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

2021 年 4 月 8 日　　第 29 卷　　第 7 期　　(Volume 29 Number 7)



7/2021

《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.

ISSN 1009-3079
9 771009 307056 07>

世界华人消化杂志 https://www.wjgnet.com 二零二一年四月八日 第二十九卷 第七期

WCJD 世界华人消化杂志®

目　次

2021年4月8日 第29卷 第7期 (总第675期)

述评

325 基于肠道微生态对中医外感寒湿伤脾理论的初步探讨

张晨阳, 谭周进

基础研究

332 敲除Linc00152对丝裂霉素耐药胃癌细胞NCI-N87/MMC的化疗耐药性影响及机制

吴明东, 叶洁桐, 朱蓓蕾, 叶芳敏, 汪望月

340 敲减LncRNA TPT1-AS1抑制肝癌细胞侵袭及迁移

刘清秀, 汪晓梅, 吕娇健, 卢毅, 赵园, 樊晓鹏

临床研究

347 IFOBT与肿瘤标志物、炎症指标联合检测对结直肠进展期腺瘤发生的预测价值

王绪, 张竞宇, 郑忠青, 王涛, 朴美玉, 刘恒, 刘静, 刘文天

356 结直肠癌根治术后肠道菌群、miR-10a表达变化及微生态肠内营养干预作用

金佳琪, 贾新能, 宣俊毅

文献综述

366 鼠李糖乳杆菌治疗肠易激综合征机制新进展

苏帅, 张智芳, 王欣, 王玉明, 王邦茂

临床实践

372 创伤性颅脑外伤合并急性胃肠功能损伤患者血清中热休克蛋白70水平的变化及意义

魏文桂, 张雪琴, 张艳景, 田野

病例报告

378 类鼻疽伯克霍尔德菌肝脾脓肿超声造影表现1例

高玲, 时莹瑜, 卢强

消　　息

355　《腹痛的诊断、鉴别诊断与治疗》书讯
365　《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标
382　《世界华人消化杂志》正文要求

封面故事

杨晓军, 主任医师, 兰州大学副教授, 硕士研究生导师, 甘肃省人民医院普外二科主任, 美国宾夕法尼亚大学和中国兰州大学联合培养外科学博士, 甘肃省卫生健康行业骨干人才, 青海省“昆仑英才•高端创新创业人才”项目引进人才. 专业擅长肝胆胰疾病及消化道肿瘤微创治疗. 目前担任《中国微创外科杂志》、《腹腔镜外科杂志》、《世界华人消化杂志》、《中华肝脏外科杂志电子版》编委, 还担任中国抗癌协会青年理事会常务理事, 中国抗癌协会胆道肿瘤专业委员会、中国抗癌协会肿瘤精准治疗专业委员会等协会委员. 近五年在*Cancer Research*、*Cancer Letter*、*PLoS One*等国际著名刊物发表第一作者学术论文11篇.

本期责任人

编务 王栋梅; 送审编辑 张砚梁; 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 李香; 最终清样审核总编辑 马连生

世界華人消化杂志

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 2021-04-08
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
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
王金磊, 主任
《世界华人消化杂志》编辑部
Baishideng Publishing Group Inc
7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA
Telephone: +1-925-3991568
E-mail: wcjd@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com

出版
百世登出版集团有限公司
Baishideng Publishing Group Inc
7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA
Telephone: +1-925-3991568
E-mail: 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: +86-10-85381892

《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

© 2021 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

WCJD 世界华人消化杂志®

Contents

Volume 29 Number 7 April 8, 2021

EDITORIAL

325 Preliminary study on theory of spleen injury caused by exogenous cold and dampness based on intestinal microecology
Zhang CY, Tan ZJ

BASIC RESEARCH

332 Effect and mechanisms of LINC00152 knockdown on chemotherapy resistance in mitomycin-resistant gastric cancer NCI-N87/MMC cells
Wu MD, Ye JT, Zhu BL, Ye FM, Wang WY

340 Knockdown of long non-coding RNA TPT1-AS1 inhibits invasion and migration of hepatocarcinoma cells
Liu QX, Wang XM, Lv JJ, Lu Y, Zhao Y, Fan XP

CLINICAL RESEARCH

347 Value of combined detection of IFOBT, tumor markers, and inflammatory markers in predicting occurrence of advanced colorectal adenoma
Wang X, Zhang JY, Zheng ZQ, Wang T, Piao MY, Liu H, Liu J, Liu WT

356 Changes of intestinal flora and microRNA-10a expression after radical resection of colorectal cancer: Effect of microecological enteral nutrition intervention
Jin JQ, Jia XN, Xuan JY

REVIEW

366 Mechanism of *Lactobacillus rhamnosus* in treatment of irritable bowel syndrome
Su S, Zhang ZF, Wang X, Wang YM, Wang BM

CLINICAL PRACTICE

372 Significance of changes of serum heat shock protein 70 levels in patients with traumatic brain injury and acute gastrointestinal injury
Wei WG, Zhang XQ, Zhang YJ, Tian Y

CASE REPORT

378 Contrast-enhanced ultrasound findings in liver and spleen abscesses due to infection with *Burkholderis pseudomallei*: A case report
Gao L, Shi YY, Lu Q

Contents

World Chinese Journal of Digestology
Volume 29 Number 7 April 8, 2021

COVER

Editorial Board Member of *World Chinese Journal of Digestology*, Xiao-Jun Yang, Chief Surgeon, MD, PhD, Department of General Surgery, Gansu Provincial Hospital, No. 204 Dong-gang West Road, Chengguan Dstrict, Lanzhou 730000, Gansu Province, China. yangxjmd@aliyun.com

Indexed/Abstracted by

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

RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE

Assistant Editor: *Dong-Mei Wang*
Review Editor: *Yan-Liang Zhang*
Production Editor: *Yan-Liang Zhang*
English Language Editor: *Tian-Qi Wang*
Proof Editor: *Xiang Li*
Layout Reviewer: *Lian-Sheng Ma*

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993
Renamed on January 25, 1998
Publication date April 8, 2021

NAME OF JOURNAL
World Chinese Journal of Digestology

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

EDITOR-IN-CHIEF

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
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

Jin-Lei Wang, Director
World Chinese Journal of Digestology
Baishideng Publishing Group Inc
7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA
Telephone: +1-925-3991568
E-mail: wcjd@wjgnet.com
https://www.wjgnet.com

PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Inc
7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA
Telephone: +1-925-3991568
E-mail: 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

PRINT SUBSCRIPTION

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

COPYRIGHT

© 2021 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.

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: https://www.baishideng.com

世界华人消化杂志 2021年4月8日; 29(7): 325-331

DOI: 10.11569/wcjd.v29.i7.325

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

述评 EDITORIAL

基于肠道微生态对中医外感寒湿伤脾理论的初步探讨

张晨阳, 谭周进

张晨阳, 谭周进, 湖南中医药大学 湖南省长沙市 410208

张晨阳, 博士研究生, 主要从事中医药微生态学研究.

基金项目: 国家自然科学基金, No.81874460.

作者贡献分布: 本文由张晨阳完成; 谭周进审校.

通讯作者: 谭周进, 教授, 410208, 湖南省长沙市含浦科教园区学士路300号, 湖南中医药大学. tanzhjin@sohu.com

收稿日期: 2021-01-11
修回日期: 2021-02-01
接受日期: 2021-03-15
在线出版日期: 2021-04-08

Preliminary study on theory of spleen injury caused by exogenous cold and dampness based on intestinal microecology

Chen-Yang Zhang, Zhou-Jin Tan

Chen-Yang Zhang, Zhou-Jin Tan, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, Hunan Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81874460.

Corresponding author: Zhou-Jin Tan, Professor, Hunan University of Chinese Medicine, No. 300 Xueshi Road, Hanpu Science and Education Park, Changsha 410208, Hunan Province, China. tanzhjin@sohu.com

Received: 2021-01-11
Revised: 2021-02-01
Accepted: 2021-03-15
Published online: 2021-04-08

Abstract

Exogenous cold and dampness is most likely to damage spleen Yang, which affects the spleen's function of governing transportation and dispersing essence. Human intestinal flora is widely involved in the regulation of gastrointestinal digestive functions. Therefore, based on the general understanding of the correlation between intestinal microecology and the spleen in modern research, this paper discusses the response mechanism of intestinal microflora to random exposure to cold and dampness environment in the process of gastrointestinal digestive dysfunction, and suggests that intestinal microecology imbalance may be one of the mechanisms of spleen injury caused by exogenous cold and dampness in traditional Chinese medicine.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Intestinal microecology; Exogenous cold and dampness; Spleen; Intestinal flora; Gastrointestinal dysfunction

Citation: Zhang CY, Tan ZJ. Preliminary study on theory of spleen injury caused by exogenous cold and dampness based on intestinal microecology. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2021; 29(7): 325-331
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i7/325.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i7.325

摘要

外感寒湿邪气最易伤脾阳, 影响脾主运化与脾的散精功能. 人体肠道菌群广泛参与肠道及胃肠消化生理机能的调节. 因此, 本文通过现代研究对肠道微生态与“脾”的相关性的普遍认识, 探讨机体胃肠消化功能紊乱发生的过程中肠道菌群应对寒湿环境随机暴露的响应机制, 认为肠道微生态失调可能是中医外感寒湿伤脾的形成机制之一.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 肠道微生态; 外感寒湿; 脾; 肠道菌群; 胃肠功能

紊乱

核心提要: 通过中医外感寒湿伤脾的致病机理的阐释, 结合肠道微生态与“脾”的相关性的现代中医的普遍认识, 探讨机体胃肠消化功能紊乱发生的过程中肠道菌群应对寒、湿以及寒湿环境随机暴露的外源应激干扰因素的响应机制.

