki Y, Tanigawara Y. Phase I/II study of oxaliplatin with oral S-1 as first-line therapy for patients with metastatic colorectal cancer. *Br J Cancer* 2008; 98: 1034-1038 [PMID: 18319719 DOI: 10.1038/sj.bjc.6604271]
14 王新林, 彭军瑞, 王湘辉. 替吉奥联合奥沙利铂治疗晚期大肠癌的疗效分析. 现代肿瘤医学 2012; 20: 2104-2106
15 Ferlay J, Bray F, Parkin DM. Globocan 2012: Estimates Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Wordwild in 2012. Available from: URL: http://globocan.iarc.fr/Default.aspx
16 Glimelius B, Cavalli-Björkman N. Metastatic colorectal cancer: current treatment and future options for improved survival. Medical approach--present status. *Scand J Gastroenterol* 2012; 47: 296-314 [PMID: 22242568 DOI: 10.3109/00365521.2012.640828]
17 Sargent D, Shi Q, Yothers G, Van Cutsem E, Cassidy J, Saltz L, Wolmark N, Bot B, Grothey A, Buyse M, de Gramont A. Two or three year disease-free survival (DFS) as a primary end-point in stage III adjuvant colon cancer trials with fluoropyrimidines with or without oxaliplatin or irinotecan: data from 12,676 patients from MOSAIC, X-ACT, PETACC-3, C-06, C-07 and C89803. *Eur J Cancer* 2011; 47: 990-996 [PMID: 21257306 DOI: 10.1016/j.ejca.2010.12.015]
18 Marin JJ, Sanchez de Medina F, Castaño B, Bujanda L, Romero MR, Martinez-Augustin O, Moral-Avila RD, Briz O. Chemoprevention, chemotherapy, and chemoresistance in colorectal cancer. *Drug Metab Rev* 2012; 44: 148-172 [PMID: 22497631 DOI: 10.3109/03602532.2011.638303]
19 Tsai WS, Hsieh PS, Yeh CY, Chiang JM, Tang R, Chen JS, Changchien CR, Wang JY. Long-term survival benefits of adjuvant chemotherapy by decreasing incidence of tumor recurrence without delaying relapse in stage III colorectal cancer. *Int J Colorectal Dis* 2011; 26: 1329-1338 [PMID: 21556841 DOI: 10.1007/s00384-011-1214-8]
20 Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin* 2012; 62: 10-29 [PMID: 22237781 DOI: 10.3322/caac.20138]
21 O'Connell JB, Maggard MA, Ko CY. Colon cancer survival rates with the new American Joint Committee on Cancer sixth edition staging. *J Natl Cancer Inst* 2004; 96: 1420-1425 [PMID: 15467030]
22 Greene FL, Stewart AK, Norton HJ. New tumor-node-metastasis staging strategy for node-positive (stage III) rectal cancer: an analysis. *J Clin Oncol* 2004; 22: 1778-1784 [PMID: 14769855]
23 Li M, Li JY, Zhao AL, Gu J. Colorectal cancer or colon and rectal cancer? Clinicopathological comparison between colonic and rectal carcinomas. *Oncology* 2007; 73: 52-57 [PMID: 18334831 DOI: 10.1159/000120628]
24 Renouf DJ, Woods R, Speers C, Hay J, Phang PT, Fitzgerald C, Kennecke H. Improvements in 5-year outcomes of stage II/III rectal cancer relative to colon cancer. *Am J Clin Oncol* 2013; 36: 558-564 [PMID: 22868238 DOI: 10.1097/COC.0b013e318256f5dc]
25 Lee DJ, Lee J, Lee HY, Lim T, Lee SJ, Yi SY, Park SH, Park JO, Lim HY, Kang WK, Park YS. Salvage S-1 monotherapy in metastatic colorectal cancer patients who failed irinotecan-based or oxaliplatin-based chemotherapy. *Med Oncol* 2011; 28 Suppl 1: S291-S294 [PMID: 21116875 DOI: 10.1007/s12032-010-9755-1]
26 肖建, 曹透峰. 5-氟尿嘧啶及其药物前体在胃肠道肿瘤化疗中的应用. 临床消化病杂志 2008; 20: 125-127
27 Diasio RB. Oral DPD-inhibitory fluoropyrimidine drugs. *Oncology* (Williston Park) 2000; 14: 19-23 [PMID: 11098485]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2014年6月28日; 22(18): 2657-2660
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

病例报告 CASE REPORT

原发性肺癌胃转移的临床病理特点并1例文献复习

付世纬, 杨映红, 黄 旭, 杨焕星, 黄建平

付世纬, 杨映红, 黄旭, 杨焕星, 黄建平, 福建医科大学附属协和医院病理科 福建省福州市 350001
付世纬, 主治医师, 主要从事临床病理的诊断及教学工作.
作者贡献分布: 此课题由付世纬设计; 研究过程由付世纬、杨映红、黄旭及杨焕星共同完成; 研究所用新试剂与分析工具由黄建平提供; 本论文写作由付世纬完成.
通讯作者: 付世纬, 主治医师, 350001, 福建省福州市新权路29号, 福建医科大学附属协和医院病理科. huanglei31@hotmail.com
电话: 0591-83357896
收稿日期: 2014-02-12 修回日期: 2014-04-21
接受日期: 2014-04-30 在线出版日期: 2014-06-28

Clinicopathologic characteristics of gastric metastasis from primary lung cancer: A case report and review of the literature

Shi-Wei Fu, Ying-Hong Yang, Xu Huang, Huan-Xing Yang, Jian-Ping Huang

Shi-Wei Fu, Ying-Hong Yang, Xu Huang, Huan-Xing Yang, Jian-Ping Huang, Department of Pathology, Union Hospital of Fujian Medical University, Fuzhou 350001, Fujian Province, China
Correspondence to: Shi-Wei Fu, Attending Physician, Department of Pathology, Union Hospital of Fujian Medical University, 29 Xinquan Road, Fuzhou 350001, Fujian Province, China. huanglei31@hotmail.com
Received: 2014-02-12 Revised: 2014-04-21
Accepted: 2014-04-30 Published online: 2014-06-28

Abstract
Gastric metastasis from primary lung cancer is rare, and its diagnosis must be based on the combination of clinical, pathologic and immunohistochemical features and the differentiation from other diseases. Here we report one case of gastric metastasis from primary lung cancer and investigate its clinicopathologic and immunohistochemical features by reviewing the related literature.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Primary lung cancer; Gastric metastasis; Clinicopathologic; Diagnosis; Differential diagnosis

Fu SW, Yang YH, Huang X, Yang HX, Huang JP. Clinicopathologic characteristics of gastric metastasis from primary lung cancer: A case report and review of the literature. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(18): 2657-2660 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2657.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i18.2657

摘要
原发性肺癌转移到胃是一种罕见病变, 他的诊断必须结合临床与病理学观察及免疫组织化学染色结果综合分析判断, 并且要与发生在胃的常见肿瘤相鉴别. 本文对1例原发性肺癌转移至胃的病例进行病理学特点及免疫组织化学(SP法)特点的观察分析, 探讨了原发性肺癌转移至胃的临床病理特点及鉴别诊断, 同时对相关文献进行了复习.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 原发性肺癌; 胃转移癌; 病理学临床; 诊断; 鉴别诊断

核心提示: 原发性肺癌转移到胃是一种罕见病变, 在临床上很容易误诊, 诊断主要依赖相关病史及病理组织学的检查. 本文报道了1例原发性肺癌转移至胃的病例, 探讨了该病例的病理形态学特点及免疫组织化学染色特点, 同时讨论了该病例与胃的常见肿瘤的鉴别诊断.

付世纬, 杨映红, 黄旭, 杨焕星, 黄建平. 原发性肺癌胃转移的临床病理特点并1例文献复习. 世界华人消化杂志 2014; 22(18): 2657-2660 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2657.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i18.2657

0 引言
肺癌是当今世界最常见的恶性肿瘤之一. 肺癌晚期可发生浸润及远处转移, 转移部位以肝、脑、肾上腺、骨及肾多见[1], 转移至胃的病例罕见, 国内仅见数例报道. 现就1例原发性肺癌转移到胃的病例进行临床病理学观察与免疫组织化学染色分析, 探讨其临床病理特点及鉴别诊断并对相关文献进行复习.

■背景资料
患者因上腹疼痛伴闷胀不适1 mo入院, 初步诊断为"胃肠道间质瘤". 术后根据病史、病理学形态及免疫组化染色结果诊断为: 原发性肺癌胃转移. 国内外对该种病例的报道并不多见.

■同行评议者
朴龙镇, 副教授, 延边大学附属医院肿瘤科

■研发前沿
对1例原发性肺癌转移到胃的病例进行了病理组织学特点、免疫组织化学特点及鉴别诊断的分析. 此类疾病虽然罕见, 但临床医师在进行胃部肿瘤的诊断时应注意此疾病存在的可能.

