

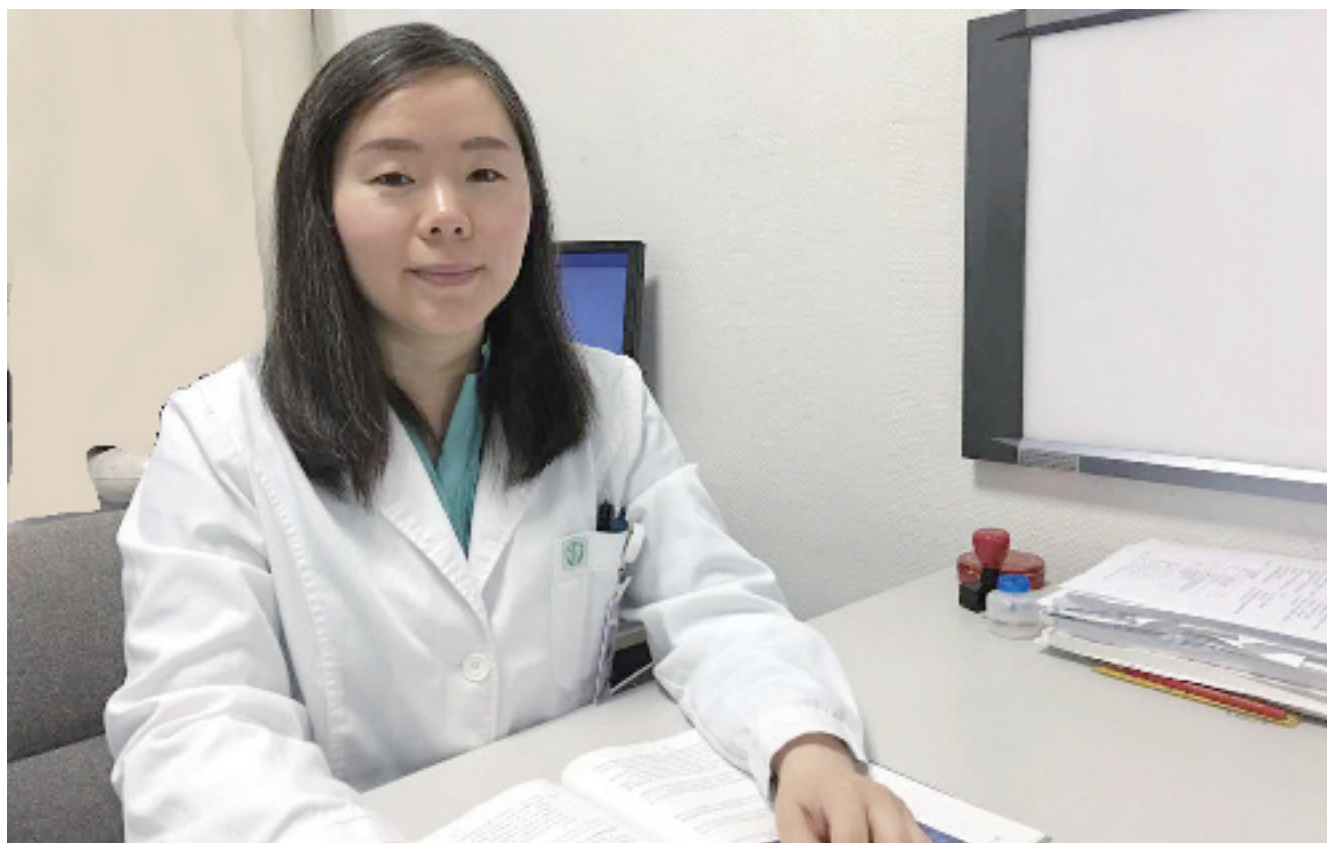
ISSN 1009-3079 (print)  
ISSN 2219-2859 (online)

# 世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE  
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

**Shijie Huaren Xiaohua Zazhi**

**2019 年 4 月 28 日      第 27 卷      第 8 期      (Volume 27 Number 8)**



**8/2019**

ISSN 1009-3079



《世界华人消化杂志》是一本高质量的同行评议、开放获取和在线出版的学术刊物。本刊被国际检索系统《化学文摘(Chemical Abstracts, CA)》、《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》、《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》、Scopus、中国知网《中国期刊全文数据库(CNKI)》、《中文科技期刊数据库(CSTJ)》和《超星期刊域出版平台(Superstar Journals Database)》数据库收录。



### 基础研究

- 477 姜黄素调节miR-133a表达对肝癌细胞迁移和侵袭的影响  
袁洪波, 孟佩盈, 戚柳杰
- 485 不同浓度<sup>131</sup>I-ELP近距离放射治疗兔VX2肝癌模型的实验研究  
李茜, 刘欣培, 王多伟, 申一鸣, 贾强, 刘文天
- 494 miR-181a-5p调控LIF的表达调节胰腺腺泡细胞凋亡的分子机制  
龚倩倩, 陈铁江

### 临床研究

- 503 超声造影在射频消融治疗常规超声不显示原发性肝细胞癌中的临床应用价值  
周华玲, 唐潮浪
- 509 根据*H. pylori*培养药敏治疗*H. pylori*感染无效患者危险因素分析  
朱德斌, 吴金明

### 文献综述

- 515 细胞外囊泡在肝纤维化诊治中的研究进展  
赵佳伟, 王玉刚, 施敏
- 521 肠神经胶质细胞形态学研究方法进展  
许英, 谢明征, 梁国刚

### 会议纪要

- 527 2019年第28届亚太肝病研究学会年会纪要  
朱传武

### 临床实践

- 530 动态三维超声造影评估原发性肝细胞癌射频消融后的近期疗效  
张丹, 周华玲, 唐潮浪

### 病例报告

- 535 ERCP处理Caroli's病合并胆道感染: 1例案例报告和文献综述  
梅剑锋, 王征, 张筱凤, 陆磊

## 消 息

- 484 《世界华人消化杂志》修回稿须知  
402 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标  
508 《世界华人消化杂志》正文要求  
514 《世界华人消化杂志》消化护理学领域征稿启事  
526 《世界华人消化杂志》外文字符标准

## 封面故事

杨薇, 北京大学肿瘤医院主任医师, 教授. 北京大学医学部博士毕业, 美国哈佛医学院博士后. 以“影像引导射频治疗肝癌的精准治疗方案”为研究主线, 在肝癌的早期诊断, 胸肺肿瘤超声诊断, 射频消融与纳米靶向载药的联合治疗机制及临床转化方面进行系列创新性研究. 发表学术论文145篇, 以第一或责任作者发表SCI论文25篇. 主持国家级及北京市课题9项. 获得北京市科学技术二等奖2项, 北京市高层次创新创业领军人才以及国际学术奖励4项.

## 本期责任人

编务 李香; 送审编辑 崔丽君; 组版编辑 张砚梁; 英文编辑 王天奇; 形式规范审核编辑部主任 马亚娟; 最终清样审核总编辑 马连生

## 世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名

(半月刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2019-04-28

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

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

主编

程英升, 教授, 200233, 上海市, 上海交通大学附属第六人民医院放射科

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

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

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

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

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

马大烈, 教授, 200433, 上海市, 中国人民解放军第二军医大学附属长海医院病理科  
王俊平, 教授, 030001, 山西省太原市, 山西省人民医院消化科

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

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

张宗明, 教授, 100073, 北京市, 首都医科大学北京电力医院普外科

编辑委员会

编辑委员会成员在线名单, 详见:

<https://www.wjgnet.com/1009-3079/editorialboard.htm>

编辑部

马亚娟, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

Baishideng Publishing Group Inc  
7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton, CA 94588, USA

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

E-mail: [wjgd@wjgnet.com](mailto:wjgd@wjgnet.com)

<http://www.wjgnet.com>

出版

巴伊世登出版有限公司

Baishideng Publishing Group Inc  
7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton, CA 94588, USA

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

E-mail: [bpgoffice@wjgnet.com](mailto:bpgoffice@wjgnet.com)

<https://www.wjgnet.com>

制作

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

《世界华人消化杂志》是一本高质量的同行评议, 开放获取和在线出版的学术刊物. 本刊被国际检索系统《化学文摘(Chemical Abstracts, CA)》、《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》、《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》、Scopus、中国知网《中国期刊全文数据库(CNKI)》、《中文科技期刊数据库(CSTJ)》和《超星期刊域出版平台(Superstar Journals Database)》数据库收录.

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

特别声明

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

定价

每期136.00元 全年24期3264.00元

© 2019 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

## Contents

Volume 27 Number 8 Apr 28, 2019

## BASIC RESEARCH

- 477 Curcumin up-regulates miR-133a expression to inhibit hepatocellular carcinoma cell migration and invasion  
*Yuan HB, Meng PY, Qi LJ*
- 485 Brachytherapy using elastin-like polypeptide with different concentration of  $^{131}\text{I}$  for treatment of VX2 liver tumor in rabbits  
*Li Q, Liu XP, Wang DW, Shen YM, Jia Q, Liu WT*
- 494 MiR-181a-5p down-regulates LIF expression to inhibit apoptosis of pancreatic acinar cells  
*Gong QQ, Chen TJ*

## CLINICAL RESEARCH

- 503 Clinical value of contrast-enhanced ultrasound in radiofrequency ablation for primary hepatocellular carcinoma undetectable by conventional ultrasound  
*Zhou HL, Tang CL*
- 509 Risk factors for treatment ineffectiveness in patients with *H. pylori* infection undergoing eradication treatment according to drug susceptibility testing results  
*Zhu DB, Wu JM*

## REVIEW

- 515 Role of extracellular vesicles in diagnosis and treatment of liver fibrosis.  
*Zhao JW, Wang YG, Shi M*
- 521 Advances in morphologic study of enteric glial cells  
*Xu Y, Xie MZ, Liang GG*

## Conference Summary

- 527 Summary of the 28<sup>th</sup> annual conference of the Asian Pacific Association for the Study of the Liver  
*Zhu CW*

## CLINICAL PRACTICE

- 530 Evaluation of short-term efficacy of radiofrequency ablation for hepatocellular carcinoma by dynamic three-dimensional contrast-enhanced ultrasound  
*Zhang D, Zhou HL, Tang CL*

## CASE REPORT

- 535 ERCP for treatment of Caroli's disease complicated with biliary infection: A case report and review of the literature  
*Mei JF, Wang Z, Zhang XF, Lu L*



## Contents

*World Chinese Journal of Digestology*  
Volume 27 Number 8 Apr 28, 2019

### COVER

Editorial Board Member of *World Chinese Journal of Digestology*, Wei Yang, Chief Physician, Professor of Peking University Cancer Hospital, 52 Fucheng Road, Haidian District, Beijing 100142, China

### Indexed/Abstracted by

Chemical Abstracts, EMBASE/Excerpta Medica, Abstract Journals, Scopus, CNKI, CSTJ and Superstar Journals Database.

### RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE

Assistant Editor: *Xiang Li* Review Editor: *Li-Jun Cui* Electronic Editor: *Yan-Liang Zhang* English Language Editor: *Tian-Qi Wang* Proof Editor: *Ya-Juan Ma* Layout Reviewer: *Lian-Sheng Ma*

### Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

**Founded** on January 15, 1993  
**Renamed** on January 25, 1998  
**Publication date** April 28, 2019

#### NAME OF JOURNAL

*World Chinese Journal of Digestology*

#### ISSN

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

#### EDITOR-IN-CHIEF

**Ying-Sheng Cheng, Professor**, Department of Radiology, Sixth People's Hospital of Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200233, China

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

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

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

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

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

**Da-Lie Ma, Professor**, Department of Pathology, Changhai Hospital, the Second Military Medical University of Chinese PLA, Shanghai 200433, China

**Jun-Ping Wang, Professor**, Department of Gastroenterology, People's Hospital of Shanxi, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China

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

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

**Zong-Ming Zhang, Professor**, Department of General Surgery, Beijing Electric Power Hospital, Capital Medical University, Beijing 100073, China

#### EDITORIAL BOARD MEMBERS

All editorial board members resources online at <https://www.wjgnet.com/1009-3079/editorialboard.htm>

#### EDITORIAL OFFICE

Ya-Juan Ma, Director

*World Chinese Journal of Digestology*

Baishideng Publishing Group Inc  
7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton, CA 94588, USA

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

E-mail: [wjcd@wjgnet.com](mailto:wjcd@wjgnet.com)

<https://www.wjgnet.com>

#### PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Inc  
7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton, CA 94588, USA

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

E-mail: [bpgoffice@wjgnet.com](mailto:bpgoffice@wjgnet.com)

<https://www.wjgnet.com>

#### PRODUCTION CENTER

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

#### PRINT SUBSCRIPTION

RMB 136 Yuan for each issue  
RMB 3264 Yuan for one year

#### COPYRIGHT

© 2019 Baishideng Publishing Group Inc. Articles published by this open access journal are distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-commercial License, which permits use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited, the use is non commercial and is otherwise in compliance with the license.

#### SPECIAL STATEMENT

All articles published in journals owned by the Baishideng Publishing Group (BPG) represent the views and opinions of their authors, but not the views, opinions or policies of the BPG, except where otherwise explicitly indicated.

#### INSTRUCTIONS TO AUTHORS

Full instructions are available online at <https://www.wjgnet.com/1009-3079/Nav/36>. If you do not have web access, please contact the editorial office.

# 姜黄素调节miR-133a表达对肝癌细胞迁移和侵袭的影响

袁洪波, 孟佩盈, 戚柳杰

袁洪波, 孟佩盈, 戚柳杰, 诸暨市中心医院内二科 浙江省诸暨市 311800

袁洪波, 主治医师, 主要从事内科疾病的研究.

**作者贡献分布:** 由袁洪波与孟佩盈设计; 研究过程由袁洪波、孟佩盈及戚柳杰操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由戚柳杰提供; 数据分析由孟佩盈与戚柳杰完成; 本论文写作由袁洪波、孟佩盈及戚柳杰完成.

**通讯作者:** 袁洪波, 主治医师, 311800, 浙江省诸暨市暨阳街道朱公路98号, 诸暨市中心医院内二科. m13838734866@163.com  
电话: 0575-87212422

收稿日期: 2019-01-25

修回日期: 2019-02-27

接受日期: 2019-03-15

在线出版日期: 2019-04-28

## Curcumin up-regulates miR-133a expression to inhibit hepatocellular carcinoma cell migration and invasion

Hong-Bo Yuan, Pei-Ying Meng, Liu-Jie Qi

Hong-Bo Yuan, Pei-Ying Meng, Liu-Jie Qi, Second Department of Internal Medicine, Zhuji Central Hospital, Zhuji 311800, Zhejiang Province, China

**Corresponding author:** Hong-Bo Yuan, Chief Physician, Second Department of Internal Medicine, Zhuji Central Hospital, 98 Zhugong Road, Jiyang Street, Zhuji 311800, Zhejiang Province, China. m13838734866@163.com

Received: 2019-01-25

Revised: 2019-02-27

Accepted: 2019-03-15

Published online: 2019-04-28

## Abstract

### BACKGROUND

Curcumin has a good inhibitory effect on the occurrence and development of many kinds of tumors,

including hepatocellular carcinoma, but its anti-hepatocellular carcinoma mechanism is not completely clear. Some studies have found that curcumin can inhibit the proliferation and metastasis of gastric cancer cells by regulating the expression of miR-133a. The low expression of miR-133a in hepatocellular carcinoma has been confirmed by data, but whether curcumin regulated expression of miR-133a plays an anti-hepatocellular carcinoma role is not clear.

### AIM

To investigate the effect of curcumin on the migration and invasion of hepatocellular carcinoma cells and explore the underlying mechanism by detecting the expression of miR-133a.

### METHODS

After treatment of liver cancer SMMC-7721 cells with curcumin (0, 10, and 20  $\mu\text{mol/L}$ ) for 48 h, cell viability was detected by MTT assay, cell migration and invasion were measured by transwell assay, and the expression of miR-133a in the cells was detected by RT-PCR. The expression of miR-133a in normal liver LO2 cells and hepatocellular carcinoma SMMC-7721 cells was detected by RT-PCR. After transfection with miR-133a analogue to SMMC-7721 cells, the effect of miR-133a on migration and invasion of cells before and after curcumin treatment was detected by transwell assay.

### RESULTS

Curcumin effectively inhibited SMMC-7721 cell viability (10  $\mu\text{mol/L}$  curcumin:  $0.71 \pm 0.07$  vs  $1.02 \pm 0.09$ ; 20  $\mu\text{mol/L}$ :  $0.45 \pm 0.05$  vs  $1.02 \pm 0.09$ ), migration ( $52.32 \pm 5.48$  vs  $121.43 \pm 12.35$ ), and invasion ( $46.33 \pm 5.38$  vs  $109.25 \pm 10.75$ ) and increased miR-133a expression (10  $\mu\text{mol/L}$  curcumin:  $1.62 \pm 0.11$  vs  $1.00 \pm 0.09$ ; 20  $\mu\text{mol/L}$ :  $2.96 \pm 0.25$  vs  $1.00 \pm 0.09$ ). Compared with LO2 cells, the expression level of miR-133a ( $0.32 \pm 0.03$  vs  $1.03 \pm 0.08$ ) in SMMC-7721 cells was

decreased obviously. After increasing the expression of miR-133a, the migration ( $32.84 \pm 3.95$  vs  $96.35 \pm 9.08$ ) and invasion ( $42.75 \pm 5.06$  vs  $119.32 \pm 11.71$ ) of SMCC-7721 cells were significantly decreased, and the inhibitory effect of curcumin on migration ( $29.6 \pm 3.32$  vs  $134.62 \pm 13.41$ ) and invasion ( $31.86 \pm 4.05$  vs  $129.73 \pm 12.74$ ) of SMCC-7721 cells was enhanced.

## CONCLUSION

Curcumin can inhibit the migration and invasion of hepatoma cells by up-regulating the expression of miR-133a.

© The Author(s) 2019. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Liver cancer; Curcumin; miR-133a; Migration; Invasion

Yuan HB, Meng PY, Qi LJ. Curcumin up-regulates miR-133a expression to inhibit hepatocellular carcinoma cell migration and invasion. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(8): 477-484  
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i8/477.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i8.477>

## 摘要

### 背景

姜黄素对包括肝癌在内的多种肿瘤的发生发展表现出较好的抑制作用,但其抗肝癌的作用机制尚不完全清晰。有研究发现,姜黄素可通过调控miR-133a表达抑制胃癌细胞增殖和转移;miR-133a在肝癌中低表达的结果已有数据证实,但姜黄素是否介导miR-133a表达发挥抗肝癌的作用并不清楚。

### 目的

探讨姜黄素调节miR-133a表达对肝癌细胞迁移和侵袭的影响。

### 方法

以姜黄素(0、10、20  $\mu\text{mol/L}$ )处理肝癌SMMC-7721细胞48 h后,MTT法检测细胞活力,Transwell小室检测细胞的迁移和侵袭;RT-PCR检测细胞中miR-133a表达。采用RT-PCR检测正常肝LO2细胞和肝癌SMMC-7721细胞中miR-133a表达;将miR-133a模拟物转染至SMMC-7721细胞后,Transwell小室检测miR-133a对姜黄素作用前后细胞迁移和侵袭的影响。

### 结果

姜黄素能够有效抑制SMMC-7721细胞活力(10  $\mu\text{mol/L}$ 姜黄素存活率:  $0.71 \pm 0.07$  vs  $1.02 \pm 0.09$ ; 20  $\mu\text{mol/L}$ 姜黄素存活率:  $0.45 \pm 0.05$  vs  $1.02 \pm 0.09$ )、迁移( $52.32 \pm 5.48$  vs  $121.43 \pm 12.35$ )和侵袭( $46.33 \pm 5.38$  vs  $109.25$

$\pm 10.75$ )。上调miR-133a表达(10  $\mu\text{mol/L}$ 姜黄素:  $1.62 \pm 0.11$  vs  $1.00 \pm 0.09$ ; 20  $\mu\text{mol/L}$ 姜黄素:  $2.96 \pm 0.25$  vs  $1.00 \pm 0.09$ )。与LO2细胞相比,SMCC-7721细胞中miR-133a的表达水平明显降低( $0.32 \pm 0.03$  vs  $1.03 \pm 0.08$ )。上调miR-133a表达后,SMCC-7721细胞的迁移( $32.84 \pm 3.95$  vs  $96.35 \pm 9.08$ )和侵袭( $42.75 \pm 5.06$  vs  $119.32 \pm 11.71$ )能力均明显减弱,同时姜黄素对SMCC-7721细胞迁移( $29.6 \pm 3.32$  vs  $134.62 \pm 13.41$ )和侵袭( $31.86 \pm 4.05$  vs  $129.73 \pm 12.74$ )的抑制作用增强。

## 结论

姜黄素可通过上调miR-133a表达抑制肝癌细胞的迁移和侵袭。

© The Author(s) 2019. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 肝癌; 姜黄素; miR-133a; 迁移; 侵袭

**核心提要:** 姜黄素可抑制肝癌SMCC-7721细胞活力、侵袭和迁移,同时上调miR-133a表达;采用脂质体法转染miR-133a模拟物上调miR-133a表达后,SMCC-7721细胞的侵袭和迁移能力明显减弱,并能够与姜黄素协调起到抑制SMCC-7721细胞侵袭和迁移的作用。

袁洪波, 孟佩盈, 戚柳杰. 姜黄素调节miR-133a表达对肝癌细胞迁移和侵袭的影响. *世界华人消化杂志* 2019; 27(8): 477-484

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i8/477.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i8.477>

## 0 引言

有“癌中之王”之称的肝癌是临床上最为常见的恶性肿瘤,术后的复发和转移是影响肝癌治疗的重要因素,如何抑制肝癌的复发和转移提高患者的生存率是临床上的一大难题。除传统的手术治疗外,放疗和化疗的治疗并不理想,往往会伴有毒副作用的产生,慢慢地安全有效的中药及其成分逐渐进入人们的视野。姜黄素是一种具有抗氧化、抗炎、降血脂和抗肿瘤等活性的多酚类化合物,其抗肿瘤的作用备受学者们的关注。越来越多的研究<sup>[1-3]</sup>发现,姜黄素对胃癌、食管癌和乳腺癌等多种肿瘤的发生发展均具有较好的抑制作用。近年来有研究<sup>[4]</sup>报道,姜黄素可通过调控miR-133a表达干预胃癌细胞增殖和转移。研究<sup>[5,6]</sup>已证实,miR-133a在肝癌中低表达,姜黄素可抑制肝癌细胞生长和转移,但其有无调控miR-133a表达发挥抗肿瘤的作用并不清楚。因此,本研究通过体外细胞实验旨在探讨miR-133a在姜黄素抑制肝癌细胞迁移和侵袭中的作用。



## 1 材料和方法

**1.1 材料** 肝癌细胞系SMMC-7721和正常肝细胞系LO2购于中科院上海细胞库。RPMI1640培养基购于美国Gibco公司, 人工基底膜Matrigel、MTT试剂和姜黄素均购于美国Sigma公司, Trizol试剂购于美国LIFE公司, miR-133a模拟物及阴性对照购自上海吉玛公司。逆转录试剂盒购于大连宝生物公司, Transwell小室(孔径8  $\mu\text{m}$ )购于美国Coster公司。

### 1.2 方法

**1.2.1 细胞培养:** 采用含100 mL/L胎牛血清、100 U/mL青霉素和0.1 mg/mL链霉素的RPMI1640培养基, 在5%CO<sub>2</sub>的37  $^{\circ}\text{C}$ 恒温培养箱内常规培养SMMC-7721和LO2细胞。定期观察, 每3 d换液一次。当细胞汇合度达85%以上时, 加入0.25%胰蛋白酶消化传代。收集对数生长期的细胞进行实验。

**1.2.2 RT-PCR检测:** 在收集到的SMMC-7721和LO2细胞中加入Trizol试剂提取总RNA, 并采用紫外分光光度计测定总RNA的浓度。以逆转录试剂盒合成cDNA后, 以此为模板配置20  $\mu\text{L}$ 反应体系, 上PCR仪进行扩增。反应条件: 95  $^{\circ}\text{C}$ 预变性5 min, (95  $^{\circ}\text{C}$ 变性30 s, 60  $^{\circ}\text{C}$ 退火30 s, 72  $^{\circ}\text{C}$ 延伸30 s) $\times$ 35个循环。其中, miR-133a(上游: 5'-GCCAAGCTGGTAAA-ATGGAA-3'和下游: 5'-TATGGTTTGTACGACTGTGTGAT-3')和内参U6(上游: 5'-CTCGCTTCGGCAGCACA-3'和下游: 5'-AACGCTTCACGAATTTGCG-3')引物序列由上海生工生物合成。以 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 法计算SMMC-7721和LO2细胞中miR-133a的相对表达量。

**1.2.3 MTT检测:** 取96孔细胞板, 将对数生长期的SMMC-7721细胞以每孔200  $\mu\text{L}$ (细胞浓度为 $5\times 10^5$ 个/mL)进行接种。置于细胞培养箱中培养过夜, 次日将细胞随机分为三组: 对照组(0  $\mu\text{mol/L}$ 姜黄素)、10  $\mu\text{mol/L}$ 姜黄素处理组和20  $\mu\text{mol/L}$ 姜黄素处理组。另设无细胞的空白组。按照分组, 分别给药处理。48 h后, 每孔中加入20  $\mu\text{L}$  MTT溶液, 于培养箱内孵育4 h后, 加入二甲基亚砷震荡反应至紫色结晶完全溶解。采用酶标仪选用490 nm检测波长检测各孔的吸光度值, 根据公式: 细胞存活率 =  $100\% \times (\text{药物处理组OD值} - \text{空白组OD值}) / (\text{对照组OD值} - \text{空白组OD值})$ 计算SMMC-7721细胞的存活率。并采用RT-PCR检测各组细胞中miR-133a的相对表达水平。

**1.2.4 Transwell小室检测:** 收集上述对照组和20  $\mu\text{mol/L}$ 姜黄素处理组的细胞, 以胰蛋白酶消化, 加无血清培养基重悬细胞, 调整细胞浓度为 $5\times 10^5$ 个/mL。细胞迁移实验: 取Transwell小室, 于上室中加入200  $\mu\text{L}$ 制备的对

照组和20  $\mu\text{mol/L}$ 姜黄素处理组细胞悬液, 下室中加入600  $\mu\text{L}$ 含血清的RPMI1640培养基, 置于培养箱内培养24 h后, 取出小室, 以磷酸缓冲液洗涤后, 小心擦去上室的细胞。以甲醛于4  $^{\circ}\text{C}$ 下固定15 min, 磷酸缓冲液洗涤后, 再以结晶紫染色30 min。以磷酸缓冲液洗涤后, 晾干。于倒置显微镜下, 选取5个视野观察细胞的个数即侵袭细胞数, 并拍照, 结果以均值表示。细胞侵袭实验: 首先以Matrigel基质胶包被Transwell小室, 风干成胶后, 以无血清的培养基封闭30 min, 其他操作均与细胞迁移实验相同。实验重复3次。

**1.2.5 细胞转染:** 取6孔细胞板, 以每孔 $2\times 10^5$ 个细胞进行接种。置于孵箱中常规培养, 待细胞密度达85%以上时, 进行瞬时转染。实验随机分为阴性对照(miR-NC)组和miR-133a组, 根据LipofectamineTM2000转染试剂说明书步骤分别将miR-NC和miR-133a模拟物转染至SMMC-7721细胞中, 孵育6 h后, 换液继续培养。培养48 h后, 检测各组细胞的迁移和侵袭情况。另取一个6孔细胞板, 以每孔 $2\times 10^5$ 个细胞进行接种, 置于孵箱中常规培养, 待细胞密度达85%以上时, 进行瞬时转染。将细胞随机分为对照组(未做任何处理)、姜黄素组(以20  $\mu\text{mol/L}$ 姜黄素处理48 h)、姜黄素+阴性对照组(转染miR-NC后, 以20  $\mu\text{mol/L}$ 姜黄素处理48 h)和姜黄素+miR-133a组(转染miR-133a模拟物后, 以20  $\mu\text{M}$ 姜黄素处理48 h)。按照如上分组分别进行转染和姜黄素处理后, 检测各组细胞的迁移和侵袭情况。

**统计学处理** 数据以mean $\pm$ SD形式表示, 采用SPSS 22.0进行统计学分析, 三组组间数据采用单因素方差分析, 方差齐性采用SNK-q检验, 两组组间采用独立样本t检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 姜黄素抑制肝癌SMMC-7721细胞的活力** 姜黄素(0、10、20  $\mu\text{mol/L}$ )处理48 h, MTT检测细胞活力, 结果见图1。与对照组(0  $\mu\text{mol/L}$ )相比, 10、20  $\mu\text{mol/L}$ 姜黄素处理组的细胞存活率均明显降低( $P<0.05$ ), 且在20  $\mu\text{mol/L}$ 姜黄素作用下SMMC-7721细胞活力的抑制效果最强。

**2.2 姜黄素抑制SMCC-7721细胞的迁移和侵袭** 采用Transwell小室分别检测20  $\mu\text{mol/L}$ 姜黄素处理后, SMMC-7721细胞迁移和侵袭能力的变化, 结果见图2。与对照组相比, 姜黄素处理后, SMMC-7721细胞的迁移个数和侵袭个数均明显减少( $P<0.05$ )。

**2.3 姜黄素促进肝癌SMCC-7721细胞中miR-133a的**

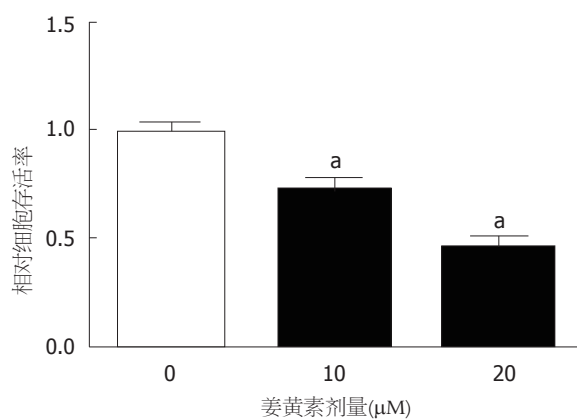


图 1 不同浓度的姜黄素对肝癌SMMC-7721细胞活力的影响. <sup>a</sup> $P<0.05$ , 与0 μmol/L组相比.

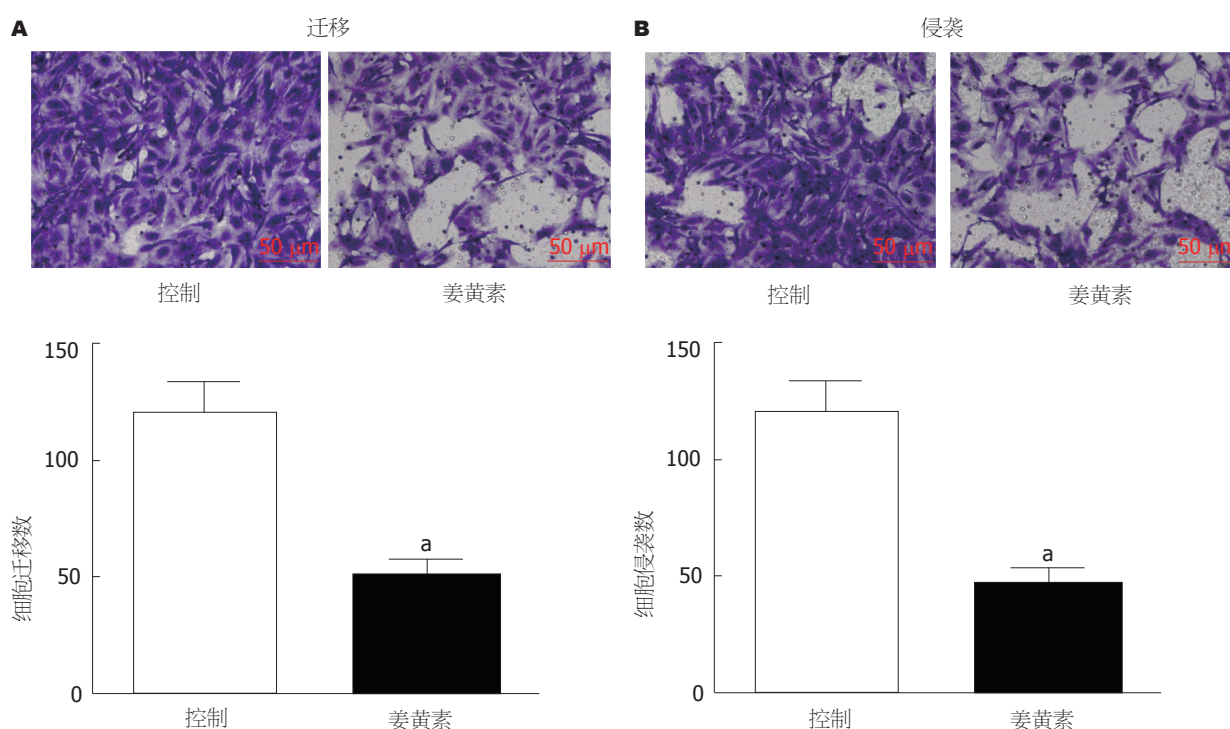


图 2 姜黄素对SMCC-7721细胞迁移和侵袭的影响. A: 细胞迁移结果; B: 细胞侵袭结果. <sup>a</sup> $P<0.05$ , 与对照组相比. 放大倍数: 200 ×.

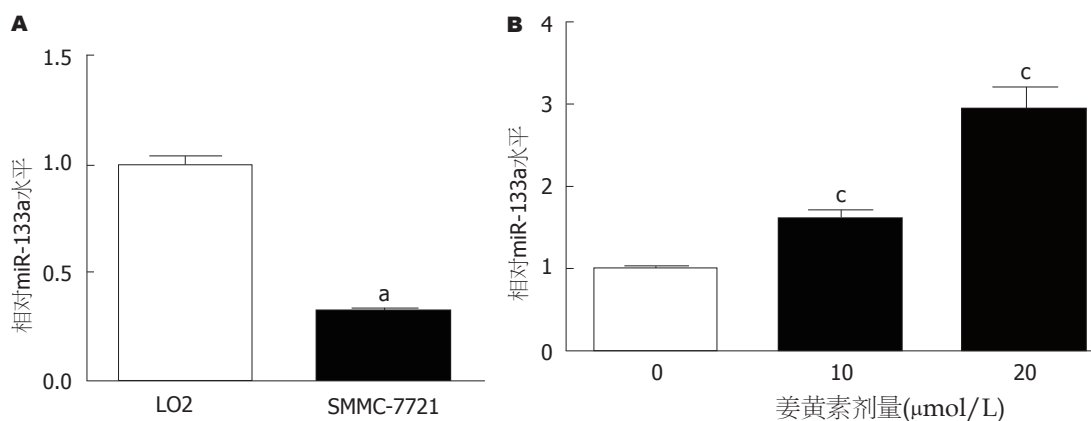


图 3 姜黄素对SMCC-7721细胞中miR-133a表达的影响. A: 正常肝LO2细胞和肝癌SMCC-7721细胞中miR-133a表达, <sup>a</sup> $P<0.05$ , 与LO2细胞相比; B: 姜黄素处理后, SMCC-7721细胞中miR-133a表达, <sup>c</sup> $P<0.05$ , 与0 μmol/L组相比.



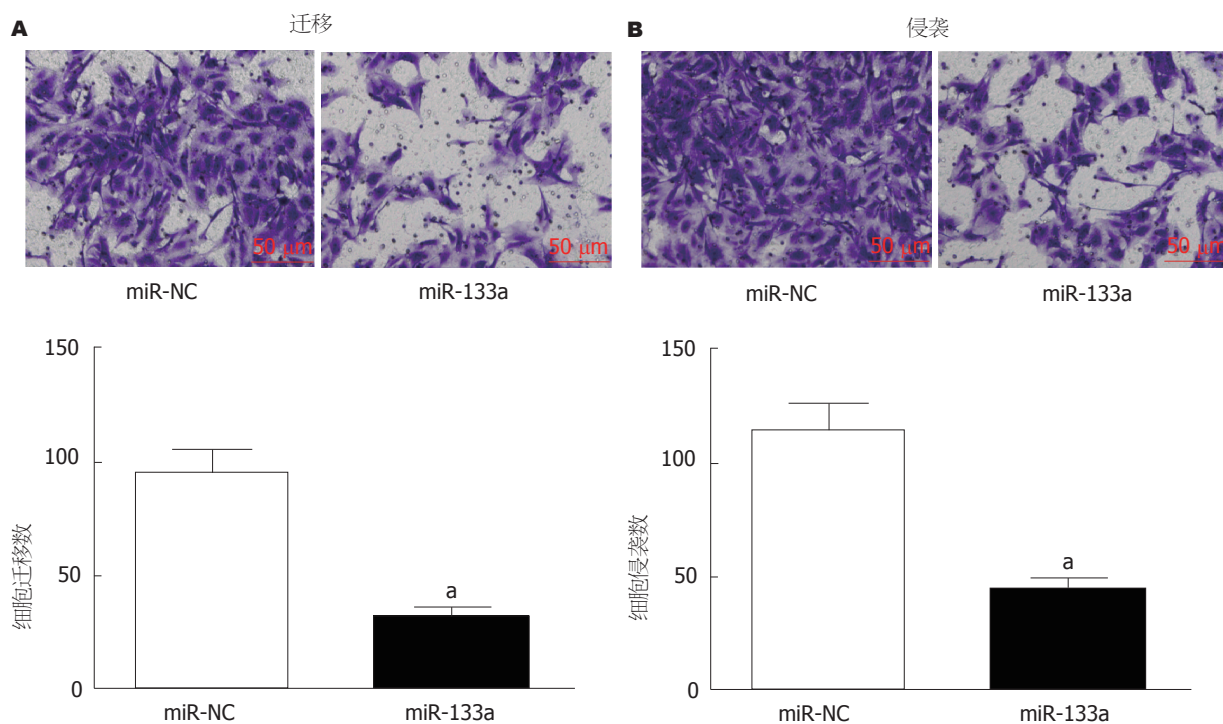


图4 miR-133a过表达对SMCC-7721细胞迁移和侵袭能力的影响. A: 细胞迁移结果; B: 细胞侵袭结果. <sup>a</sup> $P<0.05$ , 与阴性对照组相比. 放大倍数: 200 ×.

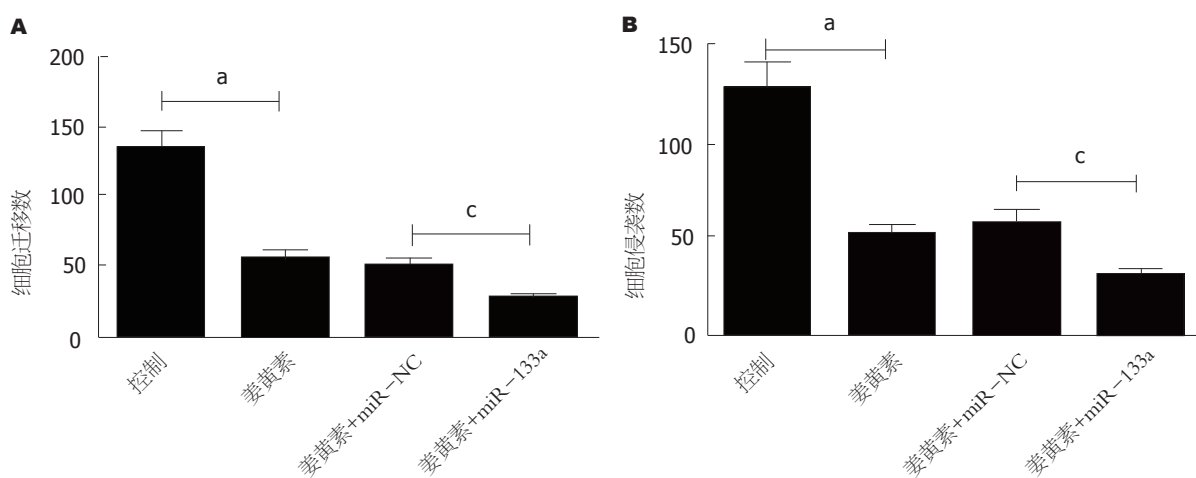


图5 miR-133a过表达对姜黄素作用下SMCC-7721细胞迁移和侵袭的影响. A: 细胞迁移结果; B: 细胞侵袭结果. <sup>a</sup> $P<0.05$ , 与姜黄素组相比; <sup>c</sup> $P<0.05$ , 与姜黄素+阴性对照组相比.

表达 RT-PCR检测发现, 肝癌SMCC-7721细胞中miR-133a的表达水平较正常肝LO2细胞明显降低( $P<0.05$ ), 见图3A. 然而, 以10、20  $\mu\text{mol/L}$ 姜黄素处理48 h后, SMCC-7721细胞中miR-133a的表达水平呈浓度依赖性升高( $P<0.05$ ), 见图3B.

2.4 miR-133a过表达抑制SMCC-7721的迁移和侵袭 采用Lipofectamine™ 2000转染miR-NC和miR-133a模拟物48 h后, 以Transwell小室检测SMCC-7721细胞的迁移和侵袭能力, 结果见图4. 与阴性对照组相比, miR-133a

组细胞的迁移个数和侵袭个数均明显减弱( $P<0.05$ ).

2.5 miR-133a过表达增强姜黄素对SMCC-7721细胞迁移侵袭的抑制作用 采用Transwell小室进一步检测miR-133a过表达对姜黄素作用下SMCC-7721细胞迁移和侵袭的影响, 结果见图5. 20  $\mu\text{mol/L}$ 姜黄素处理后, SMCC-7721细胞的迁移和侵袭能力均明显减弱, 转染miR-NC未能影响姜黄素对SMCC-7721细胞的作用( $P>0.05$ ), 但转染miR-133a模拟物后, 姜黄素对SMCC-7721细胞迁移和侵袭的抑制作用明显增强

( $P<0.05$ ).

### 3 讨论

肝癌是我国常见的消化系统恶性肿瘤, 严重威胁着人们的身体健康和生活质量. 目前, 肝癌的治疗仍以手术治疗、放疗和化疗为主. 随着医学领域的不断发展, 肝癌患者的总生存率虽有所提高, 但肝癌的治疗并未得到根本改善, 肝癌患者术后的复发率仍较高<sup>[7,8]</sup>. 如何安全有效的防治肿瘤细胞的转移对肝癌患者的治疗尤为重要. 因中药具有毒性小、效率高和价格低等优势, 中药抗肿瘤逐渐成为研究的热点. 姜黄素是从中药姜黄根茎中提取的一种活性成分, 已被证实在前列腺癌、胰腺癌和结肠癌中具有可喜的抗肿瘤细胞转移的作用<sup>[9-11]</sup>. 目前, 关于姜黄素抗肝癌细胞转移的作用已有报道. 例如: Zhang等<sup>[12]</sup>研究指出, 姜黄素能够增强二甲双胍对肝癌细胞增殖、侵袭、转移和血管生成的抑制作用; 邱伟等<sup>[13]</sup>报道证实, 姜黄素可通过下调MMP-2/9和COX-2的表达抑制肝癌细胞的增殖及侵袭. 但是, 姜黄素应用于临床治疗肝癌的理论依据还不够充分. 因此, 探讨姜黄素抗肝癌细胞转移的分子机制对姜黄素临床治疗肝癌具有重要意义.