文献来源: 张晨阳, 谭周进. 基于肠道微生态对中医外感寒湿伤脾理论的初步探讨. 世界华人消化杂志 2021; 29(7): 325-331
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i7/325.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i7.325

0 引言

当今由于环境应激、抗生素滥用、高糖高脂饮食习惯、过量饮酒、精神压力过大和食品安全隐患等不同诱因, 导致胃肠疾病和内分泌及代谢异常相关的胃肠症状的发病率高达3.6%-5.3%并呈现明显的上升趋势[1], 我国胃肠功能性疾病(functional gastrointestinal disorders, FGIDs)在特殊群体中发病率高达39.22%[2], 胃肠门诊FGIDs患者的就诊率接近60%[3]. 不同诱因的胃肠功能紊乱导致疾病的致病机制不同, 但临床缺乏针对不同诱因引起的腹泻疾病的特异性药物, 一般采用解痉止泻药物如洛哌丁胺等缓解功能性或器质性胃肠功能紊乱, 但效果因人而异[4]. 中医由病因认识胃肠功能疾病, 分型辨证论治缓解胃肠功能不适症状, 为临床治疗不同诱因引发的胃肠功能紊乱提供诊疗方案. 外感寒湿邪气是六淫致病的常见因素之一, 寒湿共同作用最易伤脾阳, 影响脾主运化与脾的散精功能. 人体胃肠消化系统内栖居着庞大的微生物种群, 携带大量的微生物基因, 为宿主提供一系列的微生态服务(ecosystem service)[5]. 大量研究表明[6-8], 寒湿环境应激可以导致胃肠消化疾病并影响肠道菌群的组成分布. 因此, 本文从肠道微生态平衡的角度探讨中医外感寒湿伤脾理论的可能性机制, 以期为临床寒湿应激导致的胃肠功能紊乱疾病的中医药治疗提供一定的微生态机制相关认识.

1 中医外感寒湿伤脾的致病机理

外感寒湿邪气是六淫致病的常见因素之一, 寒湿之邪皆属阴邪, 寒性凝滞收引, 湿性粘滞重浊, 最宜伤及阳气. 如《温病条辨·中焦篇》言“寒湿者, 湿与寒水之气相搏也, 盖湿水同类, 其在天之阳时为雨露, 阴时为霜雪, 在江河为水, 在土中为湿, 体本一源, 易于相合, 最损人之阳气”, 是指外感六淫之寒湿最易直接伤脾阳. 脾为中土, 喜燥恶湿; 寒湿外受最先伤及脾阳[6], 脾失健运, “湿盛则濡泻”; 外感寒湿阻滞脾胃气机, 水液输布功能失调, 导致清气不升、浊气不降, 则见纳差、腹满、便溏等.

《黄帝内经》对寒湿之邪致病的阐述中, 认为“三之气, 感于寒湿, 则民病身重附肿, 胸腹满”(《素问.六元正纪大论》), 是指寒湿直中脾胃, 阻滞气机, 则见濡泄、呕逆、胸腹痞满. 《内经》中“洞泄”病因病机的认识最能体现中医外感寒湿伤脾的理论. 《素问·金匮真言论》中言“...长夏善病洞泄寒中...”, 是指风寒或寒湿之邪易于伤及脾胃而生泄下之病, 长夏主气为湿, 湿为阴邪, 易于借助风气入侵机体, 就会产生寒湿克脾而出现洞泄[6]. 因此, 中医认为外感寒湿易伤脾, 导致脾运化升清功能受损从而形成痞满、腹胀、纳差和泄泻等一系列脾胃不适症状.

2 肠道微生态与中医“脾”的相关性

人体胃肠消化系统内栖居着庞大的微生物种群, 携带大量的细菌、古生菌和真菌基因[5], 数以万计的微生物组成微生物生态系统, 不仅广泛参与肠道及胃肠消化生理机能的调节[9], 并且可以通过水解复合碳水化合物[10]、蛋白[11]、短链脂肪酸(short chain fatty acids, SCFA)[12]、氨基酸[13]、胆酸[14]等代谢产物与宿主互作, 对促进机体能量代谢和调节机体免疫等方面发挥重要功能, 对维持人体内环境的稳定发挥重要作用[15].

中医认为“脾为中土”[16], 一方面是指脾位于中焦“与胃以膜相连耳”(《素问·太阴阳明论》), 说明脾通过胃与水谷之土气相通, 与生化、承载和受纳相关的消化功能皆属于中医“脾”相关内容; 另一方面是指脾以中土运化万物, “四季脾旺不受邪”(《金匮要略·脏腑经络先后病脉证》), 反之脾失健运导致气机失调、气血亏虚则产生其他脏腑疾病[17-19], 即“百病皆由脾胃衰而生也”(《脾胃论·脾胃盛衰论》).

中医以藏象思维对“脾”的认识与现代医学对肠道微生态的认识具有同构性. 其一, 中医认为“脾主运化水谷”, 但凡与胃肠消化相关的功能均划归五脏之“脾”, 胃肠相关疾病归为“脾”病. 肠道菌群不仅直接参与“水谷”消化, 并且可以通过宿主胃肠的局部互作参与胃肠消化疾病的发生发展. 中医认为脾的功能主要为消化吸收[20,21], 消化系统疾病多以“脾”论治, 西医功能性以及炎症性胃肠病如肠易激综合征[22]、溃疡性结肠炎[23]和克罗恩病[24]等胃肠消化功能异常疾病皆与中医“脾”病相关. 研究发现肠道菌群参与胃肠疾病的发生发展, 其主要原因是肠道菌群受饮食模式[25]、生活方式[26]以及宿主年龄[27,28]和基因[29]等多种因素的影响损伤胃肠黏膜屏障形态及功能[30,31], 不仅如此, 有研究发现肠道共生菌如变形菌门等可直接产生与胃肠道疾

病相关毒力因子, 与其有关的消化道疾病包括胃肠炎, 与克罗恩病的关联尤为密切[32]. 其二, “脾胃中土”, 其他四脏疾病均与脾胃功能虚弱相关, 肠道菌群通过其代谢产物与宿主整体互作, 广泛参与各个系统疾病的发生发展. 中医认为“脾为后天之本”, 脾主运化为气血生化之源, 脾胃为气机升降之枢纽维持人体物质与能量代谢, 脾为五脏之本濡养他脏, 因此有“内伤脾胃, 百病由生”(《脾胃论》)之说[33]. 肠道微生态相关研究认为人类肠道菌群为宿主发育、免疫成熟及代谢提供必要功能, 肥胖、二型糖尿病等代谢性系统疾病[34,35], 高血压、动脉粥样硬化等心血管系统疾病[36,37], 以及哮喘和COPD等呼吸系统疾病[38,39]中均有肠道菌群的组成及功能的改变. 因此, 现代中医逐渐认识到肠道菌群微生态可能是中医“脾”功能的重要微生物基础[33,40,41].

3 外感寒湿之邪伤脾与肠道微生态的相关性

中医认为, 六气“风、寒、暑、湿、燥、火”为正常自然界气候, 六气反常超出人体适应或抵抗范围则化为邪气致病, 即《素问·至真要大论》中所言“夫百病之生也, 皆生于风寒暑湿燥火, 以之化之变也”. 中医认为, 六淫之邪尤其是寒湿之邪易直伤脾阳, 影响脾主运化功能. 湿为阴邪, 阴长则阳消, 阴盛则阳虚. 寒湿为阴邪, 寒性凝滞收引, 湿性粘滞重浊, 皆易伤人阳气. 若寒湿之邪伤于外, 则气血经脉闭阻, 肌肉、筋骨、关节受损, 伤于内, 则脾胃之阳最易受损, 引起脘腹冷痛、呕吐腹泻、食欲不振等, 外感寒湿伤脾是寒湿之邪伤于内的典型表现.

中医“六气”与外环境相关, 肠道微生态相关研究表明环境应激和暴露对肠道菌群的影响在胃肠疾病中起到重要作用. 有研究发现[42], 热应激胁迫可以导致肠道菌群结构发生明显变化, 厚壁菌数量增加和拟杆菌数量减少导致肠道转录免疫相关基因差异表达; 丁酸盐产生菌仅在模拟高原极端缺氧环境生存小鼠的肠道中定殖, 以应对缺氧环境下肠道的应激作用[43]; 肠道菌群在不同环境暴露中不断重塑以应对机体免疫反应及发育参与胃肠疾病的发生发展[44,45]; 内毒素及微生物暴露如多种微生物相关模式识别分子(pathogen-associated molecular patterns, PAMP)可能是不同环境暴露作用的共有关键因子之一, PAMP可能是胃肠道环境保护效应的关键因素之一[46,47]; 过氧化堆积可破坏肠道屏障、诱导肠道氧化应激和炎症反应, 氧化蛋白可改变肠道微生物区系[48].