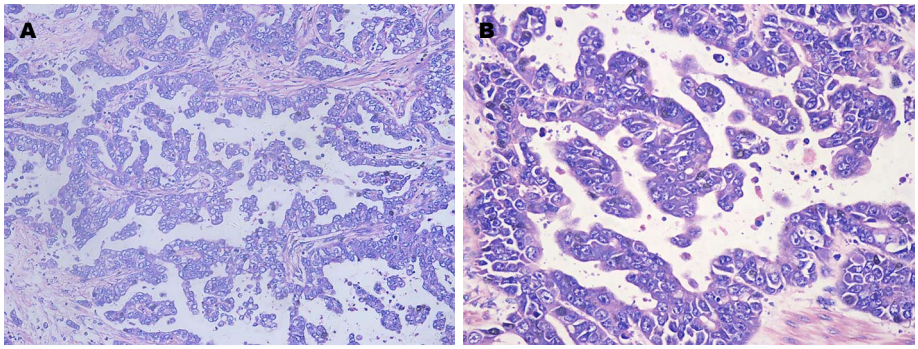


图 1 原发性肺癌胃转移的病理学特点(HE染色). A: 肿瘤由大小形状不一的较大腺管组成, 腺管内见大小不一的乳头形成, 乳头大多有纤维血管轴心, 腺管及乳头表面被覆高柱状或立方状的肿瘤细胞(HE×200); B: 瘤细胞异型性明显, 排列不规则, 核大空泡状, 核仁明显, 可见核分裂象(HE×400).

1 病例报告

患者, 男, 60岁, 以上腹疼痛伴闷胀不适1 mo入院, 无反酸、嗳气, 无呕血、黑便, 无腹痛、腹泻、便秘等不适. 胃镜示: 胃底黏膜下隆起. 病理示: 慢性浅表性胃炎伴幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*)感染. 超声胃镜示: 胃底黏膜下肿物, 固有肌层间质瘤可能性大. 术中冰冻病理检查结果为: 浸润性腺癌, 需等待常规检查及免疫组织化学进一步鉴别诊断.

术后送检部分胃切除标本, 肉眼观察见部分胃大小为: 6.5 cm×5 cm×4.5 cm. 切面于胃肌壁间见一个大小为5 cm×4 cm×4 cm的灰白结节性肿物, 无包膜, 界限不清, 质地硬. 表面胃黏膜完整, 局灶糜烂. 肿物累及胃壁至浆膜层, 未累及邻近脏器. 胃周可见肿大淋巴结, 直径0.5-1.0 cm. 标本经40 g/L甲醛固定, 石蜡包埋, 常规切片, HE染色, 进行光镜观察. 镜下肿瘤由大小形状不一的腺管及具有纤维血管轴心的复杂乳头组成; 腺管及乳头表面被覆排列不规则的高柱状或立方状的肿瘤细胞; 瘤细胞异型性明显, 核大空泡状, 核仁明显, 可见核分裂象. 肿瘤组织间见纤维性间质及淋巴细胞浸润(图1). 对标本进行SP法免疫组织化学染色标记, 结果为: 细胞角蛋白7(cytokeratin 7, CK7)、CK19、甲状腺转录因子1(thyroid transcription factor-1, TTF-1)、表面活性蛋白B(surfactant protein B, SP-B)、天冬氨酸蛋白酶(novel aspartie proteinase, NapsinA)阳性; 突触素(synaptophysin, Syn)部分阳性; Ki-67约70%细胞阳性; CK20、肠道特异性表达的同源异型框转录因子(caudle-related homeodomain transcription2, CDX-2)、绒毛蛋白(Villin)、嗜铬素(chromogranin A, CgA)、前列腺特异抗原(prostate specific antigen, PSA)及甲状腺球蛋白(thyroglobulin, Tg)均阴性(图2). 结合病理形态学及免疫组织化学结果, 术后病理诊断: (部分胃)浸润性腺癌, 符合转移性肺癌. 临床追问病史, 患者3年前有外院肺癌切除史, 结合该病史更支持了原发性肺癌转移到胃的病理诊断.

2 讨论

原发性肺癌是一种常见与多发恶性肿瘤, 在世界范围内男性以鳞状细胞癌为主, 女性以腺癌为主. 但最近研究发现, 在我国不论是男性还是女性患者, 均是腺癌的发病率高于鳞状细胞癌[2]. 不论腺癌还是鳞癌出现远处部位转移者, 多表明疾病已经到了晚期. 晚期肺癌的转移部位以脑、肾上腺、骨、肾和肝最常见[1], 转移至胃的少见. 同时临床研究发现, 转移到胃的恶性肿瘤并不多见. Campoli等[3]研究了771例胃镜下发现胃肿瘤的患者, 仅有2.6%为胃的继发性肿瘤. Yoshimoto等[4]对470例原发性肺癌患者进行尸检, 发现存在胃转移的患者约占5.1%. .

我国仅有的数例报道存在胃转移的原发性肺癌中肺小细胞癌2例, 肺鳞状细胞癌3例, 肺腺癌1例[5-9]. 本研究为1例原发性肺腺癌转移至胃的病例.

病理学特点: 大体上, 肿瘤多为孤立性病变, 典型者表现为隆起型结节, 被覆正常胃黏膜或中央存在溃疡. 部分可呈息肉样或坏死溃疡样[10]. 组织学上, 癌组织形成腺管及乳头状结构, 并可见黏液分泌, 间质明显纤维化, 部分伴慢性炎症细胞浸润. 肿瘤细胞明显异型, 核大, 空泡状, 可见核仁及核分裂象. 本例肿瘤是位于胃底的黏膜下灰白结节, 外生型, 大小5 cm×4 cm×4 cm, 未累及邻近脏器, 表面黏膜存在, 局灶糜烂及溃疡形成. 镜下表现同原发性肺癌相似: 形

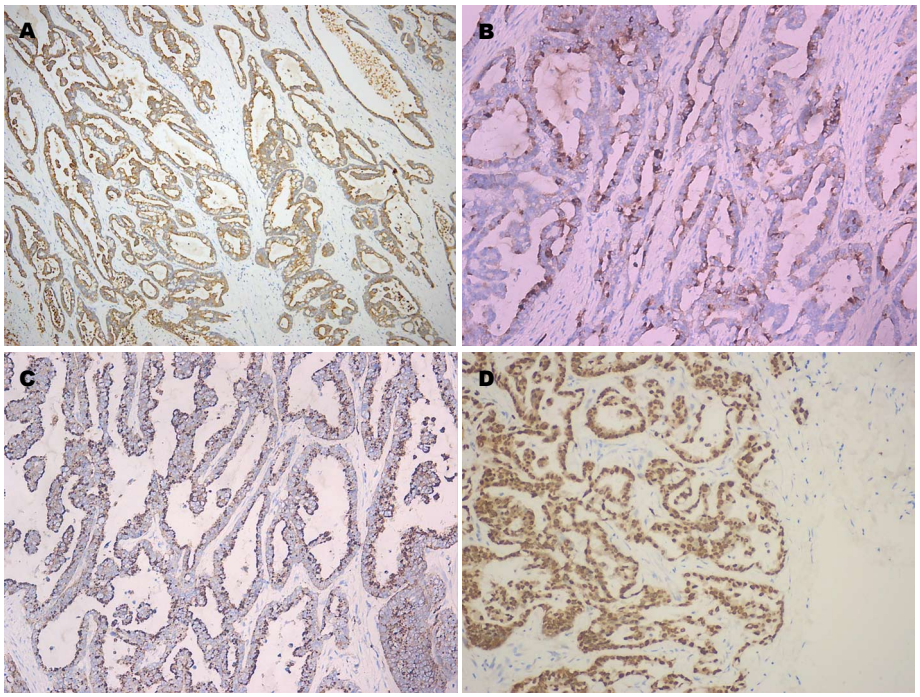


图 2 原发性肺癌胃转移的免疫组织化学染色特点(SP法 ×200). A: 肿瘤细胞细胞角蛋白7胞质阳性; B: 肿瘤细胞表面活性蛋白B胞质阳性; C: 肿瘤细胞天冬氨酸蛋白酶胞质阳性; D: 肿瘤细胞甲状腺转录因子1胞核阳性.

■创新盘点

在临床上原发性肺癌胃转移的病例罕见, 对其病理形态学及免疫组织化学特点的研究较少. 本文通过1例原发性肺癌胃转移的病例, 对此进行了初步讨论并对相关文献进行了复习.