大量研究<sup>[14-18]</sup>显示, miRNAs与肝癌的发生发展关系密切, 在肿瘤细胞的增殖、转移和凋亡等生物学过程中发挥着重要的调控作用. 如: miR-23b-3p在肝癌细胞中低表达, 与肝癌进展和复发时间关系密切<sup>[17]</sup>; miR-1260b在肝癌组织中高表达, miR-1260b的过度表达增加了肝癌细胞的迁移和侵袭<sup>[18]</sup>. miR-133a作为miRNAs家族成员, 在乳腺癌、胃癌和非小细胞肺癌等肿瘤中异常低表达, 与临床分期、淋巴结转移及生存时间密切相关, 上调其表达可抑制肿瘤细胞的增殖、迁移和侵袭<sup>[19-21]</sup>. 有研究<sup>[4]</sup>报道, 姜黄素可通过调控miR-133a表达干预胃癌细胞增殖和转移. 已有研究<sup>[22,23]</sup>证实, miR-133a在肝癌中低表达, 姜黄素可抑制肝癌细胞生长和转移, 但其有无通过调控miR-133a表达来发挥作用并不清楚. 本研究以姜黄素处理肝癌SMMC-7721细胞, 结果发现, 细胞活力、迁移和侵袭能力均明显受到抑制, 这之前研究<sup>[23]</sup>的研究结果相吻合. 进一步观察姜黄素对肝癌细胞中miR-133a表达的影响发现, miR-133a表达呈浓度依赖性升高. 提示, 姜黄素可能通过上调miR-133a参与抗肝癌细胞转移的调控过程. 为了验证这一猜想, 本研究通过转染miR-133a模拟物上调SMMC-7721细胞中miR-133a表达后, 检测发现SMMC-7721细胞的迁移和侵袭能力均显著减弱. 该结果与miR-133a在胃癌和非小细胞肺癌中的抑癌作用相吻合<sup>[20,21]</sup>. 这提示, miR-133a在肝癌

细胞的迁移和侵袭过程中发挥着重要的抑制作用. 同时发现, 上调miR-133a表达还能增强姜黄素对SMCC-7721细胞迁移和侵袭的抑制作用. 结果表明, 姜黄素可通过上调miR-133a表达抑制肝癌细胞的迁移和侵袭.

总之, miR-133a表达上调是姜黄素抗肝癌细胞转移的一个重要机制, 为姜黄素介导miRNAs发挥抗肿瘤作用提供了实验依据. 后期我们会进一步探讨姜黄素是如何通过上调miR-133a表达调控下游相关基因参与其抗肝癌转移的调控, 以期姜黄素临床治疗肝癌提供新的参考依据.

### 文章亮点

#### 实验背景

姜黄素对包括肝癌在内的多种肿瘤的发生发展表现出较好的抑制作用, 但其抗肝癌的作用机制尚不完全清晰. 有研究发现, 姜黄素可通过调控miR-133a表达抑制胃癌细胞增殖和转移; miR-133a在肝癌中低表达的结果已有数据证实, 但姜黄素是否介导miR-133a表达发挥抗肝癌的作用并不清楚.

#### 实验动机

本研究旨在探讨miR-133a在姜黄素抑制肝癌细胞迁移和侵袭中的作用, 以期姜黄素抗肝癌细胞转移提供新的实验依据.

#### 实验目标

探讨姜黄素调节miR-133a表达对肝癌细胞迁移和侵袭的影响, 以期姜黄素抗肝癌细胞的机制提供新线索.

#### 实验方法

以10、20  $\mu\text{mol/L}$ 姜黄素处理肝癌SMMC-7721细胞48 h后, 采用MTT法检测细胞活力, Transwell小室检测细胞的迁移和侵袭; RT-PCR检测细胞中miR-133a表达. 采用RT-PCR检测正常肝LO2细胞和肝癌SMMC-7721细胞中miR-133a表达; 采用脂质体法将miR-133a模拟物转染至SMMC-7721细胞后, Transwell小室检测姜黄素作用前后细胞迁移和侵袭.

#### 实验结果

姜黄素可抑制SMMC-7721细胞活力、迁移和侵袭, 上调miR-133a表达. miR-133a在SMCC-7721细胞中的表达水平较LO2细胞明显降低. 上调miR-133a表达后, SMCC-7721细胞的迁移和侵袭能力均明显减弱, 同时可增强姜黄素对SMCC-7721细胞迁移和侵袭的抑制作用.

## 实验结论

姜黄素可上调miR-133a表达抑制肝癌细胞的迁移和侵袭。这一结果进一步揭示了姜黄素抗肝癌细胞转移的分子机制, 也为姜黄素抗肝癌的发生发展提供了新的实验依据。

## 展望前景

本研究仅仅发现miR-133a表达上调是姜黄素抗肝癌细胞转移的一个重要机制, 但miR-133a是如何调控下游相关基因参与姜黄素抗肝癌转移的还有待深入探讨, 后期我们将继续致力于这方面的研究, 以期姜黄素临床治疗肝癌提供新依据。

## 4 参考文献

- 1 Fu H, Wang C, Yang D, Wei Z, Xu J, Hu Z, Zhang Y, Wang W, Yan R, Cai Q. Curcumin regulates proliferation, autophagy, and apoptosis in gastric cancer cells by affecting PI3K and P53 signaling. *J Cell Physiol* 2018; 233: 4634-4642 [PMID: 28926094 DOI: 10.1002/jcp.26190]
- 2 Zheng BZ, Liu TD, Chen G, Zhang JX, Kang X. The effect of curcumin on cell adhesion of human esophageal cancer cell. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2018; 22: 551-560 [PMID: 29424917 DOI: 10.26355/eurrev\_201801\_14209]
- 3 Wang R, Li J, Zhao Y, Li Y, Yin L. Investigating the therapeutic potential and mechanism of curcumin in breast cancer based on RNA sequencing and bioinformatics analysis. *Breast Cancer* 2018; 25: 206-212 [PMID: 29139094 DOI: 10.1007/s12282-017-0816-6]
- 4 邵娟. 姜黄素调节miR-133a-3p靶向MMP15干预胃癌增殖、转移的作用及机制研究. 扬州大学, 2017
- 5 Liang HW, Yang X, Wen DY, Gao L, Zhang XY, Ye ZH, Luo J, Li ZY, He Y, Pang YY, Chen G. Utility of miR-133a-3p as a diagnostic indicator for hepatocellular carcinoma: An investigation combined with GEO, TCGA, meta-analysis and bioinformatics. *Mol Med Rep* 2018; 17: 1469-1484 [PMID: 29138825 DOI: 10.3892/mmr.2017.8040]
- 6 Kim HJ, Park SY, Park OJ, Kim YM. Curcumin suppresses migration and proliferation of Hep3B hepatocarcinoma cells through inhibition of the Wnt signaling pathway. *Mol Med Rep* 2013; 8: 282-286 [PMID: 23723038 DOI: 10.3892/mmr.2013.1497]
- 7 Warzyszyńska K, Jonas M, Wasiak D, Kosieradzki M, Małkowski P. Accelerated hepatocellular carcinoma recurrence rate after postoperative direct-acting antivirals treatment - preliminary report. *Clin Exp Hepatol* 2017; 3: 194-197 [PMID: 29255807 DOI: 10.5114/ceh.2017.71483]
- 8 Zhou YM, Zhang XF, Li B, Sui CJ, Yang JM. Postoperative complications affect early recurrence of hepatocellular carcinoma after curative resection. *BMC Cancer* 2015; 15: 689 [PMID: 26466573 DOI: 10.1186/s12885-015-1720-0]
- 9 Yang J, Wang C, Zhang Z, Chen X, Jia Y, Wang B, Kong T. Curcumin inhibits the survival and metastasis of prostate cancer cells via the Notch-1 signaling pathway. *APMIS* 2017; 125: 134-140 [PMID: 28120490 DOI: 10.1111/apm.12650]
- 10 Cao L, Xiao X, Lei J, Duan W, Ma Q, Li W. Curcumin inhibits hypoxia-induced epithelial-mesenchymal transition in pancreatic cancer cells via suppression of the hedgehog signaling pathway. *Oncol Rep* 2016; 35: 3728-3734 [PMID: 27035865 DOI: 10.3892/or.2016.4709]
- 11 Tong W, Wang Q, Sun D, Suo J. Curcumin suppresses colon cancer cell invasion via AMPK-induced inhibition of NF-κB, uPA activator and MMP9. *Oncol Lett* 2016; 12: 4139-4146 [PMID: 27895783 DOI: 10.3892/ol.2016.5148]
- 12 Zhang HH, Zhang Y, Cheng YN, Gong FL, Cao ZQ, Yu LG, Guo XL. Metformin in combination with curcumin inhibits the growth, metastasis, and angiogenesis of hepatocellular carcinoma in vitro and in vivo. *Mol Carcinog* 2018; 57: 44-56 [PMID: 28833603 DOI: 10.1002/mc.22718]
- 13 邱伟, 刘阳, 曹卫, 徐军. 姜黄素抑制肝癌细胞系 HepG2的增殖、侵袭及其机制. 现代肿瘤医学 2015; 23: 3221-3225 [DOI: 10.3969/j.issn.1672-4992.2015.22.004]
- 14 Wu HJ, Zhuo Y, Zhou YC, Wang XW, Wang YP, Si CY, Wang XH. miR-29a promotes hepatitis B virus replication and expression by targeting SMARCE1 in hepatoma carcinoma. *World J Gastroenterol* 2017; 23: 4569-4578 [PMID: 28740345 DOI: 10.3748/wjg.v23.i25.4569]
- 15 Wang X, Liao Z, Bai Z, He Y, Duan J, Wei L. MiR-93-5p Promotes Cell Proliferation through Down-Regulating PPARGC1A in Hepatocellular Carcinoma Cells by Bioinformatics Analysis and Experimental Verification. *Genes (Basel)* 2018; 9: [PMID: 29361788 DOI: 10.3390/genes9010051]
- 16 周艳华, 茅慧, 张鹏飞, 戴广海. miR-451对肝癌细胞增殖、糖酵解及相关基因表达的影响. 现代中西医结合杂志 2018; 27: 934-937 [DOI: 10.3969/j.issn.1008-8849.2018.09.006]
- 17 He RQ, Wu PR, Xiang XL, Yang X, Liang HW, Qiu XH, Yang LH, Peng ZG, Chen G. Downregulated miR-23b-3p expression acts as a predictor of hepatocellular carcinoma progression: A study based on public data and RT-qPCR verification. *Int J Mol Med* 2018; 41: 2813-2831 [PMID: 29484429 DOI: 10.3892/ijmm.2018.3513]
- 18 Li X, Song H, Liu Z, Bi Y. miR-1260b promotes cell migration and invasion of hepatocellular carcinoma by targeting the regulator of G-protein signaling 22. *Biotechnol Lett* 2018; 40: 57-62 [PMID: 29038925 DOI: 10.1007/s10529-017-2455-6]
- 19 Sui Y, Zhang X, Yang H, Wei W, Wang M. MicroRNA-133a acts as a tumour suppressor in breast cancer through targeting LASP1. *Oncol Rep* 2018; 39: 473-482 [PMID: 29207145 DOI: 10.3892/or.2017.6114]
- 20 Qiu T, Zhou X, Wang J, Du Y, Xu J, Huang Z, Zhu W, Shu Y, Liu P. MiR-145, miR-133a and miR-133b inhibit proliferation, migration, invasion and cell cycle progression via targeting transcription factor Sp1 in gastric cancer. *FEBS Lett* 2014; 588: 1168-1177 [PMID: 24613927 DOI: 10.1016/j.febslet.2014.02.054]
- 21 Wang Y, Li J, Chen H, Mo Y, Ye H, Luo Y, Guo K, Mai Z, Zhang Y, Chen B, Zhou Y, Yang Z. Down-regulation of miR-133a as a poor prognosticator in non-small cell lung cancer. *Gene* 2016; 591: 333-337 [PMID: 27282282 DOI: 10.1016/j.gene.2016.06.001]
- 22 Zhang W, Liu K, Liu S, Ji B, Wang Y, Liu Y. MicroRNA-133a functions as a tumor suppressor by targeting IGF-1R in hepatocellular carcinoma. *Tumour Biol* 2015; 36: 9779-9788 [PMID: 26156803 DOI: 10.1007/s13277-015-3749-8]
- 23 Cao MT, Liu HF, Liu ZG, Xiao P, Chen JJ, Tan Y, Jiang XX, Jiang ZC, Qiu Y, Huang HJ, Zhang QG, Jiang GM. Curcumin



downregulates the expression of Snail via suppressing Smad2 pathway to inhibit TGF- $\beta$ 1-induced epithelial-mesenchymal

transitions in hepatoma cells. *Oncotarget* 2017; 8: 108498-108508 [PMID: 29312546 DOI: 10.18632/oncotarget.22590]

编辑: 崔丽君 电编: 张砚梁



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 © 2019 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》修回稿须知

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

#### 1 修回稿信件

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

#### 2 稿件修改

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

#### 3 版权

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

# 不同浓度<sup>131</sup>I-ELP近距离放射治疗兔VX2肝癌模型的实验研究

李茜, 刘欣培, 王多伟, 申一鸣, 贾强, 刘文天

李茜, 刘文天, 天津医科大学总医院消化科 天津市 300052

刘欣培, 天津市第五中心医院消化科 天津市 300450

王多伟, 天津医科大学总医院普外科 天津市 300052

申一鸣, 贾强, 天津医科大学总医院核医学科 天津市 300052

李茜, 在读硕士, 主要从事消化系统疾病的研究.

基金项目: 本文受天津市科委慢性病防治科技重大专项, No. 17ZXMFSY00210; 天津市卫计委卫生行业重点攻关项目, No. 15KG149.

作者贡献分布: 本研究由刘文天提出设计理念并指导完成; 实验与数据分析由李茜、刘欣培、王多伟、申一鸣及贾强共同完成; 文章由李茜撰写.

通讯作者: 刘文天, 教授, 主任医师, 300052, 天津市和平区鞍山道154号, 天津医科大学总医院消化科. lwentian64@163.com  
电话: 022-60363800

收稿日期: 2019-02-16

修回日期: 2019-03-13

接受日期: 2019-03-24

在线出版日期: 2019-04-28

## Brachytherapy using elastin-like polypeptide with different concentrations of <sup>131</sup>I for treatment of VX2 liver tumor in rabbits

Qian Li, Xin-Pei Liu, Duo-Wei Wang, Yi-Ming Shen, Qiang Jia, Wen-Tian Liu

Qian Li, Wen-Tian Liu, Department of Gastroenterology, Tianjin Medical University General Hospital, Tianjin 300052, China

Xin-Pei Liu, Department of Gastroenterology, the Fifth Central Hospital of Tianjin, Tianjin 300450, China

Duo-Wei Wang, Department of General Surgery, Tianjin Medical University General Hospital, Tianjin 300052, China

Yi-Ming Shen, Qiang Jia, Department of Nuclear Medicine, Tianjin Medical University General Hospital, Tianjin 300052, China

Supported by: Tianjin Science and Technology Commission's Major Project on Chronic Disease Prevention and Control, No. 17ZXMFSY00210; Tianjin Health and Family Planning Commission, No. 15KG149.

Corresponding author: Wen-Tian Liu, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Tianjin Medical University General Hospital, 154 Anshan Road, Heping District, Tianjin 300052, China. lwentian64@163.com

Received: 2019-02-16

Revised: 2019-03-13

Accepted: 2019-03-24

Published online: 2019-04-28

## Abstract BACKGROUND

Brachytherapy is a targeted radiation therapy for cancer. The elastin-like peptide (ELP) is a genetically engineered peptide that has unique advantages such as self-assembly, temperature responsiveness, and non-immunogenicity, which make it possible to become the carrier of the radionuclide <sup>131</sup>I.

## AIM

To evaluate the effectiveness of brachytherapy in a rabbit model of VX2 liver tumor using elastin-like polypeptide as a radionuclide <sup>131</sup>I carrier and compare the effectiveness of <sup>131</sup>I-ELP at different radioactive concentrations to provide evidence for its clinical application.

## METHODS

ELP as a carrier was labeled with <sup>131</sup>I by the iodogen method, and different concentrations of <sup>131</sup>I-ELP were prepared. Under ultrasound guidance, different concentrations of <sup>131</sup>I-ELP and ELP solution were



randomly injected into 15 rabbits with VX2 liver tumor for brachytherapy and blank control observation. The rabbits were divided into the following groups: high-dose radiation group (injection with 100 mCi/mL <sup>131</sup>I-ELP; group H,  $n = 5$ ); low-dose radiation group (injection with 50 mCi/mL <sup>131</sup>I-ELP; group L,  $n = 5$ ); and blank control group (injection with ELP solution; group C,  $n = 5$ ). Periodic biochemical and sonographic examinations were performed to assess the therapeutic efficacy after treatment. Single-photon emission computed tomography/computed tomography (SPECT/CT) was additionally performed in the treatment groups. The natural survival time of animals in the three groups was determined. In addition, histopathological examination was performed.

## RESULTS

The survival time of animals was the longest in group H (61.4 d  $\pm$  10.50 d) and the shortest (39.2 d  $\pm$  5.63 d) in group C. The survival time of animals in group L was 52.6 d  $\pm$  8.85 d. Significant differences were observed in the survival time among the three groups ( $P < 0.05$ ). At 7 and 14 d after treatment, SPECT/CT showed that <sup>131</sup>I-ELP was continuously localized in liver tumors in groups H and L. The tumor growth rates in groups H and L were significantly lower than that in group C ( $P < 0.05$ ). Alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) at 14 d after treatment in groups H and L were significantly lower than those in group C ( $P < 0.05$ ). At 7 d after treatment, ALT level in group L was significantly lower than that in group H ( $P < 0.05$ ). At 14 d after treatment, AST value in group L was significantly lower than that in group H ( $P < 0.05$ ), suggesting that group L is better than group H with regard to ameliorating ALT and AST levels ( $P < 0.05$ ). There were no significant differences in Hb or RBC levels between the three groups at 7 and 14 d after treatment. Histopathological examination showed that normal tissues around the tumor in group H were destroyed; proliferation of cord-like fibers, expansion of hepatic sinus, and dilatation of small bile ducts in the portal area were observed. In group L, no radioactive damage was observed in normal liver tissues around the tumor.

## CONCLUSION

<sup>131</sup>I-ELP brachytherapy has curative effects in inhibiting tumor growth. <sup>131</sup>I-ELP at a radiation dose of 100 mCi/mL inhibits tumor growth better than <sup>131</sup>I-ELP at a radiation dose of 50 mCi/mL; however, the higher dose causes greater radiation damage to normal liver tissues around the tumor.

© The Author(s) 2019. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Liver tumor; Rabbit VX2 tumor model; <sup>131</sup>I;

## Elastin-like peptide; Radioactive concentration

Li Q, Liu XP, Wang DW, Shen YM, Jia Q, Liu WT. Brachytherapy using elastin-like polypeptide with different concentration of <sup>131</sup>I for treatment of VX2 liver tumor in rabbits. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(8): 485-493

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i8/485.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v27.i8.485>

## 摘要

### 背景

近距离放射治疗是治疗癌症的靶向放射疗法, 类弹性蛋白多肽(elastin-like peptide, ELP)是一种人工合成的弹性蛋白, 其具有的自组装性、温度响应性和非免疫原性等独特优势, 为其成为放射性核素<sup>131</sup>I的载体提供了可能。

### 目的

制备放射性核素<sup>131</sup>I标记的ELP, 研究不同放射性浓度<sup>131</sup>I-ELP对兔VX2肝癌模型近距离放射治疗的有效性及其差异性, 为其临床应用提供依据。

### 方法

应用Iodogen法对ELP进行<sup>131</sup>I碘化标记, 制备100 mCi/mL和50 mCi/mL放射浓度的<sup>131</sup>I-ELP; 在B超引导下将不同浓度<sup>131</sup>I-ELP药物及ELP溶液随机注入15只VX2模型兔的肝肿瘤内进行近距离放射性治疗及空白对照观察, 以注入100 mCi/mL <sup>131</sup>I-ELP为高放射浓度治疗组(H组,  $n = 5$ ); 注入50 mCi/mL <sup>131</sup>I-ELP为低放射浓度治疗组(L组,  $n = 5$ )及注入ELP溶液为空白对照组(C组,  $n = 5$ )。治疗后, 定期行B超及血液学检查以观察治疗效果, 治疗组行单光子发射计算机断层扫描/计算机断层扫描(single-photon emission computed tomography/computed tomography, SPECT/CT)检查, 观察三组动物的自然生存时间和病理学检查。

### 结果

H组的动物生存期最长(61.4 d  $\pm$  10.50 d), L组的动物生存期为(52.6 d  $\pm$  8.85 d), C组的动物生存期最短(39.2 d  $\pm$  5.63 d), 三组之间有显著差异( $P < 0.05$ )。治疗后7 d、14 d, SPECT/CT示治疗组的放射性持续位于肿瘤内部。H和L组的肿瘤生长率显著低于C组( $P < 0.05$ )。H和L组治疗后7 d、14 d肝功能指标丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)和天冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)显著低于C组( $P < 0.05$ )。治疗后7 d L组的ALT水平显著低于H组( $P < 0.05$ ); 治疗后14 d, L组AST数值显著低于H组( $P < 0.05$ ), 提示H组的肝功能受损更严重。治疗后7 d、14 d三组Hb、RBC计数无显著差异。病理组织学检查示H组癌旁正常肝组织存在小叶中央静脉淤血、肝窦及汇管区小胆管扩张、肝内纤维增生, 在肿瘤组织内发现大片状坏死。L组的癌旁正常组织则仅见少

量纤维增生。

## 结论

<sup>131</sup>I-ELP近距离放射疗法可杀伤肝癌细胞, 放射性浓度为100 mCi/mL的<sup>131</sup>I-ELP较50 mCi/mL的杀伤作用更强, 但其放射性损伤也更大。

© The Author(s) 2019. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 肝癌; 兔VX2肿瘤模型; <sup>131</sup>I; 类弹性蛋白多肽; 放射性浓度

**核心提要:** 类弹性蛋白多肽(elastin-like peptide, ELP)作为一种新型生物医学材料, 一直是近年来药物载体、药物控释研究领域的热点, 本研究拟探讨其作为放射性核素<sup>131</sup>I的载体近距离放射治疗兔的VX2肝癌模型的有效性, 及不同放射性浓度<sup>131</sup>I-ELP疗效的差异性。

李茜, 刘欣培, 王多伟, 申一鸣, 贾强, 刘文天. 不同浓度<sup>131</sup>I-ELP近距离放射治疗兔VX2肝癌模型的实验研究. 世界华人消化杂志 2019; 27(8): 485-493

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i8/485.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i8.485>

## 0 引言

世界上每年约有75万肝癌新发病例, 其中一半发生在中国。原发性肝癌是我国常见的恶性肿瘤之一, 是和社会和人民沉重的负担<sup>[1]</sup>。肝癌的治疗方法主要有手术、放疗、化疗、局部射频消融和肝移植等, 但其复发率高、预后差预示着现有治疗方法的局限性<sup>[2]</sup>。放射性粒子植入是肝癌局部治疗的有效方法, 其通过持续低剂量辐射, 能最大程度杀伤肿瘤细胞<sup>[3]</sup>。为使剩余正常肝组织能够得到再生, 放疗野的设计便成为放射性粒子植入的关键, 类弹性蛋白多肽(elastin-like peptide, ELP)因其可注射、可自组装、可降解及良好的生物相容性<sup>[4,5]</sup>, 有望成为新型核素载体。本实验拟探讨ELP作为放射性核素<sup>131</sup>I的载体近距离放射治疗兔VX2肝癌模型的有效性, 及不同放射性浓度治疗效果的差异性。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** VX2荷瘤兔2只(南京市华兔生物有限公司); 健康新西兰大白兔18只, 雌雄各半, 平均体质量3.5-4.5 kg, 月龄3-4 mo(天津市奥臣实验动物销售有限公司); 1%碘化钾口服液(天津医科大学总医院); Na-I<sup>131</sup>溶液(天津医科大学总医院); ELP由美国Duke大学生物医学工程系设计合成, 分子量为50 kDa, 其含有120个五肽(VPGXG)重复序列, 相变温度为23.82 °C, 羧

基端添加7个酪氨酸残基以便于同位素的标记<sup>[6]</sup>; 无菌实验台; 兔解剖台; 高压灭菌器; 动物手术器械包; 游标卡尺; ALOKA Prosound超声诊断仪; Discovery NM/CT 670单光子发射计算机断层扫描/计算机断层扫描(single-photon emission computed tomography/computed tomography, SPECT/CT); 无菌纱布; 无菌洞巾; 注射器; 采血针等, 以上仪器由天津医科大学总医院提供。

### 1.2 方法

**1.2.1 建立兔肝癌模型, 检测治疗前的基线指标:** 采用直视下肿瘤组织小块包埋法建立兔VX2肝癌模型(图1), 应用B超监测肝脏肿瘤的生长情况, 将建模14 d经B超检查确认有肝癌生长的动物随机分为高放射浓度治疗(H)组( $n = 5$ ), 低放射浓度治疗(L)组( $n = 5$ )和空白对照(C)组( $n = 5$ ), 记录建模14 d后瘤体最长径(a)和最短径(b), 按照体积计算公式( $V = 1/2 \times ab^2$ )计算出肿瘤体积; 经耳缘静脉采取兔外周静脉血, 使用血液分析仪检测血常规, 使用全自动生化分析仪检测兔丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)和天冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST); 于治疗前一周至治疗结束在动物饮用水中加入1%碘化钾, 以防其甲状腺摄取放射性碘。

**1.2.2 制备<sup>131</sup>I-ELP并检测其稳定性:** 依据造模后14 d B超量取的肿瘤体积, 计算出所需<sup>131</sup>I-ELP的体积( $40 \mu\text{L}/150 \text{ mm}^3$ )<sup>[6]</sup>, 计算公式为 $V_{\text{药}} = V_{\text{瘤}}/150 \times 40$ , H组所需 $\text{Na-I}^{131} = V_{\text{药}} \times 100$ , L组所需 $\text{Na-I}^{131} = V_{\text{药}} \times 50$ , 具体注射体积见(表1), 采用iodogen法对ELP进行<sup>131</sup>I碘化标记并配置成放射性浓度为50 mCi/mL及100 mCi/mL溶液, 置于冰浴中备用; 使用同位素纸层析法分别于配置后0 h, 24 h, 48 h, 72 h和96 h测定<sup>131</sup>I-ELP的放射化学纯度, 以评估其体外稳定性。

**1.2.3 放射治疗:** 实验兔麻醉(10%水合氯醛溶液, 5 mL/kg腹腔注射), 在B超引导下定位肝脏肿瘤, 确定穿刺的部位、方向及深度, 避开血管, 分别将放射性浓度为50 mCi/mL、100 mCi/mL <sup>131</sup>I-ELP溶液及ELP溶液注入肿瘤内, 停留60 s后拔针, 使用纱布进行加压包扎, 超声图像及治疗过程见(图2); H和L组动物注入药物后, 利用SPECT/CT扫描观察放射性药物是否成功植入。

**1.2.4 影像学监测:** 三组在治疗后7 d、14 d行B超检查, 量取肿瘤最长径和最短径, 得出肿瘤体积及肿瘤增长率; 分别于治疗后7 d、14 d为H、L组行SPECT/CT检查放射性<sup>131</sup>I的组织分布。

**1.2.5 检测肝功能及血常规数值:** 三组动物均于治疗后7 d和14 d在兔耳缘静脉取血, 采用全自动生化分析仪检测ALT与AST水平, 采用血液分析仪检测兔血常规。



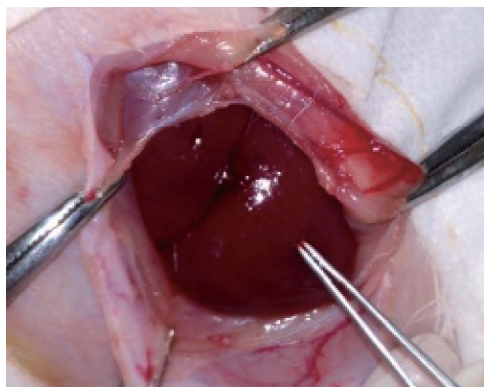


图1 直视下肿瘤组织小块包埋法建立肝癌模型。

1.2.6 记录动物生存期: 观察自肿瘤植入日起三组动物的自然生存时间。

1.2.7 病理组织学检查: 动物自然死亡后进行尸检, 离体观察肝脏肿瘤及其周围组织器官情况并进行组织病理学检查, 观察是否出现腹腔内出血及腹膜炎等并发症。

**统计学处理** 实验数据采用SPSS 23.0统计软件进行分析, 计量资料以mean±SD表示, 组间计量资料比较使用单因素方差分析; 两组间比较采用SNK(Student-Newman-Keuls)检验;  $P<0.05$ 时有统计学意义。

## 2 结果

2.1 标记物体外稳定性 <sup>131</sup>I-ELP在冰浴条件中存放96 h, 其放化纯度仍能维持在97.3%。

2.2 治疗前基线指标 H组、L组和C组治疗前(VX2肝癌建模后第14天)的肿瘤体积、肝功能(ALT、AST)和血常规(Hb、RBC)等基线指标无显著差异(表2和3)。

2.3 <sup>131</sup>I在体内的分布 治疗后7 d、14 d的SPECT/CT结果显示治疗组的放射性持续位于肿瘤内部, 未见其它放射性摄取组织(图3)。

2.4 肿瘤生长变化 随着时间的推移, 治疗后三组肿瘤体积较治疗前均出现进行性增加(图4A和B), H组肿瘤生长率(tumor growth rate, TGR)最小, C组TGR最大, 三组比较有显著性差异( $P<0.05$ )。

2.5 生化检查 随着时间的推移, 治疗后H和L组动物的血清ALT、AST出现了先升高后降低的变化, C组ALT、AST数值则持续上升(图5)。治疗后7 d L组动物ALT数值最低, C组ALT数值最高, 三组差异有统计学意义( $P<0.05$ ), C组AST数值显著高于H和L组( $P<0.05$ ), 但H和L组的AST数值无显著差异; 治疗后14 d C组ALT数值显著高于H和L组( $P<0.05$ ), 而H组和L组的ALT水平无显著差异, L组动物AST数值最低, C组AST数值最高, 三组差异具有统计学意义( $P<0.05$ )。三组动物Hb、RBC计数无显著差异(表4)。

2.6 动物自然生存期 分析自然生存时间(自肿瘤种植之日算起, 图6)发现, H组为 $61.4 \pm 10.50$  d, L组为 $52.6 \pm 8.85$  d, C组为 $39.2 \pm 5.63$  d, 三组动物的生存期相比较有统计学差异( $P<0.05$ )。

2.7 尸体解剖 动物死亡后尸检发现, H组动物未见有腹膜炎和腹腔积液等并发症, L组一只(20%)出现腹膜炎, C组一只(20%)出现腹腔积液、一只(20%)出现肺转移。VX2肝癌与正常组织边界清晰, 瘤体呈圆形或椭圆形, 质硬, 切面中心可见黄白色干酪样坏死物(图7)。

2.8 病理组织学检查 H组可见肿瘤周围肝细胞变性坏死, 汇管区小胆管扩张, 肝窦及汇管区可见胶原纤维沉积, 肝内出现条索状纤维增生, 肿瘤组织内部见大片状坏死(图8A)。L组仅有少量纤维增生, 肿瘤组织内部见大片状坏死(图8B)。C组肿瘤组织被膜处可见明显纤维组织增生, 肿瘤组织内可见小片状坏死(图8C)。

## 3 讨论

肝癌是世界上癌症相关死亡的第二大原因, 过去二十年来, 与肝癌相关的年死亡率显著增加, 其中大多数来自亚太地区<sup>[7]</sup>。因肝癌起病隐匿, 早期症状不典型, 有超过70%的肝癌患者发现即为中、晚期, 失去了手术切除的机会<sup>[2]</sup>, 这严重影响了肝癌患者的总体预后。因此, 肝癌的非手术治疗显得尤为重要。近距离放射治疗不受肿瘤位置和大小影响, 适用于大多数的肝癌患者<sup>[8]</sup>, 其植入的放射性粒子能够精准、持续地发出射线, 从而杀伤肿瘤细胞、抑制肿瘤的生长。<sup>131</sup>I因其可在短距离衰减并在目标部位保持较高的累计计量, 且能减少邻近正常组织损害等优点被广泛应用于肿瘤的治疗<sup>[9]</sup>。有研究发现, 与单独应用射频消融术相比, 联合应用放射性<sup>125</sup>I可显著降低小肝癌的复发率并延长其生存期<sup>[10]</sup>。ELP是一种新型生物医学材料, 因其可逆温敏相变性、良好的组织相容性、可降解性等优点, 一直是近年来药物载体、药物控释研究领域的热点<sup>[11,12]</sup>。我们的前期研究发现, 应用ELP作为一种内镜黏膜下剥离术的黏膜注射液, 可持久地维持黏膜厚度并减少出血量, 有利于黏膜的剥离和切除<sup>[13]</sup>。凝胶状的ELP在体内可以存留7 d以上,<sup>131</sup>I的有效半衰期为3.5-5 d, 一般4个半衰期后放射性残留基本消失, 根据SPECT/CT显示, 治疗14 d后<sup>131</sup>I仍持续位于肿瘤内。ELP这一特性大大减少了放射性物质的迁移, 从而更精准地杀伤肿瘤细胞。使用<sup>131</sup>I-ELP对人前列腺癌裸鼠移植瘤进行近距离放射治疗, 发现植入一周后<sup>131</sup>I-ELP的瘤内保存率高达85%, <sup>131</sup>I-ELP能有效延缓肿瘤生长及延长裸鼠的生存时间<sup>[6]</sup>。动物实验发现, 以ELP为载体携带<sup>131</sup>I对兔VX2肝癌进行放射性治疗可显著抑制肿瘤生长并改善肝功能<sup>[14]</sup>。本次研究在B超引导下将

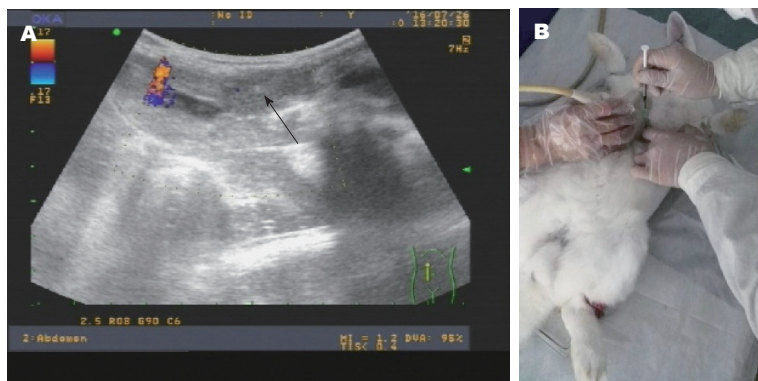


图 2 瘤内注射<sup>131</sup>I-类弹性蛋白多肽的过程. A: B超显示穿刺针已刺入肿瘤内部; B: 向瘤内注射药物的操作.

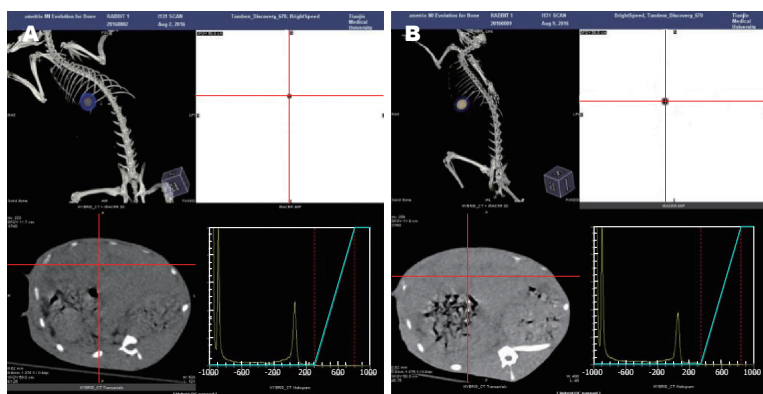


图 3 高放射性浓度治疗组和低放射性浓度治疗组治疗后的SPECT/CT图像. A: 治疗后7 d的SPECT/CT 图像; B: 治疗14 d后的SPECT/CT图像. H组: 高放射性浓度治疗组; L组: 低放射性浓度治疗组.

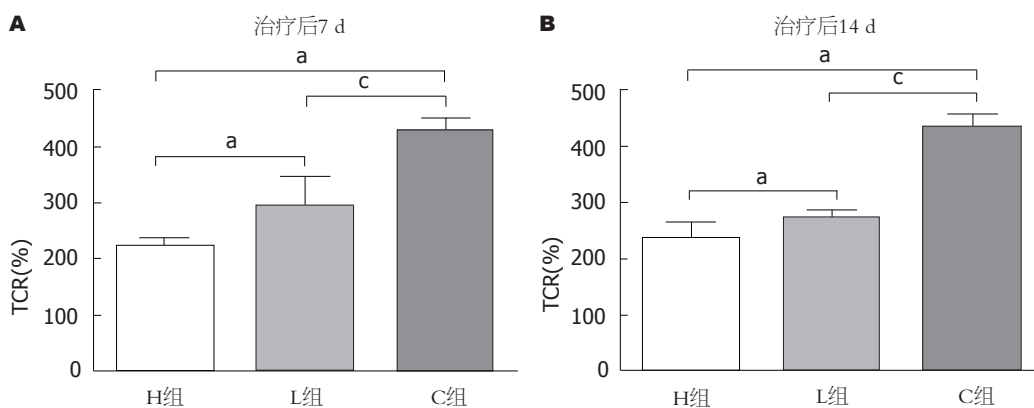


图 4 三组动物治疗后7 d(A)、14 d(B)的肿瘤增长率. TGR: 肿瘤增长率; H组: 高放射性浓度治疗组; L组: 低放射性浓度治疗组; C组: 对照组. \* $P < 0.05$ , 与H组比较; \* $P < 0.05$ , 与L组比较.

放射性<sup>131</sup>I-ELP直接注入动物的肝肿瘤内, 不经血液循环代谢, 提高了<sup>131</sup>I在肿瘤局部的治疗效果. 分析实验中的TGR结果发现, 与C组相比, 100 mCi/mL、50 mCi/mL两种放射性浓度的<sup>131</sup>I-ELP均可抑制肿瘤生长, 且放射性浓度较高的H组的肿瘤抑制效果更强. 分析治疗前后血中AST、ALT水平的变化, 发现在治疗后7 d, H、L组的AST、ALT水平升高而后在治疗后14 d下降, 原因可能为<sup>131</sup>I的有效半衰期为3.5-5 d, 放射性核素的第一个

半衰期杀伤作用最强, 使癌旁正常肝细胞变性坏死, 因此, ALT、AST出现短暂上升, 随着放射性核素的衰减, ALT、AST水平逐渐下降, 因此, 我们认为<sup>131</sup>I-ELP可改善肝功能的恶化, 其中放射性浓度为50 mCi/mL的L组的治疗效果更佳, 镜下观察病理组织切片发现, H组的癌旁正常肝组织破坏较L组严重, 分析原因可能为100 mCi/mL的H组对癌旁正常组织的损伤更大. 分析治疗前后血Hb、RBC含量发现, <sup>131</sup>I-ELP无骨髓抑制等副作用. 比较

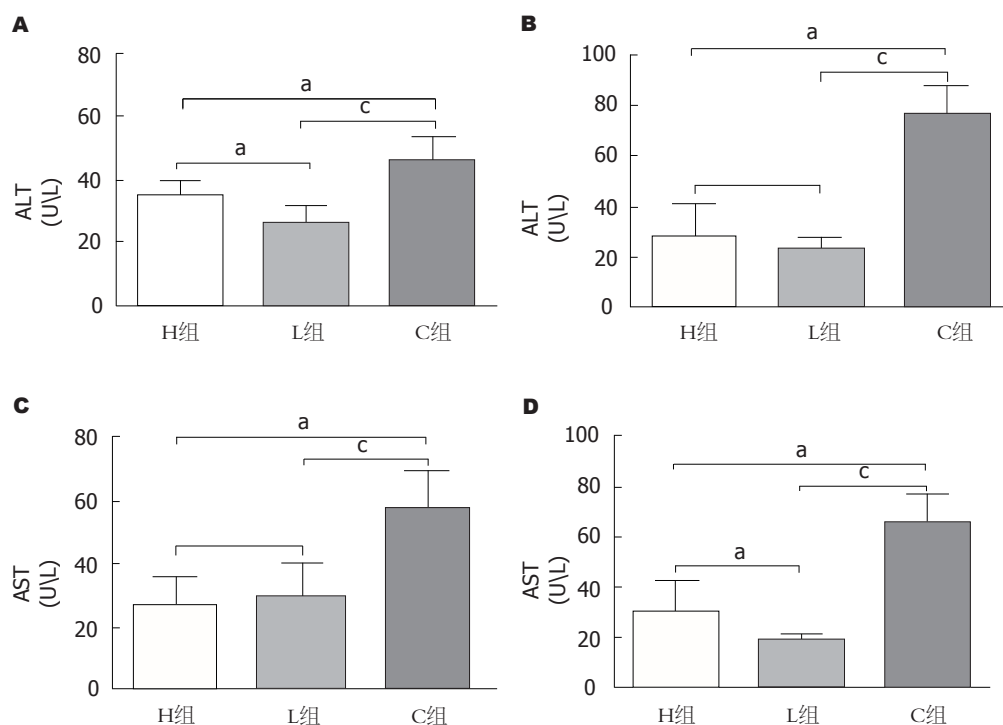


图 5 三组治疗后7 d、14 d的ALT与AST水平. A: 治疗后7 d ALT水平; B: 治疗后14 d ALT水平; C: 治疗后7 d AST水平; D: 治疗后14 d AST水平. AST: 天门冬氨酸氨基转移酶; ALT: 丙氨酸氨基转移酶; H组: 高放射性浓度治疗组; L组: 低放射性浓度治疗组; C组: 对照组. \* $P < 0.05$ , 与H组比较; \* $P < 0.05$ , 与L组比较.