3.1 外感寒邪所致肠道损伤与肠道微生态 一般认为, 不同于机体自身阳气不足或脏腑功能虚衰导致的温煦、气化功能减退而产生的自生“内寒”, 外感寒邪基本为三类, 即天之寒气、地之寒气和人之寒气. 清.柯琴在《伤寒来苏集》中记载到: “寒之伤人有三: 早晚雾露, 四时风雨, 冬春霜雨, 此天之寒气也; 幽居日广室, 砖地石阶, 大江深泽, 邃谷高山, 地之寒气也; 好饮寒泉, 喜食生冷, 酷嗜瓜果, 误服冷药, 人之寒气也.”无论“天之寒气”、“地之寒气”, 还是由于“喜食生冷、酷嗜瓜果、误食冷药”滋生的“人之寒气”, 都是来自外界, 中医学上称其为外寒, 常见于低温环境暴露引起的胃肠消化功能失调.

一般认为, 低温环境胁迫可以激活中枢及周围应激系统, 改变应激因子、胃肠激素、神经递质及脑肠肽的水平, 对胃肠黏膜屏障、脑-肠轴、胃肠动力与胃肠电活动等方面产生影响, 造成胃肠功能紊乱, 引起消化道疾病[49]. 有研究表明[6], 冷环境模拟的外感寒湿可直中脾阳导致小鼠腹泻、肠黏膜结构损伤, 并减少肠道内乳酸菌定殖、促进肠道内大肠杆菌增殖. 因此, 我们认为肠道微生物稳态可能参与低温环境胁迫引起的胃肠功能紊乱的形成. 研究发现寒冷环境可以引起宿主肠道菌群多样性减少, 使*Planctomycetes*、拟杆菌门和疣微菌门类群显著减少, *Cetobacterium somerae*、*Vibrionales*类群显著增加, 并遗传性选择肠道菌群的组成结构, 并可以提高宿主对寒冷温度的适应力和体温调节能力[7]. 连续给予冰水刺激的SD大鼠肠道棒状杆菌属、拟杆菌属、曲霉菌属、布劳特氏菌属、SMB53菌属的相对丰度发生显著变化[50]. 一方面, 肠道微生物稳态失衡引起的胃肠功能障碍的可能性机制是冷刺激可以诱导小鼠胆固醇转化为胆汁酸产生, 导致肠道菌群结构的重塑, 并促进适应性产热[51]. 冷环境暴露和冷应激可引起肠上皮屏障功能损伤, 有文献报道冷应激可促进肥大细胞增殖, 导致肠道的小肠上皮细胞增值速率受损并引起小肠炎症、增加肠道通透性, 从而加重腹泻程度. 另一方面, 肠道微生物稳态的平衡的维系可以提高肠道应对低温胁迫的抗性, 有研究发现果蝇肠道菌群, 尤其是肠道共生菌群中*K. michiga-nensis BD177*菌的定殖通过精氨酸和脯氨酸代谢途径有助于提高果蝇特定抗寒相关转录蛋白基因表达, 从而维持肠道炎症相关线粒体活动[8].

肠道微生物群对脂肪代谢的调节功能可能是其参与低温胁迫对胃肠功能影响的重要环节之一. 脂肪组织分布遍及全身, 是重要的冷暴露应答器官, 有研究发现冷暴露可以通过激活脂肪产热代谢进而缓解肥胖、糖尿病等代谢紊乱症状[52]. 冷条件暴露影响小鼠肠道菌群组成, 冷应激环境下的肠道微生物群可以调节肠道微生物群调节白色脂肪组织的褐变和棕色脂肪组织的活性以应对低温胁迫, 低温损伤肠道激活炎症因子IL-4, 菌群替代激活的M2巨噬细胞(在IL-4刺激后获得)导致酪氨酸羟化酶(儿茶酚胺生物合成途径中的一种关键酶)

表 1 外感寒湿之邪伤脾与肠道微生态的相关认识

外源性应激	中医外感邪气	主要的中医理论认识	宿主肠道微生态影响	参考文献
低温	寒邪	“阴生则阳病”(《素问•阴阳应象大论》, 外感寒邪, 损伤脾阳, 脾阳不足、脾胃虚寒, 脾虚无以运化水湿; 寒气客于小肠, 小肠不得成聚, 故后泄腹痛矣(《素问•举痛论》)	菌群多样性下降; *Cetobacterium somerae*↑、*Vibrio cholerae*↑; *Prevotella* sp.↓、*Streptococcus luteciae*↓、Bacteroidetes↓、Christensenellaceae↓、Succinivibrionaceae↓、Clostridiaceae↓	7
			*K. michiga–nensis BD177*可增加宿主耐寒能力	8
			菌群多样性改变; 棒状杆菌属↓、拟杆菌属↓、曲霉菌属↑、布劳特氏菌属↓、SMB53菌属↑	50
			厚壁菌科*Ruminococcaceae*↑	53
高湿	湿邪	湿从外受, 常先困脾, 脾失健运, 湿从内生; “湿胜则濡泄”(《素问•阴阳应象大论》); “湿浊伤下”、“诸湿肿满皆属于脾”(《灵枢•百病始生篇》)	多样性改变; Verrucomicrobia(疣微杆菌门)为高湿环境的特有菌; *Bilophila*(嗜胆菌属)↓、*Blautia*(布劳特氏菌属)↓、*Facklamia*(费克蓝姆氏菌属)↓、*Methyloversatilis*(亲甲基醇菌属)↓; *Actinomyces*(放线菌属)↑、*Aggregatibacter*(聚合菌属)↑、*Alistipes*(另枝菌属)↑、*Allobaculum*(别样棒菌属)↑等	67
			大肠杆菌菌落计数↑、乳酸杆菌菌落计数↑、双歧杆菌菌落计数↑	59
			多样性增高; *Bacteroides*、*Parabacteroides*和*Mucispirillum*的丰度显著改变	61
低温+高湿	寒湿之邪	“三之气, 感于寒湿, 则民病身重附肿, 胸腹满”(《素问•六元正纪大论》)	大肠杆菌计数↑、乳酸杆菌计数↓、双歧杆菌计数↓	7

的表达增加, 增加去甲肾上腺素含量和脂肪褐色细胞的产热基因表达[53], 增加产热能力以应对冷条件暴露对宿主机能的影响. 可见, 寒冷环境对机体脂质代谢起到重要作用, 胆汁酸作为胃肠调节功能的重要产物在脂类代谢过程中必不可少, 脂类代谢异常导致的胆汁酸的合成通过肠法尼甾体X受体的活性被抑制, 胆汁酸性消化不良常常表现为胃肠症状[54-56].

3.2 外感湿邪所致肠道损伤与肠道微生态 湿为阴邪, 易阻滞气机, 损伤阳气. 水为湿之甚, 湿为水之渐, 凡阴雨连绵或大雨傍沱的天气, 均易致湿气弥漫, 如《三因极一病证方论·叙中湿论》云: “夫湿者, 在天为雨.” 湿为有形之邪, 侵犯人体, 易留滞脏腑经络, 阻碍气机的运行. 湿邪侵犯人体可使人体出现沉重、重着的症状. 《灵枢·百病始生》曰: “浊湿伤下”. “浊”, 即浑浊、秽浊不清之意. 湿邪为病, 其分泌物和排泄物的性质具有秽浊不清的特点.

高湿环境应激可以造成胃肠功能性障碍, 张六通等[57]发现大鼠在高湿环境下胃肠及肺肾等均存在一定程度的病理学改变, 大鼠出现消瘦、呆滞、大便不成形的情况. 有研究通过对大鼠在高湿热环境下胃溃疡疾病情况的研究发现, 迷走神经的切断对恶劣环境下大鼠的胃溃疡形成有抑制作用, 说明迷走神经参与高湿热环境对胃溃疡形成的干预机制[58]. 其机制可能是通过影响胃肠动力、胃肠激素的分泌以及影响氧自由基代谢等影响胃肠道健康, 从而造成人的消化吸收不良、胃肠功能紊乱及炎症. 肠道微生物微生态在高湿环境下的可能会加重胃肠粘膜屏障的损伤, 人工控制的高湿度实验发现大鼠的空肠和结肠中大肠杆菌与常温常湿组的比较菌落值明显升高[59]. 高湿环境下霉菌大量滋生, 易诱发肠道炎症以及过敏性疾病, 加重胃肠功能, 尤其是亲水性真菌、细菌在高湿环境下的生存能力大幅上升, 微生物的孢子、菌丝碎片、有害片段如内毒素、脂多糖以及挥发性有机化合物等可对粘膜及皮肤屏障产生损害[60]. 高湿高温环境下培养的小鼠肠道16S rDNA基因测序发现菌群多样性与结构发生改变, 主要表现在*Bacteroides*, *Mucispirillum*和*Parabacteroides*相对丰度的显著改变, 并且伴随肠粘膜通透性增加, 肠粘膜免疫系统pIgR、SIgA和IgA表达降低, NLR免疫识别信号通路NOD1激活, NOD2、NF-κB、pIgR等相关基因表达增加, 导致肠周相关炎症因子增多, 加重局部炎症反应[61].