成腺管及乳头状结构, 肿瘤细胞明显异型, 核大, 空泡状, 可见核仁及核分裂象. 免疫组织化学染色结果为CK7、CK19、TTF-1、SP-B、 Napsin A阳性; Syn部分阳性; Ki-67约70%细胞阳性; CK20、CDX-2、Villin、CgA、PSA及Tg均阴性. 柳玮华等[11]认为, CK7、CK20、Villin联合表达有助于判断部分腺癌的器官来源, 肺腺癌可以CK7阳性, 而CK20阴性. 王彩霞等[12]通过对40例原发性肺腺癌及13例转移性肺腺癌的研究, 发现TTF-1可做为肺原发性腺癌的可靠标记. 同时SP-B、NapsinA也是肺来源腺癌的可靠免疫组织化学标记物. 本例的免疫组织化学染色结果支持了胃部肿瘤为肺腺癌转移到胃. PSA及Tg阴性染色结果排除了前列腺及甲状腺来源的肿瘤. 临床追问病史, 患者3年前有外院肺癌切除病史, 结合该病史更支持了该病理诊断.

肺癌转移到胃的病例本来就比较罕见, 所以临床比较容易误诊, 要与原发性胃腺癌、胃肠道间质瘤、淋巴瘤及其他转移性肿瘤相鉴别.

原发性胃腺癌好发于胃窦小弯侧, 早期胃癌大体表现为隆起型, 表浅型及凹陷型, 而进展期胃癌表现为蕈伞型、溃疡型及浸润型. 组织学以腺癌为主, 主要分为管状、乳头状腺癌, 黏液腺癌和混合癌. 原发性胃腺癌与其他部位转移来的癌很难鉴别, 主要依赖免疫组织化学来鉴别, 胃癌常CK7、CDX-2阳性[10]. 而肺腺癌则CK7、TTF-1、SP-B及Napsin A阳性. 本例的形态学与原发于胃的腺癌难以鉴别, 但免疫组织化学染色结果可以鉴别二者.

胃肠道间质瘤是一种间叶源性肿瘤, 大体形态与转移性胃肿瘤相似, 多位于黏膜下层或肌层, 结节状, 部分可有溃疡形成. 镜下组织形态多样, 表现为束状、旋涡状、栅栏状等, 还可表现为器官样或腺泡样排列, 部分可黏液变性或透明变性. 肿瘤细胞以梭形细胞为主, 部分可以为上皮样或二者混合型. 但几乎无乳头状腺癌样结构, 免疫组织化学可呈骨髓干细胞抗原(cluster of differentiation 34, CD34)、跨膜蛋白16A/钙激活氯离子通道抗体(discovered on gastrointestinal stromal tumors protein 1)、*c-Kit*基因蛋白产物(c-Kit/CD117)阳性[13]. 而不表达CK7、TTF-1、SP-B、Napsin A等. 本例以上腹闷涨不适的消化系症状就诊, 结合胃镜及活检病理检查初步诊断为: “胃肠道间质瘤”. 但手术中冰冻病理检查结果为浸润性的腺癌, 术后的病理形态学及免疫组织化学染色结果支持肺腺癌胃转移, 结合病史诊断为原发性肺腺癌胃转移.

胃的淋巴瘤大体形态上可与转移到胃的癌类似, 也可呈结节状或溃疡型, 但淋巴瘤切面多细腻, 湿润, 质地较软, 类似肉瘤. 镜下为弥漫一致的弥漫性肿瘤细胞浸润周围组织, 与低分化癌不易区别, 可用黏液染色或免疫组织化学染色来鉴别. 淋巴瘤黏液染色阴性, 免疫组织化学见白细胞共同抗原(human leukocyte common antigen, LCA)阳性, CK阴性. 而低分化癌免疫组织化学染色CK阳性, LCA阴性. 低分化腺癌黏液

■同行评价
肺癌胃转移病例比较罕见, 本文重点阐述了肺癌胃转移的临床病理特点, 提供了一个有意义的临床鉴别诊断内容, 对临床有一定的使用价值.

染色阳性.

其他转移到胃的腺癌比如乳腺癌、前列腺癌及甲状腺癌等组织学形态与其原发肿瘤类似, 结合病史、病理形态学及免疫组织化学染色均可以鉴别.

肺腺癌发生远处转移的机制目前尚不清楚, 肺癌转移途径多数人认为是通过血管淋巴管转移. 肺内肿瘤突破血管壁进入肺静脉, 然后随血行播散至全身各处. 因胃血运相对丰富, 以及适宜的内部环境, 比如炎症等, 使肿瘤细胞得以在胃内继续生长发育, 形成远处转移灶[14]. 陈晖等[5]还假设性提出: 肺癌患者咳出的痰中的肿瘤细胞, 随吞咽进入胃中形成种植性转移灶. 本病例在肺腺癌胃转移灶切除手术后3 mo又发现肝的转移灶, 考虑其转移机制与血液循环转移有关.

预后: 肺癌发生胃转移时多已经处于疾病晚期, 所以预后基本很差. Campoli等[3]研究发现肺癌发生转移者整体生存时间为0-14 mo, 中位时间是4.75 mo. 而Jung等[15]则认为, 没有绝对手术禁忌者实行胃转移癌根治性手术后, 预后较好. 本例患者发现肺腺癌转移到胃后实行根治性全胃切除术, 术后进行了化疗, 3 mo后发现肝转移灶, 继续化疗, 目前患者尚生存.

3 参考文献

1 Quint LE, Tummala S, Brisson LJ, Francis IR, Krupnick AS, Kazerooni EA, Iannettoni MD, Whyte RI, Orringer MB. Distribution of distant metastases from newly diagnosed non-small cell lung cancer. *Ann Thorac Surg* 1996; 62: 246-250 [PMID: 8678651 DOI: 10.1016/0003-4975(96)00220-2]

2 孟宇宏, 张建中, 李冬, 宁浩勇, 吴继华, 周游, 朱彦君译. 肺、胸膜、胸腺及心脏肿瘤病理学和遗传学. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 5-7

3 Campoli PM, Ejima FH, Cardoso DM, Silva OQ, Santana Filho JB, Queiroz Barreto PA, Machado MM, Mota ED, Araujo Filho JA, Alencar Rde C, Mota OM. Metastatic cancer to the stomach. *Gastric Cancer* 2006; 9: 19-25 [PMID: 16557432 DOI: 10.1007/s10120-005-0352-5]

4 Yoshimoto A, Kasahara K, Kawashima A. Gastrointestinal metastases from primary lung cancer. *Eur J Cancer* 2006; 42: 3157-3160 [PMID: 17079136 DOI: 10.1016/j.ejca.2006.08.030]

5 陈晖, 林瑶光, 刘莹. 老年肺癌并胃转移1例报告. 广西医科大学学报 2004; 21: 766

6 刘艳萍, 金博, 王琦三. 不同原发部位胃转移癌12例. 世界华人消化杂志 2012; 20: 2092-2096

7 候炜, 花宝金, 许炜茹. 原发性肺癌根治术后胃转移一例. 中华肿瘤杂志 2008; 30: 698

8 陈俊妮, 袁波, 张艳丽, 林洁, 王奋. 原发性肺癌胃转移1例. 广东医学 2012; 33: 1369

9 王玉艳, 安彤同, 杨鹭, 王志杰, 卓明磊, 段建春, 王洁, 吴梅娜. 原发性肺癌胃肠道转移2例报道并文献复习. 中国肺癌杂志 2011; 14: 278-280

10 崔全才, 孟宇宏, 王鲁平, 宁浩勇, 刘新尧, 李媛, 杨光之, 陆平, 周炜洵, 洪柳, 常晓燕, 游燕, 虞积耀译. 消化系统肿瘤WHO分类. 第四版. 北京: 诊断病理学杂志社, 2012: 101-102

11 柳玮华, 周晓鸽, 张彦宁. 探讨CK7、CK20和villin在判断转移癌原发部位中的应用价值. 诊断病理学杂志 2008; 15: 275-278

12 王彩霞, 王晓, 吕淑慧, 聂美楠, 王桂梅. TTF-1、SP-A在肺腺癌诊断及鉴别诊断中的价值. 临床与实验病理学杂志 2008; 24: 280-283

13 刘彤华, 刘复生, 黄受方, 徐庆中, 李凌, 陈杰, 韦立新, 石怀银编. 疑难外科病理诊断与鉴别诊断. 北京: 科学技术文献出版社, 2006: 141

14 Feczko PJ, Collins DD, Mezwa DG. Metastatic disease involving the gastrointestinal tract. *Radiol Clin North Am* 1993; 31: 1359-1373 [PMID: 8210355]

15 Jung HJ, Lee HY, Kim BW, Jung SM, Kim HG, Ji JS, Choi H, Lee BI. Gastric Metastasis from Ovarian Adenocarcinoma Presenting as a Submucosal Tumor without Ulceration. *Gut Liver* 2009; 3: 211-214 [PMID: 20431748 DOI: 10.5009/gnl.2009.3.3.211]

编辑 郭鹏 电编 都珍珍

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com
世界华人消化杂志 2014年6月28日; 22(18): 2661-2664
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