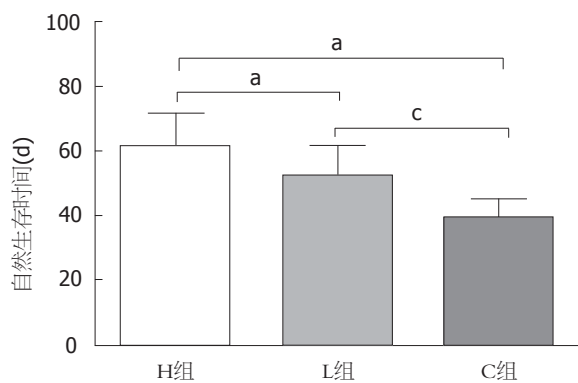


图 6 三组动物的自然生存时间. H组: 高放射性浓度治疗组; L组: 低放射性浓度治疗组; C组: 对照组. \* $P < 0.05$ , 与H组比较; \* $P < 0.05$ , 与L组比较.

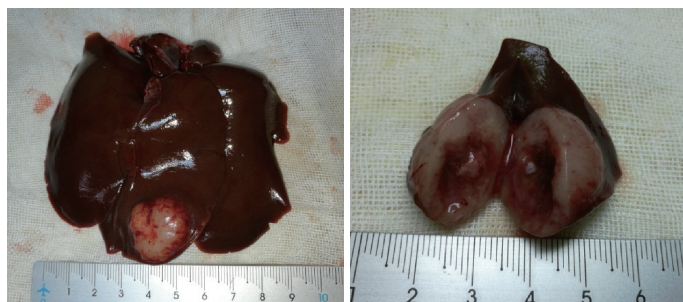


图 7 肝脏肿瘤大体标本.



表 1 药物注射体积和<sup>131</sup>I的放射性活度

分组	放射性活度/mCi	<sup>131</sup> I-ELP/ $\mu$ L
H组(100 mCi/mL <sup>131</sup> I-ELP溶液)	16.0	160
	15.2	152
	17.3	173
	14.4	144
	16.8	168
	8.8	176
L组 (50 mCi/mL <sup>131</sup> I-ELP溶液)	10.0	200
	10.4	208
	9.2	184
	9.6	192
	—	160
C组 (ELP溶液)	—	208
	—	189
	—	152
	—	181

ELP: 类弹性蛋白多肽; H组: 高放射性浓度治疗组; L组: 低放射性浓度治疗组; C组: 对照组.

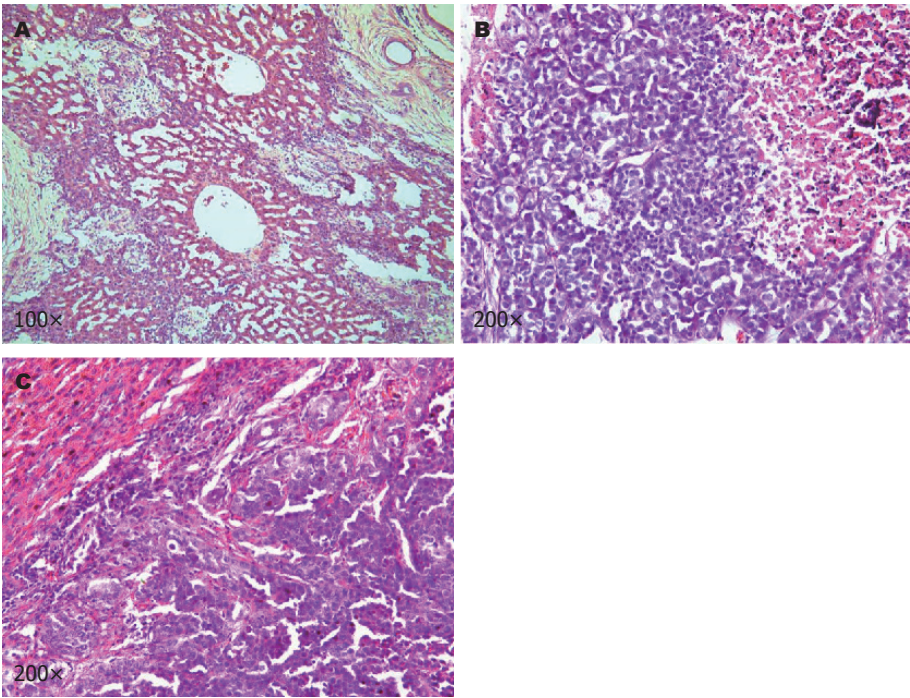


图 8 三组肝脏肿瘤HE染色结果. A: 高放射性浓度治疗组; B: 低放射性浓度治疗组; C: 对照组.

实验动物生存期可见, <sup>131</sup>I-ELP放射性治疗可延长肝癌动物的生存时间, 且放射性浓度越高, 生存期越长.

总之, <sup>131</sup>I-ELP可抑制肝癌细胞的生长、延缓肝功能的恶化、延长动物生存时间且无骨髓抑制等副作用, 说明<sup>131</sup>I-ELP近距离放射疗法对兔VX2肝癌具有肯定的

疗效; 其中放射性浓度为100 mCi/mL的<sup>131</sup>I-ELP抑癌效果更强, 但也对癌旁正常肝组织造成了更大的伤害. 因此, 还需进一步实验以优化放疗药物的浓度或增加治疗频率, 使<sup>131</sup>I-ELP对肝癌的近距离放射疗法的安全性和有效性达到平衡, 令患者获得最大的收益.

表 2 治疗前的肿瘤大小

治疗前基线指标	最大径(cm)	最小径(cm)	体积(cm <sup>3</sup> )
H组	1.48 ± 0.09	0.90 ± 0.05	0.60 ± 0.06
L组	1.50 ± 0.12	0.99 ± 0.07	0.72 ± 0.06
C组	1.35 ± 0.05	1.00 ± 0.10	0.69 ± 0.14
F值			2.18
P值			0.16

H组: 高放射性浓度治疗组; L组: 低放射性浓度治疗组; C组: 对照组.

表 3 治疗前基线肝功能、血常规数值

治疗前基线指标	AST(U/L)	ALT(U/L)	Hb(g/L)	RBC(×10 <sup>12</sup> /L)
H组	42.75 ± 15.88	35.25 ± 9.88	118.00 ± 5.89	5.92 ± 0.39
L组	34.25 ± 7.50	23.75 ± 5.32	121.50 ± 7.33	5.60 ± 0.36
C组	41.50 ± 11.82	36.00 ± 8.41	121.25 ± 7.37	5.89 ± 0.55
F值	0.56	2.88	0.32	0.65
P值	0.59	0.11	0.73	0.54

H组: 高放射性浓度治疗组; L组: 低放射性浓度治疗组; C组: 对照组; AST: 天门冬氨酸氨基转移酶; ALT: 丙氨酸氨基转移酶; Hb: 血红蛋白; RBC: 红细胞.

表 4 治疗后7 d、14 d Hb和RBC计数

治疗前基线指标	治疗后7 d		治疗后14 d	
	Hb(g/L)	RBC(×10 <sup>12</sup> /L)	Hb(g/L)	RBC(×10 <sup>12</sup> /L)
H组	109.50 ± 11.79	5.43 ± 0.66	100.50 ± 10.02	4.50 ± 0.43
L组	117.00 ± 7.44	5.52 ± 0.22	102.50 ± 15.44	4.65 ± 0.61
C组	119.50 ± 8.27	6.07 ± 0.61	108.75 ± 14.97	5.77 ± 0.68
F值	1.28	1.70	0.40	3.87
P值	0.34	0.24	0.69	0.06

H组: 高放射性浓度治疗组; L组: 低放射性浓度治疗组; C组: 对照组; AST: 天门冬氨酸氨基转移酶; ALT: 丙氨酸氨基转移酶; Hb: 血红蛋白; RBC: 红细胞.

文章亮点

实验背景

近距离放射性治疗是一种将放射性粒子植入肿瘤组织内以精准杀伤肿瘤细胞的治疗手段, 但植入与移除操作复杂、植入粒子易迁移等缺点限制了它的应用, 因此, 迫切需要一种新的给药系统以替代传统的放射性治疗方法.

实验动机

本研究拟通过寻找一种植入和移除操作过程简便、安全性较高的物质作为放射性核素的载体, 以开发出传统

近距离放射治疗的替代方案.

实验目标

探索不同放射性浓度<sup>131</sup>I-类弹性蛋白多肽(elastin-like peptide, ELP)近距离放射治疗对VX2肝癌的有效性及其差异性, 为肝癌的治疗提供可靠的实验依据.

实验方法

本研究采用Iodogen法用<sup>131</sup>I对ELP标记, 在B超引导下将不同浓度的<sup>131</sup>I-ELP注入到兔的肝肿瘤内进行近距离放射性治疗, 定期进行影像学 and 生化监测以评估不同浓度<sup>131</sup>I-ELP的治疗效果. 该方法操作简便、定位精准, 安全

可靠, 有望成为近距离放射性治疗的新方法.

### 实验结果

影像学和生化监测结果表明, <sup>131</sup>I-ELP进行近距离放射治疗可显著改善肝功能和抑制肿瘤生长, 高放射浓度治疗组抑制肿瘤的效果更强, 但其对癌旁正常组织的损伤也更大. 该研究为ELP作为<sup>131</sup>I的载体近距离放射性治疗肝癌的可行性和治疗剂量提供了实验依据.

### 实验结论

<sup>131</sup>I-ELP具有较高的标记率和体外稳定性, 应用<sup>131</sup>I-ELP进行肝肿瘤的近距离放射治疗是高效、安全的治疗方法. 100 mCi/mL的高放射浓度组抑制肿瘤的效果更佳, 但放射性损伤更大. 本研究为肿瘤的近距离放射治疗提供了新思路, 有潜在的应用价值.

### 展望前景

本研究发现高放射浓度组抑制肿瘤的效果更佳, 但放射性损伤更大, 应在后续实验中进一步优化放射性核素的剂量, 同时在分子水平等更深层次上探讨<sup>131</sup>I-ELP对肿瘤的影响.

## 4 参考文献

- 1 孙可欣, 郑荣寿, 曾红梅, 张思维, 邹小农, 顾秀瑛, 夏昌发, 杨之洵, 李贺, 陈万青, 赫捷. 2014年中国恶性肿瘤发病和死亡分析. 中华肿瘤杂志 2018; 40: 5-13 [DOI: 10.3760/cma.jissn.0253-3766.2018.11.002]
- 2 Lee EW, Alanis L, Cho SK, Saab S. Yttrium-90 Selective Internal Radiation Therapy with Glass Microspheres for Hepatocellular Carcinoma: Current and Updated Literature Review. *Korean J Radiol* 2016; 17: 472-488 [PMID: 27390539 DOI: 10.3348/kjr.2016.17.4.472]
- 3 Korean Liver Cancer Study Group (KLCSG); National Cancer Center, Korea (NCC). 2014 Korean Liver Cancer Study Group-National Cancer Center Korea practice guideline for the management of hepatocellular carcinoma. *Korean J Radiol* 2015; 16: 465-522 [PMID: 25995680 DOI: 10.3348/kjr.2015.16.3.465]
- 4 Despanie J, Dhandhukia JP, Hamm-Alvarez SF, MacKay JA. Elastin-like polypeptides: Therapeutic applications for an emerging class of nanomedicines. *J Control Release* 2016; 240: 93-108 [PMID: 26578439 DOI: 10.1016/j.jconrel.2015.11.010]
- 5 Zhang W, Song Y, Eldi P, Guo X, Hayball JD, Garg S, Albrecht H. Targeting prostate cancer cells with hybrid elastin-like polypeptide/liposome nanoparticles. *Int J Nanomedicine* 2018; 13: 293-305 [PMID: 29391790 DOI: 10.2147/IJN.S152485]
- 6 Liu W, McDaniel J, Li X, Asai D, Quiroz FG, Schaal J, Park JS, Zalutsky M, Chilkoti A. Brachytherapy using injectable seeds that are self-assembled from genetically encoded polypeptides in situ. *Cancer Res* 2012; 72: 5956-5965 [PMID: 23155121 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-12-2127]
- 7 Shariff MI, Cox IJ, Gomaa AI, Khan SA, Gedroyc W, Taylor-Robinson SD. Hepatocellular carcinoma: current trends in worldwide epidemiology, risk factors, diagnosis and therapeutics. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2009; 3: 353-367 [PMID: 19673623 DOI: 10.1586/egh.09.35]
- 8 Schnapauff D, Colletini F, Steffen I, Wieners G, Hamm B, Gebauer B, Maurer MH. Activity-based cost analysis of hepatic tumor ablation using CT-guided high-dose rate brachytherapy or CT-guided radiofrequency ablation in hepatocellular carcinoma. *Radiat Oncol* 2016; 11: 26 [PMID: 26911437 DOI: 10.1186/s13014-016-0606-x]
- 9 Jaber T, Waguespack SG, Cabanillas ME, Elbanan M, Vu T, Dadu R, Sherman SI, Amit M, Santos EB, Zafereo M, Busaidy NL. Targeted Therapy in Advanced Thyroid Cancer to Resensitize Tumors to Radioactive Iodine. *J Clin Endocrinol Metab* 2018; 103: 3698-3705 [PMID: 30032208 DOI: 10.1210/jc.2018-00612]
- 10 Chen K, Chen G, Wang H, Li H, Xiao J, Duan X, He J, He K, Xiang G. Increased survival in hepatocellular carcinoma with iodine-125 implantation plus radiofrequency ablation: a prospective randomized controlled trial. *J Hepatol* 2014; 61: 1304-1311 [PMID: 25064436 DOI: 10.1016/j.jhep.2014.07.026]
- 11 Zai-Rose V, West SJ, Kramer WH, Bishop GR, Lewis EA, Correia JJ. Effects of Doxorubicin on the Liquid-Liquid Phase Change Properties of Elastin-Like Polypeptides. *Biophys J* 2018; 115: 1431-1444 [PMID: 30292393 DOI: 10.1016/j.bpj.2018.09.006]
- 12 Lin R, Wang S, Liu W. Protein-derived Smart Materials for Medical Applications: Elastin-like Polypeptides. *Curr Pharm Des* 2018; 24: 3008-3013 [PMID: 30179124 DOI: 10.2174/1381612824666180903122432]
- 13 Liu W, Zhao M, Liu W, Zheng Z, Zhang X. A feasibility study of a thermally sensitive elastin-like polypeptide for submucosal injection application in endoscopic resection in 3 animal models. *Gastrointest Endosc* 2015; 82: 944-952 [PMID: 26092617 DOI: 10.1016/j.gie.2015.05.011]
- 14 Liu X, Shen Y, Zhang X, Lin R, Jia Q, Chang Y, Liu W, Liu W. Brachytherapy Using Elastin-Like Polypeptides with (131)I Inhibit Tumor Growth in Rabbits with VX2 Liver Tumor. *Dig Dis Sci* 2016; 61: 2921-2927 [PMID: 27295104 DOI: 10.1007/s10620-016-4212-4]

编辑: 崔丽君 电编: 张砚梁



# miR-181a-5p调控LIF的表达调节胰腺腺泡细胞凋亡的分子机制

龚倩倩, 陈铁江

龚倩倩, 陈铁江, 义乌市中心医院急诊科 浙江省义乌市 322000

龚倩倩, 住院医师, 研究方向急诊.

**作者贡献分布:** 龚倩倩与陈铁江对此文所作贡献两均等; 此课题由陈铁江设计; 研究过程由龚倩倩操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由陈铁江提供; 数据分析由龚倩倩完成; 本论文写作由龚倩倩完成.

**通讯作者:** 陈铁江, 副主任医师, 322000, 浙江省义乌市稠江街道崇德路31号, 义乌市中心医院急诊科. 15151821@qq.com  
电话: 0579-85209666

收稿日期: 2019-01-18

修回日期: 2019-02-16

接受日期: 2019-03-24

在线出版日期: 2019-04-28

## MiR-181a-5p down-regulates LIF expression to inhibit apoptosis of pancreatic acinar cells

Qian-Qian Gong, Tie-Jiang Chen

Qian-Qian Gong, Tie-Jiang Chen, Department of Emergency Medicine, Yiwu Central Hospital, Yiwu 322000, Zhejiang Province, China

Corresponding author: Tie-Jiang Chen, Associate Chief Physician, Department of Emergency Medicine, Yiwu Central Hospital, Yiwu 322000, Zhejiang Province, China. 15151821@qq.com

Received: 2019-01-18

Revised: 2019-02-16

Accepted: 2019-03-24

Published online: 2019-04-28

## Abstract

### BACKGROUND

Acute pancreatitis (AP) develops rapidly and is often complicated by systemic infections, so early and effective treatment plays a key role in controlling the disease.

The mechanism of action and clinical application of microRNAs (miRNAs) in AP have become a hot topic in recent years. Understanding the roles of miRNAs in the development and outcome of AP can help provide new ideas for the diagnosis and treatment of AP.

### AIM

To investigate the effect and mechanism of miR-181a-5p on cerulein-induced apoptosis of rat pancreatic acinar cells.

### METHODS

The expression of AMY, tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ), and interleukin-6 (IL-6) in rat pancreatic acinar cells induced with cerulein was detected by ELISA. AR42J cells were divided into the following groups: cerulein + anti-miR-con group (transfected with anti-miR-con), cerulein + anti-miR-181a-5p group (transfected with anti-miR-181a-5p), cerulein + si-con group (transfected with si-con), and cerulein + si-leukemia inhibitory factor (LIF) group (transfected with si-LIF). All cells were transfected using liposomes and treated with 15 nmol/L of cerulein for 8 h. Cell apoptosis in each group was detected by flow cytometry. The expression of miR-181a-5p mRNA was detected by qRT-PCR. The protein expression of LIF and caspase-3 was detected by Western blot. The fluorescence activity in each group was detected by double luciferase reporter gene assay.

### RESULTS

Compared with the control group, the levels of AMY, TNF- $\alpha$ , and IL-6 increased at 8 h after treatment with cerulein, and the apoptosis rate were significantly decreased ( $P < 0.05$ ). Compared with the control group, the expression of miR-181a-5p mRNA was down-regulated, and the expression of LIF mRNA and protein was significantly up-regulated in the cerulein group ( $P <$



0.05). Overexpression of miR-181a-5p or knockdown of LIF could inhibit the apoptosis of AR42J cells induced by cerulein. miR-181a-5p can inhibit the fluorescent activity of wild-type LIF cells and negatively regulate the protein expression of LIF.

## CONCLUSION

MiR-181a-5p inhibits cerulein-induced apoptosis of AR42J cells via mechanism possibly related to targeting of LIF, which will provide a new direction for the treatment of AP.

© The Author(s) 2019. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: MiR-181a-5p; Leukemia inhibitory factor; Apoptosis; Acute pancreatitis

Gong QQ, Chen TJ. MiR-181a-5p down-regulates LIF expression to inhibit apoptosis of pancreatic acinar cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(8): 494-502

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i8/494.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i8.494>

## 摘要

### 背景

急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)发病迅速, 并发全身感染, 因此早期的高效治疗对控制病情起到关键作用。微小RNA(microRNA, miRNA)在AP中的作用机制及临床应用的研究成为近几年的热点。其在AP发生发展及转归中的作用有助于为AP的诊断和治疗提供新思路。

### 目的

探讨miR-181a-5p对雨蛙素诱导的大鼠胰腺腺泡细胞AR42J凋亡的影响及机制。

### 方法

运用ELISA法检测雨蛙素诱导的大鼠胰腺腺泡细胞中AMY、肿瘤坏死因子 $\alpha$ (tumor necrosis factor  $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、白介素-6(interleukin-6, IL-6)的表达; 将Cerulein+anti-miR-con组(转染anti-miR-con)、Cerulein+anti-miR-181a-5p组(转染anti-miR-181a-5p)、Cerulein+si-con组(转染si-con)、Cerulein+si-白血病抑制因子(leukemia inhibitory factor, LIF)组(转染si-LIF), 均用脂质体法转染至AR42J细胞, 再用15 nmol/L的雨蛙素处理8 h; 流式细胞术检测各组细胞的凋亡; qRT-PCR检测各组细胞中miR-181a-5p mRNA和LIF mRNA的表达; Western blot检测各组细胞中LIF、caspase-3的蛋白表达; 双荧光素酶报告基因检测实验检测各组细胞的荧光活性。

## 结果

与对照组相比, 雨蛙素处理8 h是AMY、TNF- $\alpha$ 和IL-6的含量均升高的时间点, 且细胞凋亡率显著降低( $P<0.05$ ); 与Control组相比, Cerulein组AR42J细胞中miR-181a-5p mRNA表达显著下调, LIF mRNA和蛋白表达显著上调( $P<0.05$ ); 过表达miR-181a-5p、敲减LIF均可抑制雨蛙素诱导的AR42J细胞凋亡的促进作用; miR-181a-5p可抑制野生型LIF细胞的荧光活性, 且可负向调控LIF的蛋白表达。

## 结论

miR-181a-5p可抑制雨蛙素诱导的AR42J细胞的凋亡, 其机制可能与靶向LIF有关, 将可为AP的治疗提供新方向。

© The Author(s) 2019. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: miR-181a-5p; 白血病抑制因子; 凋亡; 急性胰腺炎

**核心提要:** miR-181a-5p在胰腺炎中发挥保护作用的机制与靶向抑制下游的促炎因子白血病抑制因子的表达密切相关。

龚倩倩, 陈铁江. miR-181a-5p调控LIF的表达调节胰腺腺泡细胞凋亡的分子机制. *世界华人消化杂志* 2019; 27(8): 494-502

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i8/494.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i8.494>

## 0 引言

急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)是胰腺内胰酶过度激活导致胰腺组织自身消化、出血、坏死的炎性疾病, 易发生全身炎症反应综合征, 死亡率高达约30%<sup>[1,2]</sup>。由于现代人生活不规律(暴饮暴食、酗酒), 导致AP的发病率逐年上升<sup>[3]</sup>。即使患者脱离生命危险, 长期的药物治疗也会对胰腺造成损伤<sup>[4]</sup>。miRNA为长度在19-23个核苷酸组成的内源性短链非编码微小的RNA分子, 其参与人类多种疾病的发生发展<sup>[5]</sup>。白血病抑制因子(leukemia inhibitory factor, LIF)是白介素-6(interleukin-6, IL-6)家族中的一个多功能细胞因子, 其作为促炎症细胞因子参与了多种炎症反应, 但其胰腺炎症作为抗炎因子发挥作用<sup>[6,7]</sup>。miR-181a-5p与LIF在胰腺炎中的作用及机制尚未十分清楚。本研究拟以大鼠胰腺腺泡细胞AR42J为研究对象, 用雨蛙素诱导AR42J损伤建立胰腺炎细胞模型, 检测雨蛙素诱导AR42J细胞中miR-181a-5p、LIF的表达, 观察过表达miR-181a-5p、敲减LIF对雨蛙素诱导



AR42J细胞凋亡的影响, 揭示其机制可能与miR-181a-5p靶向LIF有关, 将为AP的靶向治疗提供依据。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 大鼠胰腺腺泡细胞AR42J购自美国ATCC; 雨蛙素购自美国sigma公司; DMEM培养基、胎牛血清、MTT、胰蛋白酶均购自美国Selleck公司; Lipofectamine<sup>TM</sup>2000、BCA蛋白定量试剂盒、逆转录试剂盒购自大连Takara公司; 肿瘤坏死因子 $\alpha$ (tumor necrosis factor  $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )检测试剂盒、IL-6检测试剂盒、淀粉酶(AMY)检测试剂盒均购自江苏江莱生物; PVDF膜购自德国罗氏公司; SDS-PAGE 试剂盒、ECL发光液和RIPA蛋白裂解液均购自碧云天公司; 双荧光素酶报告基因检测试剂盒购自美国Promega公司; Annexin V-FITC/PI凋亡检测试剂盒购自北京索莱宝公司。

### 1.2 方法

**1.2.1 细胞培养:** 将大鼠胰腺腺泡细胞AR42J用含10%胎牛血清的RPMI1640培养基, 置于37℃, 5% CO<sub>2</sub>的恒温培养箱中常规培养, 待细胞生长至融合度75%左右, 用胰蛋白酶消化约1 min, 按照1:3的比例更换培养基, 每2 d传代一次。

**1.2.2 AP细胞模型制造及分组:** 雨蛙素诱导的AR42J细胞AP模型: 将AR42J细胞调整至 $5 \times 10^4$ 个/mL, 接种于6孔板, 培养24 h后, 然后用15 nmol/L雨蛙素处理0、4、8、12、16 h, 用于后续筛选最佳处理时间, 并将最佳处理时间下的AR42J细胞标记为Cerulein组。将anti-miR-con、anti-miR-181a-5p、si-con、si-LIF按照Lipofectamine<sup>TM</sup>2000脂质体转染试剂盒说明书要求转染至Cerulein组AR42J细胞, 转染6 h后更换培养液继续培养48 h, 再用15 nmol/L雨蛙素处理8 h, 标记为Cerulein+anti-miR-con组、Cerulein+anti-miR-181a-5p组、Cerulein+si-con组、Cerulein+si-LIF组, 用于后续试验。

**1.2.3 ELISA实验检测AMY、TNF- $\alpha$ 和IL-6的表达:** 按照ELISA检测试剂盒说明书要求操作检测1.2.2各组AR42J细胞中AMY、TNF- $\alpha$ 和IL-6的表达。

**1.2.4 Annexin V-FITC/PI流式细胞术检测细胞凋亡:** 将1.2.2各转染组细胞, 用结合缓冲液 500  $\mu$ L 悬浮细胞, 分别加入5  $\mu$ L的 Annexin V-FITC和PI, 混匀, 室温避光静置15 min。采用流式细胞仪分析测定结果。细胞的凋亡率(%) = 早期凋亡率+晚期凋亡率。每个样品重复3次。

**1.2.5 Western blot检测LIF、caspase-3的蛋白表达:** 收集1.2.2各转染组细胞, 加入裂解液, 冰上裂解35 min。12000 rpm离心10 min, 取上清置于EP管, 加入5 $\times$ SDS上

样缓冲液, 沸水煮沸10 min。电泳后用转膜仪将蛋白转移至PVDF膜; 5%脱脂奶粉将膜封闭2 h, 洗膜, 加入I抗, 4℃过夜孵育, 洗膜, 加II抗, 4℃2 h。加发光液, 曝光。

**1.2.6 双荧光素酶报告基因实验:** 将构建的BDNF 3'UTR-WT(含LIF 3'UTR片段)和LIF 3'UTR-MUT(含LIF 3'UTR片段突变体)的荧光素酶报告载体, 采用Lipofectamine<sup>TM</sup>2000分别将LIF 3'UTR-WT和LIF 3'UTR-MUT与miR-181a-5p mimics、miR-con共转染, 转染后培养24 h, 按双荧光素酶报告基因检测试剂盒技术手册操作, 记录萤火虫荧光素酶和海肾荧光素酶激发值, 以两者的比值评价LIF基因的激活程度。

**统计学处理** 实验中所有数据均采用SPSS 21.0软件进行分析。计量资料用mean $\pm$ SD表示, 多组间数据比较采用单因素方差分析, 两两比较采用 $t$ 检验, 以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 雨蛙素诱导的AR42J细胞对AMY、TNF- $\alpha$ 和IL-6表达及凋亡的影响** 结果如图1所示, Cerulein组AR42J细胞在处理8 h时AMY、TNF- $\alpha$ 和IL-6的表达均升高(图1A); 与Control组相比, Cerulein组AR42J细胞的凋亡率显著升高(图2B和C,  $P < 0.05$ )。

**2.2 雨蛙素诱导的AR42J细胞miR-181a-5p低表达和LIF高表达** 结果如图2所示, 与Control组相比, Cerulein组AR42J细胞miR-181a-5p表达显著下降(图2A), LIF mRNA(图2B)和蛋白表达(图2C和D)均显著升高( $P < 0.05$ )。

**2.3 过表达miR-181a-5p抑制雨蛙素诱导的AR42J细胞的凋亡** 结果如图3所示, 与Cerulein+miR-con组相比, Cerulein+miR-181a-5p组AR42J细胞中miR-181a-5p表达显著升高(图3A), 细胞凋亡率显著降低(图3B,  $P < 0.05$ )。

**2.4 过表达miR-181a-5p对雨蛙素诱导的AR42J细胞中caspase-3蛋白的表达** 结果如图4所示, 与Cerulein+miR-con组相比, Cerulein+miR-181a-5p组AR42J细胞中caspase-3蛋白表达显著降低(图4A和B,  $P < 0.05$ )。

**2.5 miR-181a-5p靶向LIF** 运用miRcode数据库预测到miR-181a-5p与LIF 3'UTR存在结合位点(图5A); 双荧光素酶活性检测结果显示, 与miR-con组相比, miR-181a-5p组WT-LIF细胞中荧光活性显著降低, MUT-LIF细胞中荧光活性不受影响(图5B); 与miR-con组相比, miR-181a-5p组细胞中LIF表达显著降低, 与anti-miR-con组相比, anti-miR-181a-5p组细胞中LIF表达显著升高(图5C,  $P < 0.05$ )。

**2.6 敲减LIF抑制雨蛙素诱导的AR42J细胞的凋亡** 结果

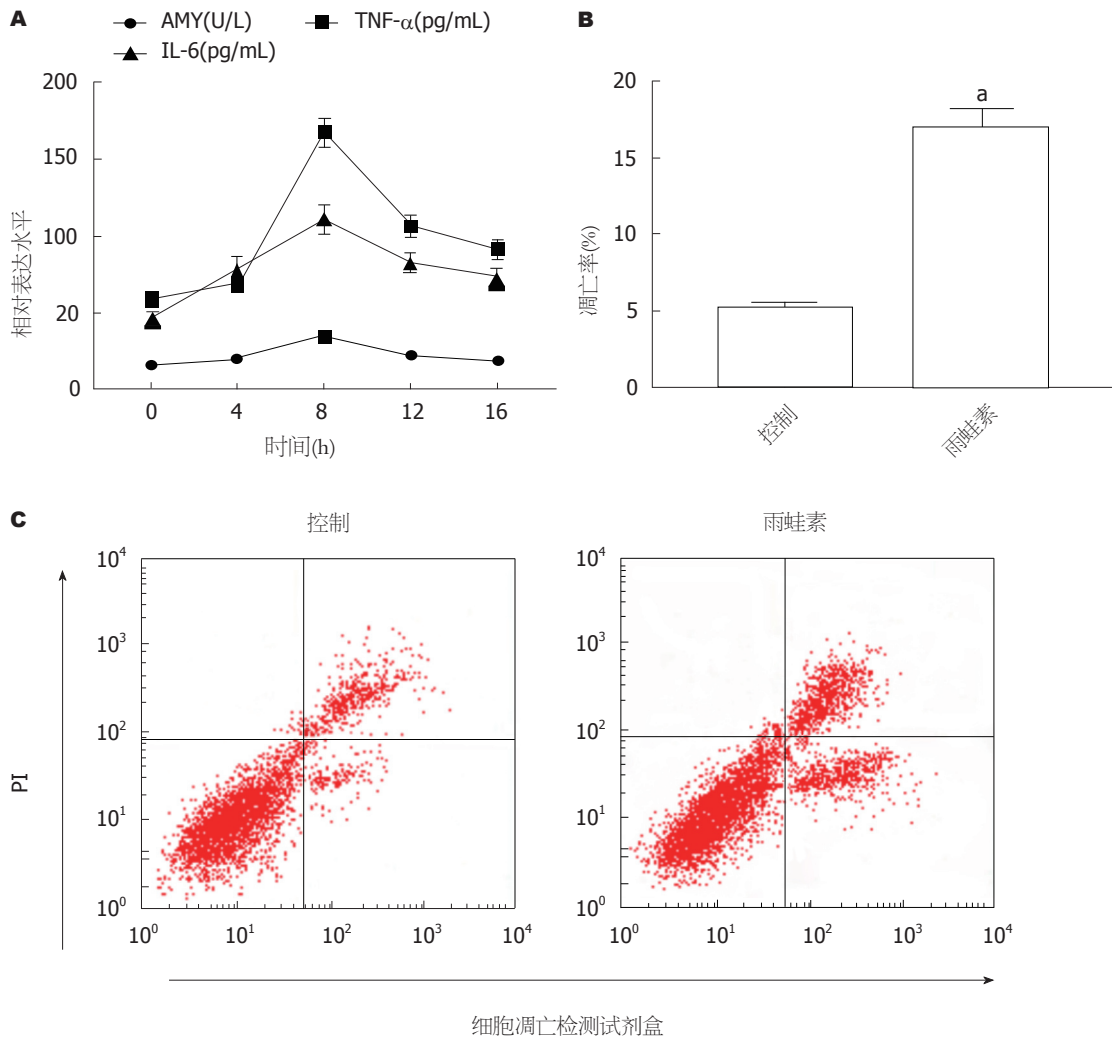
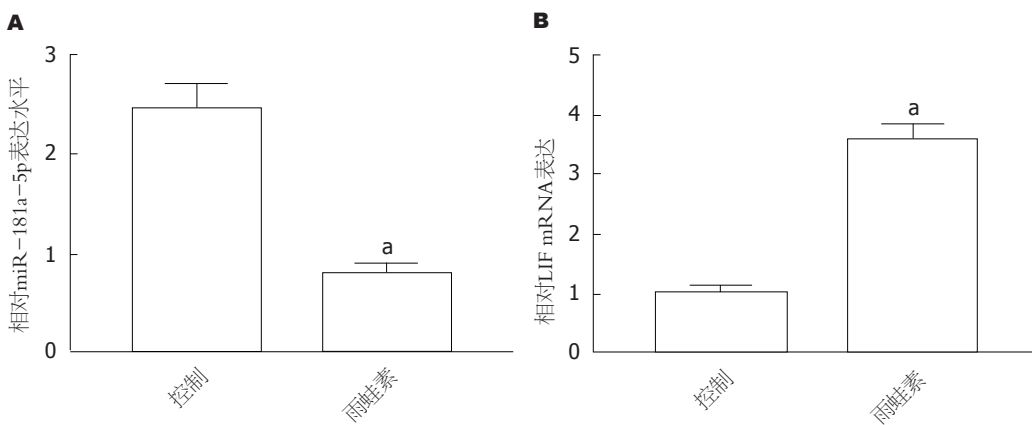


图 1 雨蛙素诱导的AR42J细胞凋亡和对AMY、TNF- $\alpha$ 和IL-6表达的影响. A: 雨蛙素处理不同时间的AR42J细胞对AMY、TNF- $\alpha$ 和IL-6表达的影响; B: 雨蛙素对AR42J细胞凋亡率的影响; C: 流式细胞术检测细胞的凋亡. \* $P$ <0.05, 与对照组相比.



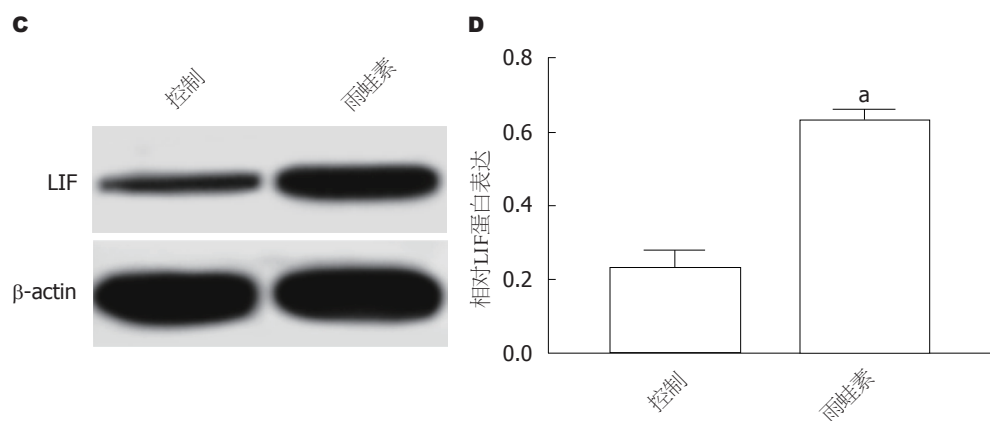


图2 雨蛙素诱导的AR42J细胞miR-181a-5p低表达和LIF高表达。A: 雨蛙素对AR42J细胞中miR-181a-5p表达的影响; B: 雨蛙素对AR42J细胞中LIF mRNA表达的影响; C、D: 雨蛙素对AR42J细胞中LIF蛋白表达的影响。<sup>a</sup> $P < 0.05$ , 与对照组相比。

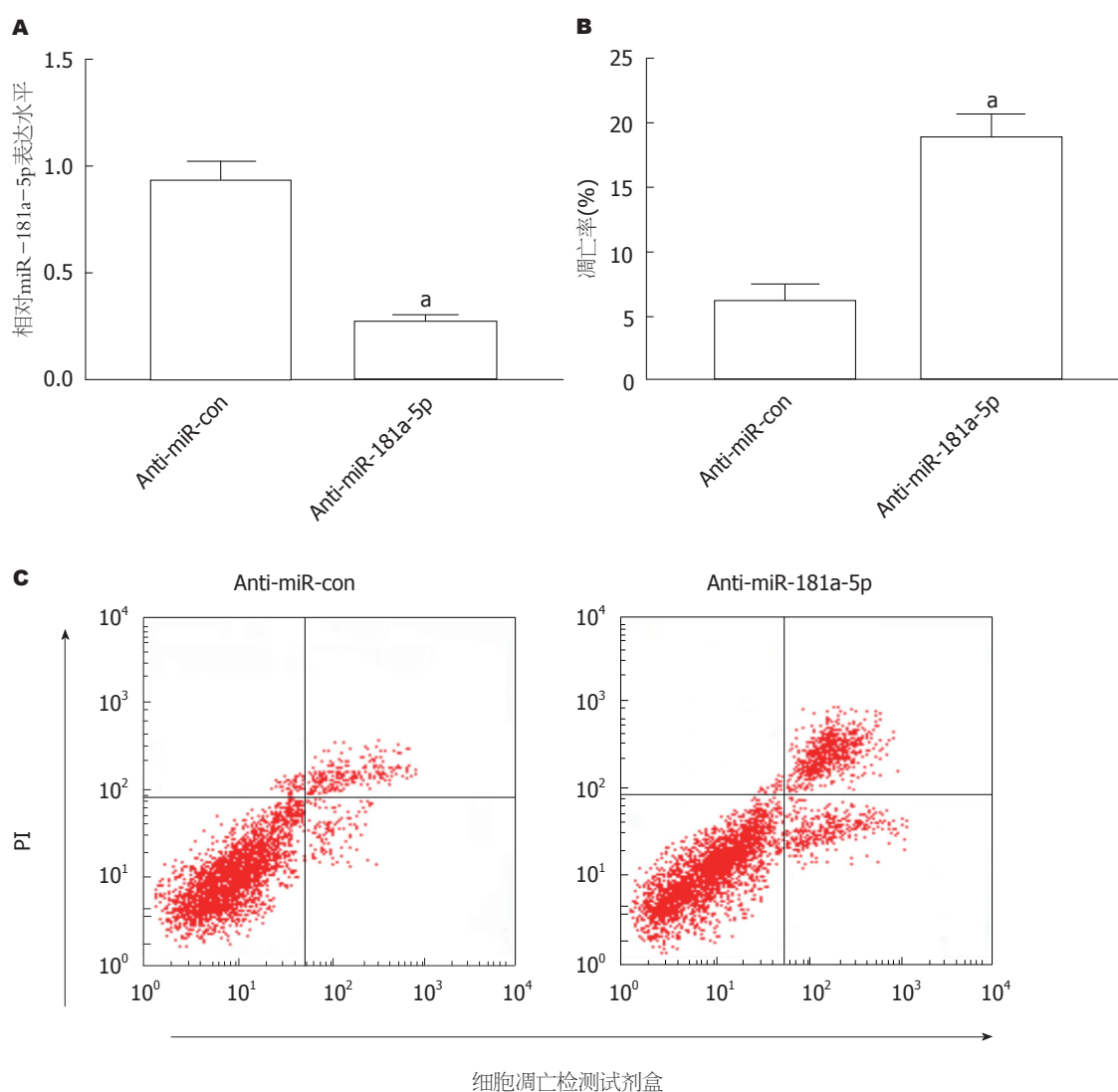


图3 过表达miR-181a-5p抑制雨蛙素诱导的AR42J细胞的凋亡。A: 过表达miR-181a-5p对雨蛙素诱导的AR42J细胞中miR-181a-5p表达的影响; B: 过表达miR-181a-5p对雨蛙素诱导的AR42J细胞凋亡的影响; C: 流式细胞术检测细胞的凋亡。<sup>a</sup> $P < 0.05$ , 与对照组相比。

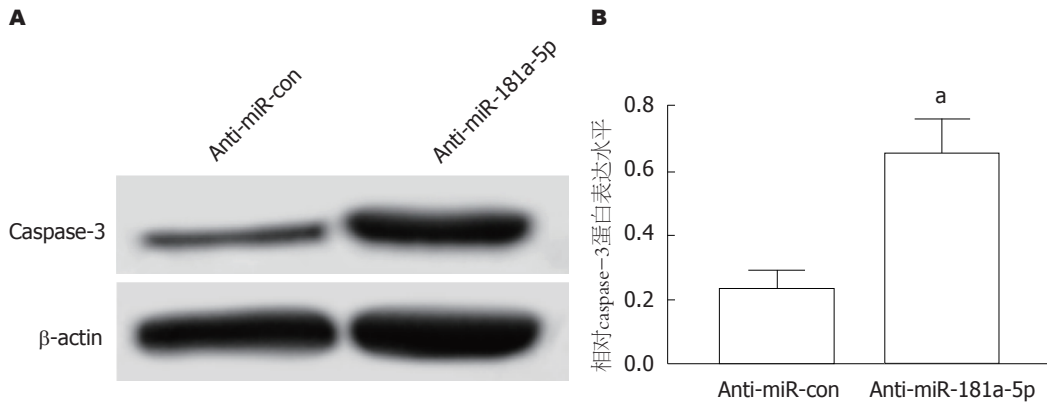


图4 抑制miR-181a-5p抑制雨蛙素诱导的AR42J细胞中caspase-3蛋白的表达. A: 抑制miR-181a-5p对caspase-3蛋白表达的影响; B: 抑制miR-181a-5p对caspase-3蛋白表达量的影响. <sup>a</sup> $P<0.05$ , 与对照组相比.