3.3 外感寒湿所致肠道损伤与肠道微生态 《内经》言“湿盛则濡泻”, 《圣济总录·濡泄》解释为“寒客下焦, 传为濡泻, 夫脾为五脏之至阴, 其性恶寒湿, 今寒湿之气, 内客于脾, 则不能埤助胃气, 腐熟水谷. 致清浊不分, 水入肠间, 虚莫能制, 故洞泄如水, 随气而下, 谓之濡泻.” 寒湿共同作用, 寒伤脾阳, 影响脾主运化与脾的散

精功能. 脾主运化功能失常, 则见纳差、腹满、便溏、水湿停聚、肢体沉重疼痛、困倦不举; 阻滞气机, 则见濡泻、呕逆、胸腹痞满等. 中医认为, 寒邪与湿邪常联合致病, 即《医原·卷中·内伤大要论》认为: “阳虚必生内寒, 内寒必生内湿.” 寒邪客内, 阻滞气血津液的运行, 可致水湿内生从而使原来单纯的寒证变成寒湿证; 湿邪阻滞阳气日久, 使阳气损伤, 以致阳气不足, 阳虚生内寒或素体阳虚感受湿邪, 亦使单纯的湿证, 变成寒湿之证. 可见寒湿之邪更易引起脾胃功能失常.

外感寒湿邪气引起的肠道微生态及肠道损伤的机制研究较少, 有研究发现[6], 对寒湿干预下的小鼠结肠段做细菌培养计数有显著变化, 寒湿环境干预小鼠结肠中大肠杆菌计数显著升高, 乳酸杆菌和双歧杆菌计数显著降低. 其次, 中医认为寒凉药物误用过用错用, 导致寒邪客脾、脾阳虚衰, 运化无权、脾虚生湿, 寒湿之邪困于脾胃而凝聚不散, 因此也属于外邪寒湿致病的范畴[62]. 现代中医把抗生素滥用带来的部分副作用视为寒凉邪气, 长期的抗生素滥用最易引起反复性腹泻[63]. 抗生素相关腹泻最常见的证候是寒湿困脾证[64], 因此部分现代中医认为抗生素是苦寒类药物, 寒凉类药物造成的脾胃功能紊乱属于外感寒湿伤脾的范畴. 抗生素滥用过用易导致肠道菌群紊乱, 其特征是肠道微生物区系紊乱, 肠道SCFA浓度降低, 腔内碳水化合物和结肠胆汁酸积累, 水分吸收改变, 最终导致腹泻[65]. 虽然, 中医认为感于寒湿最易损伤脾阳, 但是由于外界寒湿环境引起的肠道微生物介导的胃肠功能及损伤相关直接研究的缺乏, 中医“外感寒湿伤脾”的现代微生态机制需要我们做进一步的研究.

4 结论

中医认为人与自然是一个有机的整体, 自然界的变化能够影响人的生理功能和病理变化, 人在长期的进化过程中也形成了适应自然气候变化的生理功能特点, 而肠道微生物在人体应对环境适应的调控过程中起到关键作用. 中医认为寒湿自然气候反常超出人体适应或抵抗范围则化为寒湿邪气, 寒湿直中脾胃, 导致纳差、腹满、便溏、水湿停聚等脾阳虚症状, 即外感寒湿伤脾. 外感寒湿损伤脾阳一般表现为卫表之气不固, 外感风寒湿, 寒湿阻遏表阳、直中脾胃、阻滞气机, 临床上常见濡泻、呕逆、胸腹痞满的寒湿困脾证, 治以解表散寒与化湿理气. 临床通过对比患者过粪便球杆细菌比例发现, 居住于寒湿环境的胃肠功能紊乱患者中78.6%伴有菌群失调[66]. 由此可见, 临床中医外感寒湿伤脾与肠道微生物稳态失衡有着密不可分的关系, 肠道微生物的相关研究可以为中医“外感寒湿伤脾”理论的现代认识提供一定的参考价值.

如表1, 寒湿环境应激和暴露导致的肠道微生态改变可能是中医外感寒湿之邪引起的脾运化失调的内涵之一. 人体胃肠消化系统内栖居着庞大的微生物种群, 不仅参与肠道及胃肠消化生理机能的调节, 也广泛参与各种身体机能和疾病发生进程的调控. 基于肠道菌群作为一种高度复合的生态体系应对外源寒湿应激干扰因素的响应机制复杂, 虽然外源寒湿应激损伤胃肠功能并导致肠道菌群组成与多样性改变, 但寒湿共同作用伤脾阳, 影响脾主运化与脾的散精功能的系统微生物机制尚未清晰. 因此, 鉴于临床上由于现代生活方式的改变, 人们喜食寒凉之品, 寒湿应激导致的胃肠不适的情况越来越严重, 中医临床上以“寒湿伤脾”论治效果显著, 但是中医药对其发挥治疗作用的机制尚未清晰. 肠道微生态失调可能参与中医外感寒湿伤脾的形成机制的普遍认识, 从肠道菌群与机体互作层面的中医外感寒湿伤脾理论的微生物机制的研究有利于为我们中医药机制的认识与药物产品开发转化提供一定的思路与方法.

5 参考文献

1 Ma C, Congly SE, Novak KL, Belletrutti PJ, Raman M, Woo M, Andrews CN, Nasser Y. Epidemiologic Burden and Treatment of Chronic Symptomatic Functional Bowel Disorders in the United States: A Nationwide Analysis. *Gastroenterology* 2021; 160: 88-98.e4 [PMID: 33010247 DOI: 10.1053/j.gastro.2020.09.041]

2 Li C, Xu J, Yin D, Zhang Y, Shan D, Jiang X, Shang L. Prevalence and trigger factors of functional gastrointestinal disorders among male civil pilots in China. *Sci Rep* 2021; 11: 2021 [PMID: 33479463 DOI: 10.1038/s41598-021-81825-0]

3 贾文君, 杜锦辉. 功能性胃肠病的中西医诊治与进展. 实用中医内科杂志 2021; 1-6

4 Berens S, Schaefert R, Baumeister D, Gauss A, Eich W, Tesarz J. Does symptom activity explain psychological differences in patients with irritable bowel syndrome and inflammatory bowel disease? Results from a multi-center cross-sectional study. *J Psychosom Res* 2019; 126: 109836 [PMID: 31627144 DOI: 10.1016/j.jpsychores.2019.109836]

5 Costello EK, Stagaman K, Dethlefsen L, Bohannan BJ, Relman DA. The application of ecological theory toward an understanding of the human microbiome. *Science* 2012; 336: 1255-1262 [PMID: 22674335 DOI: 10.1126/science.1224203]

6 李蓉. 基于小鼠外感寒湿模型探讨外感寒湿伤脾机制的理论及实验研究. 湖北中医药大学 2016

7 Kokou F, Sasson G, Nitzan T, Doron-Faigenboim A, Harpaz S, Cnaani A, Mizrahi I. Host genetic selection for cold tolerance shapes microbiome composition and modulates its response to temperature. *Elife* 2018; 7 [PMID: 30454554 DOI: 10.7554/eLife.36398]

8 Raza MF, Wang Y, Cai Z, Bai S, Yao Z, Awan UA, Zhang Z, Zheng W, Zhang H. Gut microbiota promotes host resistance to low-temperature stress by stimulating its arginine and proline metabolism pathway in adult Bactrocera dorsalis. *PLoS Pathog* 2020; 16: e1008441 [PMID: 32294136 DOI: 10.1371/journal.ppat.1008441]

9 Pimentel M, Lembo A. Microbiome and Its Role in Irritable Bowel Syndrome. *Dig Dis Sci* 2020; 65: 829-839 [PMID: 32026278