病例报告 CASE REPORT

吸收不良综合征的内镜下表现及临床分析1例

张 宇, 屈亚威, 刘海峰

张宇, 屈亚威, 刘海峰, 中国人民武装警察部队总医院消化内科 北京市 100039
刘海峰, 教授, 主任医师, 主要从事胃癌发生机制及其防治研究.
作者贡献分布: 本文由张宇与屈亚威完成; 刘海峰审校.
通讯作者: 刘海峰, 教授, 主任医师, 100039, 北京市海淀区永定路69号, 中国人民武装警察部队总医院消化内科.
haifengliu333@163.com
电话: 010-57976101
收稿日期: 2014-02-19 修回日期: 2014-05-10
接受日期: 2014-05-19 在线出版日期: 2014-06-28

A case of malabsorption syndrome

Yu Zhang, Ya-Wei Qu, Hai-Feng Liu

Yu Zhang, Ya-Wei Qu, Hai-Feng Liu, Department of Gastroenterology, General Hospital of Chinese People's Armed Police Forces, Beijing 100039, China
Correspondence to: Hai-Feng Liu, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, General Hospital of Chinese People's Armed Police Forces, 69 Yongding Road, Haidian District, Beijing 100039, China. haifengliu333@163.com
Received: 2014-02-19 Revised: 2014-05-10
Accepted: 2014-05-19 Published online: 2014-06-28

Abstract
Clinical manifestations of malabsorption syndromes vary greatly, and endoscopy is the gold standard for its diagnosis. In particular, capsule endoscopy can provide a more reliable tool to observe changes of small intestinal mucosa and villi. Gastroscopy or colonoscopy in combination with capsule endoscopy will be more conducive to the diagnosis.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Malabsorption syndrome; Capsule endoscopy; Small intestinal villi

Zhang Y, Qu YW, Liu HF. A case of malabsorption syndrome. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(18): 2661-2664 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2661.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i18.2661

摘要
吸收不良综合征的临床表现多种多样, 内镜检查是诊断该病的金标准, 尤其是胶囊内镜为观察小肠绒毛及黏膜的改变提供了一种更加直观、可靠的依据. 在胃、肠镜检查的同时配合胶囊内镜检查, 更有利于明确诊断.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 吸收不良综合征; 胶囊内镜; 小肠绒毛

核心提示: 本文通过胃镜、肠镜以及胶囊内镜观察一例吸收不良综合征患者的全小肠黏膜, 均发现了如小肠绒毛萎缩、融合等改变的有关吸收不良的一系列证据, 进一步证明了胶囊内镜观察吸收不良综合征小肠黏膜改变的可行性和准确性, 为吸收不良综合征的诊断提供了一种内镜下直观的图像依据. 对疑似吸收不良综合征患者应及时进行胃、肠镜检查, 并进行活检, 必要时配合胶囊内镜检查, 有利于尽快明确诊断.

张宇, 屈亚威, 刘海峰. 吸收不良综合征的内镜下表现及临床分析1例. 世界华人消化杂志 2014; 22(18): 2661-2664 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2661.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i18.2661

0 引言
吸收不良综合征(malabsorption syndrome)是由于多种原因引起的肠道三个期(腔内期、黏膜期、运送期)[1]消化和/或吸收功能障碍, 导致小肠对脂肪、糖、蛋白质、维生素、矿物质、电解质等多种营养成分吸收不足的一组临床症候群[2]. 绝大多数患者对脂类不能正常地吸收, 部分患者可选择性的对某种单一营养成分吸收障碍[3-5], 例如乳糜泻(coeliac disease, CD)就是对麸质不耐受引起的小肠黏膜病变为特征的一种原发性吸收不良综合征[6]. 近年来, 有研究表明内窥镜检查是诊断吸收不良的金标准[7], 但胃镜和结肠镜检查不能到达小肠, 小肠镜操作费时费力, 以致对小肠吸收不良综合征的诊断常缺少足够的内镜下的图像证据. 因此, 胶囊内镜独有的简便、图像清晰等优势便突显出来. 现就2013-10本院收治的吸收不良综合征患者1例的

■背景资料
吸收不良综合征是指多种营养成分和矿物质未被正常吸收所引起的临床综合征. 广义的吸收不良综合征包括消化不良与吸收不良故又称为"消化吸收不良综合征". 其临床表现多种多样, 消化内镜检查及小肠活检是很好的诊断方法之一, 随着胶囊内镜的应用, 为此病的诊断提供更为直观、可靠证据.

■同行评议者
姜相君, 主任医师, 青岛市市立医院消化科

■研发前沿
小肠气钡双重造影可清楚的显示小肠黏膜形态及小肠蠕动情况，但有时难免出现假阴性结果. 而对于怀疑小肠病变者，首选内镜检查. 小肠镜操作复杂，费时费力. 而近年来随着胶囊内镜的广泛使用，以其操作简便、图像清晰、患者毫无痛苦的优势，为消化科医生观察小肠黏膜形态改变等提供了一种简便、直观的依据. 有研究认为内镜下活检是诊断吸收不良的金标准，但胶囊内镜还无法达到人为操控、对病变部位活检等目的，所以仍然需要联合胃、肠镜下对小肠黏膜的病理组织学检查，综合诊断. 但胶囊内镜不失为一种初步诊断吸收不良综合征有效手段.

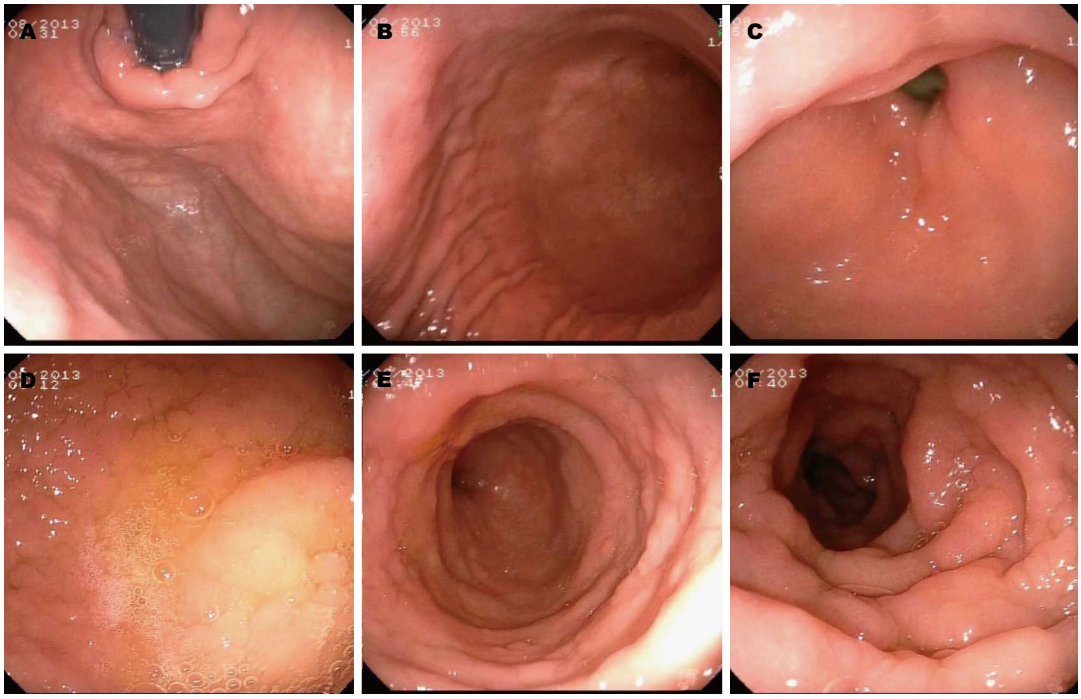


图 1 胃镜检查图像. A: 胃底; B: 胃体; C: 胃窦; D: 十二指肠球部; E、F: 十二指肠降段.

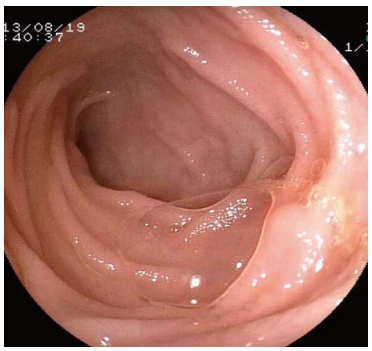


图 2 肠镜检查图像. 回肠末端距回盲瓣8 cm.

临床症状、内镜下表现及小肠黏膜病理作一回顾性分析.