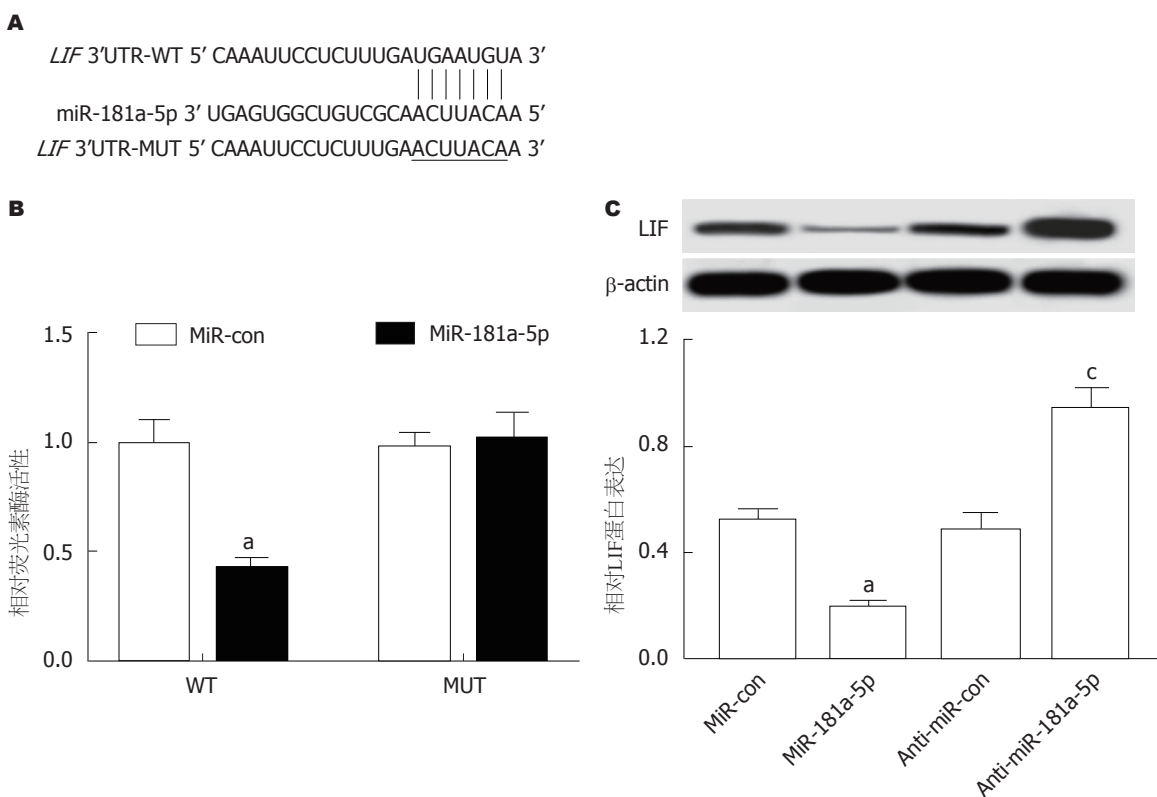


图5 miR-22靶向LIF. A: 为互补序列; B: miR-181a-5p对AR42J细胞荧光活性的影响; C: miR-181a-5p对AR42J细胞中LIF蛋白表达的影响. <sup>a</sup> $P<0.05$ , 与miR-con组相比较; <sup>c</sup> $P<0.05$ , 与anti-miR-con组相比较.

如图6所示, 与Cerulein+si-con组相比, Cerulein+si-LIF组AR42J细胞中LIF蛋白表达量显著下调(图6A), 细胞的凋亡率显著降低(图6B和C,  $P<0.05$ ).

### 3 讨论

miRNA为1993年首次在秀丽线虫中发现的一种22 nt的长链非编码小分子RNA<sup>[8]</sup>. miRNA参与构成机体约3%的基因组, 30%-90%的人类基因由miRNA调控, 且一个miRNA可调控数千个目标基因<sup>[9]</sup>. 近年来, miRNA在视网膜疾病、神经退行性疾病、心血管疾病、癌症等多

种人类疾病的发生发展过程中的调节作用被广泛研究. 如miR-551b-5p、miR-92b、miR-10a、miR-7在胰腺炎均出现异常表达, 其中miR-551b-5p可通过正向调控组ICC内钙离子浓度发挥调控胰腺炎进展的作用<sup>[10]</sup>. 林金欢<sup>[11]</sup>、傅冬阳等<sup>[12]</sup>在胰腺炎的研究中均报道, miRNA在胰腺炎的发生发展中具有重要作用, 推测其机制可能与miRNA与mRNA之间复杂的调控网络相关. 姚汝铨等<sup>[13]</sup>研究发现, miR-181a可用来鉴别诊断胰腺癌、慢性胰腺炎、正常胰腺及胰腺的内分泌肿瘤. An等<sup>[14]</sup>在AP的研究中通过微阵列分析胰腺炎患者血清miRNA的表达



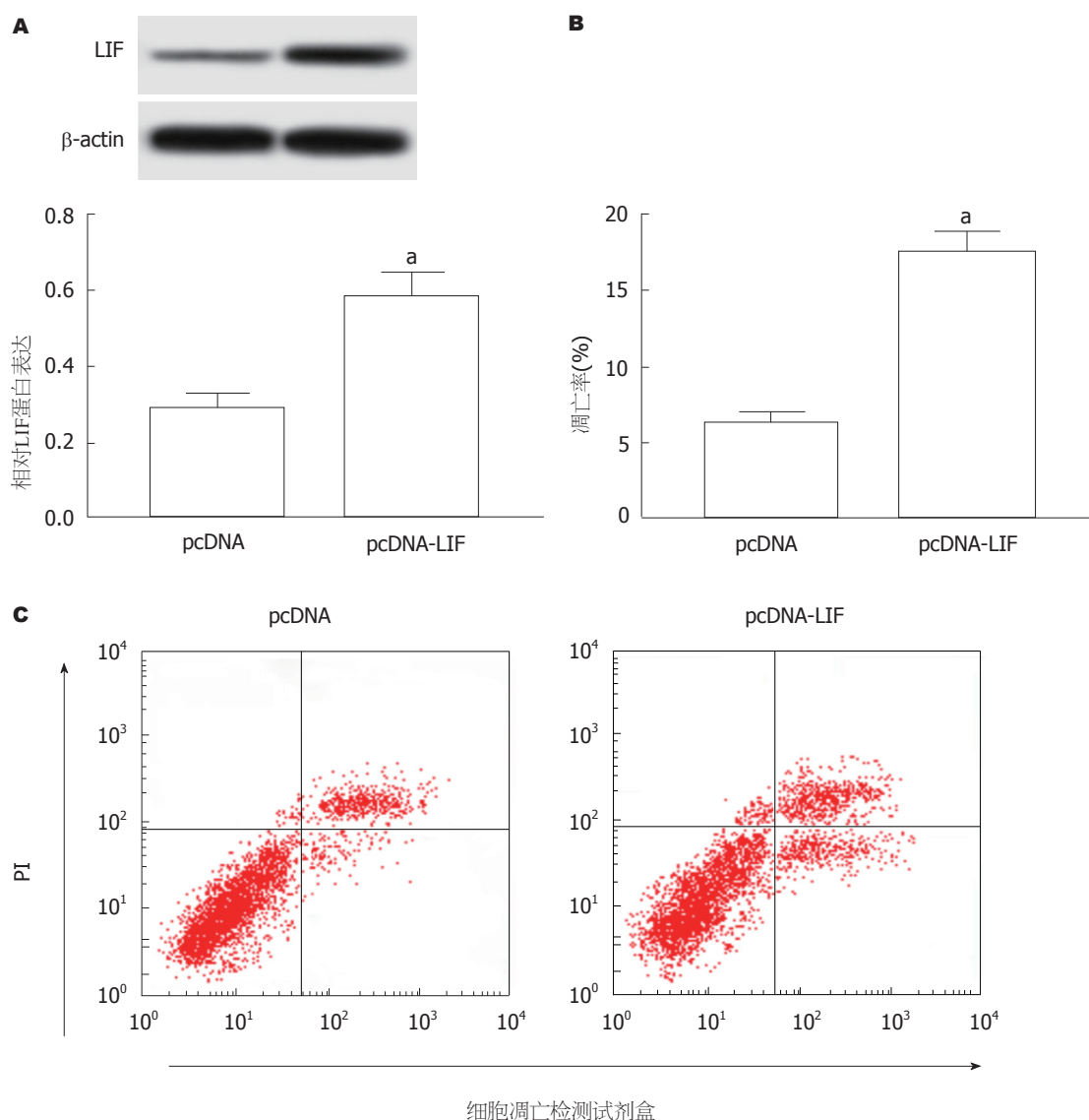


图 6 敲减LIF抑制雨蛙素诱导的AR42J细胞的凋亡. A: 敲减LIF对雨蛙素诱导的AR42J细胞中LIF表达的影响; B: 敲减LIF对雨蛙素诱导的AR42J细胞凋亡的影响; C: 流式细胞术检测细胞的凋亡情况.  $^*P < 0.05$ , 与对照组相比.

谱发现, miR-181a-5p的表达不断下调, 并运用miRNA-mRNA网络揭示了miR-181a-5p的下调与甘油三酯, 总胆固醇和快速血糖具有良好的负相关性, 与 $\text{Ca}^{2+}$ 呈正相关, 提示miR-181a-5p可作为诊断AP的生物标志物. 本研究运用qRT-PCR法检测了雨蛙素诱导的AR42J细胞中miR-181a-5p的表达发现, miR-181a-5p低表达, 这与An的研究结果相一致; 进一步研究发现, 过表达miR-181a-5p可抑制雨蛙素诱导的AR42J细胞的凋亡促进作用; 深入研究运用双荧光素酶报告基因检测实验验证, miR-181a-5p可靶向负调控LIF表达.

TNF- $\alpha$ 、IL-1、IL-6是胰腺炎的主要致病因子<sup>[15]</sup>, 其中TNF发生在炎症起始阶段, 诱导IL-1、IL-6引发的级联反应<sup>[16]</sup>, 但有研究报道, 炎症因子水平的变化与胰腺炎的病理进程并不相一致<sup>[17]</sup>. LIF属于IL-6家族成员,

为多功能细胞因子, 其在正常组织或血液中低表达, 炎症介质可诱导其表达, 抗炎物质可抑制其表达<sup>[18]</sup>. 滕晓丽等<sup>[19]</sup>通过牛磺胆酸钠建立大鼠SAP模型, 运用RT-PCR和免疫组织化学法检测模型大鼠肺组织中LIF的表达显示, LIF的表达在SAP大鼠中显著升高, 提示LIF在SAP肺损伤中发挥促炎作用. 吴鑫等<sup>[20]</sup>报道, LIF在AP晚期发挥促炎作用. 孙涛<sup>[21]</sup>在AP的研究中发现, miR-494在损伤胰腺腺泡细胞中高表达, 发挥抑制胰腺腺泡细胞凋亡的作用, 且可通过直接抑制LIF的表达抑制雨蛙素诱导的大鼠胰腺腺泡细胞凋亡, 提示LIF在急性胰腺腺泡细胞中发挥损伤作用. 本研究运用qRT-PCR、Western blot检测了雨蛙素诱导的大鼠胰腺腺泡细胞AR42J中LIF的表达发现, LIF表达异常升高; 深入研究发现, 敲减LIF可抑制雨蛙素诱导的AR42J细胞凋亡.

总之, miR-181a-5p可抑制雨蛙素诱导的大鼠胰腺腺泡细胞凋亡, 其机制可能与靶向LIF有关, 为AP的治疗研究奠定基础。

## 文章亮点

### 实验背景

miRNA在急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)中的作用已得到认可, 其中miR-181a-5p在AP中的研究甚少, 且miR-181a-5p在AP中的作用机制国内外尚未有人研究。

### 实验动机

本研究旨在研究miR-181a-5p在氢化可的松诱导的大鼠胰腺腺泡细胞损伤的凋亡情况, 以期望为及时高效治疗AP提供线索。

### 实验目标

探讨miR-181a-5p调控氢化可的松诱导的大鼠胰腺腺泡细胞凋亡的作用, 及这种作用的机制, 以期为AP的治疗提供新方向。

### 实验方法

用15 nmol/L雨蛙素处理大鼠胰腺腺泡细胞AR42J 8 h, 运用ELISA法检测AMY、肿瘤坏死因子 $\alpha$ (tumor necrosis factor alpha, TNF- $\alpha$ )、白介素-6(interleukin-6, IL-6)的表达, 分成Cerulein+anti-miR-con组、Cerulein+anti-miR-181a-5p组、Cerulein+si-con组、Cerulein+si-LIF组, 用流式细胞术、qRT-PCR、Western blot检测细胞的凋亡、miR-181a-5p mRNA和LIF mRNA及LIF、caspase-3蛋白的表达, 双荧光素酶报告基因检测实验验证miR-181a-5p靶向LIF。

### 实验结果

本研究成功构建雨蛙素诱导的大鼠胰腺腺泡细胞AR42J损伤, 其中miR-181a-5p表达下调, LIF表达上调, 细胞凋亡率上调, 且过表达miR-181a-5p或敲减LIF均可下调细胞的凋亡率, 另外, miR-181a-5p靶向调控LIF。

### 实验结论

miR-181a-5p可抑制氢化可的松诱导的大鼠胰腺腺泡细胞的凋亡, 其可能与靶向LIF有关, 提示miR-181a-5p可作为AP治疗的潜在作用靶点。

### 展望前景

本研究仅在体外研究miR-181a-5p对大鼠胰腺细胞损伤的凋亡影响, 后期还需增加miR-181a-5p在胰腺炎大鼠

体内是否具有治疗作用, 以更清晰的展示miR-181a-5p对AP的治疗价值, 也为miR-181a-5p的靶向治疗提供更加充分的依据。

## 参考文献

- Ye B, Mao W, Chen Y, Tong Z, Li G, Zhou J, Ke L, Li W. Aggressive Resuscitation Is Associated with the Development of Acute Kidney Injury in Acute Pancreatitis. *Dig Dis Sci* 2019; 64: 544-552 [PMID: 30327961 DOI: 10.1007/s10620-018-5328-5]
- Fei Y, Liu XQ, Gao K, Xue CB, Tang L, Tu JF, Wang W, Li WQ. Analysis of influencing factors of severity in acute pancreatitis using big data mining. *Rev Assoc Med Bras* (1992) 2018; 64: 454-461 [PMID: 30304146 DOI: 10.1590/1806-9282.64.05.454]
- Fan J, Ding L, Lu Y, Zheng J, Zeng Y, Huang C. Epidemiology and Etiology of Acute Pancreatitis in Urban and Suburban Areas in Shanghai: A Retrospective Study. *Gastroenterol Res Pract* 2018; 2018: 1420590 [PMID: 30158961 DOI: 10.1155/2018/1420590]
- Song J, Zhong Y, Lu X, Kang X, Wang Y, Guo W, Liu J, Yang Y, Pei L. Enteral nutrition provided within 48 hours after admission in severe acute pancreatitis: A systematic review and meta-analysis. *Medicine* (Baltimore) 2018; 97: e11871 [PMID: 30142782 DOI: 10.1097/MD.00000000000011871]
- Vishnoi A, Rani S. MiRNA Biogenesis and Regulation of Diseases: An Overview. *Methods Mol Biol* 2017; 1509: 1-10 [PMID: 27826912 DOI: 10.1007/978-1-4939-6524-3\_1]
- Chandrasekhar S, Harvey AK. Modulation of PDGF mediated osteoblast chemotaxis by leukemia inhibitory factor (LIF). *J Cell Physiol* 1996; 169: 481-490 [PMID: 8952697 DOI: 10.1002/(SICI)1097-4652(199612)169:33.0.CO;2-K]
- Nicola NA, Babon JJ. Leukemia inhibitory factor (LIF). *Cytokine Growth Factor Rev* 2015; 26: 533-544 [PMID: 26187859 DOI: 10.1016/j.cytogfr.2015.07.001]
- Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The C. elegans heterochronic gene lin-4 encodes small RNAs with antisense complementarity to lin-14. *Cell* 1993; 75: 843-854 [PMID: 8252621]
- Dai R, Ahmed SA. MicroRNA, a new paradigm for understanding immunoregulation, inflammation, and autoimmune diseases. *Transl Res* 2011; 157: 163-179 [PMID: 21420027 DOI: 10.1016/j.trsl.2011.01.007]
- 刘丕. 急性胰腺炎血循环中miRNA谱的分析及其对预后的影响和治疗靶点的研究. 南昌大学, 2017
- 林金欢. 慢性胰腺炎miRNA-mRNA调控网络分析和miRNA早期诊断标志物的筛选与鉴定. 第二军医大学, 2016
- 傅冬阳, 黄元林, 陈建洪. miRNA在急性胰腺炎诊断和评估病情严重程度的作用. *临床和实验医学杂志* 2016; 15: 1398-1401 [DOI: 10.3969/j.issn.1671-4695.2016.14.016]
- 姚汝铨, 郑军, 邢荣春. 微小RNA在胰腺癌中的研究进展. *中国普外基础与临床杂志* 2012; 19: 911-915
- An F, Zhan Q, Xia M, Jiang L, Lu G, Huang M, Guo J, Liu S. From moderately severe to severe hypertriglyceridemia induced acute pancreatitis: circulating miRNAs play role as potential biomarkers. *PLoS One* 2014; 9: e111058 [PMID: 25365448 DOI: 10.1371/journal.pone.0111058]
- Norman J. The role of cytokines in the pathogenesis of acute pancreatitis. *Am J Surg* 1998; 175: 76-83 [PMID: 9445247 DOI: 10.1016/S0002-9610(97)00240-7]
- Norman JG, Fink GW, Franz MG. Acute pancreatitis induces intrapancreatic tumor necrosis factor gene expression. *Arch Surg* 1995; 130: 966-970 [PMID: 7661681 DOI: 10.1001/archsurg.1995.01430090052018]
- Brown MA, Metcalf D, Gough NM. Leukaemia inhibitory

factor and interleukin 6 are expressed at very low levels in the normal adult mouse and are induced by inflammation. *Cytokine* 1994; 6: 300-309 [PMID: 8054487 DOI: 10.1016/1043-4666(94)90027-2]

- 18 Chabaud M, Fossiez F, Taupin JL, Miossec P. Enhancing effect of IL-17 on IL-1-induced IL-6 and leukemia inhibitory factor production by rheumatoid arthritis synoviocytes and its regulation by Th2 cytokines. *J Immunol* 1998; 161: 409-414

[PMID: 9647250]

- 19 滕晓丽, 赵秋, 杜静, 谷华, 覃华. 重症急性胰腺炎大鼠肺组织中LIF的表达变化及意义. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 438-441 [DOI: 10.3969/j.issn.1009-3079.2006.04.015]
- 20 吴鑫, 赵国海. 炎性介质与重症急性胰腺炎肺损伤. *医学综述* 2010; 16: 2607-2611 [DOI: 10.3969/j.issn.1006-2084.2010.17.016]
- 21 孙涛. 急性胰腺炎血浆miRNAs表达及miR-494调节胰腺腺泡细胞凋亡的机制研究. 第二军医大学, 2016

编辑: 崔丽君 电编: 张砚梁



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 © 2019 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标

**本刊讯** 《世界华人消化杂志》[国际标准刊号ISSN 1009-3079 (print), ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569, *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi/World Chinese Journal of Digestology*], 是一本由来自国内31个省、市、自治区、和香港特别行政区和719位胃肠病学和肝病学专家支持的开放存取的同行评议的半月刊杂志, 旨在推广国内各地的胃肠病学和肝病学领域临床实践和基础研究相结合的最具有临床意义的原创性及各类评论性的文章, 使其成为一种公众资源, 同时科学家、医生、患者和学生可以通过这样一个不受限制的平台来免费获取全文, 了解其领域的所有的关键的进展, 更重要的是这些进展会为本领域的医务工作者和研究者服务, 为他们的患者及基础研究提供进一步的帮助。

除了公开存取之外, 《世界华人消化杂志》的另一大特色是对普通读者的充分照顾, 即每篇论文都会附带有一组供非专业人士阅读的通俗易懂的介绍大纲, 包括实验背景、实验动机、实验目标、实验方法、实验结果、实验结论、展望前景。

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

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

# 超声造影在射频消融治疗常规超声不显示原发性肝细胞癌中的临床应用价值

周华玲, 唐潮浪

周华玲, 嘉兴市第二医院超声科 浙江省嘉兴市 314000

唐潮浪, 中国人民武装警察部队浙江省总队医院卫勤处 浙江省嘉兴市 314000

周华玲, 主治医师, 主要从事腹部超声诊断研究方向.

**作者贡献分布:** 此课题由周华玲设计; 研究过程由周华玲与唐潮浪共同操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由周华玲提供; 数据分析及论文写作由周华玲完成.

**通讯作者:** 周华玲, 主治医师, 314000, 浙江省嘉兴市环城北路1518号, 嘉兴市第二医院超声科. a2018tomato@163.com  
电话: 0573-82080930

收稿日期: 2018-12-26

修回日期: 2019-01-20

接受日期: 2019-03-15

在线出版日期: 2019-04-28

## Clinical value of contrast-enhanced ultrasound in radiofrequency ablation for primary hepatocellular carcinoma undetectable by conventional ultrasound

Hua-Ling Zhou, Chao-Lang Tang

Hua-Ling Zhou, Department of Ultrasound, Second Hospital of Jiaxing, Jiaxing 314000, Zhejiang Province, China

Chao-Lang Tang, Department of Medical Services, Chinese People's Armed Police Force Zhejiang Provincial Corps Hospital, Jiaxing 314000, Zhejiang Province, China

Corresponding author: Hua-Ling Zhou, Attending Physician, Department of Ultrasound, Second Hospital of Jiaxing, 1518 Huancheng North Road, Jiaxing 314000, Zhejiang Province, China. a2018tomato@163.com

Received: 2018-12-26

Revised: 2019-01-20

Accepted: 2019-03-15

Published online: 2019-04-28

## Abstract BACKGROUND

Surgical resection is the first choice for the treatment of hepatocellular carcinoma (HCC). For patients who have unresectable HCC, radiofrequency ablation (RFA) is an important choice. RFA is usually guided by imaging methods including ultrasound, computed tomography (CT), and magnetic resonance imaging (MRI). CT has radiation damage, and MRI is not suitable for some patients (such as those who have pacemaker implantation, vascular stent implantation, or heart valve replacement). Ultrasound as a guidance method has the advantages of non-radiation, simplicity, and flexibility, and has been widely used in clinical practice. It has become an ideal and effective imaging method guiding RFA for liver tumors.

## AIM

To investigate the clinical value of contrast-enhanced ultrasound (CEUS) in RFA for HCC undetectable by conventional ultrasound.

## METHODS

A total of 52 patients with HCC undetectable by conventional ultrasound, but detected by contrast-enhanced MRI (CEMRI) and confirmed by pathology were selected as subjects (with a total of 75 tumors). All patients underwent CEUS and RFA guided by CEUS. CEMRI and CEUS were performed to evaluate the



therapeutic effect after operation.

## RESULTS

There was no significant difference in the detection rate between CEUS and CEMRI ( $P > 0.05$ ). Time to starting enhancement and time to enhancement peak were significantly shorter in HCC tissues than in adjacent normal tissues, but peak intensity was significantly higher in HCC tissues than in adjacent normal tissues before operation ( $P < 0.05$ ). Regardless of whether HCC was completely ablated or not, there was no significant difference in the accuracy rate between CEUS and CEMRI ( $P > 0.05$ ). Serum alpha fetoprotein after operation was significantly lower than that before operation ( $P < 0.05$ ).

## CONCLUSION

CEUS can effectively detect and accurately locate HCC undetectable by conventional ultrasound and guide RFA, thus providing a reliable imaging method for evaluating RFA efficacy.

© The Author(s) 2019. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Ultrasound; Microbubble contrast agent; Radiofrequency ablation; Hepatocellular carcinoma

Zhou HL, Tang CL. Clinical value of contrast-enhanced ultrasound in radiofrequency ablation for primary hepatocellular carcinoma undetectable by conventional ultrasound. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(8): 503-508

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i8/503.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i8.503>

## 摘要

### 背景

手术切除是目前临床治疗肝癌的首选方法, 对于无法手术切除的患者, 射频消融(radiofrequency ablation, RFA)治疗为其提供了一种重要的治疗手段. 实施RFA需借助于影像学方法的引导, 通常采用超声、电子计算机断层扫描(computed Tomography, CT)或磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI). CT引导具有射线辐射, MRI引导不适用于心脏起搏器植入、血管支架植入、心脏换瓣等患者, 而超声引导具有无辐射、简便、灵活等优点被广泛应用于临床, 成为一种引导肝肿瘤RFA的理想有效影像学手段.

### 目的

探讨超声造影(contrast-enhanced ultrasound, CEUS)在RFA治疗常规超声不显示原发性肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)中的临床应用价值.

### 方法

选取常规超声不显示而增强MRI(contrast-enhanced

MRI, CEMRI)显示并经穿刺活检病理确诊的52例HCC患者作为研究对象, 共75个肿瘤. 所有患者均行CEUS检查并在CEUS引导下RFA治疗, 术后行CEMRI以及CEUS评估治疗效果.

## 结果

术前CEUS对常规超声不显示HCC的检出率与CEMRI比较, 差异无统计学意义( $P > 0.05$ ); 术前HCC的开始增强时间、达峰时间明显短于邻近正常肝组织, 而峰值强度明显高于邻近正常肝组织, 差异具有统计学意义( $P < 0.05$ ); 术后CEUS判定HCC完全消融的准确率与CEMRI比较, 差异无统计学意义( $P > 0.05$ ); 患者术后血清甲胎蛋白水平较术前明显下降, 差异具有统计学意义( $P < 0.05$ ).

## 结论

CEUS能有效发现并准确定位常规超声不显示HCC从而引导RFA治疗, 能为临床评估RFA疗效提供一种可靠的影像学方法, 具有一定临床价值.

© The Author(s) 2019. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 超声; 微泡造影剂; 射频消融; 原发性肝细胞癌

**核心提要:** 部分原发性肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)可在常规超声下呈不显示状态, 对于该类HCC因常规超声无法准确定位而难以对其实施射频消融(radiofrequency ablation, RFA)治疗. 超声造影可清晰显示该类HCC, 并引导RFA顺利实施, 成为一种引导RFA治疗的新手段.

周华玲, 唐潮浪. 超声造影在射频消融治疗常规超声不显示原发性肝细胞癌中的临床应用价值. *世界华人消化杂志* 2019; 27(8): 503-508

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i8/503.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i8.503>

## 0 引言

射频消融技术(radiofrequency ablation, RFA)作为一种积极有效的原发性肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)非手术治疗手段, 因具有操作简便、安全、微创等优点而广泛应用于临床<sup>[1]</sup>. 高质有效的引导技术以及评估手段对于提高RFA疗效至关重要. 常规超声是RFA常用引导技术及评估手段之一, 然而当HCC在常规超声下缺乏明显声像图对比而不显示时, 将不利于RFA的顺利实施<sup>[2]</sup>. 超声造影(contrast-enhanced ultrasound, CEUS)能实时反映肿瘤组织的血流灌注过程, 在各种肿瘤诊疗中发挥着重要作用<sup>[3]</sup>. 本研究采用CEUS引导下对常规超声不显示HCC行RFA治疗, 并于术后评估RFA疗效, 旨

在探讨CEUS在RFA治疗常规超声不显示HCC中的应用价值.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 2017-02/2018-11期间, 连续选取嘉兴市第二医院常规超声不显示而增强MRI(contrast-enhanced MRI, CEMRI)显示并经穿刺活检病理确诊的52例HCC患者作为研究对象(75个肿瘤). 52例患者中, 肝炎后肝硬化患者32例(45个肿瘤), 酒精性肝硬化患者14例(17个肿瘤), 血吸虫性肝硬化患者6例(13个肿瘤); 75个肿瘤中, 9个位于近膈顶部, 66个位于非近膈顶部; 21个最大径线 $\leq 1$  cm, 54个最大径线 $> 1$  cm. 所有患者均在CEUS引导下RFA治疗. 纳入标准: (1)所有肿瘤均符合《原发性肝癌诊疗规范(2017年版)》关于HCC诊断标准<sup>[4]</sup>; (2)均通过穿刺活检获得病理确诊. 排除标准: (1)肝肾功能衰竭; (2)凝血功能障碍; (3)严重感染.

**1.2 方法** 采用GE LOGIQ 9超声诊断仪, 配有3.5-5.0 MHz凸阵探头以及超声造影成像系统. 采用声诺维(Brocca公司)作为超声造影剂, 按照说明书配备成混悬液备用. 采用S-1500肿瘤射频治疗仪(上海迈德公司)进行RFA治疗, 配有17 G多极针. 采用Siemens verio 3.0 T超导MR进行CEMRI, 所用造影剂为普美显.

术前: 术前1 d, 测定患者血清甲胎蛋白水平; 术中: 参照CEMRI图像, 在同一肝区行CEUS检查. 启动CEUS模式, 抽取2.4 mL造影剂以快速团注方式注入肘部浅静脉, 尾随5 mL生理盐水快速冲管, 同步计时并存储影像资料作后续分析. 观察肿瘤增强模式, 绘制时间-强度曲线(time-intensity curve, TIC), 测定并记录RFA治疗前肿瘤及其邻近正常肝组织的开始增强时间、达峰时间、峰值强度等参数. 造影时相划分为: 0-30 s为动脉相、31-120 s为门脉相, 121-360 s为延迟相. 根据CEUS所呈现的肿瘤位置、形态、大小、毗邻关系等情况, 选择最佳穿刺路径以及制定最佳布针方案, 在CEUS引导下对肿瘤穿刺活检后行RFA治疗. 术后: 术后1 mo行CEUS、CEMRI以及复查血清甲胎蛋白水平. 见图1.

完全消融: RFA治疗后, 各时相肿瘤内均无血流灌注增强区; 不完全消融: RFA治疗后, 动脉期肿瘤内存在血流灌注增强区, 门脉期或延迟期消退.

**统计学处理** 采用SPSS 19.0统计学软件进行数据处理. 计量资料表示为 $\text{mean} \pm \text{SD}$ , CEUS参数比较采用独立样本 $t$ 检验, AFP治疗前后比较采用配对样本 $t$ 检验. 计数资料表示为(%), 组间比较采用 $\chi^2$ 检验. 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

## 2 结果

**2.1 CEUS引导下RFA治疗情况** HCC患者52例, 其中

男38例, 女14例, 年龄28-65岁, 平均 $49.07 \pm 8.16$ 岁. CEMRI共发现75个肿瘤, 最大径线0.7-3.1 cm, 平均 $2.24 \pm 0.67$  cm. 于相同肝区层面CEUS成功发现72个肿瘤, 肿瘤的检出率为96.00%(72/75). 术前CEUS对常规超声不显示HCC的检出率与CEMRI比较, 差异无统计学意义( $\chi^2 = 3.061, P = 0.080$ ). 所发现的HCC在CEUS下均表现为不同程度的动脉相高增强, 门脉相低增强. 术前HCC的开始增强时间、达峰时间明显短于邻近正常肝组织, 而峰值强度明显高于邻近正常肝组织, 差异具有统计学意义( $P < 0.05$ ). 见表1.

**2.2 CEUS评估RFA疗效情况** 术后CEMRI提示72个肿瘤内各时相均无血流灌注增强, 判定为完全消融; CEUS提示70个肿瘤内各时相均无血流灌注增强, 判定为完全消融, 而2个肿瘤动脉期存在周边环形高增强区, 判定为不完全消融, 后经穿刺活检病理证实为炎性充血带. CEUS判定HCC完全消融的准确率为97.22%(70/72). 术后CEUS判定HCC完全消融的准确率与CEMRI比较, 差异无统计学意义( $\chi^2 = 2.028, P = 0.154$ ). 见表2.

**2.3 RFA治疗前后血清甲胎蛋白水平变化** 患者术后血清甲胎蛋白水平( $410.72 \text{ ng/mL} \pm 98.76 \text{ ng/mL}$ 较术前 $50.75 \text{ ng/mL} \pm 32.74 \text{ ng/mL}$ 明显下降, 差异有统计学意义( $t = 30.723, P = 0.000$ ).

## 3 讨论

手术切除仍是HCC首选治疗手段, 但对于无法手术患者, RFA可为其提供一种重要的非手术治疗手段<sup>[5-8]</sup>. RFA治疗的顺利实施依赖于高质量的影像学方法作为引导, 而超声是引导RFA的常用方法之一. 超声引导具有操作方便、灵活、无辐射、实时等优点, 在清晰显示肿瘤位置、形态、大小、边界、毗邻关系等前提下, 可实时监控RFA治疗全程, 目前广泛应用于临床<sup>[9]</sup>. 但在各种复杂因素(如脂肪肝、HCC呈等回声, 体积较小, 肝硬化背景等)影响下, HCC与其周围肝组织缺乏明显声像图对比, 致使HCC在常规超声下无法显示, 成为“隐形肝癌”, 此时常规超声无法准确定位HCC而影响RFA治疗的顺利实施<sup>[10]</sup>.

CEUS所采用的微泡造影剂属于血管池造影剂, 能通过实时显示HCC内微循环血流灌注动态过程<sup>[11-15]</sup>, 清晰显示常规超声不显示的HCC, 从而使CEUS引导下对该类HCC行RFA治疗成为可能. 本研究结果显示, CEUS对常规超声不显示HCC的检出率为96.00%(72/75), 与CEMRI的检出结果高度一致, 证实了CEUS能敏感发现常规超声不显示的HCC, 其检出能力堪与CEMRI相媲美. CEUS使常规超声不显示HCC行RFA治疗得以顺利实施, 其在RFA治疗中无疑是一种理想的全新超声引导

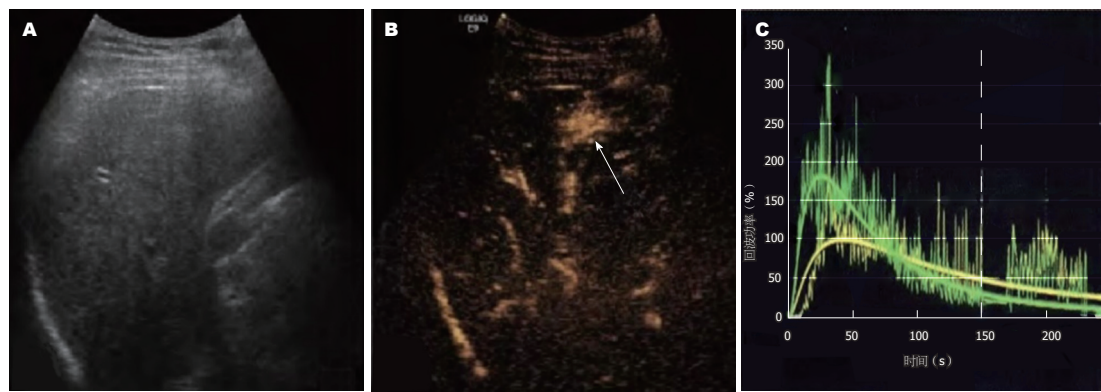


图 1 超声造影应用于原发性肝细胞癌中. A: 常规超声下原发性肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)不显示; B: 超声造影下HCC呈高回声; C: 绿线为HCC的时间-强度曲线(time-intensity curve, TIC), 黄线为正常肝组织的TIC.

表 1 术前原发性肝细胞癌与正常肝组织超声造影参数比较(mean ± SD, n = 72)

部位	开始增强时间(s)	达峰时间(s)	峰值强度(%)
HCC	12.96 ± 4.31	22.53 ± 5.09	45.09 ± 5.61
正常肝组织	17.79 ± 4.90	36.97 ± 6.75	27.41 ± 3.98
t值	-6.274	-14.501	21.804
P值	0.000	0.000	0.000

HCC: 原发性肝细胞癌.

表 2 超声造影判定原发性肝细胞癌完全消融情况(个)

CEUS	CEMRI		总计
	不完全消融	完全消融	
不完全消融	0	2	2
完全消融	0	70	70
总计	0	72	72

CEUS: 超声造影; CEMRI: 增强磁共振成像.

手段, 能保证RFA治疗的准确性以及有效性. 本研究中有3个肿瘤CEUS未能发现, 原因可能是肿瘤位置靠近膈顶, 受气体干扰所致. 本研究结果中, 术前HCC的开始增强时间、达峰时间明显短于邻近正常肝组织, 而峰值强度明显高于邻近正常肝组织( $P<0.05$ ), 提示CEUS可定量分析HCC的血流灌注特征, 为临床诊疗提供更丰富的血流动力学信息. HCC中90%血供来自于肝动脉, 使其在动脉相得以快速增强, 同时病灶内存在大量高通透性的新生血管以及动静脉短路, 使造影剂能在动脉期对病灶进行快速大量灌注.

准确评估HCC灭活状态是RFA治疗是否成功的关键. HCC经RFA治疗后其边界常常不清晰, 导致常规超声难以辨别HCC坏死的真实范围, 不利于RFA疗效评估<sup>[16]</sup>. 故临床上常采用增强CT或CEMRI进行RFA疗效评估, 虽然两者在评估RFA疗效方面均具有极高准确

度<sup>[17-19]</sup>, 但增强CT具有放射性, 而CEMRI价格昂贵, 操作费时, 过程复杂, 不适合金属支架或起搏器置入患者检查等原因, 其应用受到一定限制. CEUS能实时动态反映肿瘤内部微循环血流灌注状态, 可直观反映RFA治疗前后肿瘤内部血流动力学变化, 从而判断肿瘤灭活情况<sup>[20]</sup>. 本研究结果中, CEUS判定HCC完全消融的准确率为97.22%(70/72), 与CEMRI比较差异无统计学意义( $P>0.05$ ), 提示CEUS能有效监测RFA对HCC的疗效, 从而指导临床进一步治疗. 本研究结果中, 术后CEUS将2个动脉期存在周边环形高增强区的HCC判定为不完全消融, 从而导致假阳性. 原因可能是HCC经RFA治疗后周围出现明显的炎性充血带所致<sup>[21]</sup>. 本研究结果中, 患者术后血清甲胎蛋白水平明显低于术前( $P<0.05$ ), 进一步证实了CEUS引导下对常规超声不显示HCC行RFA治疗的有效性.



总之, CEUS能有效发现并准确定位常规超声不显示HCC从而引导RFA治疗, 能为临床评估RFA疗效提供一种可靠的影像学方法, 具有一定临床应用价值。

## 文章亮点

### 实验背景

原发性肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)治疗首选手术切除, 而对于无法手术患者, 射频消融(radiofrequency ablation, RFA)是一种有效的非手术治疗方法。临床常采用超声引导RFA治疗。

### 实验动机

运用超声造影(contrast-enhanced ultrasound, CEUS)对常规超声不显示HCC进行显影, 并引导RFA治疗以及判定RFA疗效, 以期临床提供参考。

### 实验目标

本篇论文研究的主要目标是运用CEUS引导RFA治疗常规超声不显示HCC, 并判定RFA疗效。结果表明CEUS能有效发现并准确定位常规超声不显示HCC从而引导RFA治疗, 能为临床评估RFA疗效提供一种可靠方法。

### 实验方法

本篇论文采用CEUS引导RFA治疗常规超声不显示HCC, 并于术后评估RFA疗效。CEUS是一种能实时反映肿瘤组织血流灌注的超声新技术, 能有效发现常规超声不显示HCC。

### 实验结果

本篇论文研究达到了实验目标, 研究结果显示术前CEUS对常规超声不显示HCC的检出率以及术后CEUS判定HCC完全消融的准确率与增强磁共振成像(contrast-enhanced MRI, CEMRI)比较, 差异无统计学意义( $P>0.05$ )。本研究结果说明CEUS能敏感发现常规超声不显示HCC, 并能有效监测RFA疗效, 其能力可与CEMRI相媲美。

### 实验结论

本研究发现CEUS能敏感发现常规超声不显示HCC, 并引导RFA治疗, 术后能有效监测RFA疗效。RFA治疗常规超声不显示HCC时, 可采用CEUS作为引导方法以及术后疗效评估方法。

### 展望前景

肿瘤位置靠近膈顶, 容易受气体干扰而导致CEUS发现不了肿瘤。术后肿瘤周围的炎性充血带可导致误诊。本

研究未来研究的方向是三维超声造影在RFA治疗HCC中的应用。本研究未来研究的最佳方法三维超声造影评估RFA对HCC的治疗效果。

## 4 参考文献

- Patidar Y, Singhal P, Gupta S, Mukund A, Sarin SK. Radiofrequency ablation of surface v/s intraparenchymal hepatocellular carcinoma in cirrhotic patients. *Indian J Radiol Imaging* 2017; 27: 496-502 [PMID: 29379247 DOI: 10.4103/ijri.IJRI49016]
- Wahl DR, Stenmark MH, Tao Y, Pollom EL, Caoili EM, Lawrence TS, Schipper MJ, Feng M. Outcomes After Stereotactic Body Radiotherapy or Radiofrequency Ablation for Hepatocellular Carcinoma. *J Clin Oncol* 2016; 34: 452-459 [PMID: 26628466 DOI: 10.1200/JCO.2015.61.4925]
- Sidhu PS, Cantisani V, Deganello A, Dietrich CF, Duran C, Franke D, Harkanyi Z, Kosiak W, Miele V, Ntoulia A, Piskunowicz M, Sellars ME, Gilja OH. Role of Contrast-Enhanced Ultrasound (CEUS) in Paediatric Practice: An EFSUMB Position Statement. *Ultraschall Med* 2017; 38: 33-43 [PMID: 27414980 DOI: 10.1055/s-0042-110394]
- 中华人民共和国卫生和计划生育委员会医政医管局. 原发性肝癌诊疗规范(2017年版). 传染病信息 2017; 16: 705-720 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-9752.2017.07.001]
- Schmoldt A, Benthe HF, Haberland G. Digitoxin metabolism by rat liver microsomes. *Biochem Pharmacol* 1975; 24: 1639-1641 [PMID: 10]
- de Stefano G, Farella N, Scognamiglio U, Liorre G, Calabria G, Ascione T, Giorgio A, Iodice V. Sorafenib after RFA in HCC patients: a pilot study. *Hepatogastroenterology* 2015; 62: 261-263 [PMID: 25916044 DOI: 10.2214/AJR.08.2087]
- Amarapurkar DN, Dharod MV, Chhabra D. Attack of the Clone: HCC Tract Seeding Following RFA. *J Clin Exp Hepatol* 2015; 5: 262-263 [PMID: 26628845 DOI: 10.1016/j.jceh.2015.07.204]
- Hocquelet A, Aubé C, Rode A, Cartier V, Sutter O, Manichon AF, Boursier J, N'kontchou G, Merle P, Blanc JF, Trillaud H, Seror O. Comparison of no-touch multi-bipolar vs. monopolar radiofrequency ablation for small HCC. *J Hepatol* 2017; 66: 67-74 [PMID: 27422750 DOI: 10.1016/j.jhep.2016.07.010]
- 徐娟, 赵晔, 付晓丹, 崔永慧, 顾丽婕, 赵静, 葛华. 超声引导下经皮微波消融与射频消融治疗原发性肝癌的临床疗效对比分析. 中国医学装备 2016; 13: 55-59 [DOI: 10.3969/J.ISSN.1672-8270.2016.12.016]
- 朱双平, 余毅. 实时超声造影技术诊断肝脏占位性病变的研究. 现代临床医学 2017; 43: 125-126 [DOI: 10.11851/j.issn.1673-1557.2017.02.015]
- Rübenthaler J, Paprottka KJ, Hameister E, Hoffmann K, Joiko N, Reiser M, Rjosk-Dendorfer R, Clevert DA. Contrast-enhanced ultrasound (CEUS) prediction of focal liver lesions in patients after liver transplantation in comparison to histopathology results. *Clin Hemorheol Microcirc* 2017; 66: 303-310 [PMID: 28527201 DOI: 10.3233/CH-179104]
- Pinto F, Valentino M, Romanini L, Basilico R, Miele V. The role of CEUS in the assessment of haemodynamically stable patients with blunt abdominal trauma. *Radiol Med* 2015; 120: 3-11 [PMID: 25142944 DOI: 10.1007/s11547-014-0455-3]
- Jang HJ, Kim TK, Burns PN, Wilson SR. CEUS: An essential component in a multimodality approach to small nodules in patients at high-risk for hepatocellular carcinoma. *Eur J Radiol* 2015; 84: 1623-1635 [PMID: 26092406 DOI: 10.1016/j.ejrad.2015.05.020]
- Bolondi L, Correias JM, Lencioni R, Weskott HP, Piscaglia F. New perspectives for the use of contrast-enhanced liver



- ultrasound in clinical practice. *Dig Liver Dis* 2007; 39: 187-195 [PMID: 17208526 DOI: 10.1016/j.dld.2006.08.008]
- 15 Sessa B, Trinci M, Ianniello S, Menichini G, Galluzzo M, Miele V. Blunt abdominal trauma: role of contrast-enhanced ultrasound (CEUS) in the detection and staging of abdominal traumatic lesions compared to US and CE-MDCT. *Radiol Med* 2015; 120: 180-189 [PMID: 24961341 DOI: 10.1007/s11547-014-0425-9]
- 16 周玲慧, 何云, 杨红. 声脉冲辐射力成像技术评估肝细胞癌射频消融术后24h疗效的价值. *中国临床医学影像杂志* 2017; 28: 488-491 [DOI: 10.3969/j.issn.1008-1704.2012.11.018]
- 17 刘伟. 增强CT和MRI对射频消融治疗肝细胞肝癌的疗效评价. *当代医学* 2017; 23: 65-67 [DOI: 10.3969/j.issn.1009-4393.2017.2.6.032]
- 18 肖彬, 王春瑜, 曹阳, 乔金莹. 超声造影与增强CT评价经皮射频消融治疗肝癌术后近期疗效的对比研究. *广西医学* 2015; 23: 931-934 [DOI: 10.11675/j.issn.0253-4304.2015.07.15]
- 19 刘栋云, 杨荣伟, 万大平. 增强MDCT和普美显增强MRI对肝癌射频消融治疗后疗效评价的比较. *医学信息* 2016; 29: 52-53 [DOI: 10.3969/j.issn.1006-1959.2016.23.034]
- 20 樊树华, 李明星. 超声造影评价射频消融治疗肝癌局部疗效的临床研究. *中国医药导报* 2015; 16: 118-123 [DOI: 10.3969/j.issn.1008-6978.2013.01.024]
- 21 赵琳辉, 杨晓芸, 谢晴, 万贝贝, 庄贵华. 超声造影评价肝癌射频消融术69例疗效研究. *陕西医学杂志* 2015; 21: 837-838 [DOI: 10.3969/j.issn.1000-7377.2015.07.024]

编辑: 崔丽君 电编: 张砚梁



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 © 2019 Baishideng Publishing Group Inc.  
All rights reserved.