DOI: 10.1007/s10620-020-06109-5]
10 Fu X, Liu Z, Zhu C, Mou H, Kong Q. Nondigestible carbohydrates, butyrate, and butyrate-producing bacteria. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2019; 59: S130-S152 [PMID: 30580556 DOI: 10.1080/10408398.2018.1542587]
11 Kårlund A, Gómez-Gallego C, Turpeinen AM, Palo-Oja OM, El-Nezami H, Kolehmainen M. Protein Supplements and Their Relation with Nutrition, Microbiota Composition and Health: Is More Protein Always Better for Sportspeople? *Nutrients* 2019; 11 [PMID: 31013719 DOI: 10.3390/nu11040829]
12 Melbye P, Olsson A, Hansen TH, Søndergaard HB, Bang Oturai A. Short-chain fatty acids and gut microbiota in multiple sclerosis. *Acta Neurol Scand* 2019; 139: 208-219 [PMID: 30427062 DOI: 10.1111/ane.13045]
13 Han S, Gao J, Zhou Q, Liu S, Wen C, Yang X. Role of intestinal flora in colorectal cancer from the metabolite perspective: a systematic review. *Cancer Manag Res* 2018; 10: 199-206 [PMID: 29440929 DOI: 10.2147/CMAR.S153482]
14 Opyd PM, Jurgoński A, Juśkiewicz J, Fotschki B, Koza J. Comparative Effects of Native and Defatted Flaxseeds on Intestinal Enzyme Activity and Lipid Metabolism in Rats Fed a High-Fat Diet Containing Cholic Acid. *Nutrients* 2018; 10 [PMID: 30154372 DOI: 10.3390/nu10091181]
15 Krautkramer KA, Fan J, Bäckhed F. Gut microbial metabolites as multi-kingdom intermediates. *Nat Rev Microbiol* 2021; 19: 77-94 [PMID: 32968241 DOI: 10.1038/s41579-020-0438-4]
16 秦微, 王彩霞. 脾属土的文化渊源及内涵. 中华中医药杂志2016; 31: 2054-2056
17 张晨阳, 王维, 陈文慧. 基于气机失调初步探讨非酒精性脂肪肝的病机. 时珍国医国药2018; 29: 1148-1150
18 王方维, 孟静岩, 马佐英, 王逸, 何天恩. 从脾论治肺系疾病的理论探析. 天津中医药大学学报 2016; 35: 347-350 [DOI: 10.11656/j.issn.1673-9043.2016.05.16]
19 余文雯, 谢欣颖, 杨小红. 从肺脾肾论治骨质疏松症. 中医研究 2019; 32: 1-3
20 徐俊. 参苓白术散对脾虚泄泻大鼠消化吸收功能的影响. 中医学报 2020; 2: 1-4
21 吴璐, 赖艳, 王莹, 吴维刚, 杨华生. 基于Maillard反应从消化功能的角度探讨麦芽“炒香醒脾”作用机制. 中华中医药学刊 2019; 37: 2905-2910 [DOI: 10.13193/j.issn.1673-7717.2019.12.021]
22 李艳波, 朱永革, 罗昭琼, 蒙晓冰. 中西结合疗法治疗肠易激综合征脾虚湿盛证疗效观察. 山西中医 2020; 36: 30-32
23 郑洁, 朱莹, 高昂. 溃结宁膏穴位敷贴对溃疡性结肠炎(脾肾阳虚证)大鼠TLR4/MyD88/NF-κB信号通路的影响. 广州中医药大学学报 2019; 36: 1593-1598 [DOI: 10.13359/j.cnki.gzxbtcm.2019.10.021]
24 王赏. 肠疡安汤治疗克罗恩病脾肾阳虚证的临床疗效观察. 湖南中医药大学 2014
25 Wang LJ, Yang CY, Chou WJ, Lee MJ, Chou MC, Kuo HC, Yeh YM, Lee SY, Huang LH, Li SC. Gut microbiota and dietary patterns in children with attention-deficit/hyperactivity disorder. *Eur Child Adolesc Psychiatry* 2020; 29: 287-297 [PMID: 31119393 DOI: 10.1007/s00787-019-01352-2]
26 Haro C, García-Carpintero S, Rangel-Zúñiga OA, Alcalá-Díaz JF, Landa BB, Clemente JC, Pérez-Martínez P, López-Miranda J, Pérez-Jiménez F, Camargo A. Consumption of Two Healthy Dietary Patterns Restored Microbiota Dysbiosis in Obese Patients with Metabolic Dysfunction. *Mol Nutr Food Res* 2017; 61 [PMID: 28940737 DOI: 10.1002/mnfr.201700300]
27 Xi Y, Shuling N, Kunyuan T, Qiuyang Z, Hewen D, ChenCheng G, Tianhe Y, Liancheng L, Xin F. Characteristics of the intestinal flora of specific pathogen free chickens with age. *Microb Pathog* 2019; 132: 325-334 [PMID: 31082529 DOI: 10.1016/j.micpath.2019.05.014]
28 Korpela K, Blakstad EW, Moltu SJ, Strømmen K, Nakstad B, Rønnestad AE, Brække K, Iversen PO, Drevon CA, de Vos W. Intestinal microbiota development and gestational age in preterm neonates. *Sci Rep* 2018; 8: 2453 [PMID: 29410448 DOI: 10.1038/s41598-018-20827-x]
29 Dayama G, Priya S, Niccum DE, Khoruts A, Blekhman R. Interactions between the gut microbiome and host gene regulation in cystic fibrosis. *Genome Med* 2020; 12: 12 [PMID: 31992345 DOI: 10.1186/s13073-020-0710-2]
30 Pellegrini C, Antonioli L, Colucci R, Blandizzi C, Fornai M. Interplay among gut microbiota, intestinal mucosal barrier and enteric neuro-immune system: a common path to neurodegenerative diseases? *Acta Neuropathol* 2018; 136: 345-361 [PMID: 29797112 DOI: 10.1007/s00401-018-1856-5]
31 Shen S, Zhao J, Dai Y, Chen F, Zhang Z, Yu J, Wang K. Methamphetamine-induced alterations in intestinal mucosal barrier function occur via the microRNA-181c/ TNF-α/tight junction axis. *Toxicol Lett* 2020; 321: 73-82 [PMID: 31862507 DOI: 10.1016/j.toxlet.2019.12.020]
32 Hamilton AL, Kamm MA, Ng SC, Morrison M. Proteus spp. as Putative Gastrointestinal Pathogens. *Clin Microbiol Rev* 2018; 31 [PMID: 29899011 DOI: 10.1128/CMR.00085-17]
33 王文炎, 梁凤霞. 基于脾胃理论探讨“肠道微生物菌群为后天之本”. 世界中医药 2020; 15: 3062-3064 [DOI: 10.3969/j.issn.1673-7202.2020.20.012]
34 Sebastián Domingo JJ, Sánchez Sánchez C. From the intestinal flora to the microbiome. *Rev Esp Enferm Dig* 2018; 110: 51-56 [PMID: 29271225 DOI: 10.17235/reed.2017.4947/2017]
35 Ma Q, Li Y, Li P, Wang M, Wang J, Tang Z, Wang T, Luo L, Wang C, Wang T, Zhao B. Research progress in the relationship between type 2 diabetes mellitus and intestinal flora. *Biomed Pharmacother* 2019; 117: 109138 [PMID: 31247468 DOI: 10.1016/j.biopha.2019.109138]
36 Marcelino G, Hiane PA, Freitas KC, Santana LF, Pott A, Donadon JR, Guimarães RCA. Effects of Olive Oil and Its Minor Components on Cardiovascular Diseases, Inflammation, and Gut Microbiota. *Nutrients* 2019; 11 [PMID: 31394805 DOI: 10.3390/nu11081826]
37 Amar J. [Host-microbiota crosstalk and cardiovascular diseases]. *Presse Med* 2018; 47: 775-779 [PMID: 29909161 DOI: 10.1016/j.lpm.2018.03.016]
38 Chunxi L, Haiyue L, Yanxia L, Jianbing P, Jin S. The Gut Microbiota and Respiratory Diseases: New Evidence. *J Immunol Res* 2020; 2020: 2340670 [PMID: 32802893 DOI: 10.1155/2020/2340670]
39 Trivedi R, Barve K. Gut microbiome a promising target for management of respiratory diseases. *Biochem J* 2020; 477: 2679-2696 [PMID: 32726437 DOI: 10.1042/BCJ20200426]
40 张晨阳, 刘天浩, 王维, 姚政, 易杨, 肖倩, 陈文慧. 论肠道微环境是从脾论治肝病的重要生物学基础. 中华中医药杂志 2019; 34: 2877-2880
41 高丽娟, 刘立, 李龙龙, 周亚兰, 吕若琳, 周亚楠, 黄生辉. 基于微生物-肠-脑轴的脾胃为后天之本理论探讨. 时珍国医国药 2019; 30: 1449-1450
42 Duan Y, Xiong D, Wang Y, Li H, Dong H, Zhang J. Toxic effects of ammonia and thermal stress on the intestinal microbiota and transcriptomic and metabolomic responses of Litopenaeus vannamei. *Sci Total Environ* 2021; 754: 141867 [PMID: 32898779 DOI: 10.1016/j.scitotenv.2020.141867]
43 Han N, Pan Z, Huang Z, Chang Y, Hou F, Liu G, Yang R, Bi Y. Effects of Myeloid Hif-1β Deletion on the Intestinal Microbiota in Mice under Environmental Hypoxia. *Infect Immun* 2020; 89 [PMID: 33106294 DOI: 10.1128/IAI.00474-20]
44 Pang M, Yao Z, Chen C, Lei X, Cheng B. Human-microorganism mutualism theory: Possible mechanisms for the delayed chronic wound healing process. *Med Hypotheses* 2020; 141: 109720 [PMID: 32298919 DOI: 10.1016/j.mehy.2020.109720]
45 Durack J, Christophersen CT. Human Respiratory and Gut