1 病例报告

患者，女性，34岁，2012-06无明显诱因出现排黄色糊状便，5-6次/d，伴脐周不适，便后可缓解. 2012-07症状加重，排黄色水样便，最多7-8次/d，含不消化食物，伴腹胀，服用“蒙脱石散”、“双歧杆菌三联活菌胶囊”、“乳菌素菌片”，症状有所好转，大便2-3次/d，黄色稀便、量少，仍间断腹胀. 2013-06无明显诱因再次出现腹胀，排黄色水样便，5-6次/d，伴食欲下降，不伴黏液脓血、无发热、头痛、腹痛、恶心、呕吐，于当地个体诊所服中药及输液(具体不详)，疗效不佳. 无急性胃肠炎、肠结核、肠道真菌感染、慢性细菌性痢疾、溃疡性结肠炎等疾病及相关病史. 实验室检查: 血常规、肝功、肾功、肝炎六项、性病两项、免疫标志物、结核菌素试验正常，多次便常规未发现红、白细胞，便潜血阴性. 便细菌培养无沙门氏菌及志贺氏菌生长、无真菌及虫卵. 脂肪吸收试验阳性，全胃肠道造影、胰功肽试验和/或D-木糖吸收试验正常. 内镜检查: (1)胃镜检查: 食管、贲门、胃底、胃体、胃窦及胃角黏膜均光滑，未见充血、糜烂及肿物(图1A-C). 十二指肠球部黏膜欠光滑，呈凹凸不平的颗粒状(图1D). 十二指肠降段黏膜苍白，环形皱襞低平、数目减少(图1E, F); (2)肠镜检查: 循腔进境至回肠末端，距回盲瓣8 cm处小肠黏膜光滑，苍白，小肠绒毛结构不明显(图2); (3)胶囊内镜: 十二指肠球部绒毛变短、融合，黏膜呈斑片状，苍白(图3A, B). 空肠、回肠黏膜变薄，呈苍白色，可见黏膜下血管显露; 绒毛状结构融合、变短，取而代之的是低矮的、扁平、颗粒样结构(图3C-H). 组织学改变: 在十二指肠球部及降段取病理活组织检查，可见绒毛萎缩，有不同程度的绒毛融合、甚至消失; 固有层内见大量淋巴细胞、浆细胞浸润; 上皮细胞由高柱状变为立方形，上皮内炎性细胞增多.

2 讨论

20年前，吸收不良综合征被认为是一种比较少

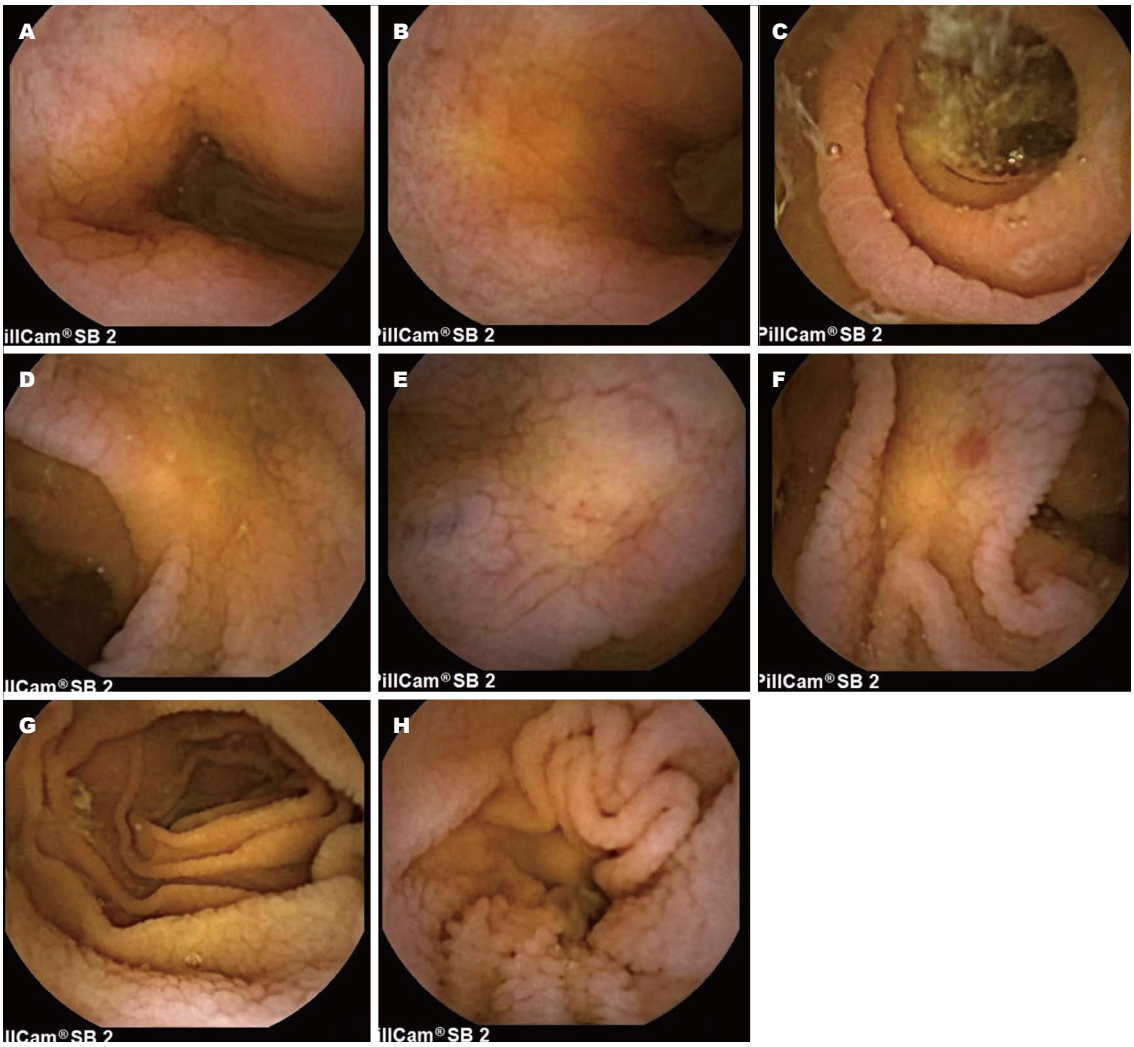


图 3 胶囊内镜检查图像. A, B: 十二指肠球部; C-F: 空肠; G, H: 回肠.

■**创新盘点**

消化不良综合征的病因、发病机制及治疗已有许多国内外学者研究过, 该病是由多种因素导致的小肠绒毛的改变最终引起吸收障碍的一系列症状. 消化内镜是检查胃肠道疾病的有效途径, 而胶囊内镜是检查小肠疾病的有效手段, 目前尚没有利用胶囊内镜联合胃、肠镜下及小肠黏膜活检、实验室检查诊断吸收不良综合征的报道, 而且本文开创性的添加了吸收不良综合征的胃、肠镜及胶囊内镜下的胃肠道黏膜图片, 使读者对此病有一个更加直观的印象.

见的疾病, 发病率大约为1/1000. 然而, 近些年的人群调查显示成人吸收不良综合征的发病率呈上升趋势, 可达到1/200. 有资料表明, 女性比男性多见, 且多发病在育龄期, 女性与男性发病比例约为3∶1[8].

消化和吸收的生理过程十分复杂, 吸收不良综合征的病因和发病机制及临床表现也多种多样, 相当一部分患者过去常被误诊. 钟欣等[9]对30例吸收不良综合征患者的病因进行分析研究, 2例病因未明, 其余28例分属胰腺癌、胃大部切除术后等17种疾病. 以乳糜泻为例, 有研究表明CD明显与遗传因素有关[10], Tye-Din等[11]发现麸质摄入的量和开始时间会影响CD的发病; CD患者不仅有胃肠道症状, 还有神经功能障碍[12]、关节炎等胃肠外症状, 特应性皮炎更常见[13],有报道称女性患者在诊断CD的2年后其生育能力会下降[14], 经常被误诊为IBS[15]. 由于诊断手段有限, 常规实验室检查和传统的全消化系造影有时可能出现假阴性结果, 如本例两者均未发现异常. 而该病的特殊实验室检查在很多医院无法开展, 并且试剂种类繁多, 增加了实验室检查的难度. 消化内镜(包括胶囊内镜)检查为寻找此病的病因提供了一种直观、简便、可靠的方法. 病理诊断也是此病的另一个标准, 但小肠镜检查耗时耗力, 操作复杂, 小肠黏膜活检操作困难, 不宜作为常规检查项目, 而国外学者采用内镜下十二指肠黏膜活检代替常规空肠黏膜活检得到证实, 本例通过胃镜下于十二指肠球部及降段活检后, 病理结果显示有不同程度的绒毛萎缩、融合或消失等, 与谷成明等[16]研究结果一致.

赵琴玥等[17]综述目前对于不愿意接受传统胃镜及活检的患者来说, 胶囊内镜可能成为一种重要的检查手段. 胶囊内镜拥有采集图像清晰且图片数量多、操作简便、患者毫无痛苦等优势, 为观察小肠黏膜及绒毛的改变提供了一种简单易行的方法, 更为此病提供了镜下诊断

■同行评价
本文具有一定临床指导意义.