• 消息 •

## 《世界华人消化杂志》正文要求

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

# 根据*H. pylori*培养药敏治疗*H. pylori*感染无效患者危险因素分析

朱德斌, 吴金明

朱德斌, 湖州市第一人民医院消化内科 浙江省湖州市 31300

吴金明, 温州医科大学附属第一医院消化内科 浙江省温州市 325000

朱德斌, 医师, 主要从事幽门螺旋杆菌相关研究.

作者贡献分布: 朱德斌是此文主要完成者; 此课题由吴金明初步设计; 后期课题完善、研究过程、数据分析、论文写作由朱德斌操作完成

通讯作者: 吴金明, 主任医师, 325000, 浙江省温州市瓯海区上蔡村南温医一院新院区, 温州医科大学附属第一医院消化内科. 82770412@qq.com  
电话: 0572-2039427

收稿日期: 2019-01-03

修回日期: 2019-01-30

接受日期: 2019-03-15

在线出版日期: 2019-04-28

## Risk factors for treatment ineffectiveness in patients with *H. pylori* infection undergoing eradication treatment according to drug susceptibility testing results

De-Bin Zhu, Jin-Ming Wu

De-Bin Zhu, Department of Gastroenterology, Huzhou First People's Hospital, Huzhou 31300, Zhejiang Province, China

Jin-Ming Wu, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Wenzhou Medical University, Wenzhou 325000, Zhejiang Province, China

Corresponding author: Jin-Ming Wu, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Wenzhou Medical University, New Campus, South Hospital of Shangcai, Shangcai Village, Ouhai District, Wenzhou 325000, Zhejiang Province, China. 82770412@qq.com

Received: 2019-01-03

Revised: 2019-01-30

Accepted: 2019-03-15

Published online: 2019-04-28

## Abstract

### BACKGROUND

At present, the infection rate of *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) in China is as high as 50%. The high antibiotic resistance rate in China is the main reason for the failure in the eradication of *H. pylori*. Therefore, the cultivation and drug susceptibility testing of *H. pylori* can optimize the selection of antibiotics to avoid the occurrence of antibiotic resistance. However, the eradication therapy based on drug susceptibility testing results may be still ineffective for some patients.

### AIM

To investigate the clinical features and risk factors for treatment ineffectiveness in patients with *H. pylori* infection undergoing eradication treatment according to drug susceptibility testing results.

### METHODS

A total of 320 patients with *H. pylori* infection according to *H. pylori* culture and C14 breath test received eradication treatment based on the drug susceptibility testing. Age, gender, urban/rural status, C14 breath test result, ulcer, history of use of nonsteroidal antiinflammatory drugs (NSAIDs), family history of gastric cancer, hypertension, diabetes, fatty liver, smoking, alcohol drinking, atrophy, intestinal metaplasia, VacA/CagA, and *H. pylori* colonization site were compared between the eradication treatment success and failure groups to identify the risk factors for treatment ineffectiveness.

### RESULTS

There was no significant difference in age, gender, urban/rural status, family history of gastric cancer, hypertension, diabetes, fatty liver, smoking, alcohol consumption, or history of NSAID medication between the two groups. However, DMP > 400 in the

C14 breath test, atrophy, peptic ulcer, and *H. pylori* colonizing in the gastric body were significantly higher in the *H. pylori* eradication failure group than in the eradication successful group. DMP > 400 and *H. pylori* colonizing in the gastric body were independent risk factors for treatment ineffectiveness.

## CONCLUSION

Patients with DMP > 400, *H. pylori* colonization in the gastric body, atrophy, and peptic ulcer may have a poor response to *H. pylori* eradication treatment. DMP > 400 and *H. pylori* colonizing in the gastric body are independent risk factors for treatment ineffectiveness.

© The Author(s) 2019. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: *Helicobacter pylori* culture; Eradication treatment; Susceptibility; Risk factors

Zhu DB, Wu JM. Risk factors for treatment ineffectiveness in patients with *H. pylori* infection undergoing eradication treatment according to drug susceptibility testing results. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(8): 509-514  
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i8/509.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i8.509>

## 摘要 背景

目前我国幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染率高达50%, 而我国较高的抗生素耐药率是 *H. pylori* 根除失败的主要原因, 因此 *H. pylori* 培养及药敏可优化抗生素选择, 避免出现抗生素耐药情况. 而基于药敏试验的四联根除治疗方案仍对部分患者无效, 因此, 本文旨在明确这部分患者临床特点及根除失败危险因素.

## 目的

了解根据 *H. pylori* 培养药敏治疗 *H. pylori* 感染无效患者的临床特点及危险因素.

## 方法

共收集320位 *H. pylori* 培养及C14呼气试验皆阳性患者, 根据药敏试验结果予以基于敏感抗生素的四联抗 *H. pylori* 治疗, 通过收集患者年龄, 性别, 城市/农村, C14呼气试验结果, 有无溃疡, 有无非甾体抗炎药(nonsteroidal antiinflammatory drugs, NSAIDs)用药史, 有无胃癌家族史, 有无高血压病、糖尿病、脂肪肝病史、是否吸烟、饮酒, 病理有无萎缩、肠化、VacA/CagA、*H. pylori* 定植部位相关信息, 比较根除成功组与失败组临床特点, 并分析其危险因素.

## 结果

两组患者在年龄、性别、户籍、胃癌家族史、高血压病、糖尿病、脂肪肝、饮酒、吸烟、肠化、NSAID用药史方面无明显统计学差异. 而 *H. pylori* 根除失败组患者的C14呼气试验DMP值>400、萎缩情况、合并消化性溃疡以及胃体定植于胃体数高于根除成功组, 差异有统计学意义, 其中DMP值>400, *H. pylori* 定植于胃体为独立危险因素.

## 结论

C14呼气试验DMP值>400、*H. pylori* 定植于胃体、存在萎缩、合并消化性溃疡的患者 *H. pylori* 根除质量效果欠佳, 其中DMP值>400, *H. pylori* 定植于胃体为独立危险因素.

© The Author(s) 2019. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 幽门螺杆菌培养; 根除; 敏感; 危险因素

**核心提要:** C14呼气试验DMP值高, 合并溃疡, 萎缩, 细菌定植于胃体的幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染患者根除率低, 其中, *H. pylori* 定植于胃体以及C14 DMP值>400为根除失败独立危险因素.

朱德斌, 吴金明. 根据 *H. pylori* 培养药敏治疗 *H. pylori* 感染无效患者危险因素分析. *世界华人消化杂志* 2019; 27(8): 509-514  
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i8/509.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i8.509>

## 0 引言

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染被认定为一种感染性疾病<sup>[1]</sup>, 目前治疗方案多采用四联抗 *H. pylori* 方案, 但随着 *H. pylori* 的耐药率呈逐步上升<sup>[2]</sup>, 根除效果不甚理想. 因此, 根据 *H. pylori* 培养及药敏结果可选择最佳治疗方案. 但临床发现, 部分患者应用敏感抗生素治疗后, 仍不能有效根除 *H. pylori*, 故本研究旨在分析这部分患者临床特点及相关危险因素, 为进一步优化根除 *H. pylori* 治疗提供科学依据.

## 1 材料和方法

1.1 材料 收集2017-10-01/2018-10-01就诊于湖州市第一人民医院的住院及门诊就诊的 *H. pylori* 感染的患者. 纳入标准: (1)行胃镜检查且 *H. pylori* 培养阳性; (2)在本研究前未曾接受过 *H. pylori* 根除治疗; (3)近半月无质子泵抑制剂(proton pump inhibitors, PPI)用药史; (4)能完善该研究其余检查者. 排除标准: (1) *H. pylori* 培养阳性, 但



C14呼气阴性患者; (2)*H. pylori*妊娠期或哺乳期妇女; (3)因本身疾病需抗感染治疗患者; (4)对本研究所予以相关抗生素过敏患者; (5)存在其他严重可能影响本研究结果的严重疾病, 如严重心脏病、严重肝病、肾功能不全患者; (6)不能耐受抗*H. pylori*治疗患者。

**1.2 方法** 收集所有*H. pylori*培养阳性患者相关资料, 包括: 年龄, 性别, 户籍(城市或农村), C14呼气试验结果, 有无溃疡, 有无非甾体抗炎药用药史, 有无胃癌家族史, 有无高血压病、糖尿病、脂肪肝病史、是否吸烟、饮酒, 病理有无萎缩、肠化、VacA/CagA、*H. pylori*定植部位。根据*H. pylori*培养及药敏结果结合第五次全国幽门螺旋杆菌感染处理共识报告推荐抗生素选择方案, 选用两种敏感抗生素联合PPI及铋剂予以四联抗*H. pylori*治疗, 疗程为2 wk<sup>[3]</sup>, 治疗结束后停药1 mo复查C14呼气试验, 根据C14呼气试验结果将患者分为*H. pylori*根除组及未根除组, 比较两组特点, 将有统计学差异的因素进行Logistic回归分析, 明确独立危险因素。

**统计学处理** 采用SPSS 19.0统计软件进行统计学处理。数据符合正态分布的计量资料用mean±SD表示, 采用成组设计资料的*t*检验。计数资料则采用 $\chi^2$ 检验或Fisher确切概率法, 当 $P$ 值<0.05, 表示对比组之间的差异有统计学意义。以*H. pylori*根除为因变量, 以单因素分析差异有统计学意义的因素为自变量, 采用Logistic回归分析,  $P$ <0.05有统计学差异。

## 2 结果

**2.1 根据*H. pylori*培养结果** 共收集*H. pylori*阳性患者320例, 根据药敏结果予以四联抗*H. pylori*治疗, 治疗2 wk并停药1 mo后复查C14呼气试验, 其中263例*H. pylori*已根除, 30例仍存在*H. pylori*感染, 其中27人治疗期间未随访, 样本丢失。两组患者在年龄、性别、户籍、胃癌家族史、高血压病、糖尿病、脂肪肝、饮酒方面无明显统计学差异。而*H. pylori*根除失败组患者的C14呼气试验DMP值>400、病理提示萎缩、合并消化性溃疡以及胃体定植于胃体数高于根除成功组, 差异有统计学意义(表1)。

其中根除治疗抗生素选择见表2, 阿莫西林耐药率最低为2.4%, 其次为呋喃唑酮及四环素, 分别为5.1%及6.3%, 左氧氟沙星及克拉霉素耐药率分别为41.3%、38.9%, 而甲硝唑耐药率高达98.5%。

**2.2 多因素Logistic回归分析** 将C14呼气试验DMP值>400、病理提示萎缩、*H. pylori*定植于胃体、合并消化性溃疡纳入Logistic回归分析, 结果显示, DMP值>400以及*H. pylori*定植于胃体为独立危险因素, 详见表3。

## 3 讨论

目前经典铋剂四联治疗方案已成为临床根除*H. pylori*一线治疗方案, 我国*H. pylori*对抗生素耐药情况为克拉霉素(20%-50%)、甲硝唑(40%-70%)和左氧氟沙星(20%-50%)<sup>[2,4,5]</sup>, 且不同地区耐药情况也不尽相同。湖州地区*H. pylori*对左氧氟沙星耐药率由2009年的5.03%急剧升高至2015年的28.24%, 克拉霉素的耐药率由2009年的12.58%较快升高至2015年的21.78%, 对甲硝唑的耐药率一直接近100.00%<sup>[6]</sup>; 与此相应, *H. pylori*根除治疗效果也不甚理想。因此合理选用抗生素成为*H. pylori*根除治疗的关键。随着胃镜的普及以及人们对*H. pylori*的重视, 基于药敏结果的*H. pylori*根除治疗成为新趋势。但对大量基于药敏治疗的*H. pylori*感染患者, 仍有部分患者根除失败。通过对293例*H. pylori*感染患者进行治疗并随访过程中发现, 仍有30例患者最终根除失败。对根除失败患者进行研究统计后发现, 根除失败患者的C14呼气试验DMP值, 合并溃疡、萎缩、*H. pylori*定植于胃体数量明显高于根除成功患者, 其中, 定植于胃体以及C14 DMP值>400为根除失败独立危险因素。

研究显示, 高*H. pylori*负荷量是*H. pylori*根除治疗失败独立危险因素<sup>[7]</sup>, 高*H. pylori*负荷量可影响抗生素最低抑菌浓度, C14呼气试验作为半定量检测, 其C14呼气试验DMP值与*H. pylori*根除率密切相关。有研究发现, 呼气试验结果超基准值越高, *H. pylori*根除率越低, 且超基准值>40%是*H. pylori*根除失败的独立危险因素<sup>[8]</sup>, 与本研究结果相一致, C14呼气试验DMP值越高提示*H. pylori*负荷量越高, 因而根除效果欠佳。

*H. pylori*感染患者中约有15%-20%发生消化性溃疡<sup>[9]</sup>, 且合并消化性溃疡为*H. pylori*根除指征<sup>[10]</sup>, 萧树东等<sup>[11]</sup>的研究显示, 十二指肠溃疡*H. pylori*根除率高于消化不良组, 但周丹萍<sup>[8]</sup>等研究提示消化性溃疡是*H. pylori*根除失败独立危险因素。本研究发现, 合并消化性溃疡患者根除率低于未合并溃疡者, 但并非*H. pylori*根除失败独立危险因素。

本研究发现, 胃体有*H. pylori*定植的患者根除率明显低于胃窦定植患者, 且为独立危险因素。因幽门螺旋杆菌在胃内多呈局灶性分布, 胃体、胃窦等不同部位的幽门螺旋杆菌对所予以的抗生素敏感性存在差异, 相关动物实验发现, 定植于胃窦胃体交界区域的*H. pylori*对抗生素敏感性差, 可能会逃脱抗菌药物的作用, 最终导致治疗失败<sup>[12]</sup>。此外, 也可能与胃内不同部位pH梯度有关, 胃体pH适合幽门螺旋杆菌生长, 仍需相关实验进一步证实。

通过病理结果发现, 根除失败组患者病理多提示



表 1 幽门螺杆菌根除成功组与根除失败组患者一般情况比较

	<i>H. pylori</i> 根治成功组( <i>n</i> = 263)	<i>H. pylori</i> 根治失败组( <i>n</i> = 30)	<i>P</i> 值
分组性别(例, 男/女)	162/101	19/11	0.783
年龄(岁)	55.76 ± 15.77	60.4 ± 15.99	0.113
城市/农村	143/120	21/9	0.085
胃癌家族史	9	4	0.338
高血压病	103	8	0.911
糖尿病	41	7	0.499
脂肪肝	96	10	0.908
溃疡	68	15	0.043
饮酒	103	11	0.575
吸烟	99	12	0.548
非甾体抗炎药用药史	41	4	0.442
萎缩	66	12	0.015
肠化	53	5	0.771
C14			
200–300	131	5	0.001
300–400	79	10	
> 400	53	15	
VacA/CagA	187	21	0.078
<i>H. pylori</i> 感染部位			
胃窦	155	11	0.004
胃体	98	17	
胃窦、胃体	10	2	

*H. pylori*: 幽门螺杆菌.

表 2 基于幽门螺杆菌培养的敏感抗生素选择

	<i>H. pylori</i> 根治成功组( <i>n</i> = 263)	<i>H. pylori</i> 根治失败组( <i>n</i> = 30)
阿莫西林 + 呋喃唑酮	125	9
阿莫西林 + 多西环素	68	7
阿莫西林 + 克拉霉素	46	4
多西环素 + 呋喃唑酮	15	6
阿莫西林 + 左氧氟沙星	9	4

*H. pylori*: 幽门螺杆菌.

表 3 多因素Logistic回归分析结果

危险因素	OR值(95%CI)	<i>P</i> 值
DMP值 > 400	3.4 (1.5–10.3)	0.02
定植于胃体	3.0 (1.1–9.5)	0.04
合并胃十二指肠溃疡	0.75 (0.07–4.5)	0.82
萎缩	1.95 (0.5–7.65)	0.32

萎缩. 大量研究已证实根除*H. pylori*可避免部分患者胃黏膜萎缩和肠化, 从而可阻断“肠型胃癌演变”进程, 消除肠型胃癌风险<sup>[13]</sup>. 但本研究发现, 合并萎缩的

*H. pylori*感染患者, 根除效果较差, 考虑可能与萎缩后患者胃黏膜血管血供减少, 不利于抗生素分布有关, 但并非独立危险因素.

本研究发现, C14呼气试验DMP值>400、*H. pylori*定值于胃体、存在萎缩、合并消化性溃疡患者*H. pylori*根除效果欠佳, 其中DMP值>400, *H. pylori*定值于胃体为独立危险因素. 因此, 对于这部分患者进行*H. pylori*根除治疗时, 除需解决抗生素的耐药问题外, 仍需从患者自身、环境等多方面进行大样本研究, 进一步优化治疗方案.

## 文章亮点

### 实验背景

我国幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染率已高达50%, 抗生素是*H. pylori*根除治疗的重要部分, 而在我国存在抗生素滥用情况, 因此, 随着抗生素的滥用, 我国*H. pylori*的根除率随之下降. 因此, 基于*H. pylori*培养及药敏的抗生素选择是提高*H. pylori*根除率的重要手段, 而临床发现, 即使采用的药敏试验提示敏感的抗生素, 仍有部分患者出现根除失败的情况. 本研究旨在进一步认识这部分患者在*H. pylori*根除治疗中需格外关注的临床特点, 增加这部分患者*H. pylori*的根除率.

### 实验动机

本文对基于选用敏感抗生素进行*H. pylori*根除治疗的患者进行研究, 进一步认识根除*H. pylori*过程中, 除抗生素耐药外, 可能影响*H. pylori*根除治疗效果的因素, 旨在明确这部分患者所特有的临床特点及危险因素, 从而提高*H. pylori*的根除率, 减少根除治疗失败导致的抗生素继发耐药.

### 实验目标

本文章主要针对基于*H. pylori*培养及药敏的根除失败患者进行研究, 探讨其临床特点及危险因素, 旨在提高*H. pylori*根除率及避免根除失败导致的抗生素继发耐药情况.

### 实验方法

本研究收集我院门诊及住院经C14呼气试验及*H. pylori*培养同时证实为*H. pylori*感染患者, 严格把握纳入排除标准, 对该部分患者进行基于敏感抗生素的四联根除*H. pylori*治疗, 对该部分患者进行随访, 直至治疗结束, 且停药1 mo后复查C14呼气试验, 根据C14呼气试验结果将患者分为根除成功组与根除失败组, 明确根除失败组的临床特点, 并进一步进行多因素Logistic回归分析, 明确其危险因素.

### 实验结果

本研究发现, 基于敏感抗生素的四联抗*H. pylori*失败组患者C14呼气试验高于治疗成功组患者, 且这部分患者多合并溃疡及萎缩情况, *H. pylori*培养多定植于胃体, 而Logistic回归分析提示, C14呼气试验DMP值>400、*H. pylori*定值于胃体为根除失败独立危险因素. 有助于对*H. pylori*根除治疗疗效的评估, 且为优化根除*H. pylori*治疗方案中质子泵抑制剂(proton pump inhibitors, PPI)与铋剂剂量及选择提供参考.

### 实验结论

C14呼气试验DMP值>400、*H. pylori*定值于胃体、存在萎缩、合并消化性溃疡患者*H. pylori*根除效果欠佳, 其中DMP值>400, *H. pylori*定值于胃体为独立危险因素. 因此, 在根除*H. pylori*过程中, 除了抗生素耐药外, 仍有许多需关注的可能影响根除治疗效果的因素. 随着*H. pylori*培养及药敏的普及, 抗生素耐药问题可以得到解决, 减少了治疗失败导致的抗生素继发耐药问题. 而将来*H. pylori*根除失败的影响因素可能与基因、饮食、PPI及铋剂的剂量及选择等密切相关, 因此仍需大量研究来进一步认识根除*H. pylori*过程中的影响因素.

### 展望前景

本研究缺少*H. pylori*感染患者CYP2C19、MDR1和IL-b基因多态性、饮食习惯等方面的研究. 需基于临床, 增加样本量, 并从宏观及微观、临床及实验室相结合进行研究.

## 4 参考文献

- 1 Sugano K, Tack J, Kuipers EJ, Graham DY, El-Omar EM, Miura S, Haruma K, Asaka M, Uemura N, Malfertheiner P; faculty members of Kyoto Global Consensus Conference. Kyoto global consensus report on *Helicobacter pylori* gastritis. *Gut* 2015; 64: 1353-1367 [PMID: 26187502 DOI: 10.1136/gutjnl-2015-309252]
- 2 Zhang YX, Zhou LY, Song ZQ, Zhang JZ, He LH, Ding Y. Primary antibiotic resistance of *Helicobacter pylori* strains isolated from patients with dyspeptic symptoms in Beijing: a prospective serial study. *World J Gastroenterol* 2015; 21: 2786-2792 [PMID: 25759550 DOI: 10.3748/wjg.v21.i9.2786]
- 3 Liu WZ, Xie Y, Lu H, Cheng H, Zeng ZR, Zhou LY, Chen Y, Wang JB, Du YQ, Lu NH; Chinese Society of Gastroenterology, Chinese Study Group on *Helicobacter pylori* and Peptic Ulcer. Fifth Chinese National Consensus Report on the management of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter* 2018; 23: e12475 [PMID: 29512258 DOI: 10.1111/hel.12475]
- 4 Su P, Li Y, Li H, Zhang J, Lin L, Wang Q, Guo F, Ji Z, Mao J, Tang W, Shi Z, Shao W, Mao J, Zhu X, Zhang X, Tong Y, Tu H, Jiang M, Wang Z, Jin F, Yang N, Zhang J. Antibiotic resistance of *Helicobacter pylori* isolated in the Southeast Coastal Region of China. *Helicobacter* 2013; 18: 274-279 [PMID: 23418857 DOI: 10.1111/hel.12175]

- 10.1111/hel.12046]
- 5 Bai P, Zhou LY, Xiao XM, Luo Y, Ding Y. Susceptibility of *Helicobacter pylori* to antibiotics in Chinese patients. *J Dig Dis* 2015; 16: 464-470 [PMID: 26147515 DOI: 10.1111/1751-2980.12271]
- 6 刘江, 吴巍, 顾掌生, 施杰民, 蒋海根, 刘春燕, 张军, 何卫美, 董梁, 吴国栋, 周尾梅. 湖州地区消化系统疾病幽门螺杆菌耐药情况及根除疗效分析. *中华消化杂志* 2017; 37: 801-805 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-1432.2017.12.003]
- 7 Maconi G, Parente F, Russo A, Vago L, Imbesi V, Bianchi Porro G. Do some patients with *Helicobacter pylori* infection benefit from an extension to 2 weeks of a proton pump inhibitor-based triple eradication therapy? *Am J Gastroenterol* 2001; 96: 359-366 [PMID: 11232676 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2001.03519.x]
- 8 周丹萍, 宋函忆, 李岩. 幽门螺杆菌根除率的影响因素. *中华消化杂志* 2017; 37: 194-196 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-1432.2017.03.014]
- 9 Sipponen P. Natural history of gastritis and its relationship to peptic ulcer disease. *Digestion* 1992; 51 Suppl 1: 70-75 [PMID: 1397747 DOI: 10.1159/000200919]
- 10 中华医学会消化病学分会幽门螺杆菌和消化性溃疡学组 全国幽门螺杆菌研究协作组, 刘文忠, 谢勇, 陆红, 成虹, 曾志荣, 周丽雅, 陈烨, 王江滨, 杜奕奇, 吕农华. 第五次全国幽门螺杆菌感染处理共识报告. *中华内科杂志* 2017; 37: 532-545 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-1432.2017.06.002]
- 11 萧树东, 刘文忠, 胡品津, 欧阳钦, 王家, 周丽雅, 程能能. 全国幽门螺杆菌协作组. 短程三联疗法根除幽门螺杆菌的多中心临床研究. *胃肠病学* 2000; 5: 14-18 [DOI: 10.3969/j.issn.1008-7125.2000.01.004]
- 12 刘卫东, 美丽克扎提, 惠文佳, 郭沁, 高峰. 不同类型幽门螺杆菌感染与萎缩性胃炎进展的关系. *中华消化杂志* 2018; 38: 222-225 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-1432.2018.04.003]
- 13 Ford AC, Forman D, Hunt RH, Yuan Y, Moayyedi P. *Helicobacter pylori* eradication therapy to prevent gastric cancer in healthy asymptomatic infected individuals: systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *BMJ* 2014; 348: g3174 [PMID: 24846275 DOI: 10.1136/bmj.g3174]

编辑: 崔丽君 电编: 张砚梁



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 © 2019 Baishideng Publishing Group Inc.  
All rights reserved.

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》消化护理学领域征稿启事

**本刊讯** 为了促进消化护理学领域的事业发展,《世界华人消化杂志》已成立消化护理学编辑委员会. 将主要报道消化护理学的基础研究, 临床研究, 临床护理实践和护理管理等原始和综述性文章.

《世界华人消化杂志》成立消化护理学编辑委员会, 由周谊霞副教授([http://www.wjgnet.com/1009-3079/edboard\\_706.htm](http://www.wjgnet.com/1009-3079/edboard_706.htm))等77位专家组成, 分布在24个省市. 其中上海市11位, 陕西省8位, 山东省7位, 黑龙江省7位, 辽宁省6位, 北京市5位, 广东省5位, 河北省3位, 贵州省3位, 湖北省2位, 浙江省2位, 四川省2位, 福建省2位, 江苏省2位, 云南省2位, 新疆维吾尔自治区2位, 甘肃省1位, 海南省1位, 江西省1位, 山西省1位, 天津市1位, 安徽省1位, 河南省1位和吉林省1位. 均来自高等院校和附属医院, 其中主任护师16位, 教授1位, 副主任护师49位, 副教授4位, 主管护师7位.

《世界华人消化杂志》是一本高质量的同行评议, 开放获取和在线出版的一份学术刊物. 我们真心欢迎消化内科, 消化外科等领域从事护理学工作者积极宣传和踊跃投稿至《世界华人消化杂志》. 请在线投稿, 网址见: <https://www.baishideng.com>

《世界华人消化杂志》2014年收到自由投稿和约稿2192篇. 出版手稿937篇(42.7%), 退稿1220篇(55.7%). 邀请476位编委参与同行评议.

《世界华人消化杂志》被国际检索系统《化学文摘(Chemical Abstracts, CA)》、《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》、《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》、Scopus、中国知网《中国期刊全文数据库(CNKI)》、《中文科技期刊数据库(CSTJ)》和《超星期刊域出版平台(Superstar Journals Database)》数据库收录.

《世界华人消化杂志》由百世登出版集团有限公司(Baishideng Publishing Group, BPG)编辑和出版. BPG主要从事43种国际性生物医学刊物的编辑和出版工作, 包括旗舰刊物《世界胃肠病学杂志(*World Journal of Gastroenterology, WJG*)》.

## 细胞外囊泡在肝纤维化诊治中的研究进展

赵佳伟, 王玉刚, 施敏

赵佳伟, 江苏大学医学院 江苏省镇江市 212000

赵佳伟, 王玉刚, 施敏, 上海交通大学医学院附属同仁医院消化内科  
上海市 213300

赵佳伟, 硕士研究生, 主要从事肝纤维化和急性肝衰竭的研究。

基金项目: 国家自然科学基金面上项目, Nos. 81472242, 81570549.

作者贡献分布: 本文综述由赵佳伟完成; 王玉刚与施敏审校。

通讯作者: 施敏, 副主任医师, 213300, 上海市长宁区仙霞路1111号, 上海交通大学医学院附属同仁医院消化内科。  
sm1790@shtrhospital.com

收稿日期: 2018-10-17

修回日期: 2018-11-26

接受日期: 2018-12-30

在线出版日期: 2019-04-28

### Role of extracellular vesicles in diagnosis and treatment of liver fibrosis

Jia-Wei Zhao, Yu-Gang Wang, Min Shi

Jia-Wei Zhao, School of Medicine, Jiangsu University, Zhenjiang  
212000, Jiangsu Province, China

Jia-Wei Zhao, Yu-Gang Wang, Min Shi, Department of  
Gastroenterology, Shanghai Tongren Hospital, Shanghai Jiao Tong  
University School of Medicine, Shanghai 213300, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No.  
81472242 and No. 81570549.

Corresponding author: Min Shi, Associate Chief Physician,  
Department of Gastroenterology, Shanghai Tongren Hospital, Shanghai  
Jiao Tong University School of Medicine, 1111 Xianxia Road,  
Changning District, Shanghai 213300,  
China. sm1790@shtrhospital.com

Received: 2018-10-17

Revised: 2018-11-26

Accepted: 2018-12-30

Published online: 2019-04-28

### Abstract

Extracellular vesicles (EVs) mediate the intercellular communication of substances and are involved in the development of liver fibrosis. The vesicles secreted by hepatic stellate cells (HSCs) and hepatic parenchymal cells carry microRNAs to activate adjacent HSCs and up-regulate TGF- $\beta$  signaling pathway. This results in increased expression of connective tissue growth factor, which eventually leads to the expression of  $\alpha$ -smooth muscle actin and collagen, thereby mediating liver fibrosis. On the other hand, EVs secreted by healthy population and mesenchymal stem cells play a therapeutic role in liver fibrosis. This article reviews the structure, origin, and function of EVs as well as their role in the occurrence, development, diagnosis, and treatment of liver fibrosis.

© The Author(s) 2019. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Extracellular vesicle; Liver fibrosis; MicroRNA; Hepatic stellate cells

Zhao JW, Wang YG, Shi M. Role of extracellular vesicles in diagnosis and treatment of liver fibrosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(8): 515-520

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i8/515.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v27.i8.515>

### 摘要

细胞外囊泡(extracellular vesicles, EVs)介导细胞间的物质信号交流参与肝纤维化的发生发展, 肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSCs)和肝实质细胞分泌的EVs携带microRNA能激活邻近的HSCs, 上调TGF- $\beta$ 信号通路, 导致结缔组织生长因子表达增加, 最终导致 $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白和胶原蛋白分泌增加, 从而介导肝纤维化。另一方面, 健康群体和间充质干细胞分



泌的EVs对于肝纤维化起到一定的治疗作用. 本文就EVs的结构、来源、功能及介导肝纤维化的发生发展与诊治的机制作一综述.

© The Author(s) 2019. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 细胞外囊泡; 肝纤维化; MicroRNA; 肝星状细胞

**核心提要:** 本文简要概述了细胞外囊泡的结构、来源和功能, 着重阐述了细胞外囊泡促进肝纤维化发生发展的机制和细胞外囊泡在肝纤维化中的诊断和治疗价值, 并提出了对未来进一步研究的展望.

赵佳伟, 王玉刚, 施敏. 细胞外囊泡在肝纤维化诊治中的研究进展. 世界华人消化杂志 2019; 27(8): 515-520

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i8/515.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i8.515>

## 0 引言

细胞外囊泡(extracellular vesicles, EVs)是来源于细胞内多囊泡体的纳米级囊泡, 能够携带核酸、蛋白质等物质, 参与细胞间的信息交流. 自发现以来, EVs已被证实多种生理病理过程中发挥重要作用<sup>[1-4]</sup>. {van Niel, 2018 #52; Tkach, 2016 #49}肝纤维化是一个动态的过程, 其特征是细胞外基质(extracellular matrix, ECM)或瘢痕的堆积, 是由多种病因导致的慢性肝损伤引起的, 包括慢性病毒感染、酒精性肝病, 非酒精性脂肪肝的进展形式. 其中肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSCs)的激活是肝纤维化的主要原因, HSCs受到多种刺激后被激活, 分泌大量ECM<sup>[5-8]</sup>. EVs包含有多种活性物质, 包括蛋白质、脂质、mRNA和microRNA等, 可以调节受体细胞内的信号通路, 其中之一发挥主要作用的是其携带的microRNA, microRNA是由基因编码的长度约22-23 nt的单链RNA分子, 参与基因的转录后表达调控, 通过与靶基因mRNA的3'非翻译区(un-translated region, UTR)相互作用来调节基因表达<sup>[9-12]</sup>. EVs内携带的microRNA能够对肝纤维化的发生发展起到了重要的调节作用, 但是具体的作用机制还不明了<sup>[13-16]</sup>. 本文综述了EVs对于肝纤维化的主要研究进展其在肝纤维化发生诊治中的作用.

## 1 细胞外囊泡的结构、来源及功能

EVs是膜性纳米级囊泡, 由跨膜蛋白和包围胞浆蛋白和RNA的脂质双层组成, 直径为100-1000 nm, EVs可以从细胞质膜中以萌芽方式形成并释放出来<sup>[17]</sup>. 通过透射电镜观察EVs通常表现为茶托型或一侧凹陷的半球形, Western blot检测EVs中的相关蛋白, 可以发现EVs多表

达CD9、C63、Tsg101和Alix等蛋白. EVs的生物合成过程起始于多囊泡体的内陷形成管腔内囊泡, 接着多囊泡体和质膜融合, 将管腔内囊泡释放到ECM, 这些被释放到细胞外基质的囊泡就被称为EVs. Rab家族蛋白能够调控EVs的分泌, 沉默Rab27a或者Rab27b会抑制多囊泡体与质膜的连接位点<sup>[18]</sup>.

科学家最初是在绵羊网织红细胞的成熟过程中发现了EVs, EVs从细胞中被分泌被认为可能与细胞膜功能丧失有关<sup>[19]</sup>. 多年后, 人们发现EVs是用于排泄细胞内代谢废物和细胞表面的废弃蛋白<sup>[20]</sup>. 之后的几年, EVs被发现具有抗原提呈功能, 参与机体的免疫反应. 近几年来, 有研究表明, EVs可以由多种不同的细胞分泌, 依据其不同的来源, EVs在不同的生理过程中发挥作用. 人类和小鼠的B淋巴细胞都能够分泌EVs, 释放MHC-II类分子诱导T细胞的反应; 树突状细胞也能够分泌EVs, 它们分泌的EVs含有MHC-I和MHC-II类分子, 能够抑制小鼠肿瘤细胞的生长<sup>[21]</sup>; 间质干细胞分泌的EVs能够减少心肌细胞缺血再灌注损伤<sup>[22]</sup>; 人肝干细胞来源的EVs能够预防肾纤维化<sup>[23]</sup>; 除此之外, EVs还在大多数体液如血液、尿液和腹水中发现<sup>[24]</sup>.

较为重要的是有研究表明EVs含有RNA, 包括mRNA和microRNA等核酸内容物, 并且这些核酸内容物可以被转运到其他细胞中, 起到遗传物质交换的作用. 现在, EVs的细胞间信号交流作用越发受到人们的注意, 总之, EVs对于临床疾病的诊治有着巨大的潜力, 为疾病的诊疗提供了新的方向.

## 2 细胞外囊泡促进肝纤维化的发展

肝纤维化的发生发展受到多因素的影响, 细胞内蛋白和核酸信号调节着以TGF- $\beta$ 为主的与肝纤维化相关的信号通路. 细胞分泌的EVs所携带的蛋白核酸分子对肝纤维化的发展起着重要的作用. 肝脏损伤后, HSCs会被激活变为肌纤维母细胞, 分泌更多的促纤维化的物质如 $\alpha$ -SMA和胶原蛋白, 它们分别通过促进伤口收缩和提供ECM来促进修复. 在慢性损伤期间, 胶原纤维不断地沉积, 损害正常的肝功能. 减少基质产生或干预HSCs降解基质有望成为抗纤维化策略<sup>[25]</sup>.

HSCs分泌的EVs携带有结缔组织生长因子(connective tissue growth factor, CTGF/CCN2)蛋白或者CCN2的mRNA. 研究人员发现在激活态的或者是转染了CCN2-GFP基因的HSCs中CCN2或CCN2 mRNA的含量或升高. 在用染料标记或GFP示踪条件下, 研究人员能够看到这些由HSCs分泌的EVs能够被激活态和静止状态下的HSCs内吞, 导致ECM分泌增多, 继而加速慢性肝病中的纤维化过程. 从而能看出EVs内含有的信号物

质成为了肝纤维化发病的成因之一<sup>[26]</sup>. microRNA是由基因编码的长度约22-23 nt的单链RNA分子, 参与基因的转录后表达调控, 对肝纤维化有着重要的调节作用. EVs中的microRNA依据其种类的不同对肝纤维化有不同的作用. 一部分microRNA能够抑制纤维化的发展, 例如, 在非损伤肝脏或静止状态下的HSCs中可以检测到高水平的microRNA-214, 而在纤维化的肝脏或是激活状态的HSCs中microRNA-214的水平大大降低. 通过诱导肝星形细胞中CCN2的表达, 发现促进纤维化的原因是由于microRNA-214表达的减少, 而microRNA-214能够与CCN2的mRNA的3'UTR结合抑制CCN2及其下游蛋白的表达, microRNA-214表达的下降会促进肝纤维化的进展. 重要的是, microRNA-214存在于肝星形细胞的EVs中, 它可以通过EVs的分泌被运输到邻近的其他HSCs中, 进而调节CCN2相关的纤维化信号通路<sup>[27]</sup>. 深层次地, 研究人员发现microRNA-214是dynamin 3相反链(DNM3os)的产物, 它可以直接抑制CCN2 mRNA的表达. 更进一步地研究表明转录因子Twist1通过促进microRNA-214的转录进而抑制CCN2的表达. Twist1在纤维化肝脏中的HSCs或体外激活状态下的HSCs中的表达均受到抑制. 未激活状态的HSCs分泌的EVs含有高水平的Twist1. EVs中Twist1在邻近的HSCs之间穿梭, 抑制受体细胞microRNA-214的转录、CCN2及其下游效应因子的表达. 此外, HSCs中的microRNA-214也受到肝细胞来源的EVs的调节, 表明EVs Twist1的转移可以发生在不同类型的细胞之间. 最后, 来自肝纤维化小鼠的EVs中Twist1、microRNA-214或CCN2的水平反映了肝纤维化的水平, 突出了这些成分作为新的肝纤维化生物标志物的潜在用途<sup>[28]</sup>.

丙肝病毒(hepatitis C virus, HCV)感染的肝实质细胞能够分泌含有microRNA-19a的EVs, 这些囊泡能被邻近的肝星形细胞内吞激活HSCs, microRNA-19a靶向作用于HSCs中的SOCS-STAT3信号通路, 激活TGF- $\beta$ 信号通路, 增加促纤维化基因的表达. 并且研究人员发现HCV感染的肝纤维化患者血清中的microRNA-19a水平高于健康人群或非HCV感染的肝病患者血清中的水平<sup>[29]</sup>. 在肝损伤中, EVs介导TLR3活化, 继而增强 $\gamma\delta$  T细胞产生IL-17A而加重肝纤维化. 研究人员发现由CCl<sub>4</sub>诱导的早期肝纤维化小鼠相较于TLR3敲除的小鼠, 能够分泌更高水平的白细胞介素17(IL-17). 在体外实验中同样发现, 用CCl<sub>4</sub>处理后的肝细胞分泌的EVs作用于HSCs, IL-17A、IL-1B和IL-23的表达都上升了, 但是这一现象在TLR3敲除的HSCs中却没有出现. 因此, TLR3可能是一个新的用于治疗肝纤维化靶点<sup>[30]</sup>. 棕榈酸(PA, palmitic acid)处理能增强了肝细胞EVs的产生, 并改变了

它们的外显子microRNA谱, 当HSCs与来自PA处理的肝细胞EVs培养时, 与来自对照组处理的肝细胞的EVs相比, PA处理组的纤维化发展有关的基因显著增加. 在从单纯性脂肪变性到非酒精性脂肪性肝炎的过程中, EVs可能在肝细胞和HSCs之间的联系起到重要的作用<sup>[31]</sup>. 有研究人员发现血小板衍生生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF)受体 $\alpha$ (PDGFR $\alpha$ )以SHP2依赖的方式富集于PDGF-BB处理的HSCs来源的EVs中, 并且这些PDGFR $\alpha$ 富集的EVs参与肝纤维化的发展. 与健康人相比, 肝纤维化患者血清EVs的PDGFR $\alpha$ 水平升高. 来源于PDGFR $\alpha$ 过表达细胞的EVs促进了体外HSCs迁移和体内肝纤维化. 最后, 对四氯化碳给药的小鼠给予SHP2抑制剂SHP099可抑制血清EVs中PDGFR $\alpha$ 的富集并减少肝纤维化<sup>[32]</sup>.