Microbiomes-Do They Really Contribute to Respiratory Health? *Front Pediatr* 2020; 8: 528 [PMID: 33014929 DOI: 10.3389/fped.2020.00528]
46 Ma HD, Zhao ZB, Ma WT, Liu QZ, Gao CY, Li L, Wang J, Tsuneyama K, Liu B, Zhang W, Zhou Y, Gershwin ME, Lian ZX. Gut microbiota translocation promotes autoimmune cholangitis. *J Autoimmun* 2018; 95: 47-57 [PMID: 30340822 DOI: 10.1016/j.jaut.2018.09.010]
47 林新鎏, 郑振宇, 任霞, 杨朝崴, 苏钟, 李靖. 环境暴露在过敏性疾病中的重要作用. 中华临床免疫和变态反应杂志 2019; 13: 276-282
48 Ge Y, Lin S, Li B, Yang Y, Tang X, Shi Y, Sun J, Le G. Oxidized Pork Induces Oxidative Stress and Inflammation by Altering Gut Microbiota in Mice. *Mol Nutr Food Res* 2020; 64: e1901012 [PMID: 31845486 DOI: 10.1002/mnfr.201901012]
49 刘同亭, 吕倩, 韩玮, 袁静, 魏巍, 许林. 低温环境对胃肠功能的影响及改善措施. 中华消化病与影像杂志(电子版) 2020; 10: 214-219
50 林荣辉, 牛婷立, 王轩, 高璐佼, 洪洁薇, 孟繁超, 程祯祯, 杨峥, 吕晓燕, 冯前进, 杨学智, 牛欣. 寒凉刺激对大鼠肠道菌群的影响. 中华中医药杂志 2020; 35: 128-132
51 Worthmann A, John C, Rühlemann MC, Baguhl M, Heinsen FA, Schaltenberg N, Heine M, Schlein C, Evangelakos I, Mineo C, Fischer M, Dandri M, Kremoser C, Scheja L, Franke A, Shaul PW, Heeren J. Cold-induced conversion of cholesterol to bile acids in mice shapes the gut microbiome and promotes adaptive thermogenesis. *Nat Med* 2017; 23: 839-849 [PMID: 28604703 DOI: 10.1038/nm.4357]
52 卢环宇, 骆文静. 低温环境在代谢性疾病防治中的转化应用. 中华疾病控制杂志 2020; 24: 745-747+784 [DOI: 10.16462/j.cnki.zhjbkz.2020.07.001.]
53 Moreno-Navarrete JM, Fernandez-Real JM. The gut microbiota modulates both browning of white adipose tissue and the activity of brown adipose tissue. *Rev Endocr Metab Disord* 2019; 20: 387-397 [PMID: 31776853 DOI: 10.1007/s11154-019-09523-x]
54 Sagar NM, McFarlane M, Nwokolo C, Bardhan KD, Arasaradnam RP. Mechanisms of triglyceride metabolism in patients with bile acid diarrhea. *World J Gastroenterol* 2016; 22: 6757-6763 [PMID: 27570415 DOI: 10.3748/wjg.v22.i30.6757]
55 Zhan K, Zheng H, Li J, Wu H, Qin S, Luo L, Huang S. Gut Microbiota-Bile Acid Crosstalk in Diarrhea-Irritable Bowel Syndrome. *Biomed Res Int* 2020; 2020: 3828249 [PMID: 33274207 DOI: 10.1155/2020/3828249]
56 Hua YL, Ma Q, Zhang XS, Jia YQ, Peng XT, Yao WL, Ji P, Hu JJ, Wei YM. Pulsatilla Decoction Can Treat the Dampness-Heat Diarrhea Rat Model by Regulating Glycerinphospholipid Metabolism Based Lipidomics Approach. *Front Pharmacol* 2020; 11: 197 [PMID: 32194420 DOI: 10.3389/fphar.2020.00197]
57 张六通, 梅家俊, 黄志红, 邱幸凡, 周安方, 成肇智. 外湿致病机理的实验研究. 中医杂志 1999; 8: 496-498 [DOI: 10.13288/j.11-2166/r.1999.08.030.]
58 秦明, 饶志仁, 王景杰, 赵曙光, 杨琦, 刘震雄, 王旭霞, 黄裕新. 预先膈下迷走神经切断术对高湿热应激大鼠胃黏膜损伤的影响. 胃肠病学和肝病学杂志 2010; 19: 985-987
59 王菁. 基于“脾恶湿”探讨湿因素对大鼠各肠段免疫因子和肠道菌群的影响. 北京中医药大学 2014
60 王莹, 齐阳, 刘桢桢, 韩易, 王苏苏, 李桂香, 黄文. 中链甘油三酯对模拟高热高湿环境下小鼠抗疲劳的作用. 热带医学杂志 2017; 17: 1-4
61 Deng L, Xu H, Liu P, Wu S, Shi Y, Lv Y, Chen X. Prolonged exposure to high humidity and high temperature environment can aggravate influenza virus infection through intestinal flora and Nod/RIP2/NF-κB signaling pathway. *Vet Microbiol* 2020; 251: 108896 [PMID: 33091794 DOI: 10.1016/j.vetmic.2020.108896]
62 王立柱. 泄泻从湿论治探讨. 吉林中医药 2009; 29: 196-197 [DOI: 10.13463/j.cnki.jlzyy.2009.03.006.]
63 肖红岩. 基于“苦寒伤胃”的抗生素相关性腹泻的发病学初探. 山东中医药大学 2013
64 王云鹏. 成人抗生素相关性腹泻的中医证候分布规律研究. 山东中医药大学 2014
65 Mekonnen SA, Merenstein D, Fraser CM, Marco ML. Molecular mechanisms of probiotic prevention of antibiotic-associated diarrhea. *Curr Opin Biotechnol* 2020; 61: 226-234 [PMID: 32087535 DOI: 10.1016/j.copbio.2020.01.005]
66 刘旭, 郭晓钟, 李宏宇, 赵佳钧. 寒区军人功能性腹泻患者菌群失调临床研究. 临床军医杂志 2017; 45: 787-789 [DOI: 10.16680/j.1671-3826.2017.08.05]
67 周欣芸. 高湿环境对小鼠的哮喘发展及肠道菌群影响的研究. 西南交通大学 2019

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁



WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: https://www.baishideng.com

世界华人消化杂志 2021年4月8日; 29(7): 332-339

DOI: 10.11569/wcjd.v29.i7.332

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

基础研究 BASIC RESEARCH

敲除Linc00152对丝裂霉素耐药胃癌细胞NCI–N87/MMC的化疗耐药性影响及机制

吴明东, 叶洁桐, 朱蓓蕾, 叶芳敏, 汪望月

吴明东, 叶洁桐, 朱蓓蕾, 叶芳敏, 丽水市人民医院药学部 浙江省丽水市 323000

汪望月, 浙江省人民医院消化内科 浙江省杭州市 310000

吴明东, 主要从事消化系统疾病相关的临床药学研究.

基金项目: 丽水市公益性技术应用研究计划项目, No.2019SJZC47.

作者贡献分布: 此课题由吴明东与汪望月设计; 研究过程由吴明东和叶洁桐操作完成; 研究所用试剂由吴明东和汪望月提供; 数据分析由朱蓓蕾和叶芳敏完成; 本论文写作由吴明东和汪望月完成.

通讯作者: 汪望月, 主任医师, 310000, 浙江省杭州市下城区上塘路158号 浙江省人民医院消化内科. wangwangyue2544@aliyun.com

收稿日期: 2021–01–18
修回日期: 2021–02–08
接受日期: 2021–03–15
在线出版日期: 2021–04–08

Effect and mechanisms of LINC00152 knockdown on chemotherapy resistance in mitomycin-resistant gastric cancer NCI-N87/MMC cells

Ming-Dong Wu, Jie-Tong Ye, Bei-Lei Zhu, Fang-Min Ye, Wang-Yue Wang

Ming-Dong Wu, Jie-Tong Ye, Bei-Lei Zhu, Fang-Min Ye, Department of Pharmacy, Lishui City People's Hospital, Lishui 323000, Zhejiang Province, China

Wang-Yue Wang, Department of Gastroenterology, Zhejiang Provincial People's Hospital, Hangzhou 310000, Zhejiang Province, China

Supported by: Lishui Public Welfare Technology Application Research Project, No.2019SJZC47.

Corresponding author: Wang-Yue Wang, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Zhejiang Provincial People's Hospital, No.158 Shangtang Road, Xiacheng District, Hangzhou 310000, Zhejiang Province, China. wangwangyue2544@aliyun.com

Received: 2021-01-18
Revised: 2021-02-08
Accepted: 2021-03-15
Published online: 2021-04-08

Abstract

BACKGROUND

Long intergenic noncoding RNA 152 (LINC00152) is highly expressed in gastric cancer tissues, and it can promote the proliferation, migration, and invasion of gastric cancer cells. However, the effects and mechanisms of LINC00152 on chemotherapy resistance in gastric cancer are not clear.

AIM

To explore the effects and related mechanisms of LINC00152 on chemotherapy resistance in human gastric cancer cell line NCI-N87.

METHODS

The expression of LINC00152 in human gastric cancer cell line NCI-N87 and mitomycin (MMC) resistant cell line NCI-N87/MMC was detected by real-time PCR. After the expression of LINC00152 in NCI-N87/MMC cells was knocked down by RNA interference method, the sensitivity of cells to MMC and cisplatin was measured by MTT assay, cell apoptosis was detected by flow cytometry, and the protein expression levels of Bcl-2, Bax, Caspase 3, and cleaved Caspase 3 were determined by Western Blot. Furthermore, the expression levels of MDR1/P-gp, Mgr1-Ag, and MRP were evaluated by real-time PCR and Western Blot.

RESULTS

The expression level of INC00152 in NCI-N87/MMC

cells was significantly higher than that in maternal NCI-N87 cells. LINC00152 knockdown induced apoptosis and increased sensitivity to MMC and cisplatin in NCI-N87/MMC cells. LINC00152 knockdown inhibited the expression of Bcl-2 protein in NCI-N87/MMC cells, but promoted the expression of Bax protein and the activation of Caspase 3. Furthermore, LINC00152 knockdown down-regulated the mRNA and protein expression of MDR1, Mgr1-Ag, and MRP in NCI-N87/MMC cells.

CONCLUSION

Down-regulation of LINC00152 in NCI-N87/MMC cells can increase the sensitivity of cells to MMC and cisplatin, and the mechanisms may be related to the promotion of cell apoptosis by regulating apoptotic-related factors, and down-regulation of MDR1, Mgr1-Ag, and MRP.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Linc00152; Gastric cancer; NCI-N87 cells; Mitomycin resistance; Cell apoptosis

Citation: Wu MD, Ye JT, Zhu BL, Ye FM, Wang WY. Effect and mechanisms of LINC00152 knockdown on chemotherapy resistance in mitomycin-resistant gastric cancer NCI-N87/MMC cells. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2021; 29(7): 332-339
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i7/332.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i7.332

摘要

背景

长基因间非编码RNA 152(long intergenic noncoding RNA 152, Linc00152)在胃癌组织中高表达, 且其能促进胃癌细胞增殖、迁移与侵袭, 而Linc00152对胃癌化疗耐药的影响和机制并不清楚.