的依据. Jabbari等[18]认为十二指肠降段黏膜环形皱襞的“扇贝样改变”是十分重要的内镜下标志. 本例患者胃镜及胶囊内镜观察到十二指肠绒毛萎缩, 黏膜苍白、反光差, 环形皱襞数目减少, 胶囊内镜检查发现空肠至回肠末端的绒毛状结构融合、变短, 取而代之的是低矮、扁平、颗粒样结构等形态改变, 这与报道相一致[16]. 这些内镜下观察到的黏膜改变可使绒毛吸收面积减少, 吸收功能减弱, 是导致临床吸收不良症状的重要病理基础.

本文通过胃镜、肠镜以及胶囊内镜观察一例吸收不良综合征患者的全小肠黏膜, 均发现了如小肠绒毛萎缩、融合等改变的有关吸收不良的一系列证据, 进一步证明了消化内镜, 尤其是胶囊内镜观察吸收不良综合征小肠黏膜改变的可行性和准确性, 为吸收不良综合征的诊断提供了一种直观的依据. 因此, 临床上对疑似吸收不良综合征患者应及时进行胃、肠镜检查, 并进行活检, 必要时配合胶囊内镜检查, 有利于尽快明确诊断. 并针对吸收不良综合征的病因进行治疗及营养补充, 大多预后良好[19-21].

3 参考文献

1 贝濂, 徐书端, 李芳. 吸收不良综合征. 中华消化杂志 1987; 7: 134-135
2 王苑本, 赵凯丰, 郑伟. 吸收不良综合征病因发病机制及分类. 世界华人消化杂志 2002; 10: 1415-1418
3 侯海群. 小肠吸收不良综合征的观察及护理体会. 现代医药卫生 2006; 22 1220
4 陈璐, 闫尚峰, 刘茜, 万强. 健脾止泻汤治疗小肠吸收不良综合征36例观察. 实用中医药杂志 2010; 26: 678-679
5 邱运芬. 小肠吸收不良综合征护理. 中国伤残医学 2011; 19: 54
6 李慕然, 刘艳迪, 李文. 乳糜泻临床研究进展. 世界华人消化杂志 2011; 19: 2053-2057
7 张燕, 刘小芳, 欧阳钦. 麦胶性肠病实验室诊断的进展. 临床内科杂志 2001; 18: 18-19
8 Conleth Feighery. Coeliac disease. *BMJ* 1999; 319: 236 [DOI: 10.1136/bmj.319.7204.236]
9 钟欣, 袁平宗, 吴亚敏. 吸收不良综合征30例临床分析. 现代医药卫生 2013; 29: 2076-2077
10 Kaukinen K, Partanen J, Mäki M, Collin P. HLA-DQ typing in the diagnosis of celiac disease. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 695-699 [PMID: 11922565]
11 Tye-Din J, Anderson R. Immunopathogenesis of celiac disease. *Curr Gastroenterol Rep* 2008; 10: 458-465 [PMID: 18799120]
12 Pfeiffer RF. Neurologic manifestations of malabsorption syndromes. *Handb Clin Neurol* 2014; 120: 621-632 [PMID: 24365342]
13 Korkut E, Bektas M, Oztas E, Kurt M, Cetinkaya H, Ozden A. The prevalence of celiac disease in patients fulfilling Rome III criteria for irritable bowel syndrome. *Eur J Intern Med* 2010; 21: 389-392 [PMID: 20816591]
14 Ciacci C, Cavallaro R, Iovino P, Sabbatini F, Palumbo A, Amoruso D, Tortora R, Mazzacca G. Allergy prevalence in adult celiac disease. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 113: 1199-1203 [PMID: 15208605]
15 Zugna D, Richiardi L, Akre O, Stephansson O, Ludvigsson JF. A nationwide population-based study to determine whether coeliac disease is associated with infertility. *Gut* 2010; 59: 1471-1475 [PMID: 20947882 DOI: 10.1136/gut.2010.219030]
16 谷成明, 何绮娜, 邓平非, 贾太和, 王利玲, 宋巧云. 吸收不良综合征十二指肠降部黏膜病理及超微结构观察. 中华消化杂志1996; 16: 145-147
17 赵琴玥, 黄梅芳, 王红玲, 夏冰. 胶囊内镜在乳糜泻诊断中的应用. 世界华人消化杂志 2009; 17: 2705-2708
18 Jabbari M, Wild G, Goresky CA, Daly DS, Lough JO, Cleland DP, Kinnear DG. Scalloped valvulae conniventes: an endoscopic marker of celiac sprue. *Gastroenterology* 1988; 95: 1518-1522 [PMID: 3181676]
19 姜盈. 吸收不良综合征的临床治疗体会. 中国现代药物应用 2010; 4: 109
20 王红梅. 小肠吸收不良综合征患者的护理干预分析. 中外医学研究 2012; 10: 74-75
21 伍颖彬, 黄太基. 幽门螺旋杆菌感染与胃肠疾病的发病机制及治疗概况. 湖南中医杂志 2013; 29: 135-137

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2014年6月28日; 22(18): Ⅰ-Ⅴ
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

《世界华人消化杂志》投稿须知

《世界华人消化杂志》为保证期刊的学术质量, 对所有来稿均进行同行评议, 是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊2012年版)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》收录的学术期刊.

1 投稿总则

1.1 性质 《世界华人消化杂志(*World Chinese Journal of Digestology*, *WCJD*, ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569)》是一份同行评议和开放获取期刊(Open Access Journal, OAJ), 创始于1993-01-15, 旬刊, 每月8、18和28号出版. 《世界华人消化杂志》编辑委员会成员, 由483位专家组成, 分布在30个省市、自治区和特别行政区.

《世界华人消化杂志》的首要任务是出版胃肠病学, 肝病学, 消化系内镜学, 消化系外科学, 消化系肿瘤学, 消化系影像学, 消化系介入治疗, 消化系病理学, 消化系感染学, 消化系药理学, 消化系病理生理学, 消化系病理学, 消化系循证医学, 消化系管理学, 胰腺病学, 消化系检验医学, 消化系分子生物学, 消化系免疫学, 消化系微生物学, 消化系遗传学, 消化系转化医学, 消化系诊断学, 消化系治疗学和糖尿病等领域的原始创新性文章, 综述文章和评论性的文章. 最终目的是出版高质量的文章, 提高期刊的学术质量, 使之成为指导本领域胃肠病学和肝病学实践的重要学术性期刊, 提高消化系疾病的诊断和治疗水平.

《世界华人消化杂志》由百世登出版集团有限公司(Baishideng Publishing Group, BPG)主办和出版的一份印刷版, 电子版和网络版三种版本的学术类核心期刊, 由北京百世登生物医学科技有限公司生产制作, 所刊载的全部文章存储在《世界华人消化杂志》网站上. OAJ最大的优点是出版快捷, 一次性缴纳出版费, 不受版面和彩色图片限制, 作者文章在更大的空间内得到传播, 全球读者免费获取全文PDF版本, 网络版本和电子期刊. 论文出版后, 作者可获得高质量PDF, 包括封面、编委会成员名单、目次、正文和封底, 作为稿酬, 样刊两本. BPG拥有专业的编辑团队, 涵盖科学编辑、语言编辑和电子编辑.目前编辑和出版42种临床医学OAJ期刊, 其中英文版41种, 具备国际一流的编辑与出版水平.

《世界华人消化杂志》被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊 2012年版)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》, 《Chemical Abstracts》, 《EMBASE/Excerpta Medica》, 《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录. 《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号.《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学研究领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊.

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

2 撰稿要求

2.1 总体标准 文稿撰写应遵照国家标准GB7713科学技术报告、学位论文和学术论文的编写格式, GB6447文摘编写规则, GB7714文后参考文献著录规则, GB/T 3179科学技术期刊编排格式等要求; 同时遵照国际医学期刊编辑委员会(International Committee of Medical Journal Editors)制定的《生物医学期刊投稿的统一要求(第5版)》(Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals). 见: *Ann Intern Med* 1997; 126: 36-47.

2.2 名词术语 应标准化, 前后统一, 如原词过长且多次出现者, 可于首次出现时写出全称加括号内注简称, 以后直接用简称. 医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准, 药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准, 国家食品药品监督管理局批准的新药, 采用批准的药名; 创新性新药, 请参照我国药典委员会的“命名原则”, 新译名词应附外文. 公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称), 如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD50, HBsAg, HCV

《世界华人消化杂志》英文摘要被《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录.

RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等. 为减少排印错误, 外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上. 中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者, 直接采用原有英语词, 如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词, 如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者, 宜用汉语拼音, 如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤). 通常应小写.