总的来说, 以肝细胞和HSCs为主多种细胞分泌的EVs, 能够促进HSCs细胞间的信息交流, 激活HSCs分泌ECM等促进肝纤维化的相关蛋白, 引起或加重胶原的成绩, 加重肝纤维化.

### 3 细胞外囊泡在肝纤维化诊断中的作用

基于EVs与肝纤维化之间种种关系的发现, 研究人员认为EVs可以用于肝纤维化的无创性诊断. 相较于肝脏活检或是影像学检查, 利用EVs的液体活检能够减少对病人的创伤并提高准确性.

有研究人员进行了一项病例对照研究, 发现血清中可溶性的CD81与慢性HCV感染的病人血清炎症水平和肝脏纤维化程度相关. 慢性丙肝患者血清可溶性CD81水平明显高于健康组和治愈患者组<sup>[33]</sup>. 还有研究人员将轻度丙型肝炎患者和健康对照组相比, 丙型肝炎患者的血液中T细胞EVs含量升高. 利用质谱、荧光激活细胞分类分析和功能阻断抗体等技术显示出CD147/Emmprin作为CD81 T细胞EVs激活HSCs的候选跨膜分子. 因此, 循环T细胞EVs是肝纤维化新的诊断标志物<sup>[34]</sup>. 慢性乙型和HCV感染与HSCs向的激活有关, 为了降低诊断带来的创伤, 提高诊断的特异性, 研究人员通过收集早期肝纤维化患者的血样本, 构建了肝纤维化病人与活化的小鼠原代HSCs的microRNA表达谱, 发现纤维化患者EVs中microRNA的表达与肝纤维化的病程相关, 这些microRNAs可以用作肝纤维化早期阶段的标志物<sup>[35]</sup>. 除了血液之外, 也有研究人员想要从尿液中的EVs中找到具有差异性的蛋白质来对肝脏疾病作出无创性的诊断. 他们从D-半乳糖胺处理的大鼠的尿样中提取到了细胞外的囊泡, 并进行了蛋白质组学的分析, 鉴定出28种以前未报道于这些囊泡的蛋白质. 最后研究人员提出了一些蛋白质, 如Cd26、Cd81、Slc3A1和Cd10, 这些蛋白



质被发现在尿液囊泡中有不同于某些分析模型的表达, 作为肝损伤的潜在生物标志物<sup>[36]</sup>。

利用血液或尿液中的EVs进行肝纤维化的无创性诊断具有较高的安全性和特异性, 因此EVs在肝纤维化的诊断中起到了重要的作用。

#### 4 细胞外囊泡在肝纤维化治疗中的作用

在肝纤维化的治疗方面, 研究发现EVs有较好的治疗潜力。随着间充质干细胞(embryonic stem cells-derived mesenchymal stem cell, ES-MSC)治疗的不断发展, 其分泌的EVs也受到了研究人员极大的关注。利用ES-MSC的EVs对肝纤维化小鼠或大鼠模型治疗也起到了与干细胞治疗相似的作用。

人脐带间质干细胞(human umbilical cord mesenchymal stem cell-Exosome, hucMSC-Ex)来源的EVs移植入纤维化肝脏中, 可以恢复肝功能, 改善肝纤维化。与对照组相比, hucMSC-Ex产生的EVs处理过后, 肝脏质地变得柔软, I型和III型胶原水平大幅度下降, 降低了血清天冬氨酸转氨酶的水平, 同时血清TGF- $\beta$ 1的水平也显著下降。在体外实验中研究人员发现, 在脐带间质干细胞EVs处理过后, 细胞内与上皮间质转化(epithelial to mesenchymal transition, EMT)相关的蛋白E-cadherin阳性细胞增加, N-cadherin和vimentin阳性细胞减少, 更有甚者, 脐带间质干细胞能够逆转由人重组TGF- $\beta$ 1造成上皮间质转化相关标志物的表达<sup>[37]</sup>。另一项研究表明绒毛膜CP-MSCs能够在CC14引起大鼠肝纤维化模型中取得很好的疗效, 进一步研究发现, CP-MSCs分泌的EVs携带microRNA-125b, 能够抑制Hh(hedgehog, Hh)信号通路, 从而减轻肝纤维化, 促进肝脏的再生<sup>[38]</sup>。同样的, 脂肪间充质干细胞(adipose-derived mesenchymal stem cells, ADSC)分泌的EVs可以被利用来向HSCs递送microRNAs。ADSC被工程化以过表达microRNA-181-5p, 体外分析证实, microRNA-181-5p ADSC通过分泌EVs来实现microRNA-181-5p的转移, 携带有microRNA-181-5p的EVs能够被运输到大鼠的HSCs, 被该细胞内吞, 接着microRNA-181-5p能够下调Stat3和Bcl-2的信号通路, 并且激活HST-T6细胞的自噬, 继而减少肝星形细胞产生的I型胶原、纤连蛋白、波形蛋白、 $\alpha$ -SMA等致纤维化物质的产生, 减轻肝脏的纤维化。此外, 在TGF- $\beta$ 1诱导的HST-T6细胞中, 加入microRNA-181-5p-ADSC的EVs后, 与对照组相比, 抑制了纤维化基因的表达<sup>[39]</sup>。人胚胎干细胞来源的ES-MSC来源的EVs在硫代乙酰胺(thioacetamide, TAA)诱导的大鼠慢性肝损伤中显示出与亲代细胞相当的免疫调节活性和并能改善肝硬化。基因表达分析还显示, 胶原酶、抗凋亡基因和抗炎细胞因子

表达上调, 主要纤维化因子、促凋亡基因和促炎细胞因子表达下调。因此, ES-MSC EVs可以调节TAA损伤小鼠模型中的促炎和抗炎细胞因子<sup>[40]</sup>。

microR-199a-5p可以抑制野生型小鼠CCN2基因3'端UTR而抑制CCN2的表达, microR-199a-5p主要表达于静止的小鼠HSCs中, 肝纤维化小鼠肝脏或活化的小鼠原代HSCs中CCN2表达上调与microRNA-199a-5p下调有关, 将静止状态下小鼠肝星形细胞中含有microRNA-199a-5p的EVs输送到激活状态下的小鼠肝星形细胞中, 发现CCN2 3'端UTR的活动受到了抑制, 减少了 $\alpha$ -SMA或胶原蛋白的产生。因此, 通过microRNA-199a-5p抑制CCN2可以部分解释静止HSCs中低水平的纤维原性基因表达, 并且在激活HSCs中导致抑制性基因表达。这为肝纤维化的治疗提供了潜在的靶点<sup>[41]</sup>。在小鼠中, microRNA-34c、-151-3p、-483-5p、-532-5p和-687在正常小鼠中的EVs中的表达比肝纤维化小鼠中的EVs高, microRNA的模拟物能够抑制活化了的HSCs中的纤维基因表达。同样, 健康人血清EVs减轻了HSCs的激活表型, 健康人群血清中分离的EVs中的microR-34c、-151-3p、-483-5p或-532-5p均高于肝纤维化患者EVs中的。因此, 来自正常健康个体的血清EVs天生具有抗纤维发生和抗纤维化的特性, 并且含有对活化的HSCs或损伤的肝细胞具有治疗作用的microRNAs<sup>[16]</sup>。

利用EVs治疗肝纤维化的研究主要围绕ES-MSC展开, EVs拥有与其来源细胞相似的功能, ES-MSC来源的EVs能够对纤维化的肝脏起到修复作用, 从而减轻肝纤维化。

#### 5 结论

EVs对肝纤维化的发生发展和诊治可能具有重要的意义。EVs是由细胞分泌的纳米级囊泡, 其内部包含了多种活性物质, 包括蛋白质、脂质、mRNA和microRNA等。EVs通过与靶细胞的融合介导细胞间的相互交流, 并调控受体细胞内的信号通路, 改变细胞的表型与功能。研究人员期望基于此开发出无创诊断方法, 不论是局部组织还是循环血液中囊泡表面标志蛋白的表达量, 或是囊泡内包含microRNA的定量, 都有望成为肝纤维化诊断新标志物。更进一步地, 研究人员能够利用这些特异性的标志物设计出靶向药物, 从而对肝纤维化进行更加精准化的治疗与预防。

然而, 以上所讨论的种种可能还存在着一些挑战, 我们需要更好地理解EVs发挥作用的分子机制。其中一个重要的挑战, 是需要开发体内控制囊泡分泌的技术, 以此来规避致病囊泡的产生, 增加具有治疗作用的囊泡的分泌。另一个主要的挑战是需要我们理解EVs的生理

功能, 精确地确定在体内细胞分泌的囊泡是如何与什么类型的细胞优先相互作用。但不管怎样, 我们越来越多地了解囊泡与肝脏细胞和组织相互作用的机制, 以及它们在各种条件下作为肝纤维化治疗的潜在用途, 为未来的研究提供了令人兴奋的线索。

## 6 参考文献

- 1 Tkach M, Théry C. Communication by Extracellular Vesicles: Where We Are and Where We Need to Go. *Cell* 2016; 164: 1226-1232 [PMID: 26967288 DOI: 10.1016/j.cell.2016.01.043]
- 2 Colao IL, Corteling R, Bracewell D, Wall I. Manufacturing Exosomes: A Promising Therapeutic Platform. *Trends Mol Med* 2018; 24: 242-256 [PMID: 29449149 DOI: 10.1016/j.molmed.2018.01.006]
- 3 Shao H, Im H, Castro CM, Breakefield X, Weissleder R, Lee H. New Technologies for Analysis of Extracellular Vesicles. *Chem Rev* 2018; 118: 1917-1950 [PMID: 29384376 DOI: 10.1021/acs.chemrev.7b00534]
- 4 van Niel G, D'Angelo G, Raposo G. Shedding light on the cell biology of extracellular vesicles. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2018; 19: 213-228 [PMID: 29339798 DOI: 10.1038/nrm.2017.125]
- 5 Ma PF, Gao CC, Yi J, Zhao JL, Liang SQ, Zhao Y, Ye YC, Bai J, Zheng QJ, Dou KF, Han H, Qin HY. Cytotherapy with M1-polarized macrophages ameliorates liver fibrosis by modulating immune microenvironment in mice. *J Hepatol* 2017; 67: 770-779 [PMID: 28596109 DOI: 10.1016/j.jhep.2017.05.022]
- 6 Zhang K, Han X, Zhang Z, Zheng L, Hu Z, Yao Q, Cui H, Shu G, Si M, Li C, Shi Z, Chen T, Han Y, Chang Y, Yao Z, Han T, Hong W. The liver-enriched lnc-LFAR1 promotes liver fibrosis by activating TGF $\beta$  and Notch pathways. *Nat Commun* 2017; 8: 144 [PMID: 28747678 DOI: 10.1038/s41467-017-00204-4]
- 7 Tsuchida T, Friedman SL. Mechanisms of hepatic stellate cell activation. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2017; 14: 397-411 [PMID: 28487545 DOI: 10.1038/nrgastro.2017.38]
- 8 Hyun J, Wang S, Kim J, Rao KM, Park SY, Chung I, Ha CS, Kim SW, Yun YH, Jung Y. MicroRNA-378 limits activation of hepatic stellate cells and liver fibrosis by suppressing Gli3 expression. *Nat Commun* 2016; 7: 10993 [PMID: 27001906 DOI: 10.1038/ncomms10993]
- 9 Ogawa T, Enomoto M, Fujii H, Sekiya Y, Yoshizato K, Ikeda K, Kawada N. MicroRNA-221/222 upregulation indicates the activation of stellate cells and the progression of liver fibrosis. *Gut* 2012; 61: 1600-1609 [PMID: 22267590 DOI: 10.1136/gutjnl-2011-300717]
- 10 Noetel A, Kwiecinski M, Elfimova N, Huang J, Odenthal M. microRNA are Central Players in Anti- and Profibrotic Gene Regulation during Liver Fibrosis. *Front Physiol* 2012; 3: 49 [PMID: 22457651 DOI: 10.3389/fphys.2012.00049]
- 11 Griffiths-Jones S. The microRNA Registry. *Nucleic Acids Res* 2004; 32: D109-D111 [PMID: 14681370 DOI: 10.1093/nar/gkh023]
- 12 Bartel DP. MicroRNAs: target recognition and regulatory functions. *Cell* 2009; 136: 215-233 [PMID: 19167326 DOI: 10.1016/j.cell.2009.01.002]
- 13 Borrelli DA, Yankson K, Shukla N, Vilanilam G, Ticer T, Wolfram J. Extracellular vesicle therapeutics for liver disease. *J Control Release* 2018; 273: 86-98 [PMID: 29373816 DOI: 10.1016/j.jconrel.2018.01.022]
- 14 Szabo G, Momen-Heravi F. Extracellular vesicles in liver disease and potential as biomarkers and therapeutic targets. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2017; 14: 455-466 [PMID: 28634412 DOI: 10.1038/nrgastro.2017.71]
- 15 Royo F, Falcon-Perez JM. Liver extracellular vesicles in health and disease. *J Extracell Vesicles* 2012; 1: [PMID: 24009882 DOI: 10.3402/jev.v1i0.18825]
- 16 Chen L, Chen R, Kemper S, Cong M, You H, Brigstock DR. Therapeutic effects of serum extracellular vesicles in liver fibrosis. *J Extracell Vesicles* 2018; 7: 1461505 [PMID: 29696080 DOI: 10.1080/20013078.2018.1461505]
- 17 Théry C, Ostrowski M, Segura E. Membrane vesicles as conveyors of immune responses. *Nat Rev Immunol* 2009; 9: 581-593 [PMID: 19498381 DOI: 10.1038/nri2567]
- 18 Ostrowski M, Carmo NB, Krumeich S, Fangel I, Raposo G, Savina A, Moita CF, Schauer K, Hume AN, Freitas RP, Goud B, Benaroch P, Hacohen N, Fukuda M, Desnos C, Seabra MC, Darchen F, Amigorena S, Moita LF, Thery C. Rab27a and Rab27b control different steps of the exosome secretion pathway. *Nat Cell Biol* 2010; 12: 19-30 [PMID: 19966785 DOI: 10.1038/ncb2000]
- 19 Johnstone RM, Adam M, Hammond JR, Orr L, Turbide C. Vesicle formation during reticulocyte maturation. Association of plasma membrane activities with released vesicles (exosomes). *J Biol Chem* 1987; 262: 9412-9420 [PMID: 3597417]
- 20 Johnstone RM, Mathew A, Mason AB, Teng K. Exosome formation during maturation of mammalian and avian reticulocytes: evidence that exosome release is a major route for externalization of obsolete membrane proteins. *J Cell Physiol* 1991; 147: 27-36 [PMID: 2037622 DOI: 10.1002/jcp.1041470105]
- 21 Zitvogel L, Regnault A, Lozier A, Wolfers J, Flament C, Tenza D, Ricciardi-Castagnoli P, Raposo G, Amigorena S. Eradication of established murine tumors using a novel cell-free vaccine: dendritic cell-derived exosomes. *Nat Med* 1998; 4: 594-600 [PMID: 9585234]
- 22 Lai RC, Arslan F, Lee MM, Sze NS, Choo A, Chen TS, Salto-Tellez M, Timmers L, Lee CN, El Oakley RM, Pasterkamp G, de Kleijn DP, Lim SK. Exosome secreted by MSC reduces myocardial ischemia/reperfusion injury. *Stem Cell Res* 2010; 4: 214-222 [PMID: 20138817 DOI: 10.1016/j.scr.2009.12.003]
- 23 Kholia S, Herrera Sanchez MB, Cedrino M, Papadimitriou E, Tapparo M, Deregibus MC, Brizzi MF, Tetta C, Camussi G. Human Liver Stem Cell-Derived Extracellular Vesicles Prevent Aristolochic Acid-Induced Kidney Fibrosis. *Front Immunol* 2018; 9: 1639 [PMID: 30072992 DOI: 10.3389/fimmu.2018.01639]
- 24 Pisitkun T, Shen RF, Knepper MA. Identification and proteomic profiling of exosomes in human urine. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101: 13368-13373 [PMID: 15326289 DOI: 10.1073/pnas.0403453101]
- 25 Charrier A, Chen R, Chen L, Kemper S, Hattori T, Takigawa M, Brigstock DR. Exosomes mediate intercellular transfer of pro-fibrogenic connective tissue growth factor (CCN2) between hepatic stellate cells, the principal fibrotic cells in the liver. *Surgery* 2014; 156: 548-555 [PMID: 24882759 DOI: 10.1016/j.surg.2014.04.014]
- 26 Chen L, Charrier A, Zhou Y, Chen R, Yu B, Agarwal K, Tsukamoto H, Lee LJ, Paulaitis ME, Brigstock DR. Epigenetic regulation of connective tissue growth factor by MicroRNA-214 delivery in exosomes from mouse or human hepatic stellate cells. *Hepatology* 2014; 59: 1118-1129 [PMID: 24122827 DOI: 10.1002/hep.26768]
- 27 Chen L, Brigstock DR. Cellular or Exosomal microRNAs Associated with CCN Gene Expression in Liver Fibrosis. *Methods Mol Biol* 2017; 1489: 465-480 [PMID: 27734397 DOI: 10.1007/978-1-4939-6430-7\_38]
- 28 Chen L, Chen R, Kemper S, Charrier A, Brigstock DR. Suppression of fibrogenic signaling in hepatic stellate cells by Twist1-dependent microRNA-214 expression: Role of exosomes in horizontal transfer of Twist1. *Am J Physiol*



- Gastrointest Liver Physiol* 2015; 309: G491-G499 [PMID: 26229009 DOI: 10.1152/ajpgi.00140.2015]
- 29 Devhare PB, Sasaki R, Shrivastava S, Di Bisceglie AM, Ray R, Ray RB. Exosome-Mediated Interacellular Communication between Hepatitis C Virus-Infected Hepatocytes and Hepatic Stellate Cells. *J Virol* 2017; 91 [PMID: 28077652 DOI: 10.1128/JVI.02225-16]
  - 30 Seo W, Eun HS, Kim SY, Yi HS, Lee YS, Park SH, Jang MJ, Jo E, Kim SC, Han YM, Park KG, Jeong WI. Exosome-mediated activation of toll-like receptor 3 in stellate cells stimulates interleukin-17 production by  $\gamma\delta$  T cells in liver fibrosis. *Hepatology* 2016; 64: 616-631 [PMID: 27178735 DOI: 10.1002/hep.28644]
  - 31 Lee YS, Kim SY, Ko E, Lee JH, Yi HS, Yoo YJ, Je J, Suh SJ, Jung YK, Kim JH, Seo YS, Yim HJ, Jeong WI, Yeon JE, Um SH, Byun KS. Exosomes derived from palmitic acid-treated hepatocytes induce fibrotic activation of hepatic stellate cells. *Sci Rep* 2017; 7: 3710 [PMID: 28623272 DOI: 10.1038/s41598-017-03389-2]
  - 32 Kostallari E, Hirsova P, Prasnicka A, Verma VK, Yaqoob U, Wongjarupong N, Roberts LR, Shah VH. Hepatic stellate cell-derived platelet-derived growth factor receptor- $\alpha$ -enriched extracellular vesicles promote liver fibrosis in mice through SHP2. *Hepatology* 2018; 68: 333-348 [PMID: 29360139 DOI: 10.1002/hep.29803]
  - 33 Welker MW, Reichert D, Susser S, Sarrazin C, Martinez Y, Herrmann E, Zeuzem S, Piiper A, Kronenberger B. Soluble serum CD81 is elevated in patients with chronic hepatitis C and correlates with alanine aminotransferase serum activity. *PLoS One* 2012; 7: e30796 [PMID: 22355327 DOI: 10.1371/journal.pone.0030796]
  - 34 Kornek M, Popov Y, Libermann TA, Afdhal NH, Schuppan D. Human T cell microparticles circulate in blood of hepatitis patients and induce fibrolytic activation of hepatic stellate cells. *Hepatology* 2011; 53: 230-242 [PMID: 20979056 DOI: 10.1002/hep.23999]
  - 35 Lambrecht J, Jan Poortmans P, Verhulst S, Reynaert H, Mannaerts I, van Grunsven LA. Circulating ECV-Associated miRNAs as Potential Clinical Biomarkers in Early Stage HBV and HCV Induced Liver Fibrosis. *Front Pharmacol* 2017; 8: 56 [PMID: 28232800 DOI: 10.3389/fphar.2017.00056]
  - 36 Conde-Vancells J, Rodriguez-Suarez E, Gonzalez E, Berisa A, Gil D, Embade N, Valle M, Luka Z, Elortza F, Wagner C, Lu SC, Mato JM, Falcon-Perez M. Candidate biomarkers in exosome-like vesicles purified from rat and mouse urine samples. *Proteomics Clin Appl* 2010; 4: 416-425 [PMID: 20535238 DOI: 10.1002/prca.200900103]
  - 37 Li T, Yan Y, Wang B, Qian H, Zhang X, Shen L, Wang M, Zhou Y, Zhu W, Li W, Xu W. Exosomes derived from human umbilical cord mesenchymal stem cells alleviate liver fibrosis. *Stem Cells Dev* 2013; 22: 845-854 [PMID: 23002959 DOI: 10.1089/scd.2012.0395]
  - 38 Hyun J, Wang S, Kim J, Kim GJ, Jung Y. MicroRNA125b-mediated Hedgehog signaling influences liver regeneration by chorionic plate-derived mesenchymal stem cells. *Sci Rep* 2015; 5: 14135 [PMID: 26370741 DOI: 10.1038/srep14135]
  - 39 Qu Y, Zhang Q, Cai X, Li F, Ma Z, Xu M, Lu L. Exosomes derived from miR-181-5p-modified adipose-derived mesenchymal stem cells prevent liver fibrosis via autophagy activation. *J Cell Mol Med* 2017; 21: 2491-2502 [PMID: 28382720 DOI: 10.1111/jcmm.13170]
  - 40 Mardpour S, Hassani SN, Mardpour S, Sayahpour F, Vosough M, Ai J, Aghdami N, Hamidieh AA, Baharvand H. Extracellular vesicles derived from human embryonic stem cell-MSCs ameliorate cirrhosis in thioacetamide-induced chronic liver injury. *J Cell Physiol* 2018; 233: 9330-9344 [PMID: 29266258 DOI: 10.1002/jcp.26413]
  - 41 Chen L, Chen R, Velazquez VM, Brigstock DR. Fibrogenic Signaling Is Suppressed in Hepatic Stellate Cells through Targeting of Connective Tissue Growth Factor (CCN2) by Cellular or Exosomal MicroRNA-199a-5p. *Am J Pathol* 2016; 186: 2921-2933 [PMID: 27662798 DOI: 10.1016/j.ajpath.2016.07.011]

编辑: 崔丽君 电编: 张砚梁



## 肠神经胶质细胞形态学研究方法进展

许英, 谢明征, 梁国刚

许英, 谢明征, 梁国刚, 大连医科大学附属第一医院腹部急症外科/大连医科大学中西医结合研究院 辽宁省大连市 116000

许英, 在读硕士研究生, 主要从事肠神经与胃肠道运动功能的研究。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目, Nos. 81873164; 81603428; 辽宁省自然科学基金指导计划项目, No.20180550343.

作者贡献分布: 许英撰写; 梁国刚与谢明征负责修改与校审。

通讯作者: 梁国刚, 教授, 116000, 辽宁省大连市西岗区中山路222号, 大连医科大学附属第一医院腹部急症外科/大连医科大学中西医结合研究院。  
[liangguogang@firsthosp-dmu.com](mailto:liangguogang@firsthosp-dmu.com)  
电话: 0411-83635963

收稿日期: 2018-10-17

修回日期: 2018-11-23

接受日期: 2018-12-31

在线出版日期: 2019-04-28

### Advances in morphologic study of enteric glial cells

Ying Xu, Ming-Zheng Xie, Guo-Gang Liang

Ying Xu, Ming-Zheng Xie, Guo-Gang Liang, Department of Emergency Abdominal Surgery/Institute of Integrative Medicine, the First Affiliated Hospital of Dalian Medical University, Dalian 116000, Liaoning Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81873164 and No. 81603428; Natural Science Foundation Guidance Program of Liaoning Province, No.20180550343.

Corresponding author: Guo-Gang Liang, Professor, Department of Emergency Abdominal Surgery/Institute of Integrative Medicine, the First Affiliated Hospital of Dalian Medical University, Xigang District, 222 Zhongshan Road, Dalian 116000, Liaoning Province, China. [liangguogang@firsthosp-dmu.com](mailto:liangguogang@firsthosp-dmu.com)

Received: 2018-10-17

Revised: 2018-11-23

Accepted: 2018-12-31

Published online: 2019-04-28

### Abstract

As an important part of the intestinal nervous system, enteric glial cells are about four times as many as intestinal neurons. Furthermore, a large population of astrocyte-like glial cells populate gut muscle layers and the intestinal mucosa, and mounting new evidence points toward enteric glial cells as an active participant in gut pathology. They are similar in morphology and function to the astrocytes of the central nervous system and play an important role in nutrition, supporting gastrointestinal nerve, maintaining gastrointestinal homeostasis, and regulating gastrointestinal function. Because of their complex and diverse roles in the intestinal tract, they have become the focus of research. As the study of their functional mechanism has been extensively deepened, the research methods for intestinal glial cells are also on constant progress and improvement, especially in studying their morphology. This paper mainly introduces the morphological characteristics of enteric glial cells under the conditions of gastrointestinal physiology and pathology, so as to provide a reference for the future study of enteric glial cells and promote the development of this field.

© The Author(s) 2019. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Enteric glial cells; Immunohistochemistry; Electron microscopy; Whole mount stretch preparation

Xu Y, Xie MZ, Liang GG. Advances in morphologic study of enteric glial cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(8): 521-526  
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i8/521.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v27.i8.521>

### 摘要

肠神经胶质细胞(enteric glial cells, EGCs)是肠神经系

统的重要组成部分, 其数量约是肠神经元数量的4倍. 在形态和功能上与中枢神经系统的星形胶质细胞相似. 在营养、支持肠神经、维持胃肠道稳态、调节胃肠道功能等方面发挥着重要作用. 由于其在肠道中发挥的作用复杂而多样, 成为研究的焦点. 对其形态学的观察和研究是非常重要的. EGCs发现至今, 针对其发挥功能的作用机制已得到深入研究, 相应的研究方法也在不断的进步与改进中. 本文主要介绍EGCs在胃肠道生理及病理状态下形态学特点及目前形态学研究方法, 以期对未来研究EGCs提供实验方法的借鉴及参考意义, 推进这一领域的发展.

© The Author(s) 2019. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**关键词:** 肠神经胶质细胞; 免疫组织化学; 电镜技术; 全层铺片技术

**核心提要:** 肠神经胶质细胞(enteric glial cells, EGCs)是肠神经系统的重要组成部分, 在胃肠道吸收、屏障、运动、分泌等功能调节中发挥着重要作用. 研究发现其形态类似于中枢神经系统中的星形胶质细胞, 在肠道中与邻近的肠神经元、肠上皮细胞、肠分泌细胞等都存在着密切的关系. 胃肠道功能障碍时, EGCs形态会发生改变, 研究其解剖位置及形态学变化, 有助于揭示与其相邻近细胞之间作用关系并且进一步提示其发挥功能作用的机制.

许英, 谢明征, 梁国刚. 肠神经胶质细胞形态学研究方法进展. 世界华人消化杂志 2019; 27(8): 521-526  
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i8/521.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i8.521>

## 0 引言

Dogiel在1899年首次观察并描述了肠神经胶质细胞(enteric glial cells, EGCs)<sup>[1]</sup>. 1972年Gabella<sup>[2]</sup>确定EGCs是一种独特的神经胶质细胞, 不同于周围神经系统的其它部分, 具有独立的特征(其胞体比肠神经元胞体小, 有许多突起, 在胶质细胞体和突起中有大量胶质丝).

## 1 肠神经胶质细胞生理形态

Rühl<sup>[3]</sup>以成年豚鼠回肠为研究对象, 在电子显微镜下观察肌间神经丛内神经节发现此处有非常紧凑的结构, 周围有基板, 与结缔组织和血管分离. 所有的间隙由神经和胶质元素占据, 形成致密的神经纤维网, 相邻细胞膜之间有20 nm的间隙. EGCs在神经节和神经丛连接处数量较多, 其细胞核数量是神经元细胞的2-3倍, 胶质细

胞比神经元细胞小, 细长型, 胞体界限不清楚, 核椭圆形, 有深深的凹痕, 核外膜上附着大块致密物质. 其胞质中含有丰富的核糖体、内质网、细丝微管. 胶质细丝很突出, 但其数量和密度是可变的. 中心粒部分突出, 有时会有纤毛. 线粒体呈椭圆形, 具有横嵴和致密的嵴间基质. 细胞核和线粒体的形态学特征为胶质细胞的鉴定提供了良好的标准. 胶质细胞体大小、形状不规则, 典型线粒体存在, 胶质细胞丝和微管的出现是胶质细胞识别的主要特征.

Hanani等<sup>[4]</sup>运用胶质细胞穿刺灌注赖根过氧化物酶检测, 研究发现胶质细胞的形态取决于它们在肠道中所处的位置和微环境状态, 并且首次提出根据EGCs的形态学差异对胶质细胞群体提出分类: 神经节内的胶质细胞与中枢神经星形胶质细胞相似呈星形, 拥有非常短的不规则的突起, 这种类型与中枢神经系统灰质内的原生质星形胶质细胞非常相似, 称为“原生质”或I型肠胶质细胞. 神经节间纤维束内的胶质细胞类似于中枢神经纤维性星形胶质细胞, 与节间纤维束相平行性延长, 并且很少的分支, 称为“纤维型”或“II型肠胶质细胞”.

Bohórquez等<sup>[5]</sup>用扫描电镜与共聚焦显微镜联合观察并鉴定肠道分泌细胞, 从三维角度研究其超微结构, 发现肠内分泌细胞的神经荚膜由EGCs护卫. 观察到在固有层内有肠胶质细胞, 并且所观察EGCs形态的特征: 长而薄的足突从细胞体和神经元纤维呈放射状延伸; 在平面细胞体内典型的细长核; 这些突起在神经纤维周围形成独特的神经鞘. 胶质细胞从固有层由上皮基层纤维形成的基板的开窗进入上皮. 胶质细胞突触内含有可见的小的透明的分泌小泡, 类似于突触末端, 而神经胶质源性神经营养因子可以促进肠内分泌细胞神经荚膜的发育.

相关研究进一步发现EGCs在肠道内广泛分布于肠道的黏膜层、黏膜下神经丛、肌间神经丛和肌层, 肠外也分布于胃黏膜固有层<sup>[6,7]</sup>. EGCs在肠黏膜上皮与黏膜下层的肠神经系统之间形成网络, 其一端与肠上皮紧密接触, 另一端则紧密包绕肠神经, 从而将肠上皮细胞与肠神经系统联系起来, 贯穿整个肠壁<sup>[8]</sup>. 免疫组化也显示, 在小肠绒毛中, 胶质原纤维酸性蛋白(gial fibrillary acidic protein, GFAP)阳性的胶质细胞胞体和突触紧邻肠上皮, 延伸至绒毛顶端<sup>[9]</sup>. EGCs网络分为三层: 与肠上皮细胞紧密相连的为第一层, 其足突与肠上皮细胞形成类似神经突触样的特殊结构; EGCs彼此之间形成第二层, 其通过足突形成的缝隙链接彼此相连; EGCs网络延伸至黏膜深层, 密切包绕神经元及突触间



隙, 形成第三层<sup>[10]</sup>。

随着研究不断深入, 发现EGCs在肠道微环境中呈现不同的形态特征, 迄今为止分为四种形态类型: I型或“原浆”和II型或“纤维型”如前所述; III型或“黏膜型”EGCs是上皮下的神经胶质细胞, 有几个长分枝; VI型或“肌肉内”的EGCs是细长的胶质细胞运行在肌肉组织的神经纤维中<sup>[11,12]</sup>。EGCs形态结构特征或许与其所处的微环境有关, 根据所处位置还可以分为黏膜神经胶质、神经节内神经胶质、肌内神经胶质, 而不同位置的胶质细胞具有不同的生理功能<sup>[1]</sup>。

## 2 EGCs病理学形态改变

一系列研究发现EGCs与胃肠道功能密切相关, 在不同的胃肠道病理状态下其形态会发生不同改变。

Fujikawa等<sup>[13]</sup>首次在肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)中观察到EGCs发生的形态学的改变(即从丝状到叶状改变), EGCs结构的变化可能反映了其胶质活性的改变。在IBS动物模型中免疫荧光观察: 大部分EGCs(GFAP免疫阳性)分布于肠道神经元(HuCD免疫阳性)周围, 正常组可见少量与神经元重叠的EGCs, 然而这些EGCs密度增生即与神经元重叠的EGCs增生密度在模型组(压力增加)大鼠中逐渐增加。在不同压力情况下, 胶质细胞根据其末端结构分为丝状(没有明显颈部或球状末端肿胀)和叶状(颈部有球状末端肿胀区)。实验组叶状突起与每个神经节总突起的比值高于对照组, 在急性应激过去4 wk后, 上述结构发生逆转。在应对应激反应中, 增生的EGCs(尤其是球状肿胀)表现与神经元显著重叠<sup>[14]</sup>。

研究者应用免疫荧光染色观察肌间神经丛发现, 正常条件下EGCs包绕在神经节周围, 扁平外突清晰光滑, 连续延伸, 荧光度偏低; 失血性休克后出现变形, 外突变得模糊, 有些出现中断, 荧光度增强; 电针足三里穴可以减轻失血性休克后EGCs的形态异常, 外突比模型组清晰光滑, 荧光度更强<sup>[15,16]</sup>。在应用透射电镜对IBS患者EGCs进行超微结构的观察, 电镜结果显示IBS患者EGCs异染色质明显减少(此为转录激活的信号), 线粒体数目明显增多, 糖原颗粒明显增多, 镜下粗面内质网及多核糖体经肉眼观察也多于对照组, 表明IBS患者存在EGCs功能异常活跃<sup>[17]</sup>。

应用HE染色观察慢传输便秘结肠黏膜形态学改变, 发现对照组(正常组)EGCs及其突起组成神经节, 细胞排列整齐均匀。模型组(慢传输便秘)EGCs明显减少尤其以黏膜下环肌层表面和环肌层区域更加突出, 神经纤维空泡样变性且排列紊乱, 大部分模型动物结肠壁肌间神经丛和黏膜下神经丛的肠神经元数量较空白

对照组明显减少。电镜观察对照组可见EGCs核染色质分布均匀, 核膜清晰, 形态正常, 胞质内线粒体, 粗面内质网, 核糖体等细胞器结构清晰。模型组可见细胞核染色质聚集, 部分核固缩, 细胞质内线粒体肿胀, 粗面内质网扩张<sup>[18]</sup>。

采用消化道全层铺片(whole mount stretch preparation)的方法研究缺血再灌注损伤时EGCs变化, 发现正常状态下动物肠肌间神经丛EGCs纵横交织呈网格状包绕在肠神经节周围, 与节间神经连接, 包绕轴突, 延伸出的扁平外突把神经元与神经节外细胞不完全隔离, 呈连续性分布, 形成了一个巨大的网络结构; 而在缺血再灌注后, 肠黏膜受到不同程度损伤, 肌间神经丛EGCs细胞也受到一定程度的受损, 钙结合蛋白S100 $\beta$ 阳性细胞数量明显减少, 连续性条带消失, 网格变得模糊<sup>[19]</sup>。

观察EGCs在不同病理状态下形态学的改变, 对于揭示其在肠道中发挥的作用具有很重要的意义, 提示EGCs在维护肠道屏障功能, 改善肠道炎症等方面发挥着重要的作用。

## 3 EGCs形态学研究方法

肠神经系统在神经胃肠病学中被称为“肠脑”, 主要由肠神经元和EGCs组成, EGCs作为肠神经系统的重要组成部分, 引起广泛关注<sup>[20]</sup>。研究者从不同的角度运用不同的研究方法研究EGCs在胃肠道中发挥的作用。其中对EGCs形态学的研究主要运用HE染色、免疫组织化学(immunohistochemistry, IHC)、免疫细胞技术、透射电镜技术等, 从大体观到微观结构观察EGCs在生理和病理情况下的形态学改变。揭示了EGCs参与到胃肠道功能调节, 并且发挥着重要作用。

3.1 IHC技术 IHC是生命科学, 尤其是现代病理学诊断、鉴别诊断、肿瘤特异性分子靶标筛选、鉴定的最重要技术手段之一, IHC技术于1941年Coons等<sup>[21]</sup>采用荧光素标记抗体检测肺炎双球菌研究时产生。随着技术的不断更新发展, 产生了酶标抗体技术、辣根过氧化物酶标记抗体过氧化物酶技术、ABC法, 快速ABC法、二步ABC法等等, 随着抗原修复技术的出现, IHC技术的敏感性、特异性大幅度提高, 靶标的定位更为准确、背景愈加清晰。此外, 由于单克隆抗体技术的发展, IHC可检测分子靶标谱和适用样本范围大幅度扩展, 越来越多的指标可采用IHC在冷冻切片、细胞爬片、细胞滴片和常规福尔马林固定、石蜡包埋的组织样本中检出<sup>[22,23]</sup>。研究发现, EGCs分泌胶原纤维酸性蛋白GFAP、钙结合蛋白S100 $\beta$ 、Sox8/9/10等<sup>[11,24]</sup>, 因此通常以GFAP或S100 $\beta$ 免疫阳性作为EGCs标志物, 检测其在胃肠标本中整体表达和分布情况, 并进行半定量分析。但研究发现,



GFAP、S100 $\beta$ 抗体在免疫组化染色模式下不能很好地区分单个细胞, 而且其在肠道组织中免疫反应不规则及片状化, 不允许进行一定的定量IHC研究. Sox8/9/10免疫阳性完全局限于胶质细胞核, 能够清楚明确地辨别单个细胞, 从而能够较容易而可靠地实现对EGCs定量<sup>[25]</sup>. 在研究神经胶质细胞和肠神经元凋亡在难治性慢传输型便秘的神经病理学中的作用时, 研究者运用免疫组化染色发现与正常组相比, 慢传输型便秘患者肠内神经元和ICC细胞明显减少, 但EGCs(S100标记)减少的更加明显, 可能进一步削弱本已不稳定的神经肠内平衡<sup>[26]</sup>. 为进一步了解EGCs在人类胃肠道疾病中的作用, 任何肠全层活检的组织病理学研究不仅评估神经元, 而且应该查看肠神经胶质网络的异常变化.

**3.2 免疫荧光染色技术** 免疫荧光染色技术是将抗体或抗原在不影响其免疫学特性的条件下, 以化学方法同荧光素相结合, 然后将标记有荧光素的抗体(或抗原)作为试剂, 在特定的条件下与相应抗原(或抗体)进行反应, 再借助荧光显微镜观察特异性免疫荧光现象的一种免疫标记技术. 免疫荧光技术特点: 快速性、敏感性、广泛适应性、定位性. 缺点: 不能对组织细胞进行细微结构的观察, 不易鉴别细胞种类, 难以制备永久性标本, 荧光容易消退. 免疫荧光染色特点是可在细胞水平上对特异性抗原或抗体定位的一种通用手段. 其中多重免疫荧光染色技术利用抗原-抗体特异性结合的原理, 可对细胞中多种蛋白进行可视化定量、定性及共定位. 间接免疫荧光技术, 一直以来同种来源的抗体染色会发生相互串色, 造成结果误判, 而运用间接多重免疫荧光染色可避免这种情况. 基于免疫过氧化物-免疫荧光序贯技术的图像编辑系统, 该方法采用数字图像编辑技术将两个独立采集的图像合并为一个合并图像, 采用间接免疫过氧化物酶, 然后依次进行间接免疫荧光、数字图像采集和图像编辑. 可以实现在不同细胞中识别不同抗原以及在同一细胞中共定位抗原. 与双重免疫荧光相比, 能更好观察组织形态结构, 很容易在同一个细胞中定位两个不同抗原<sup>[27]</sup>.

通过免疫荧光技术标记GFAP来检测EGCs, 结果显示正常EGCs胞体内含有大量大小、形状不同的突触, 其围绕着细胞核呈现清晰、连续、细长的形态, 分布在细胞体边缘<sup>[28]</sup>. 在对功能性消化不良患者十二指肠活检进行免疫荧光染色观察发现正常组黏膜下神经丛内EGCs(S100标记)包绕肠神经元(HuCD免疫阳性)并在神经节内形成清晰的网络结构, 为肠神经提供网络结构和功能支持. 而功能性消化不良组黏膜下神经丛内肠神经元周围胶质细胞反应性增生, 体积增大, 网络结构紊乱,

单个细胞无法识别. 此观察结果是功能性消化不良疾病黏膜下神经丛肠神经功能和结构异常的直接证据, 可能对功能性消化不良具有预测和诊断的价值<sup>[29]</sup>.

**3.3 全层铺片技术** 消化道全层铺片即整装撕片. 根据消化道管壁内神经丛的结构特点, 分纵层肌、环层肌、黏膜下层等分层撕开铺片, 以暴露不同的壁内神经丛, 是研究肠壁内神经形态和分布的有效实验手段. 可以直接暴露肌间神经丛, 能完整观察神经丛的形体和结构, 另外, 神经元和神经纤维的数量较大, 可以提高神经丛上待测物质的阳性率<sup>[30,31]</sup>. 神经丛为扁平网状结构, 使用全层铺片技术与IHC染色相结合可以直观、全面显示所要观察细胞的形态、整体结构或多细胞间的相互关系及位置变化. 研究大鼠结肠肌间神经丛内EGCs时, 在体式显微镜下逐层剥离黏膜层、黏膜下层、环形肌, 清楚显示位于纵、环肌之间的肌间神经丛, 将组织撕片附于载玻片上, 获得肠肌间神经丛全层铺片标本. 再与神经胶质细胞特异性标志物钙结合蛋白S100 $\beta$ 免疫荧光组织化学染色相结合, 可清晰显示肌间神经丛EGCs的形态, 即从胞体发出的突起伸展填充在神经元胞体及其突起之间<sup>[32]</sup>. 全层铺片技术可以很好补充冰冻切片或石蜡切片在实验观察中的不足. 制备全层铺片后再进行细胞学或免疫细胞化学染色, 能较好地显示胃肠道环形肌、纵形肌、肌间神经丛及其周围细胞的形态与结构, 便于观察疾病时肠神经系统及其周围细胞的形态结构与重塑<sup>[33]</sup>.