目的

探究Linc00152对人胃癌细胞系NCI-N87化疗耐药性的影响及相关的作用机制.

方法

实时定量荧光聚合酶链式反应(real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction, Real-time PCR)检测人胃癌细胞系NCI-N87及其丝裂霉素(mitomycin, MMC)耐药细胞系NCI-N87/MMC中Linc00152的表达情况. 采用小分子RNA干扰技术敲除NCI-N87/MMC中Linc00152的表达后, MTT法检测细胞对MMC和顺铂的敏感性, 流式细胞术检测细胞凋亡, Western Blot检测B细胞淋巴瘤/白血病-2(B cell lymphoma/lewkmia-2, Bcl-2)、Bcl-2相关X蛋白(Bcl-2 associated X protein, Bax)、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3(cysteine aspartic acid proteinase 3, caspase3)和劈裂的caspase3(cleaved-caspase3)的蛋白表达水平. 此外, Real-time PCR和Western blot检测多药耐药蛋白1/P-糖蛋白(multidrug resistant protein 1/P-glycoprotein, MDR1/P-gp)、层粘连蛋白受体1前体抗原(P37-kDa laminin receptor-1 precursor antigen, Mgr1-Ag)以及多药耐药相关蛋白(multidrug resistance-associated protein, MRP)的表达.

结果

NCI-N87/MMC细胞中Linc00152的表达水平明显高于其亲本细胞NCI-N87. 在NCI-N87/MMC细胞中, 敲除Linc00152可诱导细胞凋亡, 并增加其对MMC和顺铂的敏感性. 敲除Linc00152可抑制NCI-N87/MMC细胞中Bcl-2蛋白表达, 促进Bax蛋白表达和caspase 3的活化. 此外, 敲除Linc00152还可下调NCI-N87/MMC细胞中多药耐药基因MDR1、Mgr1-Ag、MRP及其编码的蛋白的表达.

结论

下调NCI-N87/MMC细胞中Linc00152的表达可提高细胞对MMC和顺铂的敏感性, 其机制可能与调控细胞凋亡相关因子促进凋亡, 同时下调细胞中多药耐药基因MDR1、Mgr1-Ag及MRP的表达有关.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: Linc00152; 胃癌; NCI-N87细胞; 丝裂霉素耐药; 细胞凋亡

核心提要: 长基因间非编码RNA 152(long intergenic noncoding RNA 152, Linc00152)在丝裂霉素(mitomycin, MMC)耐药胃癌细胞系NCI-N87/MMC中高表达. 敲除Linc00152可提高NCI-N87/MMC细胞对MMC和顺铂的敏感性.

文献来源: 吴明东, 叶洁桐, 朱蓓蕾, 叶芳敏, 汪望月. 敲除Linc00152对丝裂霉素耐药胃癌细胞NCI-N87/MMC的化疗耐药性影响及机制. 世界华人消化杂志 2021; 29(7): 332-339
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i7/332.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i7.332

0 引言

胃癌是临床上较为常见的一类消化系统肿瘤. 近年来, 我国胃癌的发病率不仅一直居高不下, 且有攀升的趋势[1]. 目前其治疗方式依然是以手术和化疗相结合的综合治疗为主; 其中化疗是重要的治疗手段, 特别是针对手术无法根治以及胃癌晚期的患者[2,3]. 但在化疗进程中, 胃癌细胞会通过多种方式对各类化疗药物产生耐药性, 导致胃癌的化疗效果降低[4]. 因此, 深入研究胃癌细胞耐药

的分子机制, 并寻找逆转耐药性的有效靶点成为医学工作者的重要课题, 其也对提高化疗疗效具有重要意义.

肿瘤细胞的耐药性大多为获得性耐药, 产生机制复杂, 且往往表现为多因素事件, 可涉及多种机制的联合作用, 不同机制间可相互影响[5]. 目前研究已发现的耐药机制主要包括[6-9]: 细胞膜上某些蛋白的异常表达导致药物摄入减少和/或外排增多, 从而引起细胞内有效的药物浓度降低; 如拓补异构酶Ⅱ等的异常表达, 导致化疗药物的作用靶点在质与量上出现改变, 降低了药物的细胞毒性; 谷胱甘肽转移酶等的异常表达, 导致细胞的解读防御功能和DNA修复功能增强; 抗凋亡和促凋亡基因的异常表达导致肿瘤细胞出现凋亡抑制等.

大量研究显示长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)虽然不具备编码蛋白质的功能, 但在包括基因表达以及染色体修饰等在内的多种生物过程中发挥着重要的作用, 其可影响肿瘤的疾病进展[10]. 长基因间非编码RNA 152(long intergenic noncoding RNA 152, Linc00152)定位于人2号染色体2p11.2, 已被证实在多种肿瘤组织中存在异常表达[11-13]. Zhao等[14]的研究通过lncRNA芯片分析发现Linc00152在胃癌中高表达, 而下调Linc00152可抑制HGC-27和SGC-7901的增殖和周期G1/S转换、抑制细胞侵袭和迁移、促进细胞凋亡. 但Linc00152对胃癌细胞耐药的作用尚不清晰. 本研究通过小分子干扰技术下调胃癌丝裂霉素(mitomycin, MMC)耐药细胞中的Linc00152, 系统的探究了Linc00152在胃癌细胞NCI-N87中对MMC耐药的影响及其相关作用机制.

1 材料和方法

1.1 材料 人胃癌细胞系NCI-N87购自美国典型菌种保藏中心(American Type Culture Collection, ATCC)细胞库; 胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)购自杭州四季青生物工程材料有限公司; 一加转染试剂优化培养基(I reduced serum medium modification of minimum Eagle's medium, Opti-MEM I)及洛斯维公园纪念研究所-1640 (Roswell Park Memorial Institute-1640, RPMI-1640)培养基均购自美国Gibco公司; Linc00152小分子干扰RNA(small interference RNA targeting for Linc00152, si-Linc00152)及阴性对照siRNA (siRNA for negative control, si-NC)由上海生工生物技术有限公司提供; Trizol提取试剂盒、脂质体-3000(Lipofectamine 3000)及相关转染试剂购自美国Invitrogen公司; SYBR荧光染料与Ex-Taq酶预混液(SYBR Premix Ex Taq TM)试剂盒购自宝生物工程(大连)有限公司; 3-(4, 5-二甲基噻唑-2)-2, 5-二苯基四氮唑溴盐[3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide, MTT]试剂盒及异硫氰酸荧光素标记的膜联蛋白V(AnnexinV-FITC)/碘化丙啶(propidium iodide, PI)细胞凋亡检测试剂盒购自上海碧云天生物技术有限公司; B细胞淋巴瘤/白血病-2(B cell lymphoma/lewkmia-2, Bcl-2)、Bcl-2相关X蛋白(Bcl-2 associated X protein, Bax)、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3(cysteine aspartic acid proteinase 3, caspase3)、劈裂的caspase3(cleaved-caspase3)和甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)一抗购自美国Abcam公司; P-糖蛋白(P-glycoprotein, P-gp)、层粘连蛋白受体1前体抗原(P37-kDa laminin receptor-1 precursor antigen, Mgr1-Ag)和多药耐药相关蛋白(multidrug resistance-associated protein, MRP)一抗购自北京博奥森生物科技有限公司; MMC购自浙江海正药业股份有限公司; 顺铂购自齐鲁制药公司.

1.2 方法

1.2.1 细胞培养及耐药细胞构建: NCI-N87细胞常规培养于含10% FBS的RPMI-1640完全培养基中, 培养条件设置为37 ℃、含5% CO_2及饱和湿度. NCI-N87/MMC耐药细胞是通过向培养液中连续加入MMC来构建, 培养过程中间断性(每2-3 wk递增0.5 μg/mL)逐步提高培养液中MMC的浓度, 直至细胞在含8 μg/mL的MMC培养液中保持良好生长. MTT法检测细胞对MMC和顺铂的耐药性后, 用于后续实验.

1.2.2 细胞转染: 转染组别设置为对照组(Ctrl), 阴性对照组(si-NC)和Linc00152干扰组(si-Linc00152). 转染方法: 取对数生长期的细胞消化后接种于细胞培养皿中, 待细胞生长至约70%融合时进行转染. 将si-Linc00152或si-NC加入Opti-MEM I优化培养基中, 室温静置5 min, 标记为1号液; 将Lipofectamine 3000加入Opti-MEM I优化培养基中, 室温静置5 min, 标记为2号液; 轻柔混合1号液和2号液, 置于室温继续反应25 min. 分别将混合液对应加入已分好组的细胞中, 将细胞转移至培养箱中孵育6 h, 更换培养基后继续培养48 h. 实验重复6次. 检测转染效率并进行后续实验分析.