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

2.4 计量单位 采用国际单位制并遵照有关国家标准, GB3100-3102-93量和单位. 原来的“分子量”应改为物质的相对分子质量. 如 30 kD改为M_r 30 000或30 kDa(M大写斜体, r小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即A_r(A大写斜体, r小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u(小写正体). 计量单位在+、－及-后列出. 在±前后均要列出, 如37.6 ℃±1.2 ℃, 45.6岁±24岁, 56.4 d±0.5 d. 3.56±0.27 pg/ml应为3.56 ng/L±0.27 ng/L. BP用kPa(mmHg), RBC数用1×10^{12}/L, WBC数用1×10^{9}/L, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L. M_r明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示. 1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸. 长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm×6 cm×4 cm. 生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO_2结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L. 年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁. 例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把1×10^{-3} g与5×10^{-7} g之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm. 国际代号不用于无数字的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d. 在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg•d), 且在整篇文章内应统一. 单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs. 半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L乙醇; 5% CO_2, 50 mL/L CO_2; 1∶1 000肾上腺素, 1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg, 改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm = 45×10^{-6}; 离心的旋转频率(原称转速)用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示.

2.5 统计学符号 (1)*t*检验用小写*t*; (2)*F*检验用英文大写*F*; (3)卡方检验用希文小写χ^2; (4)样本的

相关系数用英文小写r; (5)自由度用希文小写υ; (6)样本数用英文小写n; (7)概率用英文斜体大写P. 在统计学处理中在文字叙述时平均数±标准差表示为mean±SD, 平均数±标准误为mean±SE. 统计学显著性用$^{a}P<0.05$, $^{b}P<0.01$($P>0.05$不注). 如同一表中另有一套P值, 则$^{c}P<0.05$, $^{d}P<0.01$; 第三套为$^{e}P<0.05$, $^{f}P<0.01$等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字, 如1 000-1 500 kg, 3.5 mmol/L±0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6 347意指6 000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的mean±SD应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3 614.5 g±420.8 g, SD的1/3达一百多g, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6 kg±0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm±0.27 cm, 其SD/3 = 0.09 cm, 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位. 有效位数以后的数字是无效的, 应该舍. 末尾数字, 小于5则舍, 大于5则进, 如恰等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 末尾时只可1次完成, 不得多次完成. 例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该23.48→23.5→24. 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写. 如1985年4月12日, 可写作1985-04-12; 1985年4月, 写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止, 写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止, 写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30. 百分数的有效位数根据分母来定:分母≤100, 百分数到个位; 101≤分母≤1 000, 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1 486 800.475 65. 完整的阿拉伯数字不移行!

2.7 标点符号 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律用逗号分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末. 标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU. 外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体.

3 稿件格式

3.1 题名 简明确切地反映论文的特定内容, 鲜明而有特色, 阿拉伯数字不宜开头, 不用副题名, 一般20个字. 避免用“的研究”或“的观察”等非特定词.

3.2 作者 论文作者的署名，按照国际医学杂志编辑委员会(ICMJE, International Committee of Medical Journal Editors)作者资格标准执行. 作者标准为: (1)对研究的理念和设计、数据的获得、分析和解读做出重大贡献; (2)起草文章, 并对文章的重要的知识内容进行批评性修改; (3)接受对准备发表文章的最后一稿. 作者应符合条件1, 2, 3, 对研究工作有贡献的其他人可放入志谢中. 作者署名的次序按贡献大小排列, 多作者时姓名间用逗号, 如是单名, 则在姓与名之间空1格(正文和参考文献中不空格). 《世界华人消化杂志》要求所有署名人写清楚自己对文章的贡献. 世界华人消化杂志不设置共同第一作者和共同通信作者.

3.3 单位 作者后写单位的全称空1格后再写省市及邮政编码. 格式如: 张旭晨, 梅立新, 承德医学院病理教研室 河北省承德市 067000

3.4 第一作者简介 格式如: 张旭晨, 1994年北京中医药大学硕士, 讲师. 主要从事消化系统疾病的病理研究.

3.5 作者贡献分布 格式如: 陈湘川与庞丽娟对此文所作贡献两均等; 此课题由陈湘川、庞丽娟、陈玲、杨兰、张金芳、齐妍及李洪安设计; 研究过程由陈玲、杨兰、张金芳、蒋金芳、杨磊、李锋及曹秀峰操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由曹秀峰提供; 数据分析由陈湘川、杨兰及庞丽娟完成; 本论文写作由陈湘川、庞丽娟及李洪安完成.

3.6 同行评议者 为了确保刊出文章的质量, 本刊即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名, 职称, 机构的名称与文章一同在脚注出版. 格式如: 房静远, 教授, 上海交通大学医学院附属医院仁济医院, 上海市消化疾病研究所.

《世界华人消化杂志》编辑部, 100025, 北京市朝阳区, 东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893, Email: wcjd@wjgnet.com; http://www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》自2006-01-01起改为旬刊发行, 每月8、18、28日出版.

3.7 基金资助项目 格式如: 国家自然科学基金资助项目, No. 30224801

3.8 通讯作者 格式如: 通讯作者: 黄缘, 教授, 330006, 江西省南昌市民德路1号, 南昌大学第二附属医院消化内科, 江西省分子医学重点实验室. huang9815@yahoo.com

电话: 0351-4078656 传真: 0351-4086337

收稿日期: 修回日期:

3.9 英文摘要

题名 文章的题名应言简意赅, 方便检索, 英文题名以不超过10个实词为宜, 应与中文题名一致.

作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名, 后姓; 首字母大写, 双名之间用半字线“-”分开, 多作者时姓名间加逗号. 格式如: “潘伯荣”的汉语拼写法为“Bo-Rong Pan”.

单位 先写作者, 后写单位的全称及省市邮政编码. 例如: Xu-Chen Zhang, Li-Xin Mei, Department of Pathology, Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China

基金资助项目 格式如: Supported by National Natural Science Foundation of China, No.30224801

通讯作者 格式如: Correspondence to: Dr. Lian-Sheng Ma, Taiyuan Research and Treatment Center for Digestive Diseases, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China. wcjd@wjgnet.com

收稿及修回日期 格式如: Received: Revised:

摘要 包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致.

3.10 中文摘要 必须在300字左右, 内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的), 方法(必须包括材料或对象. 应描述课题的基本设计, 双盲、单盲还是开放性, 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度. 研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征. 如研究对象是患者, 应阐明其临床表现, 诊断标准. 如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不良反应而中途停止研究), 结果(应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确、具体, 所列数据经用何种统计学方法处理; 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值; 概率写*P*, 后应写出相应显著性检验值), 结论(全文总结, 准确无误的观点及价值).

3.11 正文标题层次 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献. 序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文. 正文内序号连排用(1), (2), (3). 以下逐条陈述.

0 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系.

1 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验. 对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可.

2 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论.

3 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾.

图表的数量要精选. 表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容. 表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出. 图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出. 同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述. 如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化. A: …; B: …; C: …; D: …; E: …; F: …; G: …. 曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号. 统计学显著性用: $^{a}P<0.05$, $^{b}P<0.01$($P>0.05$不注). 如同一表中另有一套*P*值, 则$^{c}P<0.05$, $^{d}P<0.01$; 第3套为$^{e}P<0.05$, $^{f}P<0.01$. *P*值后注明何种检验及其具体数字, 如$P<0.01$, $t = 4.56$ *vs* 对照组等, 注在表的左下方. 表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐. “空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等. 表图勿与正文内容重复. 表图的标目尽量用*t*/min, *c*/(mol/L), *p*/kPa, *V*/mL, *t*/℃表达.

志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐.

4 参考文献 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序. 提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码. 文中如列作者姓名, 则需在“Pang等”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在该论述的句末右上角注码号. 如马连生[1]报告……, 潘伯荣等[2-5]认为……;

PCR方法敏感性高[6-7]. 文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]. 所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed, 《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献. 期刊: 序号, 作者(列出全体作者). 文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID和DOI编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部),书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页.

5 网络版的发表前链接 本刊即将开始实行网络版的每篇文章上都有该文发表前纪录的链接, 包括首次提交的稿件, 同行评议人报告, 作者给审稿人回信和作者修回稿, 以PDF格式上传. 读者可以针对论文、审稿意见和作者的修改情况发表意见, 指出问题与不足; 作者也可以随时修改完善自己发表的论文, 使文章的发表成为一个编者、同行评议者、读者、作者互动的动态过程.

4 写作格式实例

4.1 述评写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/sp.asp

4.2 研究原著写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjyz.asp

4.3 焦点论坛写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/jdlt.asp

4.4 文献综述写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/wxzs.asp

4.5 研究快报写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjkb.asp

4.6 临床经验写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/lcjy.asp

4.7 病例报告写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/blbg.asp

5 投稿方式

接受在线投稿, 不接受其他方式的投稿, 如E-mail、打印稿. 在线投稿网址: http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx. 无法在线提交的通过submission@wjgnet.com, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893寻求帮助. 投稿须知下载网址http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.pdf. 审稿过程平均时间需要14-28天. 所有的来稿均经2-3位同行专家严格评审, 2位或以上通过为录用, 否则将退稿或修改后再审.

6 修回稿须知

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

6.2 稿件修改 来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删节时, 本刊编辑部将把退修稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改, 而作者必须于15天内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期寄回, 所造成的问题由作者承担责任.