**3.4 电镜技术** 透射电子显微镜(transmission electron microscopy, TEM)能够在超微结构水平上观察生物组织、细胞及细胞器的形态结构<sup>[34]</sup>. 透射电镜技术在各组织超微结构病理学观察中发挥着无可替代的作用, 它是以电子束为“光源”通过电磁透镜成像的电子光学仪器, 放大倍数可达几十万倍<sup>[35]</sup>. 应用透射电镜观察EGCs的超微结构染色质、线粒体、内质网等细胞器结构, 是研究EGCs生理病理情况下超微结构变化最常用的方法. 但透射电镜对样本制作及仪器的操作要求极高, 其中透射电镜制样过程中样本超微结构的保存受多种因素的影响<sup>[36]</sup>.

另外扫描电子显微镜可以将特定细胞的精细超微结构在三位空间中被揭示出来, 使细胞和组织的超微结构在三维中以常规和自动化的方式呈现. 扫描电子显微镜在神经科学中已经非常流行, 它有助于揭示神经回路的特定突触连接. 用扫描电镜观察到在固有层内肠胶质细胞, 以三维视角可看到更为清晰的特征: (1)长而薄的足突从细胞体和神经元纤维呈放射状延伸; (2)在平面

细胞体内典型的细长核; (3)这些突起在神经纤维周围形成独特的神经鞘。胶质细胞从固有层由上皮下基层纤维形成的基板的开窗进入上皮。胶质细胞突触内含可见的小的透明的分泌小泡, 类似于突触末端<sup>[5]</sup>。

## 4 结论

EGCs形态学的研究是对其进行鉴别以及分子特征和功能特征研究的前提, 也是充分了解EGCs在胃肠道功能和疾病中发挥作用的前提, 有效的形态学研究方法尤为重要。EGCs的形态取决于它们在胃肠道中所处的位置和微环境状态, 在病理状态下还可以发生表型改变和重塑, 以应对营养、机械、疾病相关的损伤。大量研究已经揭示了EGCs在胃肠道中不仅仅局限于营养、支持肠神经, 还参与胃肠道稳态、肠道黏膜屏障、胃肠道运动、胃肠道免疫等功能的调节。对于未来的研究更多倾向于研究EGCs起作用的复杂的分子信号机制。集中于研究EGCs与肠上皮细胞、肠神经元、肠道免疫细胞、肠道分泌细胞相互之间作用机制, 影响调节肠道的许多功能, 如运动、分泌、屏障功能。采用有效的研究方法, 从形态学角度揭示EGCs及与邻近细胞形态学变化将对其作用机制的研究有很大的提示作用。此外, 运用有效的形态学研究方法观察病理状态下EGCs数量及形态结构的改变对于临床诊断和评估胃肠道疾病具有重要的意义。除了传统的免疫荧光、电镜等技术外, 较前沿的基因嵌合分析与免疫染色双标相结合等方法, 对EGCs进行高分辨率的形态学表征的研究, 扩展了先前关于EGCs形态学的研究。技术不断发展, 那么更精准的形态学研究方法有待于进一步探索。

## 5 参考文献

- Gulbransen BD, Sharkey KA. Novel functional roles for enteric glia in the gastrointestinal tract. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2012; 9: 625-632 [PMID: 22890111 DOI: 10.1038/nrgastro.2012.138]
- Gabella G. Fine structure of the myenteric plexus in the guinea-pig ileum. *J Anat* 1972; 111: 69-97 [PMID: 4335909]
- Rühl A. Glial cells in the gut. *Neurogastroenterol Motil* 2005; 17: 777-790 [PMID: 16336493 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2005.00687.x]
- Hanani M, Reichenbach A. Morphology of horseradish peroxidase (HRP)-injected glial cells in the myenteric plexus of the guinea-pig. *Cell Tissue Res* 1994; 278: 153-160 [PMID: 7954696 DOI: 10.1007/bf00305787]
- Bohórquez DV, Samsa LA, Roholt A, Medicetty S, Chandra R, Liddle RA. An enteroendocrine cell-enteric glia connection revealed by 3D electron microscopy. *PLoS One* 2014; 9: e89881 [PMID: 24587096 DOI: 10.1371/journal.pone.0089881]
- De Giorgio R, Giancola F, Boschetti E, Abdo H, Lardeux B, Neunlist M. Enteric glia and neuroprotection: basic and clinical aspects. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2012; 303: G887-G893 [PMID: 22878122 DOI: 10.1152/ajpgi.00096.2012]
- Coelho-Aguiar Jde M, Bon-Frauches AC, Gomes AL, Verissimo CP, Aguiar DP, Matias D, Thomasi BB, Gomes AS, Brito GA, Moura-Neto V. The enteric glia: identity and functions. *Glia* 2015; 63: 921-935 [PMID: 25703790 DOI: 10.1002/glia.22795]
- Liu YA, Chung YC, Pan ST, Shen MY, Hou YC, Peng SJ, Pasricha PJ, Tang SC. 3-D imaging, illustration, and quantitation of enteric glial network in transparent human colon mucosa. *Neurogastroenterol Motil* 2013; 25: e324-e338 [PMID: 23495930 DOI: 10.1111/nmo.12115]
- Savidge TC, Sofroniew MV, Neunlist M. Starring roles for astroglia in barrier pathologies of gut and brain. *Lab Invest* 2007; 87: 731-736 [PMID: 17607301 DOI: 10.1038/labinvest.3700600]
- Neunlist M, Van Landeghem L, Mahé MM, Derkinderen P, des Varannes SB, Rolli-Derkinderen M. The digestive neuronal-glial-epithelial unit: a new actor in gut health and disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2013; 10: 90-100 [PMID: 23165236 DOI: 10.1038/nrgastro.2012.221]
- Boesmans W, Lasrado R, Vanden Berghe P, Pachnis V. Heterogeneity and phenotypic plasticity of glial cells in the mammalian enteric nervous system. *Glia* 2015; 63: 229-241 [PMID: 25161129 DOI: 10.1002/glia.22746]
- Sharkey KA. Emerging roles for enteric glia in gastrointestinal disorders. *J Clin Invest* 2015; 125: 918-925 [PMID: 25689252 DOI: 10.1172/JCI76303]
- Fujikawa Y, Tominaga K, Tanaka F, Tanigawa T, Watanabe T, Fujiwara Y, Arakawa T. Enteric glial cells are associated with stress-induced colonic hyper-contraction in maternally separated rats. *Neurogastroenterol Motil* 2015; 27: 1010-1023 [PMID: 25960044 DOI: 10.1111/nmo.12577]
- Grubišić V, Gulbransen BD. Enteric glia: the most alimentary of all glia. *J Physiol* 2017; 595: 557-570 [PMID: 27106597 DOI: 10.1113/JP271021]
- 赵增凯. 电针足三里对失血性休克大鼠肠屏障和肠胶质细胞保护作用的研究. 2015; 15: 136-139 [DOI: 10.3969/j.issn.1672-8521.2014.03.002]
- Hu S, Zhao ZK, Liu R, Wang HB, Gu CY, Luo HM, Wang H, Du MH, Lv Y, Shi X. Electroacupuncture activates enteric glial cells and protects the gut barrier in hemorrhaged rats. *World J Gastroenterol* 2015; 21: 1468-1478 [PMID: 25663766 DOI: 10.3748/wjg.v21.i5.1468]
- 王鹏. 肠易激综合征肠上皮—肠胶质细胞网络调控异常的分子机制研究. 山东大学, 2015
- 刘丽莎, 张微, 赵敏, 毛廷丽, 李思宇, 李瑛, 钟振东. 针刺大肠俞募穴对慢传输便秘小鼠结肠组织形态学的影响. *中华中医药杂志* 2016; 31: 255-258
- Mendes CE, Palombit K, Vieira C, Silva I, Correia-de-Sá P, Castelucci P. The Effect of Ischemia and Reperfusion on Enteric Glial Cells and Contractile Activity in the Ileum. *Dig Dis Sci* 2015; 60: 2677-2689 [PMID: 25917048 DOI: 10.1007/s10620-015-3663-3]
- Bassotti G, Villanacci V, Antonelli E, Morelli A, Salerni B. Enteric glial cells: new players in gastrointestinal motility. *Lab Invest* 2007; 87: 628-632 [PMID: 17483847 DOI: 10.1038/labinvest.3700564]
- Coons AH. The development of immunohistochemistry. *Ann N Y Acad Sci* 1971; 177: 5-9 [PMID: 44005566 DOI: 10.1111/j.17496632.1971.tb35025.x]
- Rossi S, Laurino L, Furlanetto A, Chinellato S, Orvieto E, Canal F, Facchetti F, Dei Tos AP. Rabbit monoclonal antibodies: a comparative study between a novel category of immunoreagents and the corresponding mouse monoclonal antibodies. *Am J Clin Pathol* 2005; 124: 295-302 [PMID: 16040303 DOI: 10.1309/NR8H-N08G-DPVE-MU08]
- Ward JM, Rehg JE. Rodent immunohistochemistry: pitfalls and troubleshooting. *Vet Pathol* 2014; 51: 88-101 [PMID: 24078006 DOI: 10.1177/0300985813503571]
- Cirillo C, Sarnelli G, Esposito G, Turco F, Steardo L, Cuomo

- R. S100B protein in the gut: the evidence for enteroglia-sustained intestinal inflammation. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 1261-1266 [PMID: 21455324 DOI: 10.3748/wjg.v17.i10.1261]
- 25 Hoff S, Zeller F, von Weyhern CW, Wegner M, Schemann M, Michel K, Rühl A. Quantitative assessment of glial cells in the human and guinea pig enteric nervous system with an anti-Sox8/9/10 antibody. *J Comp Neurol* 2008; 509: 356-371 [PMID: 18512230 DOI: 10.1002/cne.21769]
- 26 Bassotti G, Villanacci V, Maurer CA, Fisogni S, Di Fabio F, Cadei M, Morelli A, Panagiotis T, Cathomas G, Salerni B. The role of glial cells and apoptosis of enteric neurones in the neuropathology of intractable slow transit constipation. *Gut* 2006; 55: 41-46 [PMID: 16041063 DOI: 10.1136/gut.2005.073197]
- 27 杨敏, 田志华, 马博, 贾凯英, 张鸿丽, 富晶, 蔡雯雯, 赵威. 多重间接免疫荧光技术的建立及其在肝癌样本多种抗原检测中的应用. *细胞与分子免疫学杂志* 2018; 34: 97-104 [DOI: 10.13423/j.cnki.cjmi.008522]
- 28 Le Berre-Scul C, Chevalier J, Oleynikova E, Cossais F, Talon S, Neunlist M, Boudin H. A novel enteric neuron-glia coculture system reveals the role of glia in neuronal development. *J Physiol* 2017; 595: 583-598 [PMID: 27436013 DOI: 10.1113/JP271989]
- 29 Cirillo C, Bessissow T, Desmet AS, Vanheel H, Tack J, Vanden Bergh P. Evidence for neuronal and structural changes in submucous ganglia of patients with functional dyspepsia. *Am J Gastroenterol* 2015; 110: 1205-1215 [PMID: 26077177 DOI: 10.1038/ajg.2015.158]
- 30 白艳华, 张军. 大鼠胃肠道肌间神经丛铺片的制备和染色法的研究. *第四军医大学学报* 2009; 30: 1950-1952
- 31 Pearson GT. Structural organization and neuropeptide distributions in the equine enteric nervous system: an immunohistochemical study using whole-mount preparations from the small intestine. *Cell Tissue Res* 1994; 276: 523-534 [PMID: 7520362 DOI: 10.1007/bf00343949]
- 32 纪托, 薛红, 朱进霞. 显示肠肌间神经丛的全层铺片技术. *首都医科大学学报* 2009; 30: 256-258 [DOI: 10.3969/j.issn.1006-7795.2009.02.031]
- 33 张国权, 孙海梅, 夏白娟, 李小双, 康倩, 江涛. 全层铺片技术研究消化道神经丛和Cajal间质细胞. *解剖学研* 2013; 35: 76-78 [DOI: 10.3969/j.issn.167-0770.2013.01.022]
- 34 周德山. 电镜技术在医学生物学领域应用体会及历史回顾. *中国解剖学会. 解剖学杂志-中国解剖学会2002年年会文摘汇编. 中国解剖学会* 2002; 2
- 35 Mitchison HM, Shoemark A. Motile cilia defects in diseases other than primary ciliary dyskinesia: The contemporary diagnostic and research role for transmission electron microscopy. *Ultrastruct Pathol* 2017; 41: 415-427 [PMID: 28925789 DOI: 10.1080/01913123.2017.1370050]
- 36 王萌, 李婷, 董红燕. 透射电镜制样过程中漂洗时间对神经组织超微结构的影响. *神经解剖学杂志* 2018; 34: 515-518 [DOI: 10.16557/j.cnki.1000-7547.2018.04.017]

编辑: 崔丽君 电编: 张砚梁



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 © 2019 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

• 消息 •

## 《世界华人消化杂志》外文字符标准

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



## 2019年第28届亚太肝病研究学会年会纪要

朱传武

朱传武, 苏州市第五人民医院肝病科 江苏省苏州市 215131

朱传武, 医学博士, 主任医师, 教授, 博士生导师, 主要从事于各类肝病的临床诊治工作, 在慢性乙型肝炎的临床和发病机制方面开展了一些免疫学和分子生物学研究。苏州市感染性疾病临床医学中心主任, 江苏省肝病临床重点专科、苏州市传染病重点学科、苏州市肝炎重点专科学术带头人。苏州市第五人民医院副院长。担任中国医师协会整合医学分会整合感染防控与管理专业委员会常务委员, 中国脂肪性肝病治疗协作组委员, 江苏省医师协会感染科医师分会副会长, 江苏省中西医结合学会感染病专业委员会副主任委员、肝脏病学分会常务委员, 江苏省医学会感染病学分会委员, 苏州市医学会肝病专业委员会主任委员, 苏州市中西医结合学会肝病专业委员会主任委员。任中华医学杂志(英文版)、世界华人消化杂志、临床肝胆病杂志、抗感染药学、公共卫生与临床药学等期刊编委或审稿专家。主持、参与国家、省、市级科研基金资助课题26项, 获得18项省、市级科技奖励, 在国内外学术期刊发表论文110余篇。2006年至2007年在美国凯斯西储大学做访问学者。先后荣获苏州市劳动模范、江苏省先进工作者、全国五一劳动奖章等荣誉。

作者贡献分布: 本会议纪要由朱传武完成。

通讯作者: 朱传武, 主任医师, 教授, 215131, 江苏省苏州市相城区广前路10号, 苏州市第五人民医院肝病科。zhuchw@126.com  
电话: 0512-87806002

收稿日期: 2019-03-14  
修回日期: 2019-04-06  
接受日期: 2019-04-16  
在线出版日期: 2019-04-28

### Summary of the 28<sup>th</sup> annual conference of the Asian Pacific Association for the Study of the Liver

Chuan-Wu Zhu

Chuan-Wu Zhu, Department of Hepatology, the Fifth People's Hospital of Suzhou, Suzhou 215131, Jiangsu Province, China

Corresponding author: Chuan-Wu Zhu, Chief Physician, Professor, Department of Hepatology, the Fifth People's Hospital of Suzhou, 10 Guangqian Road, Xiangcheng District, Suzhou 215131, Jiangsu Province, China. zhuchw@126.com

Received: 2019-03-14  
Revised: 2019-04-06  
Accepted: 2019-04-16  
Published online: 2019-04-28

### Abstract

This paper gives a brief report on the academic activities of the 28<sup>th</sup> annual conference of the Asian Pacific Association for the Study of the Liver which was held this year.

© The Author(s) 2019. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: The 28<sup>th</sup>; Annual conference; Asian Pacific Association for the Study of the Liver

Zhu CW. Summary of the 28th annual conference of the Asian Pacific Association for the Study of the Liver. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2019; 27(8): 527-529  
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i8/527.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v27.i8.527>

### 摘要

本文对2019年第28届亚太肝病研究学会年会的学术活动作一简要报道。

© The Author(s) 2019. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 第28届; 年会; 亚太肝病研究学会

**核心提要:** 在第28届亚太肝病研究学会年会上, 慢性乙型和丙型肝炎不像往届是会议讨论的热点话题, 而非酒精性脂肪性肝病、肝硬化和肝细胞肝癌在会议上给与了高度的重视, 这在一定程度上反映了肝病谱的变化、抗病毒治疗的进步和对晚期肝病提高疗效的需求。



朱传武. 2019年第28届亚太肝病研究学会年会纪要. 世界华人消化杂志 2019; 27(8): 527-529

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i8/527.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i8.527>

## 0 引言

2019-2-20/2019-2-24, 第28届亚太肝病研究学会(Asian Pacific Association for the Study of Liver, APASL)年会在菲律宾首都马尼拉菲律宾国际会议中心召开。来自亚太地区以及欧美国家的数千肝病专家和研究者齐聚一堂, 共同交流当前肝病领域研究的进展, 探讨各类肝病诊断、治疗和将要解决的问题。APASL会长Shiv Sarin教授, 前任主席Masao Omata教授, 现任主席Diana Payawal教授, APASL 2020候任主席Rino Gani教授, APASL秘书长魏来教授, 以及美国肝病研究学会(American Association for the Study of Liver Diseases, AASLD)现任主席Michael Fried教授、候任主席Jorge A Bezerra教授, 欧洲肝病研究学会(European Association for the Study of the Liver, EASL)秘书长Tom Hemming Karlsen也出席了会议。会议的主题是“*Soaring to New Heights in Hepatology*”, 意为要将肝病研究与治疗水平提升到新的高度, 为亚太地区乃至全世界的数千万肝病患者提供更多更好的服务。作为本届年会的参会者(图1), 并且在一个专题研讨会上做了关于“乙肝病毒相关肝衰竭处理”的报告(图2), 因此, 有幸对亲历的学术活动作一简单介绍。

## 1 委员专家报告

在这部分报告中, 报告人都是来自于APASL委员会的专家们(Faculty members), 因此, 报告的内容在一定程度上也反映了本届年会所关心的议题。在为期5 d的会议期间, 这些委员专家们共作了93个大会报告, 内容涉及病毒性肝炎、肝脏肿瘤、肝衰竭、肝纤维化和肝硬化、非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)、遗传和代谢性肝病、肝病与结核病、胆汁淤积与自身免疫性肝病、人工肝、肝移植、药物性肝损伤、酒精性肝病、肝病非损伤性检测等等。其中在大会报告中, 数量居首的是讨论NAFLD的专题, 共有20个报告, 说明NAFLD对亚太地区甚至全球大众健康的影响已经引起肝病专家们的高度重视。其中来自新加坡、美国、中国台湾和加拿大的4位专家重点对儿童NAFLD的自然史和预后、发病机制、评估与治疗、病理学特点等做了介绍。因此, 可以说APASL对NAFLD的重视已经是从儿童抓起了, 这可能对今后在控制代谢综合征方面具有深远的影响。越南、马来西亚、蒙古、巴基斯坦等国的专家分别介绍了NAFLD在其国

内的流行和诊治情况。关于肝细胞肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)的报告有19项, 居于大会报告数量的第二位。说明目前在处理终末期肝病方面, 肝病专家们对HCC的基础研究、诊断和治疗仍然非常关注, 仍有大量需要面对的现实需求。在病毒性肝炎方面, 关于乙型病毒性肝炎的大会报告有11项, 丙型病毒性肝炎3项, 居于大会报告数量的第三位, 与往届APASL年会相比, 报告的数量大大减少。主要原因可能是乙型肝炎在抗病毒药物和治疗方案上暂时没有新的突破, 而现有的一线抗病毒药物在稳定病情、控制疾病进展方面还是可以实现; 丙型肝炎的抗病毒治疗已经取得突破性进展, 目前的状况是治疗药物可及, 抗病毒方案成熟, 对各基因型丙型肝炎病毒的治愈率至少在95%以上, 甚至接近100%。因此, 大会报告的内容已经不像过去那样, 总是以病毒性肝炎为讨论的热点话题。

另外, 在93项大会报告中, 来自中国两岸三地学者的报告共有26项, 反映中国肝病专家在APASL年会上的活跃身影和突出贡献。

## 2 大会口头报告和海报展示

除了大会安排的委员专家报告以外, 在多个分会场和海报展示区共交流肝病学术报告710项, 内容涉及肝衰竭、病毒性肝炎、酒精性肝病、自身免疫性肝炎、原发性胆汁性胆管炎、原发性硬化性胆管炎及其他胆汁淤积性肝病、肝炎与肝硬化、肝损伤与炎症、基础与临床纤维化研究、纤维化的影像学与非损伤性评估、肝脏外科学与移植、HCC、其他肝胆肿瘤、代谢与遗传性肝病、NAFLD、药物性肝损伤、肝硬化并发症、儿童肝病、肝病基础研究等等。其中乙型病毒性肝炎和丙型病毒性肝炎的报告数量分别都在120项以上, HCC、NAFLD和肝硬化等报告分别在100项左右。来自中国两岸三地专家的报告共有222项, 其中关于慢性乙型肝炎的报告有一半以上均来自中国, 说明诊断和治疗慢性乙型肝炎仍然是目前中国肝病专家和研究者关注的主要问题。这可能与我国慢性乙型肝炎患者数量仍然最多, 需要解决的临床问题也很多, 面临的挑战也最多。其次, 在肝衰竭、药物性肝损伤和自身免疫性肝病的研究和治疗方面, 半数以上的报告也来自中国。

## 3 会议奖项

本次年会设立了首批以APASL冠名的杰出奖项, 以表彰对肝病治疗和研究领域作出杰出贡献的亚太地区肝病学者。我国台湾大学高嘉宏教授荣获了“APASL Okuda-Omata杰出成就奖”, 此奖主要授予在肝病领域做出突出贡献和发挥重要影响的杰出专家。荣获“APASL



图1 本届年会的参会者。



图2 关于“乙肝病毒相关肝衰竭处理”的报告。

Powell-Sarin杰出服务奖”的是日本千叶大学Osamu Yokosuka教授,此奖主要授予为APASL机构的发展和进步做出特殊贡献的杰出专家。我国台湾高雄大学庄万龙教授荣获“APASL Sollano-Lesmana杰出导师奖”,此奖主要授予为培养APASL年轻一代肝病医生和研究者做出非凡成绩的杰出专家。来自埃及开罗的Mohamed Alboraie医生荣获“APASL明日之星奖”,此奖主要授予40岁以下积极参与APASL活动,奉献于肝病研究领域的专家,需要在APASL刊物Hepatology International上发表5篇以上论文,其中包括3篇以第一作者或通讯作者发表的论文。

另外,在2月22日颁发了6项大会主席奖(Presidential

awards),中国学者荣获了其中的4项,其中大陆学者3项,香港学者1项。2月23日颁发了6项青年学者奖(Young investigator awards),中国荣获其中的5项,其中大陆学者3项,台湾学者2项。从中可以看出中国肝病专家在肝病研究领域发挥的重要作用和取得的突出成绩,并且在前进的道路上,中国肝病学者人才辈出,薪火相传,也让中国同行们倍感高兴。会议期间还颁发了36项APASL-AASLD专题讨论研究旅行奖(APASL-AASLD research workshop travel awards),中国学者共荣获其中的7项,并且大会还颁发了10项最佳海报奖(Best poster awards)。

#### 4 结论

本届APASL年会报告的内容涉及到目前肝病领域的各个方面,但从关注的重点内容来看,主要有以下几个特点:(1)NAFLD的诊断、评估、干预和治疗在本届年会上给与了高度的重视,各国NAFLD的流行率均在不断升高,将会是今后肝病领域面临的新的挑战。(2)慢性乙型肝炎的治疗取得了阶段性的成果,但是,从追求临床“治愈”的现实效果看,依靠干扰素和核苷(酸)类似物两类药物还难以达到目标,乙型肝炎新药研发势在必行。将来,以现有药物为基础,联合多靶点药物,比如乙型肝炎病毒衣壳组装调节剂,抑制HBsAg释放的核酸聚合物, RNAi技术,免疫调节剂Toll样受体7,单克隆抗体药物等等,将有可能实现慢性乙型肝炎患者真正达到临床治愈的目标。(3)丙型肝炎已经达到病毒学治愈,但临床存在的主要问题是需要发现和诊断更多的患者。(4)肝硬化和HCC的诊断和处理仍然是肝病专家们目前关注的临床热点问题,要实现早期诊断、精准治疗、有效控制还面临不小的挑战。(5)另外,本届APASL年会给人的印象深刻是,不论是委员专家报告、大会发言,还是专题研讨会或海报展示,中国肝病学者尤其是中国大陆学者已经成为对APASL学术贡献最大、进步最快的一支专家队伍。

编辑:崔丽君 电编:张砚梁



# 动态三维超声造影评估原发性肝细胞癌射频消融后的近期疗效

张丹, 周华玲, 唐潮浪

张丹, 杭州市下城区中医院B超室 浙江省杭州市 310004

周华玲, 嘉兴市第二医院超声诊断科 浙江省嘉兴市 314000

唐潮浪, 中国人民武装警察部队浙江省总队医院卫勤处 浙江省嘉兴市 314000

张丹, 主治医师, 主要从事腹部超声诊断研究方向.

**作者贡献分布:** 此课题由张丹设计; 研究过程由张丹、周华玲及唐潮浪共同操作完成; 研究所用新试剂与分析工具由周华玲提供; 数据分析与论文写作由张丹完成.

**通讯作者:** 周华玲, 主治医师, 314000, 浙江省嘉兴市环城北路1518号, 嘉兴市第二医院超声诊断科. a2018tomato@163.com  
电话: 0573-82080930

收稿日期: 2019-01-07

修回日期: 2019-01-30

接受日期: 2019-03-15

在线出版日期: 2019-04-28

## Evaluation of short-term efficacy of radiofrequency ablation for hepatocellular carcinoma by dynamic three-dimensional contrast-enhanced ultrasound

Dan Zhang, Hua-Ling Zhou, Chao-Lang Tang

Dan Zhang, Department Ultrasound, Hangzhou Xiacheng District Hospital, Hangzhou 310004, Zhejiang Province, China

Hua-Ling Zhou, Department of Ultrasound Diagnosis, Jiaxing Second Hospital, Jiaxing 314000, Zhejiang Province, China

Chao-Lang Tang, Department of Health and Welfare, Zhejiang Provincial Corps Hospital, Chinese People's Armed Police Force, Jiaxing 314000, Zhejiang Province, China

Corresponding author: Hua-Ling Zhou, Chief Physician, Department of Ultrasound Diagnosis, Jiaxing Second Hospital, 1518 Huancheng

North Road, Jiaxing 314000, Zhejiang Province, China. a2018tomato@163.com

Received: 2019-01-07

Revised: 2019-01-30

Accepted: 2019-03-15

Published online: 2019-04-28

## Abstract BACKGROUND

Radiofrequency ablation (RFA) plays an important role in non-surgical treatment of hepatocellular carcinoma (HCC). Accurate assessment of the residual status of HCC after operation is of great significance to the future treatment plan. The efficacy of RFA is often evaluated by various imaging methods in clinic. Ultrasound has attracted more and more attention in clinical evaluation of the efficacy of RFA, because of its non-invasive, convenient, and repeatable advantages. Dynamic three-dimensional contrast-enhanced ultrasound (3DCEUS) can dynamically display the blood perfusion status of tumor tissue in three-dimensional space, which is expected to provide a new imaging method for evaluating the efficacy of RFA.

## AIM

To evaluate the short-term efficacy of RFA for HCC by 3DCEUS and the clinical value of 3DCEUS.

## METHODS

We retrospectively analyzed 93 patients (including 117 tumors) with HCC who underwent ultrasound-guided RFA at our hospital from March 2016 to November 2018. All patients underwent 3DCEUS one month after operation. Enhanced magnetic resonance imaging (CEMRI) was used as the "golden standard" to analyze the efficacy of 3DCEUS in evaluating the efficacy of RFA.



## RESULTS

CEMRI evaluation showed that 82.05% (96/117) of the tumors were completely ablated and 17.95% (21/117) were incompletely ablated. 3DCEUS evaluation showed that 82.91% (97/117) of the tumors were completely ablated and 17.09% (20/117) were incompletely ablated. The sensitivity, specificity, and accuracy of 3DCEUS in evaluating tumor residues after RFA were 90.48% (19/21), 98.96% (95/96), and 97.44% (114/117), respectively. There was no significant difference in diagnostic accuracy between 3DCEUS and CEMRI ( $P > 0.05$ ).

## CONCLUSION

3DCEUS can accurately evaluate the short-term efficacy of RFA for HCC and has high clinical value.

© The Author(s) 2019. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**Key Words:** Dynamic three-dimensional contrast-enhanced ultrasound; Radiofrequency ablation; Hepatocellular carcinoma; Therapeutic effect

Zhang D, Zhou HL, Tang CL. Evaluation of short-term efficacy of radiofrequency ablation for hepatocellular carcinoma by dynamic three-dimensional contrast-enhanced ultrasound. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(8): 530-534  
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i8/530.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i8.530>

## 摘要

### 背景

射频消融(radiofrequency ablation, RFA)在非手术治疗肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)方面发挥着重要作用,而准确评估术后HCC残留状态对于临床制定下一步治疗方案有着重要指导意义。临床上常常采用各种影像学方法评估RFA疗效。超声因其具有无创、便捷、可重复等优点,在RFA疗效评估方面日益受到临床重视。其中动态三维超声造影(dynamic three-dimensional contrast-enhanced ultrasound, 3DCEUS)能动态显示肿瘤组织在三维立体空间下的血流灌注状态,有望为RFA疗效评估提供一种全新的影像学方法。

### 目的

运用3DCEUS评估原发性HCCRFA后的近期疗效,并探讨其临床价值。

### 方法

回顾性分析2016-03/2018-11期间,在嘉兴市第二医院接受超声引导下RFA的93例原发性HCC患者,共117个肿瘤。术后1 mo均接受3DCEUS检查,同期行增强磁共振成像(enhanced magnetic resonance imaging, CEMRI)检查。以CEMRI作为疗效评估“金标准”,

分析3DCEUS在评估RFA疗效中的效能。

## 结果

CEMRI判定82.05%(96/117)的肿瘤完全消融,17.95%(21/117)的肿瘤消融不全;3DCEUS判定82.91%(97/117)的肿瘤完全消融,17.09%(20/117)的肿瘤消融不全。3DCEUS评估RFA后肿瘤残留的敏感度为90.48%(19/21)、特异度为98.96%(95/96)、准确率为97.44%(114/117)分别与CEMRI比较,差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。

## 结论

3DCEUS能准确评估原发性HCCRFA后的近期疗效,具有较高临床应用价值。

© The Author(s) 2019. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**关键词:** 动态三维超声造影; 射频消融; 原发; 肝细胞癌; 疗效

**核心提要:** 运用动态三维超声造影从三维立体空间角度实时动态反映射频消融(radiofrequency ablation, RFA)后肝细胞癌组织的微循环血流灌注状态,以评估PFA的近期疗效。

张丹, 周华玲, 唐潮流. 动态三维超声造影评估原发性肝细胞癌射频消融后的近期疗效. *世界华人消化杂志* 2019; 27(8): 530-534  
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i8/530.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i8.530>

## 0 引言

射频消融(radiofrequency ablation, RFA)是一种创伤小、起效快、安全可靠的肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)非手术治疗主要方法,目前被广泛应用于临床<sup>[1]</sup>。准确有效的RFA疗效评估对于临床进一步制定治疗方案有着十分重要的意义。超声造影是一种具有高度敏感性的微血管显影技术<sup>[2]</sup>,而动态三维超声造影(dynamic three-dimensional contrast-enhanced ultrasound, 3DCEUS)能在短时间内完成目标组织血流灌注信息的三维数据连续采集,并通过三维重建后动态显示目标组织在三维立体空间下的血流灌注状态<sup>[3]</sup>。本研究旨在探讨3DCEUS在原发性HCCRFA后近期疗效评估中的应用价值。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 回顾性分析2016-03/2018-11期间,在嘉兴市第二医院接受超声引导下RFA的93例原发性HCC患者,共117个肿瘤。均经穿刺活检获得病理证实。其中男性68



例、女性25例; 年龄31-78岁, 平均年龄6.4岁 $\pm$ 14.5岁。肿瘤最大径0.9-5.8 cm, 平均3.55 cm $\pm$ 1.46 cm。RFA术后1 mo, 所有患者均行3DCEUS检查以及增强磁共振成像(enhanced magnetic resonance imaging, CEMRI)检查。

**1.2 方法** 采用PHILIPS iU 22彩色超声诊断仪, 配有X6-1xMATRIX三维容积探头(频率为1.0-6.0 MHz), 机械指数设置为0.05-0.09。造影剂采用Sono Vue(意大利Bracco公司), 按照说明书, 将5 mL生理盐水注入59 mg干粉剂中, 用力振荡摇匀, 配备成微泡混悬液备用。首先行常规超声检查, 明确肿瘤位置, 大小以及邻近组织关系等情况, 然后行3DCEUS检查, 选取最佳透声窗, 调节合适取样角度和取样框, 抽取1.0-1.5 mL造影剂, 经肘部浅静脉进行团注, 同步计时及采集存储数据。3DCEUS划分为动脉期(0-30 s), 门脉期(30-120 s), 延迟期(120 s-微泡消失)。

采用QLab(PHILIPS公司)专用图像处理软件分析所采集的3DCEUSDICOM数据。三维立体观察并记录RFA后肿瘤的增强形态、增强水平及增强随时间变化等参数。

**CEMRI检查:** 使用GE 3.0T磁共振成像仪进行检查, 对比剂为普美显, 采集平扫、动态三期增强扫描以及注射对比剂后延迟20 min的肝胆特异期图像。5 s内注射对比剂10 mL, 尾随生理盐水20 mL, 分别获取动脉期(25 s)、门脉期(60 s)、平衡期(120 s)和肝胆特异期图像(20 min)。将图像传输入GE后处理工作站, 采用Functool软件进行分析。

**CEMRI判定标准:** 完全消融-RFA后, 肿瘤整体无增强, 呈完全低密度、低信号区; 消融不全-RFA后, 动脉期肿瘤内局部存在高增强, 并在门脉期减退。3DCEUS: 完全消融-RFA后, 肿瘤整体无增强, 呈清晰边界的“空洞”征; 消融不全-RFA后, 动脉期肿瘤内存在形状各异的高增强, 并在门脉期消退。以CEMRI作为RFA疗效判定“金标准”<sup>[4-7]</sup>。

**统计学处理** 采用SPSS 19.0统计学软件进行数据处理。计量资料以mean $\pm$ SD表示。计数资料以(%)表示, 组间比较采用 $\chi^2$ 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

93例原发性HCC患者, 共117个肿瘤。RFA 1 mo后, CEMRI判定82.05%(96/117)的肿瘤完全消融, 表现为肿瘤整体完全无增强; 17.95%(21/117)的肿瘤消融不全, 表现为动脉期肿瘤边缘处存在形状各异的高增强, 门脉期消退。3DCEUS判定82.91%(97/117)的肿瘤完全消融, 表现为造影全程肿瘤均无增强, 呈边界清晰的“空洞”征; 17.09%(20/117)的肿瘤消融不全, 动脉期肿瘤边缘处

存在新月状、结节状、环状高增强, 门脉期消退(图1)。

以CEMRI作为“金标准”, 3DCEUS评估RFA后肿瘤残留的敏感度为90.48%(19/21)、特异度为98.96%(95/96)、准确率为97.44%(114/117)分别与CEMRI比较, 差异均无统计学意义( $\chi^2 = 2.100 P = 0.147$ ;  $\chi^2 = 1.005 P = 0.316$ ;  $\chi^2 = 3.039 P = 0.081$ )。见表1。3DCEUS评估过程中发生2例假阴性, 其中1例肿瘤靠近膈顶处, 受肺部气体干扰显示困难, 1例肿瘤体积较大, RFA区域显示不全; 发生1例假阳性, 动脉期肿瘤边缘存在环状高增强, 门静脉期和延迟期略减退, 呈稍低增强。

## 3 讨论

超声引导下RFA是一种非手术治疗HCC的重要方法, 术后HCC残留或复发是影响其疗效的主要因素<sup>[8-10]</sup>。准确有效地早期判定HCC残留复发与否, 对于临床及时制定进一步治疗方案意义重大, 有助于进一步提高RFA疗效。临床上常常采用影像学方法进行HCCRFA疗效评估及随访, 并发挥着重要临床作用。CEMRI是目前公认的RFA疗效判定“金标准”<sup>[11-13]</sup>。随着超声技术不断发展, 超声造影在HCC的鉴别诊断以及疗效评估方面发挥着越来越重要的作用, 并得到临床的一致肯定。

二维超声造影仅能通过二维切面对RFA后肿瘤进行观察, 要想获得更为全面的肿瘤整体血流灌注信息, 需要超声医师不断变换切面以获取各肿瘤断面信息, 故难以避免部分切面被忽略而导致误诊漏诊。3DCEUS融合了实时二维超声造影以及三维超声成像的优点, 可连续采集超声造影剂在目标组织中的整个灌注过程, 并从三维立体空间角度实时动态反映目标组织的微循环血流灌注状态<sup>[14]</sup>。

本研究结果中, 经RFA后原发性HCC发生残留时, 动脉期肿瘤边缘处存在新月状、结节状、环状高增强, 门脉期消退。这与原发性HCC为富血供肿瘤, 主要接受肝动脉供血的病理特点密切相关<sup>[15]</sup>。同时这一病理特征可使原发性HCC在动脉期的三维空间血流灌注形态显示效果最好, 立体感最明显。本研究结果中, 以CEMRI作为RFA疗效判定“金标准”时, 3DCEUS评估RFA后肿瘤残留的敏感度为90.48%、特异度为98.96%、准确率为97.44%分别与CEMRI比较, 差异均无统计学意义( $P>0.05$ )。提示3DCEUS在评估原发性HCCRFA近期疗效方面具有较高的临床应用价值, 与CEMRI判定结果比较具有高度一致性, 可作为一种RFA疗效监测的有效方法。3DCEUS与CEMRI相比较, 还存在以下优点: 可从三维立体空间角度动态反映整个肿瘤内部及边缘的微循环血流灌注状态, 所获得的三维图像更为形象直观; 操作过程简便, 无辐射, 无肝肾功能损伤。本研究结果

表 1 动态三维超声造影判定疗效

动态三维超声造影	增强磁共振成像		总计
	消融不全	完全消融	
消融不全	19	1	20
完全消融	2	95	97
总计	21	96	117

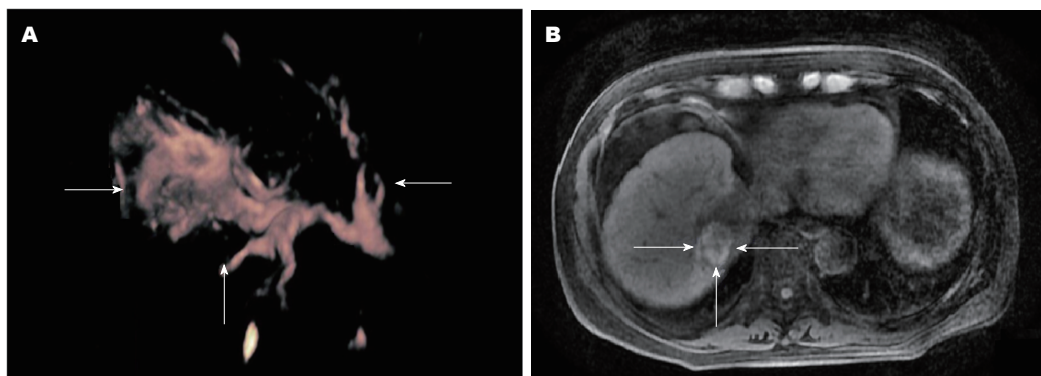


图 1 动态三维超声造影及增强磁共振成像对残留肿瘤成像。A: 三维超声造影显示动脉期病灶残留组织呈高增强; B: 增强磁共振成像显示动脉期病灶边缘存在高增强区。

中, 3DCEUS评估过程中发生2例假阴性, 其中1例肿瘤靠近膈顶处, 受肺部气体干扰显示困难, 1例肿瘤体积较大, RFA区域显示不全。提示3DCEUS在上述情况下存在一定局限性, 此时更适合采用CEMRI进行评估。本研究结果中, 3DCEUS评估过程中发生1例假阳性, 动脉期肿瘤边缘存在环状高增强, 门静脉期和延迟期略减退, 呈稍低增强, 后经CEMRI判定为炎症反应带, 并最终经病理证实。RFA后, 肿瘤边缘可出现炎症充血反应, 常可在1 mo内消退, 但部分病例可持续较长一段时间, 在超声造影下呈现出动脉期高增强, 门脉期或延迟期消退<sup>[16-18]</sup>。因这与一些恶性肿瘤的增强模式颇为相似而容易导致误诊<sup>[19-21]</sup>。此时如若临床高度怀疑肿瘤残留时, 应对增强区行穿刺活检以明确诊断, 避免误诊漏诊。

总之, 3DCEUS能动态直观显示RFA后原发性HCC残留组织的三维空间血流灌注状态, 从而准确评估原发性HCCRFA后的近期疗效, 具有较高临床应用价值。

## 文章亮点

### 实验背景

射频消融(radiofrequency ablation, RFA)是一种非手术治疗肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)的重要方法。术后准确的疗效评估有助于指导临床及时制定治疗方

案, 从而提高治疗效果。

### 实验动机

运用动态三维超声造影(dynamic three-dimensional contrast-enhanced ultrasound, 3DCEUS)显示RFA后原发性HCC在三维立体空间下的血流灌注状态, 以期临床评估术后病灶残留提供一种全新的影像学方法。

### 实验目标

本论文研究的主要目标是运用3DCEUS评估原发性HCCRFA的近期疗效并探讨其临床价值。结果表明3DCEUS能直观显示残留组织的三维空间血流灌注状态, 从而准确评估RFA疗效, 具有较高临床应用价值。

### 实验方法

本论文采用3DCEUS评估RFA疗效。3DCEUS能动态显示HCC组织在三维立体空间下的血流灌注状态。

### 实验结果

本论文研究达到了实验目标, 研究结果显示3DCEUS评估RFA后肿瘤残留的敏感度为90.48%、特异度为98.96%、准确率为97.44%, 分别与增强磁共振成像(enhanced magnetic resonance imaging, CEMRI)比较, 差

异均无统计学意义( $P>0.05$ ). 本研究结果说明3DCEUS能准确评估原发性HCC RFA的近期疗效, 具有较高临床应用价值.

### 实验结论

本研究发现3DCEUS可用于评估原发性HCC RFA的近期疗效. 3DCEUS通过反映病灶组织的血流灌注状态, 为临床评估RFA疗效提供一种全新有效的影像学方法. 3DCEUS能实时动态反映HCC组织在三维空间中的血流灌注, 从而准确判定RFA后HCC组织的残留状态.

### 展望前景

造成误判的原因有: 肿瘤靠近膈顶处, 受肺部气体干扰; 肿瘤体积较大, RFA区域显示不全; 术后肿瘤周围的炎性充血等. 本研究未来研究的方向是3DCEUS在肿瘤治疗领域中的临床应用. 本研究未来研究的最佳方法是3DCEUS联合肿瘤指标评估RFA疗效.