6.3 版权 本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负. 作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期): 起止页码. 如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有.

《世界华人消化杂志》编辑部
北京百世登生物医学科技有限公司
100025, 北京市朝阳区东四环中路62号
远洋国际中心D座903室
电话: 010-5908-0035
传真: 010-8538-1893
E-mail: wcjd@wjgnet.com
http: //www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》坚持开放获取(open access, OA)的出版模式, 编辑出版高质量文章, 努力实现编委、作者和读者利益的最大化, 努力推进本学科的繁荣和发展, 向专业化、特色化和品牌化方向迈进.

世界华人消化杂志 2014年6月28日; 22(18): I
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

2014年国内国际会议预告

2014-03-12/15
2014年亚太肝病研究协会肝病周(APASL)
会议地点: 澳大利亚
联系方式: http://apasl2014.com/

2014-04-05/09
2014年美国癌症研究协会大会(AACR)
会议地点: 美国
联系方式: http://www.aacr.org/home/scientists/meetings--workshops/meetings--workshops-calendar.aspx

2014-04-09/13
2014年第49届欧洲肝病研究协年会(EASL)
会议地点: 英国
联系方式: http://www.easl.eu/_the-international-liver-congress/general-information

2014-04-18/05-20
2014中国超声医学学术大会
会议地点: 北京市
联系方式: http://www.cuda.org.cn/new/meeting

2014-04-26/27
中华医学会临床药学分会2014年全国学术会议
会议地点: 成都市
联系方式: http://www.cncscp.org/

2014-05-04/06
2014年美国消化疾病周(DDW)
会议地点: 美国
联系方式: http://www.ddw.org/attendees/faqs

2014-05-16/18
2014第七届世界癌症大会
会议地点: 南京市
联系方式: http://www.bitlifesciences.com/cancer2014/cn/meeting.asp

2014-05-23/24
第六届药源性疾病与安全用药中国论坛-消化系统与肝病药物专题研讨会
会议地点: 北京市
联系方式: adrhuiyi@126.com

2014-05-30/06-03
2014年美国临床肿瘤协会年会(ASCO)
会议地点: 美国
联系方式: http://www.asco.org/meetings/calendar-events

2014-06-04/07
2014年第20届国际肝移植协会年会(ILTS)
会议地点: 英国
联系方式: http://www.ilts.org/meetings/

2014-06-09/12
2014年第47届欧洲儿科胃肠病, 肝病和营养学协会大会(ESPGHAN)
会议地点: 以色列
联系方式: http://www.espghan2014.org/

2014-06-18/21
2014年欧洲胃肠与腹部放射学协会肝部成像研讨会(ESGAR)
会议地点: 奥地利
联系方式: http://www.esgar.org/files/File/ESGAR14

2014-06-25/28
2014年世界胃肠癌大会(WGIC)
会议地点: 西班牙
联系方式: http://worldgicancer.com/WCGI

2014-06-25/28
2014年第14届欧洲内窥镜手术协会国际大会(EAES)
会议地点: 法国
联系方式: hdimcs@163.com

2014-06-27/28
2014中华医学会肝病与代谢学术研讨会
会议地点: 上海市
联系方式: lilyjia@163.com

2014-07-26/31
2014年世界移植大会
会议地点: 美国
联系方式: http://www.wtc2014.org/

2014-07-28/30
第3届国际肠胃病学与泌尿学大会
会议地点: 美国
联系方式: http://www.omicsgroup.com/gastroenterology-urology-conference-2014/registration.php

2014-09-05/07
2014年第8届国际肝癌协会大会(ILCA)
会议地点: 日本
联系方式: http://www.ilca2014.org/

2014-09-26/30
2014年欧洲临床肿瘤协会年会(ESMO)
会议地点: 西班牙
联系方式: http://www.esmo.org/

2014-10-18/22
2014年第22届欧洲联合胃肠病学周(UEG)
会议地点: 奥地利
联系方式: http://www.ueg.eu/week/past-future/future-ueg-week/

世界华人消化杂志 2014年6月28日; 22(18): I
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

志谢世界华人消化杂志编委

本期文章审稿中(包括退稿), 我刊编委付出了宝贵的时间和大量的精力, 提高了《世界华人消化杂志》的学术质量, 在此表示衷心感谢!

陈国凤 主任医师
中国人民解放军第302医院感染七科

陈卫昌 教授
苏州大学附属第一医院消化内科

陈云昭 副教授
新疆石河子大学医学院/一附院病理科

戴冬秋 教授
中国医科大学附属第一医院肿瘤外科

高润平 教授
吉林大学第一医院肝胆胰内科

戈之铮 教授
上海交通大学医学院附属仁济医院消化科

巩鹏 教授
大连医科大学附属第一医院普外二科

英卫东 教授
安徽省立院肝脏外科

江建新 副主任医师
贵阳医学院附属医院肝胆外科

姜春萌 教授
大连医科大学附属第二医院消化科

康春博 副主任医师
北京大学航天临床医院普通外科

李刚 教授
北京大学医学部生物化学与分子生物学系

刘亮 副主任医师
复旦大学胰腺癌研究所; 复旦大学附属肿瘤医院胰腺肝胆外科

刘占举 教授
同济大学附属上海市第十人民医院

门秀丽 教授
河北联合大学(原华北煤炭医学院)病理生理学教研室

彭宗根 副研究员
中国医学科学院医药生物技术研究所病毒室

齐清会 教授
大连医科大学附属第一医院

沈薇 教授
重庆医科大学附属第二医院消化内科

田文静 副教授
哈尔滨医科大学

王承党 教授
福建医科大学附属第一医院消化内科

王道荣 主任医师
江苏省苏北人民医院胃肠外科

王刚 副研究员
哈尔滨医科大学附属第一医院胰胆外科(普外二科)

魏睦新 教授
南京医科大学第一附属医院

吴建兵 教授
南昌大学第二附属医院肿瘤科

吴君 主任医师
贵阳医学院附属医院感染科

吴泰璜 教授
山东省立医院肝胆外科

肖秀英 副主任医师
上海交通大学医学院附属仁济医院

阴赧宏 研究员
首都医科大学附属北京友谊医院感染与急救医学

殷正丰 教授
中国人民解放军第二军医大学东方肝胆外科医院

张火俊 副教授
长海医院放射科

张力为 副教授
新疆医科大学第一附属医院胸外科

张宗明 教授
清华大学第一附属医院消化医学中心

世界华人消化杂志
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

《中文核心期刊要目总览》收录证书

《中文核心期刊要目总览》入编通知

尊敬的主编先生/女士：

我们谨此郑重通知：依据文献计量学的原理和方法，经研究人员对相关文献的检索、统计和分析，以及学科专家评审，贵刊《**世界华人消化杂志**》入编《中文核心期刊要目总览》2011 年版（即第六版）之 **临床医学/特种医学类** 的核心期刊。该书由北京大学出版社出版。书中按《中国图书馆分类法》的学科体系，列出了 73 个学科的核心期刊表，并逐一对核心期刊进行了著录。著录项目包括：题名、并列题名、主办单位、创刊时间、出版周期、学科分类号、ISSN 号、CN 号、邮发代号、编辑部地址、邮政编码、电话、网址、电子邮箱、内容简介等。

评选核心期刊的工作，是运用科学方法对各种刊物在一定时期内所刊载论文的学术水平和学术影响力进行综合评价的一种科研活动，研究工作量浩大。北京地区十几所高校图书馆、中国科学院国家科学图书馆、中国社会科学院文献信息中心、中国人民大学书报资料中心、中国学术期刊（光盘版）电子杂志社、中国科学技术信息研究所、北京万方数据股份有限公司、国家图书馆等相关单位的百余名专家和期刊工作者参加了研究。

课题组对核心期刊的评价理论、评价方法等问题进行了深入研究，进一步改进了核心期刊评价方法，使之更趋科学合理，力求使评价结果符合客观实际。对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被索量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web 下载量等 9 个评价指标，选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到 60 余种，统计到的文献数量共计 221177 余万篇次，涉及期刊 14400 余种。参加核心期刊评审的学科专家达 8200 多位。经过定量筛选和专家定性评审，从我国正在出版的中文期刊中评选出 1982 种核心期刊。

需要特别指出的是，该研究成果只是一种参考工具书，主要是为图书情报界、出版界等需要对期刊进行评价的用户提供参考，例如为各图书情报部门的中文期刊采购和读者导读服务提供参考帮助等，不应作为评价标准。谨此说明。

顺颂

撰安

《中文核心期刊要目总览》2011 年版编委会

代章：

2012 年 1 月



Published by **Baishideng Publishing Group Inc**
8226 Regency Drive, Pleasanton,
CA 94588, USA
Fax: +1-925-223-8242
Telephone: +1-925-223-8243
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com



ISSN 1009-3079



© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.