## 4 参考文献

- Patidar Y, Singhal P, Gupta S, Mukund A, Sarin SK. Radiofrequency ablation of surface v/s intraparenchymal hepatocellular carcinoma in cirrhotic patients. *Indian J Radiol Imaging* 2017; 27: 496-502 [PMID: 29379247 DOI: 10.4103/ijri.IJRI.490.16]
- Rübenhaller J, Paprottka KJ, Hameister E, Hoffmann K, Joiko N, Reiser M, Rjosk-Dendorfer R, Clevert DA. Contrast-enhanced ultrasound (CEUS) prediction of focal liver lesions in patients after liver transplantation in comparison to histopathology results. *Clin Hemorheol Microcirc* 2017; 66: 303-310 [PMID: 28527201 DOI: 10.3233/CH-179104]
- Bartolotta TV, Taibbi A, Matranga D, Midiri M, Lagalla R. 3D versus 2D contrast-enhanced sonography in the evaluation of therapeutic response of hepatocellular carcinoma after locoregional therapies: preliminary findings. *Radiol Med* 2015; 120: 695-704 [PMID: 25698299 DOI: 10.1007/s11547-015-0514-4]
- Minami Y, Nishida N, Kudo M. Therapeutic response assessment of RFA for HCC: contrast-enhanced US, CT and MRI. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 4160-4166 [PMID: 24764654 DOI: 10.3748/wjg.v20.i15.4160]
- 刘伟. 增强CT和MRI对射频消融治疗肝细胞肝癌的疗效评价. *当代医学* 2017; 23: 65-67 [DOI: 10.3969/j.issn.1009-4393.2017.2.6.032]
- 刘栋云, 杨荣伟, 王大平. 增强MDCT和普美显增强MRI对肝癌射频消融治疗后疗效评价的比较. *医学信息* 2016; 29: 32-34 [DOI: 10.3969/j.issn.1006-1959.2016.23.034]
- 邓士杰, 高纪称, 王海屹. CT和MRI对射频消融联合肝动脉化疗栓塞治疗肝细胞肝癌疗效评价的对比研究. *山西医药杂志* 2014; 16: 261-263 [DOI: 10.3969/j.issn.1008-794X.2009.05.004]
- 徐娟, 赵晔, 付晓丹, 崔永慧, 顾丽婕, 赵静, 葛华. 超声引导下经皮微波消融与射频消融治疗原发性肝癌的临床疗效对比分析. *中国医学装备* 2016; 13: 55-59 [DOI: 10.3969/j.issn.1672-8270.2016.12.016]
- 李丽珍, 钟秋红, 黄昌辉, 陈成彩. 超声引导下经皮微波消融与CT超声引导下肿瘤射频消融治疗原发性肝癌的临床比较. *中国CT和MRI杂志* 2017; 24: 57-59 [DOI: 10.3969/j.issn.1672-5131.2017.01.024]
- 王喜功, 潘吉荣, 张峰. 超声引导下经皮射频消融与微波消融治疗原发性肝细胞癌的比较. *中国医学影像学杂志* 2015; 23: 67-68 [DOI: 10.3969/j.issn.1005-5185.2015.08.011]
- 邓满红, 姚德惠, 李婧, 黄丽玲, 邹光辉. 肝癌射频消融术后MRI表现及疗效. *中国医学影像学杂志* 2015; 19: 951-954 [DOI: 10.3969/j.issn.1005-5185.2015.12.019]
- 张亚杰, 于泽洋, 项昆. 小肝癌射频消融疗效的MRI与MSCT对比研究. *世界最新医学信息文摘* 2016; 16: 128-129 [DOI: 10.3969/j.issn.1671-3141.2016.50.094]
- 盛若凡, 任正刚, 张岚, 陈财忠, 曾蒙苏. 小肝癌射频消融治疗前后磁共振成像表现及其与肿瘤肝内复发的相关性. *中华肝脏病杂志* 2014; 22: 680-685 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-3418.2014.09.010]
- Abbas A, Hansrani V, Sedgwick N, Ghosh J, McCollum CN. 3D contrast enhanced ultrasound for detecting endoleak following endovascular aneurysm repair (EVAR). *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2014; 47: 487-492 [PMID: 24618331 DOI: 10.1016/j.ejvs.2014.02.002]
- Pregler B, Beyer LP, Wiesinger I, Nießen C, Jung EM, Stroszczyński C, Wiggermann P. Microwave ablation of large HCC lesions: Added value of CEUS examinations for ablation success control. *Clin Hemorheol Microcirc* 2016; 64: 483-490 [PMID: 27935548 DOI: 10.3233/CH-168113]
- 谢璐璐, 廖锦堂, 李悦怡, 黄云, 周乐杜, 李文政, 龙学颖. 肝脏恶性肿瘤射频消融术后即刻超声造影的临床价值. *中国普通外科杂志* 2017; 26: 228-234 [DOI: 10.3978/j.issn.1005-6947.2017.02.016]
- 蒋乐, 刘建. 超声造影在肝脏恶性肿瘤射频消融中的临床价值分析. *临床医药文献电子杂志* 2016; 35: 96-98 [DOI: 10.3877/j.issn.2095-8242.2016.47.035]
- 李坚. 超声造影在肝脏恶性肿瘤"射频消融"治疗的临床研究. *医学信息* 2014; 54: 76-78 [DOI: 10.3969/j.issn.1006-1959.2014.04.610]
- 张晓儿, 黄光亮, 谢晓燕, 徐明, 刘保娴, 叶洁仪, 吕明德, 林满霞. 超声引导下原发性肝癌经皮射频消融治疗并发症分析. *中国医师杂志* 2017; 19: 804-806 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1008-1372.2017.06.002]
- 邹建平, 谢旭平, 蔡联明, 肖幼华, 孙斌. 原发性肝癌超声引导下经皮射频消融治疗的临床观察. *中国现代医生* 2015; 53: 79-81
- 姜立东. 超声引导下射频消融治疗原发性肝癌 54例. *中国医疗器械信息* 2016; 24: 103-104 [DOI: 10.3969/j.issn.1006-6586.2016.22.024]

编辑: 崔丽君 电编: 张砚梁





# ERCP处理Caroli's病合并胆道感染: 1例案例报告和文献综述

梅剑锋, 王征, 张筱凤, 陆磊

梅剑锋, 王征, 兰溪市人民医院普外科 浙江省兰溪市 321100

张筱凤, 陆磊, 浙江大学医学院附属杭州市第一人民医院消化内科  
浙江省杭州市 310006

梅剑锋, 主治医师, 主要从事普外科疾病的诊治工作.

作者贡献分布: 梅剑锋负责收集病例资料、查阅文献及撰写文章; 王征与张筱凤负责内镜操作; 陆磊审校.

通讯作者: 陆磊, 研究员, 310006, 浙江省杭州市上城区浣纱路261号, 浙江大学医学院附属杭州市第一人民医院消化内科. zacharylu@126.com  
电话: 0517-56006782

收稿日期: 2018-01-03

修回日期: 2018-03-13

接受日期: 2019-03-24

在线出版日期: 2019-04-28

## ERCP for treatment of Caroli's disease complicated with biliary infection: A case report and review of the literature

Jian-Feng Mei, Zheng Wang, Xiao-Feng Zhang, Lei Lu

Jian-Feng Mei, Zheng Wang, Department of General Surgery, Lanxi People's Hospital, Lanxi 321100, Zhejiang Province, China

Xiao-Feng Zhang, Lei Lu, Department of Gastroenterology, Affiliated Hangzhou First People's Hospital, Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou 310000, Zhejiang Province, China

Corresponding author: Lei Lu, Researcher, Department of Gastroenterology, Affiliated Hangzhou First People's Hospital, Zhejiang University School of Medicine, 261 Huansha Road, Shangcheng District, Hangzhou 310000, Zhejiang Province, China. zacharylu@126.com

Received: 2018-01-03

Revised: 2018-03-13

Accepted: 2019-03-24

Published online: 2019-04-28

## Abstract

### BACKGROUND

Caroli's disease is a rare congenital malformation characterized by saccular dilatation of intrahepatic bile ducts, with intrahepatic stones and recurrent cholangitis being its potential complications, which can lead to sepsis as a life-endangering complication. Surgery is mostly used for Caroli's disease complicated with biliary infection; however, the morbidity and mortality of surgery are high during the acute infectious period.

### CASE SUMMARY

A middle-age male patient presented with epigastric pain and fever for 11 h. He was diagnosed with Caroli's disease 11 years ago, and he had acute biliary infection every 6 to 10 mo since then, which usually recovered after conservative treatments. Upon admission, he was initially given conservative treatment. However, he still had fever and acute biliary infection. We performed endoscopic retrograde cholangiopancreatography (ERCP) after failed conservative treatment, and the patient recovered uneventfully.

### CONCLUSION

For patients with Caroli's disease complicated with biliary infection who failed to conservative treatment, ERCP is a safe, feasible, and effective treatment method.

© The Author(s) 2019. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**Key Words:** Caroli's disease; Biliary infection; Surgery; Endoscopic retrograde cholangiopancreatography; Case report

Mei JF, Wang Z, Zhang XF, Lu L. ERCP for treatment of Caroli's disease complicated with biliary infection: A case report and review of the literature. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(8): 535-538  
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i8/535.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i8.535>

## 摘要

### 背景

Caroli's病是一种临床少见的先天性肝内胆管囊性扩张性疾病, 继发肝内胆管结石和反复发作的胆管炎是该病的主要合并症, 严重者可导致脓毒血症而危及生命. 既往多采用外科手术的治疗方式, 但是在急性感染期施行外科手术的并发症发生率和死亡率均较高.

### 病例概述

1例中年男性患者因“腹痛伴畏寒、发热11 h”来院就诊. 患者11年前在外院确诊Caroli's病, 期间患者反复出现胆道感染, 约6-10 mo发作一次, 经保守治疗后好转. 此次入院后先给予药物保守治疗, 但患者的血象、体温未见明显好转. 在保守治疗无效的情况下, 我们成功施行了经内镜逆行性胰胆管造影术(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)下胆管取石术, 患者痊愈后出院.

### 结论

对于内科保守治疗无效的Caroli's病合并胆道感染者, ERCP不失为一种安全、可行、有效的处理方法.

© The Author(s) 2019. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**关键词:** Caroli's病; 胆道感染; 外科手术; 经内镜逆行性胰胆管造影术; 病例报告

**核心提要:** Caroli's病常常继发肝内胆管结石和复发性胆管炎. 一般认为外科手术是该病的主要治疗手段, 但在急性期行外科手术的并发症发生率和死亡率较高. 我们采用经内镜逆行性胰胆管造影术成功处理1例Caroli's病合并胆道感染的患者, 效果满意.

梅剑锋, 王征, 张筱凤, 陆磊. ERCP处理Caroli's病合并胆道感染: 1例病例报告和文献综述. *世界华人消化杂志* 2019; 27(8): 535-538  
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i8/535.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i8.535>

## 0 引言

Caroli's病是一种临床少见的先天性肝内胆管囊性扩张性疾病, 又称交通性海绵状胆管扩张症, 由法国医生Caroli于1958年首次报道并命名<sup>[1]</sup>. 继发肝内胆管结石和反复发作的胆管炎是该病的主要合并症, 严重者可导致脓毒血症而危及生命<sup>[2]</sup>. 既往的经验认为经内镜逆行性胰胆管造影术(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)可诱发囊肿感染, 是Caroli's病的禁忌, 但这与术中加压注射造影剂干扰囊液引流有关<sup>[3]</sup>. 对于高龄、有严重心肺合并症、合并恶性肿瘤以及部分重症梗阻性化脓性胆管炎等高危患者, 外科手术具有较高的术后并发症发生率及死亡率, 此时行ERCP可能具有一定优势<sup>[4,5]</sup>. 现结合国内外文献将我院收治的1例Caroli's病合并胆道感染患者的诊治经过报道如下.

## 1 病例报告

患者, 男性, 37岁. 患者11年前因“畏寒、发热伴身目黄染1 wk”至外院就诊, 住院期间行胆总管切开取石+T管引流+肝活检术, 术后肝活检病理提示肝细胞变性, 间质纤维组织增生伴胆管淤胆, 当时诊断为Caroli's病. 此后患者反复出现畏寒、发热, 约6-10 mo发作一次, 曾多次在外院经内科保守治疗后好转. 此次患者因“腹痛伴畏寒、发热11 h”收住入院. 查体: 体温39.5 °C, 血压90/58 mmHg, 急性面容, 皮肤巩膜中度黄染, 未见蜘蛛痣及肝掌, 右上腹及剑突下可及压痛, 肝、脾右肋下未及, 移动性浊音阴性, 双下肢无水肿. 实验室检查: 血常规WBC  $18.9 \times 10^9/L$ , N% 95.7%, RBC  $4.13 \times 10^{12}/L$ , Hb 125 g/L; 血生化ALT 287 U/L, AST 259 U/L, AKP 346 U/L, GGT 267 U/L, 总胆红素81.5  $\mu\text{mol/L}$ , 直接胆红素73.4  $\mu\text{mol/L}$ , 总蛋白62.4 g/L, 白蛋白42.6 g/L. 磁共振胰胆管造影检查(图1A)提示肝内胆管多发大小不一囊状扩张, T2相高信号, 内见小点状低回声信号, 胆总管扩张, 内有充盈缺损影, 胆囊稍增大, 胰管未见扩张.

## 2 最后诊断

经科室讨论诊断为(1)胆总管结石伴急性梗阻性化脓性胆管炎; (2)感染性休克; (3)Caroli's病.

## 3 治疗

患者入院后即给予亚胺培南针抗感染、抑酸、护肝及液体复苏等治疗, 但患者血象、体温未见明显好转. 在保守治疗无效的情况下, 于2016-1-4行ERCP术(图1B-E), 术中造影见胆总管扩张, 腔内见多发结石影, 行乳头切

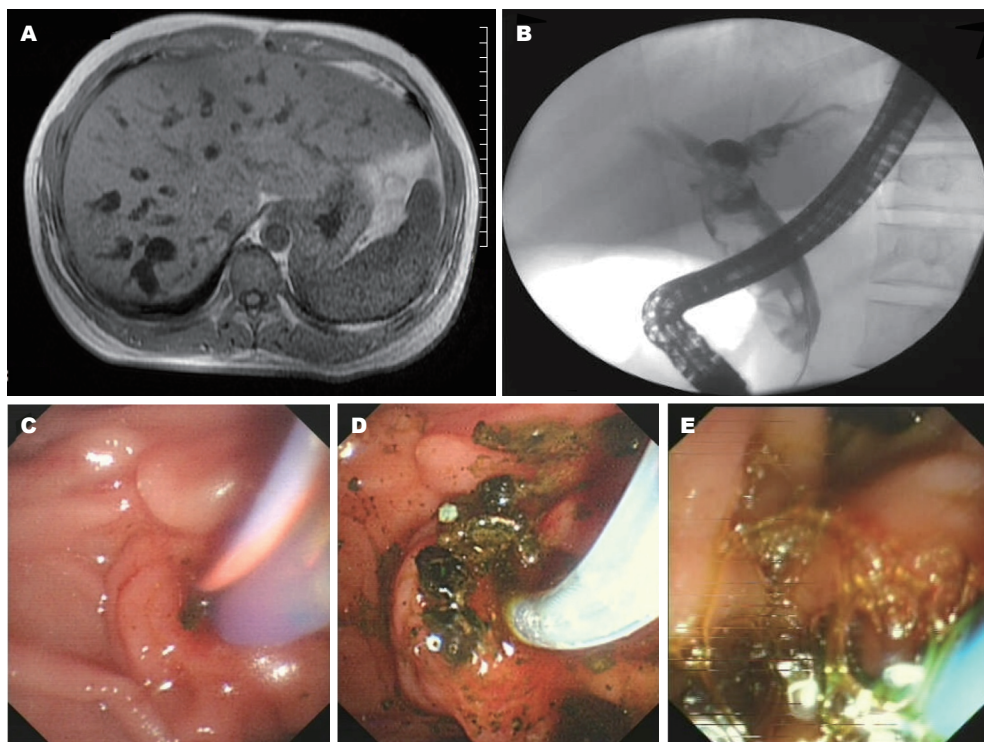


图1 本例患者的诊治经过。A: 磁共振胰胆管造影发现肝内胆管多发大小不一囊状扩张; B: 内镜逆行性胰胆管造影术造影提示胆总管多发结石; C: 十二指肠括约肌切开; D: 网篮取出多枚结石; E: 置入鼻胆引流管。

开, 网篮取出多枚结石, 并引出脓性胆汁, 术毕置入一枚鼻胆引流管。患者术后安返病房, 予禁食、抑酸、抑酶、补液及抗感染等治疗, 并严密监测其生命体征、腹部症状及鼻胆管引流情况。患者术后鼻胆管引流通畅, 每日约350 mL墨绿色胆汁。术后第1天复查尿淀粉酶正常, 同时患者体温、血象等均较前好转, 遂予开放饮食。

#### 4 结果和随访

术后第5天患者拔除鼻胆引流管痊愈出院。出院半年后患者考虑到Caroli's病有癌变可能, 遂至外院行肝叶部分切除术+胆肠内引流术, 术后患者恢复可, 未有畏寒、发热等复发。

#### 5 讨论

Caroli's病是一种先天性肝内胆管发育异常性疾病, 发病率低, 截止2005年年底, 国内外学者仅报道约150例病例报道, 近年来随着影像学技术的进步, 其检出率有所提高<sup>[6]</sup>。临床上一般将Caroli's病分为以下两种类型: I型为单纯型, 即仅有肝内胆管扩张而无肝纤维化及门脉高压, 临床上多以反复的胆道感染及肝内胆管结石为表现。II型为汇管区周围纤维化型, 即肝内胆管扩张合并先天性肝纤维化和门静脉高压, 临床上多以肝硬化及门脉高压的继发改变为表现<sup>[7]</sup>。本例患者影像学检查提示肝内胆管多发大小不一囊状扩张, 而无肝硬

化及门静脉高压的临床依据, 结合其既往病史需考虑为Caroli's病I型。

Caroli's病主要表现为与肝内胆管相通的囊性病变, 囊肿内胆管上皮显著增生, 分泌旺盛, 可引起胆汁淤积, 并导致结石形成, 易继发感染。部分肝内胆管结石亦可排入胆总管导致继发性胆总管结石, 引起细菌性胆管炎, 甚至进展为细菌性肝脓肿或脓毒血症<sup>[8]</sup>。本例患者11年内有多次畏寒、发热等胆道感染的表现, 与之相符。患者此次入院同样考虑为Caroli's病引起的胆道感染, 但由于患者存在梗阻性黄疸, 且MRCP提示存在胆总管结石, 因此需要考虑合并有胆总管结石引起胆汁引流不畅而导致的胆道感染。由于患者无胆囊结石, 且既往无ERCP治疗史, 因此我们考虑是肝内胆管结石落入胆总管而引起的继发性胆总管结石。从这个角度而言, 这例患者的临床表现仍属于Caroli's病及其合并症的范畴。值得注意的是, 由于临床医师对该病缺乏足够认识, 以及该病缺乏特异性临床表现, 常被误诊为单纯性胆管炎或胆囊炎而反复做胆道取石或行胆肠内引流术等。李绍强等曾报道1例因误诊为单纯性肝内胆管结石而历经7次胆道手术的Caroli's病患者<sup>[9]</sup>。因此, 切除肝脏病灶、解除胆道梗阻、冲洗囊腔后建立通畅的胆-肠引流是Caroli's病的治疗关键。

虽然肝叶部分切除术是Caroli's病的主要治疗手段, 但急性炎症期行肝叶部分切除术或胆肠吻合术无疑会



增加术中出血、术后感染及胆瘘的发生概率, 因此需要有效的过度期治疗以控制胆道感染. 经皮经肝穿刺胆道外引流术、经皮经肝穿刺内引流术、囊肿外引流术、囊肿造口术、胆总管切开取石及T管引流术等是常用的缓解胆道梗阻、控制胆道感染的方法<sup>[2]</sup>. 但经皮穿刺引流术的并发症率较高(出血、穿刺道感染、胆汁性腹膜炎、胆汁大量丢失致脂肪吸收障碍)<sup>[10]</sup>. 对于高龄、有严重心肺合并症、合并恶性肿瘤以及部分重症梗阻性化脓性胆管炎的高危患者, 行外科手术引流具有较高的术后并发症发生率和死亡率<sup>[11]</sup>. ERCP是目前处理急性胆管炎的有效方法, 具有创伤小、并发症少、术后恢复快、住院时间短等优点<sup>[12]</sup>. Caroli-Bosc等<sup>[13]</sup>对6例Caroli's病合并急性胆管炎的患者进行了ERCP联合体外震波碎石治疗, 所有患者平均随访6.2年, 其中4例患者完全取净肝内外胆管结石后无胆管炎发作, 其余患者由于残存肝内胆管结石, 随访期间仍有胆管炎复发. 作者认为影响Caroli's病合并复发性胆管炎预后的最重要因素是肝内外胆管结石是否取净. 对于频繁发作的轻症胆管炎患者, 作者认为药物保守治疗可能比内镜治疗更为有利, 但是从长远角度来说, 采用内镜治疗可以减少胆管炎复发的次数. 国内黄志强等<sup>[3]</sup>认为ERCP可诱发囊肿感染, 在单纯应用于Caroli's病诊断时应视为禁忌. 他们曾报道1例经ERCP造影检查确诊为Caroli's病的患者在术后出现了畏寒、高热等胆道感染的表现. 本例患者在内科保守治疗无效的情况下, 选择行ERCP治疗. 我们术中谨慎行胆总管造影并成功取净结石, 术毕置入鼻胆引流管以解除胆道梗阻、通畅胆道引流, 亦可促进肝内囊性病灶内容物排出. 患者术后胆道感染得以控制, 未见感染加重、胰腺炎、出血及穿孔等并发症发生, 同时也为患者争取了后续外科手术治疗的机会.

总之, 我们的初步经验提示对于内科保守治疗无效的Caroli's病合并胆道感染者, ERCP不失为一种安全、可行、有效的处理方法, 避免了急性感染期行外科手术所产生的较高的手术并发症发生率和死亡率. 由于国内罕见此类报道, 我们的经验可能为今后处理此类患者提

供一个可行的选择.

## 6 参考文献

- 1 Caroli J, Soupault R, Kossakowski J, Plocker L, Paradowska. Congenital polycystic dilation of the intrahepatic bile ducts; attempt at classification. *Sem Hop* 1958; 34: 488-95/SP [PMID: 13543375]
- 2 王鸿慧, 孔瑞, 孙备. Caroli's病的研究进展. 哈尔滨医科大学学报 2006; 40: 518-519 [DOI: 10.3969/j.issn.1000-1905.2006.06.030]
- 3 黄志强, 黄晓强, 宋青. 黄志强胆道外科手术学第2版. 北京: 人民军医出版社, 2010: 284
- 4 张荣春, 秦斌, 张林慧, 王向平, 黄蕊, 潘阳林, 郭学刚. 80岁以上高龄患者治疗性ERCP的临床分析. 中华消化内镜杂志 2011; 28: 21-23 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-5232.2011.01.006]
- 5 范震, 张啸, 张筱凤, 吕文, 黄平, 蒋楠, 赵幼安. ERCP治疗急性梗阻性化脓性胆管炎58例分析. 中华消化内镜杂志 2010; 27: 368-370 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-5232.2010.07.014]
- 6 Madjov R, Chervenkov P, Madjova V, Balev B. Caroli's disease. Report of 5 cases and review of literature. *Hepatogastroenterology* 2005; 52: 606-609 [PMID: 15816487]
- 7 吴欣, 吴孟晋, 罗生强, 杜霄壤, 冯兴中. Caroli病I、II型的临床特征-78例分析. 胃肠病学 2016; 21: 424-428 [DOI: 10.3969/j.issn.1008-7125.2016.07.008]
- 8 许广松, 秦春宏, 余芙蓉. Caroli's病的诊断与治疗研究进展. 中国现代医药杂志 2011; 13: 132-133 [DOI: 10.3969/j.issn.1672-9463.2011.08.062]
- 9 李绍强, 梁力建. 肝内胆管结石Caroli病7次手术1例分析. 中国实用外科杂志 2006; 26: 234-236 [DOI: 10.3321/j.issn.1005-2208.2006.03.034]
- 10 曾德辉, 杜国平. 梗阻性黄疸的微创引流治疗. 实用肝脏病杂志 2008; 11: 142-144 [DOI: 10.3969/j.issn.1672-5069.2008.02.028]
- 11 Minaga K, Kitano M, Imai H, Yamao K, Kamata K, Miyata T, Omoto S, Kadosaka K, Yoshikawa T, Kudo M. Urgent endoscopic ultrasound-guided choledochoduodenostomy for acute obstructive suppurative cholangitis-induced sepsis. *World J Gastroenterol* 2016; 22: 4264-4269 [PMID: 27122677 DOI: 10.3748/wjg.v22.i16.4264]
- 12 Miura F, Takada T, Strasberg SM, Solomkin JS, Pitt HA, Gouma DJ, Garden OJ, Büchler MW, Yoshida M, Mayumi T, Okamoto K, Gomi H, Kusachi S, Kiriya S, Yokoe M, Kimura Y, Higuchi R, Yamashita Y, Windsor JA, Tsuyuguchi T, Gabata T, Itoi T, Hata J, Liao KH; Tokyo Guidelines Revision Committee. TG13 flowchart for the management of acute cholangitis and cholecystitis. *J Hepatobiliary Pancreat Sci* 2013; 20: 47-54 [PMID: 23307003 DOI: 10.1007/s00534-012-0563-1]
- 13 Caroli-Bosc FX, Demarquay JF, Conio M, Peten EP, Buckley MJ, Paolini O, Armengol-Miro JR, Delmont JP, Dumas R. The role of therapeutic endoscopy associated with extracorporeal shock-wave lithotripsy and bile acid treatment in the management of Caroli's disease. *Endoscopy* 1998; 30: 559-563 [PMID: 9746166 DOI: 10.1055/s-2007-1001344]

编辑: 崔丽君 电编: 张砚梁



## 1 投稿总则

1.1 性质 《世界华人消化杂志》(*World Chinese Journal of Digestology*, WCJD, print ISSN 1009-3079, online ISSN 2219-2859, DOI: 10.11569)是一份国际性同行评议和开放获取(Open Access, OA)的学术出版物. 本刊创刊于1993年1月15日, 半月刊, 每月8和28号在线出版. 《世界华人消化杂志》编辑委员会由719位专家组成, 来自中国31个省、市、自治区以及香港特别行政区.

1.2 目的 《世界华人消化杂志》的目的是发表高质量的胃肠病学和肝病领域多学科的前沿进展和原创性文章, 促进胃肠病学和肝病事业的发展和消化系统疾病的预防、诊断和治疗水平.

1.3 范围 《世界华人消化杂志》的范围涵盖消化内科学、消化外科学、消化感染病学、消化中医药学、消化肿瘤学、消化影像学、消化内镜及介入治疗学、消化中西医结合学、消化基础研究、消化病理学和消化护理学.

1.4 栏目 《世界华人消化杂志》的栏目包括述评、基础研究、临床研究、文献综述、研究快报、临床实践和病例报告. 手稿应具有科学性、先进性、可读性和实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范且表达准确.

1.5 收录 本刊被国际检索系统《化学文摘(Chemical Abstracts, CA)》、《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》、《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》、Scopus、中国知网《中国期刊全文数据库(CNKI)》、《中文科技期刊数据库(CSTJ)》和《超星期刊域出版平台(Superstar Journals Database)》数据库收录. 《世界华人消化杂志》在Scopus数据库的2017年期刊评价指标包括: CiteScore: 0.04; SJR: 0.109; SNIP: 0.020. 本刊是由美国百世登出版集团有限公司(Baishideng Publishing Group, BPG)主办和出版的一份中文印刷版、电子版和网络版的国际核心学术刊物.

1.6 出版 《世界华人消化杂志》由Baishideng Publishing Group (BPG)编辑和出版. BPG联系地址如下:

7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton, CA 94588, USA  
E-mail: [wcjd@wjgnet.com](mailto:wcjd@wjgnet.com)

Help Desk: <https://www.baishideng.com/helpdesk>

<https://www.wjgnet.com>

Telephone: +1-925-223-8242

Fax: +1-925-223-8243

1.7 生产 《世界华人消化杂志》由北京百世登生物医学科技有限公司生产制作. 公司联系地址如下:

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号

远洋国际中心D座903室

电话: 010-5908-0035

传真: 010-8538-1893

E-mail: [wcjd@wjgnet.com](mailto:wcjd@wjgnet.com)

Help Desk: <https://www.baishideng.com/helpdesk>

<https://www.wjgnet.com>

1.8 编辑部 《世界华人消化杂志》编辑部主任马亚娟, 联系地址如下:

《世界华人消化杂志》编辑部

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号

远洋国际中心D座903室

电话: 010-5908-0035

传真: 010-8538-1893

E-mail: [yj.ma@wjgnet.com](mailto:yj.ma@wjgnet.com)

Help Desk: <https://www.baishideng.com/helpdesk>

<http://www.wjgnet.com>

1.9 编委 《世界华人消化杂志》编辑委员会成员具体名单见: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/editorialboard.htm>.

1.10 审稿 同行评议过程需要14-28天. 所有的来稿均经2-3位同行专家严格评审, 2位或以上通过为录用, 否则将退稿或手稿修改后再送同行评议.

1.11 投稿 《世界华人消化杂志》在线投稿网址见: <https://www.baishideng.com/>.

1.12 主页 《世界华人消化杂志》主页网站见: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/index.htm>.

1.13 稿酬 文章在《世界华人消化杂志》出版后, 作者可获得高质量的PDF和样刊两份作为稿酬. PDF包括封面、编委会成员名单、目次、正文和封底.

1.14 版权 著作权归作者所有. 出版版权归Baishideng Publishing Group Inc所有.

## 2 手稿要求

2.1 总体标准 手稿撰写应遵照国家标准GB7713科学技术报告、学位论文和学术论文的编写格式, GB6447文摘编写规则, GB7714文后参考文献著录规则以及GB/T 3179科学技术期刊编排格式等要求, 同时遵照国际医学期刊编辑委员会(International Committee of Medical Journal Editors)制定的《生物医学期刊投稿的统一要求(第5版)》(Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals), 具体见: Ann Intern Med 1997; 126: 36-47.

2.2 名词术语 手稿应标准化, 前后统一. 如原词过长且多次出现者, 可于首次出现时写出全称加括号内注简称, 以后直接用简称. 医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准; 药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准; 国家食品药品监督管理局批准的新药, 采用批准的药名; 创新性新药请参照我国药典委员会的“命名原则”, 新译名词应附外文. 公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称), 如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD50, HBsAg, HCV RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等. 为减少排印错误, 外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上. 中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者, 直接采用原有英语词, 如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词, 如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者, 宜用汉语拼音, 如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 通常应小写, 如weixibao nizhuanwan (胃细胞逆转丸), guizhitang (桂枝汤).

2.3 外文字符 手稿应注意大小写、正斜体与上下角标. 静脉注射应缩写为iv, 肌肉注射为im, 腹腔注射为ip, 皮下注射为sc, 脑室注射为icv, 动脉注射为ia, 口服为po, 灌胃为ig. s(秒)不能写成S, kg不能写成Kg, mL不能写成ML, lcpm (应写为1/min)÷E%(仪器效率)÷60 = Bq, pH不能写PH或PH, *H. pylori*不能写成HP, T1/2不能写成tl/2或T, Vmax不能写成Vmax,  $\mu$ 不写为英文u. 需排斜体的外文字, 用斜体表示, 包括生物学中拉丁学名的属名与种名(包括亚属、亚种、变种), 如幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*), *Ilex pubescens* Hook, *et Arn. var. glaber* Chang (命名者勿划横线); 常

数*K*; 一些统计学符号(如样本数*n*, 均数mean, 标准差SD, *F*检验, *t*检验, 概率*P*和相关系数*r*); 化学名中标明取代位的元素、旋光性和构型符号(如*N*, *O*, *P*, *S*, *d*, *l*), 例如*n*-(normal, 正), *N*-(nitrogen, 氮), *o*-(ortho, 邻), *O*-(oxygen, 氧, 习惯不译), *d*-(dextro, 右旋), *p*-(para, 对), *n*-butyl acetate (醋酸正丁酯), *N*-methylacetanilide (N-甲基乙酰苯胺), *o*-cresol (邻甲酚), 3-*O*-methyl-adrenaline (3-*O*-甲基肾上腺素), *d*-amphetamine (右旋苯丙胺), *l*-dopa (左旋多巴), *p*-aminosalicylic acid (对氨基水杨酸); 拉丁字及缩写*in vitro*, *in vivo*, *in situ*, *Ibid*, *et al*, *po*, *vs*; 用外文字母代表的物理量, 如*m* (质量), *V* (体积), *F* (力), *p* (压力), *W* (功), *v* (速度), *Q* (热量), *E* (电场强度), *S* (面积), *t* (时间), *z* (酶活性, kat), *t* (摄氏温度, °C), *D* (吸收剂量, Gy), *A* (放射性活度, Bq),  $\rho$  (密度, 体积质量, g/L), *c* (浓度, mol/L), *j* (体积分, mL/L), *w* (质量分数, mg/g), *b* (质量摩尔浓度, mol/g), *l* (长度), *b* (宽度), *h* (高度), *d* (厚度), *R* (半径), *D* (直径), *T*<sub>max</sub>, *C*<sub>max</sub>, *V*<sub>d</sub>, *T*<sub>1/2</sub> *CI*等; 基因符号, 通常用小写斜体, 如*ras*, *c-myc*; 基因产物, 用大写正体, 如P16蛋白.

2.4 计量单位 手稿应采用国际单位制并遵照有关国家标准, GB3100-3102-93量和单位. 原来的“分子量”应改为物质的相对分子质量, 如30 kDa改为*Mr* 30000或30 kDa (*M*大写斜体, *r*小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即*A<sub>r</sub>* (*A*大写斜体, *r*小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是*u* (小写正体). 计量单位在+、-及-后列出, 在±前后均要列出, 如37.6 °C ± 1.2 °C, 45.6岁 ± 24岁, 56.4 d ± 0.5 d. 3.56 ± 0.27 pg/mL应改为3.56 ng/L ± 0.27 ng/L. BP用kPa (mmHg), RBC数用1 × 10<sup>12</sup>/L, WBC数用1 × 10<sup>9</sup>/L, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L. *Mr*明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示. 1 M硫酸应改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸应改为0.5 mol/L硫酸. 长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm应写成10 cm × 6 cm × 4 cm. 生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO<sub>2</sub>结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物用mmol/L; 胆红素、蛋白结合碘、肌酐、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸用μmol/L; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L. 年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁. 国际代号应规范标识, 例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5



wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把 $1 \times 10^{-3}$  g与 $5 \times 10^{-7}$  g之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm. 国际代号不用于无数字的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d. 在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg·d), 且在整篇文章内应统一. 单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs. 半个月应为15 d; 15克应为15 g; 10%福尔马林应为40 g/L甲醛; 95%酒精应为950 mL/L乙醇; 5% CO<sub>2</sub>应为50 mL/L CO<sub>2</sub>; 1:1000肾上腺素应为1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg应改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖应改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm =  $45 \times 10^{-6}$ ; 离心的旋转频率(原称转速)应用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示.

2.5 统计学符号 统计学符号包括: (1)*t*检验用小写*t*; (2)*F*检验用英文大写*F*; (3)卡方检验用希文小写 $\chi^2$ ; (4)样本的相关系数用英文小写*r*; (5)自由度用希文小写*v*; (6)样本数用英文小写*n*; (7)概率用英文斜体大写*P*. 在统计学处理中, 在文字叙述时平均数±标准差表示为mean±SD, 平均数±标准误为mean±SE. 统计学显著性用<sup>a</sup>*P*<0.05或<sup>b</sup>*P*<0.01(*P*>0.05不注). 如同一表中另有一套*P*值, 则用<sup>c</sup>*P*<0.05和<sup>d</sup>*P*<0.01; 第三套为<sup>e</sup>*P*<0.05和<sup>f</sup>*P*<0.01等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995关于出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字. 如1000-1500 kg, 3.5 mmol/L±0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6347意指6000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的mean±SD应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3614.5 g±420.8 g, SD的1/3达一百多克, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6 kg±0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm±0.27 cm, 其SD/3 = 0.09 cm, 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位. 有效位数以后的数字是无效的, 应该舍弃. 末尾数字小于5则舍, 大于5则进, 如过恰好等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 抹尾时只可1次完成, 不得多次完成, 例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该23.48→23.5→24. 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写, 如1985年4月12日可写

作1985-04-12; 1985年4月写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30. 百分数的有效位数根据分母来定: 分母≤100, 百分数到个位; 101≤分母≤1000, 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1486 800.47565. 完整的阿拉伯数字不移行!

2.7 标点符号 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律用逗号分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末. 标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU. 外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体.

### 3 手稿全文中文格式

3.1 题名 简明确切地反映论文的特定内容, 应鲜明而有特色, 不宜以阿拉伯数字开头, 不用副题名, 一般20个字. 避免用“的研究”或“的观察”等非特定词.

3.2 作者 论文作者的署名应按照国际医学杂志编辑委员会(ICMJE, International Committee of Medical Journal Editors)作者资格标准执行, 具体标准为: (1)对研究的理念和设计、数据的获得、分析和解读做出重大贡献; (2)起草文章, 并对文章的重要知识内容进行批评性修改; (3)接受对准备发表文章的最后一稿. 作者应符合条件1, 2和3, 对研究工作有贡献的其他人可放入致谢中. 作者署名的次序按贡献大小排列, 多作者时姓名间用逗号, 如是单名, 则在姓与名之间空1格(正文和参考文献中不空格). 《世界华人消化杂志》要求所有署名人写清楚自己对文章的贡献, 不设置共同第一作者和共同通信作者.

3.3 单位 作者后写单位的全称, 空1格后再写省市及邮政编码, 格式如: 张旭晨, 梅立新, 承德医学院病理教研室 河北省承德市 067000

3.4 第一作者简介 格式如: 张旭晨, 1994年北京中医药大学硕士, 讲师. 主要从事消化系统疾病的病理研究.

3.5 作者贡献分布 格式如: 陈湘川与庞丽娟对此文所

作贡献两均等;此课题由陈湘川、庞丽娟、陈玲、杨兰、张金芳、齐妍及李洪安设计;研究过程由陈玲、杨兰、张金芳、蒋金芳、杨磊、李锋及曹秀峰操作完成;研究所用新试剂及分析工具由曹秀峰提供;数据分析由陈湘川、杨兰及庞丽娟完成;本论文写作由陈湘川、庞丽娟及李洪安完成。

3.6 基金资助项目 格式如:国家自然科学基金资助项目, No. 30224801.

3.7 通讯作者 格式如: 通讯作者: 黄缘, 教授, 330006, 江西省南昌市民德路1号, 南昌大学第二附属医院消化内科, 江西省分子医学重点实验室. huang9815@yahoo.com 电话: 0351-4078656

传真: 0351-4086337

3.8 中文摘要 举例: 基础和临床研究文章的摘要必须在350字. 摘要包括背景、目的、方法、结果和结论. 背景应简要阐述研究的基本原理和设想. 目的应阐明研究所要达到的预期效果. 方法必须包括材料或对象, 应描述课题的基本设计, 例如双盲、单盲还是开放性; 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度; 研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征; 如研究对象是患者, 应阐明其临床表现和诊断标准, 如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不良反应而中途停止研究. 结果应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确和具体, 所列数据经用何种统计学方法处理, 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值(概率写 $P$ 后应写出相应显著性检验值). 结论应给出全文总结、准确无误的观点及价值.

3.9 正文标题层次 举例: 基础和临床研究文章书写格式包括 0 引言; 1 材料和方法 (1.1 材料, 1.2 方法); 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献. 序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文. 正文内序号连排用(1), (2), (3), 以下逐条陈述.

#### 0 引言

应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系.

#### 1 材料和方法

应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验. 对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可.

#### 2 结果

实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论.

#### 3 讨论

要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾. 图表的数量要精选, 表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容. 表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出. 图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出. 同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述, 如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化.

A: …; B: …; C: …; D: …; E: …; F: …; G: … 曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号. 统计学显著性用<sup>a</sup> $P<0.05$ 或<sup>b</sup> $P<0.01$ ( $P>0.05$ 不注). 如同一表中另有一套 $P$ 值, 则用<sup>c</sup> $P<0.05$ 和<sup>d</sup> $P<0.01$ ; 第3套为<sup>e</sup> $P<0.05$ 和<sup>f</sup> $P<0.01$ .  $P$ 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$ ,  $t = 4.56$  vs 对照组等, 注在表的左下方. 表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐. “空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等. 表图勿与正文内容重复. 表图的标目尽量用 $t/\text{min}$ ,  $c/(\text{mol/L})$ ,  $p/\text{kPa}$ ,  $V/\text{mL}$ ,  $t/^\circ\text{C}$ 表达.

志谢后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐.

#### 4 参考文献

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

#### 4 手稿英文摘要书写要求

4.1 题名 文章的题名应言简意赅, 方便检索, 以不超过10个实词为宜, 应与中文题名一致.

4.2 作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名后姓;

首字母大写; 双名之间用半字线“-”分开; 多作者时姓名间加逗号。格式如: “马连生”的汉语拼写法为“Lian-Sheng Ma”。

4.3 单位 先写作者, 后写单位的全称及省市邮政编码, 例如: Xu-Chen Zhang, Li-Xin Mei, Department of Pathology, Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China

4.4 基金资助项目 格式如: Supported by National Natural Science Foundation of China, No. 30224801.

4.5 通讯作者 格式如: Correspondence to: Dr. Lian-Sheng Ma, Taiyuan Research and Treatment Center for Digestive Diseases, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China. wcjd@wjgnet.com

4.6 摘要 英文摘要包括背景、目的、方法、结果和结论, 书写要求与中文摘要一致。

## 5 手稿写作格式实例

5.1 病例报告写作格式实例 举例, 见: <https://www.wjgnet.com/bpg/gerinfo/224>

5.2 基础研究写作格式实例 举例, 见: <https://www.wjgnet.com/bpg/gerinfo/225>

5.3 临床实践写作格式实例 举例, 见: <https://www.wjgnet.com/bpg/gerinfo/227>

5.4 临床研究写作格式实例 举例, 见: <https://www.wjgnet.com/bpg/gerinfo/228>

5.5 述评写作格式实例 举例, 见: <https://www.wjgnet.com/bpg/gerinfo/229>

5.6 文献综述写作格式实例 举例, 见: <https://www.wjgnet.com/bpg/gerinfo/230>

5.7 研究快报写作格式实例: 举例, 见: <https://www.wjgnet.com/bpg/gerinfo/231>





Published by **Baishideng Publishing Group Inc**  
7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton,  
CA 94588, USA  
Fax: +1-925-223-8242  
Telephone: +1-925-223-8243  
E-mail: [bpgoffice@wjgnet.com](mailto:bpgoffice@wjgnet.com)  
<https://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