1.2.3 实时定量荧光聚合酶链式反应(real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction, Real-time PCR): 参照Trizol提取试剂盒的操作说明抽提细胞总RNA并经紫外分光光度计测定RNA的纯度和浓度. 取2 μg总RNA逆转录合成互补脱氧核糖核酸(complementary deoxyribonucleic acid, cDNA). 然后根据SYBR Premix Ex Taq TM试剂盒说明书, 将引物以及cDNA和试剂盒中相关试剂组成反应体系(反应体系为20 μL), 在ABI 7400实时定量PCR系统中进行反应. 反应程序设置: 94 ℃ 4 min, 然后进行40个PCR循环(94

表 1 引物序列

基因	引物序列
Linc00152	F: 5'-TCACTTCAGAGCCAAGGCAG-3' R: 5'-AAATGCCTACCGCCAGTTCA-3'
18S rRNA	F: 5'-ACACGGACAGGATTGACAGA-3' R: 5'-GGACATCTAAGGGCATCACA-3'
MDR1	F: 5'-TCGTAGGAGTGTCCGTGGAT-3' R: 5'-TCATTGGCGAGCCTGGTAG-3'
Mgr1-Ag	F: 5'-CGGCTTCTTGTGGTTACTG-3' R: 5'-TTGGTCACTGCCTTCTCAG-3'
MRP	F: 5'-CGCCTTCGCTGAGTTCCT-3' R: 5'-TCTGCGGTGCTGTTGTGG-3'
GAPDH	F: 5'-GGAGCGAGATCCCTCCAAAAT-3' R: 5'-GGCTGTTGTCATACTTCTCATGG-3'

表 2 胃癌细胞NCI-N87对化疗药物的敏感性(IC50)(μg/mL)

细胞	丝裂霉素	顺铂
NCI-N87/MMC	12.15 ± 1.04[a]	1.68 ± 0.31[a]
NCI-N87	3.51 ± 0.42	0.47 ± 0.09

NCI-N87/MMC: 基于NCI-N87细胞构建的丝裂霉素耐药胃癌细胞. 与NCI-N87细胞比较, [a]P<0.05.

表 3 下调Linc00152可提高耐药细胞NCI-N87/MMC对化疗药物的敏感性(IC50)(μg/mL)

组别	丝裂霉素	顺铂
Ctrl	12.15 ± 1.04	1.68 ± 0.31
si-NC	12.86 ± 1.27	1.57 ± 0.19
si-Linc00152	6.18 ± 1.06[a]	0.72 ± 0.12[a]

Ctrl: 对照组; si-NC: 阴性对照组; si-Linc00152: Linc00152干扰组. 与对照组比较, [a]P<0.05.

℃ 30 s, 60 ℃ 30 s, 72 ℃ 40 s). 采用$2^{-\triangle\triangle CT}$法分析基因相对表达量, 其中Linc00152采用18S rRNA为内参, MDR1、Mgr1-Ag和MRP mRNA采用GAPDH为内参. 实验重复6次. 引物序列见表1.

1.2.4 化疗药物敏感性检测: 取对数生长期的细胞按照1×10^5 mL的密度接种至96孔板中, 每孔设置三个平行孔. 待细胞贴壁生长至约80%, 换无血清培养基同步化12 h, 加入不同浓度的MMC(浓度梯度设置为0、2、4、8、16、32 μg/mL)或顺铂(cisplatin, 浓度梯度设置为0、0.01、0.1、1、10、100 μg/mL), 置于细胞培养箱中继续培养48 h, 加入20 μL的MTT试剂后继续在细胞培养箱中培养4 h, 弃去孔内液体后加入100 μL的DMSO, 振摇后采用酶标仪测定490 nm波长处的吸光度值, 计算各药物的半数抑制浓度IC50, 评估细胞的耐药性.实验重复6次. 并比较已转染si-Linc00152的NCI-N87/MMC细胞对MMC敏感性的变化.

1.2.5 AnnexinV-FITC/PI染色: 采用Annexin V/PI 双染色法流式细胞术检测细胞凋亡情况. 收集各组细胞后, 用冰PBS漂洗2次, 加入500 μL结合缓冲液重悬细胞. 避光加入Annexin V-FITC混匀后, 室温孵育15 min, 上机前5 min加入PI染液避光染色. 之后, 经流式细胞仪检测激发波长488 nm发射波长530 nm处的细胞分布情况, 并据此评估细胞的凋亡率. 实验重复6次.

1.2.6 Western blot: 加RIPA裂解细胞, 并离心收集蛋白, 之后采用BCA法进行蛋白定量并计算上样量(上样蛋白总量为60 μg). 各组上样样品中加入4倍体积的上样缓冲液, 煮沸变性. 用微量加样器上样后行十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳, 待蓝色的溴酚蓝泳出凝胶时即可转膜. 转膜结束后, 取出聚二偏氟乙烯膜, 加5%的脱脂乳粉封闭90 min. 依据说明书要求先后加入

相应比例的一抗和二抗孵育液, 其中一抗4 ℃孵育过夜, 二抗室温孵育2 h. 免疫反应结束后, 用TBST振摇洗涤PVDF膜, 10 min´3次. 转移至暗室中洒ECL化学发光液、曝光并显影. 将实验结果扫描至电脑中, 采用Image J软件对蛋白表达条带进行分析. 实验重复6次.

统计学处理 将本组研究涉及数据录入Graphpad prism 8软件中进行统计学分析, 实验结果表示为均数±标准差(mean±SD), 两组数据比较采用*t*检验; 多组间数据的比较采用单因素方差分析, 两两比较则采用Bonferroni校正检验, $P<0.05$表示差异有统计学显著性.

2 结果

2.1 Linc00152的表达与胃癌细胞NCI-N87化疗耐药之间的关系 本实验首先检测了人胃癌细胞系NCI-N87及其MMC耐药细胞系NCI-N87/MMC对化疗药物的敏感性(表2), 结果证明NCI-N87/MMC的对MMC的耐药性显著强于NCI-N87细胞, 并对顺铂产生了交叉耐药. 同时Real-Time PCR的检测结果显示(图1A), NCI-N87/MMC中Linc00152的表达水平显著高于其亲本细胞NCI-N87, 提示Linc00152的表达可能与胃癌细胞NCI-N87的MMC耐药之间存在一定的关系.

2.2 下调Linc00152对NCI-N87/MMC化疗敏感性的影响 为进一步证明Linc00152的表达与NCI-N87化疗耐药之间的关系, 本实验采用小分子RNA干扰技术下调NCI-N87/MMC细胞中Linc00152的表达, 并检测其化疗药物敏感性的变化. 转染效率检测如图1B所示, 相较于对照组, si-Linc00152组细胞中Linc00152的表达显著降低. MTT检测结果显示, 下调NCI-N87/MMC细胞中Linc00152的表达后, 细胞对MMC及顺铂的敏感性明显增加($P<0.05$, 见表3).

2.3 下调Linc00152对NCI-N87/MMC细胞凋亡的影响 本实验采用流式细胞术评估了下调Linc00152对NCI-N87/MMC细胞凋亡的影响, 结果显示(图2), 相较于对照组细胞, si-Linc00152组细胞的早期凋亡率由(14.59±1.37)%增加至(38.67±3.54)%($P<0.05$); 而中晚期细胞凋亡/坏死率由(7.65±1.53)%增加至(11.97±1.69)%. 表明下调Linc00152可显著促进耐药细胞NCI-N87/MMC的凋亡.

2.4 下调Linc00152对细胞凋亡相关因子表达的影响 Western Blot检测(图3)结果显示, 相较于对照组, si-Linc00152组抗凋亡蛋白Bcl-2的表达显著下降, 而凋亡蛋白Bax、cleaved-caspase3的蛋白水平明显增加.

2.5 下调Linc00152对耐药相关基因表达的影响 本实验进一步检测了NCI-N87/MMC细胞中耐药相关基因的表达情况, 结果显示(图4), 相较于对照组, si-Linc00152

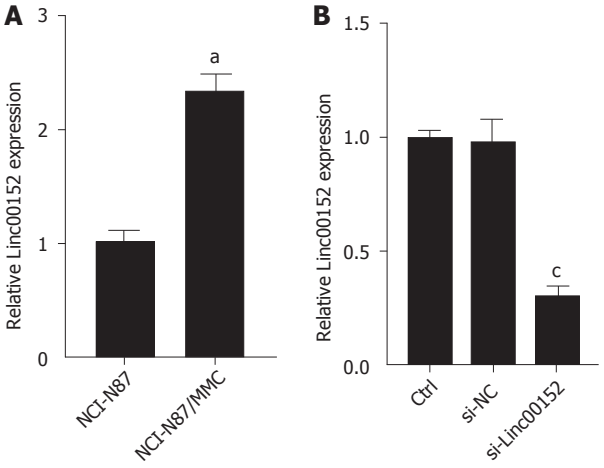


图 1 Linc00152的表达情况. A: NCI-N87和NCI-N87/MMC细胞中Linc00152的表达情况. B: 转染si-Linc00152或si-NC后NCI-N87/MMC细胞中Linc00152的表达情况. NCI-N87/MMC: 基于NCI-N87细胞构建的丝裂霉素耐药胃癌细胞; Ctrl: 对照组; si-NC: 阴性对照组; si-Linc00152: Linc00152干扰组. 与NCI-N87细胞比较, $^aP<0.05$; 与对照组比较, $^cP<0.05$.

组MDR1、MGr1-Ag以及MRP的mRNA表达水平显著降低(图4A), 同时P-gp、MGr1-Ag以及MRP的蛋白表达水平也显著降低(图4B). 提示下调Linc00152可抑制NCI-N87/MMC细胞中耐药相关基因MDR1、MGr1-Ag、MRP及其编码的蛋白的表达.

3 讨论

研究发现, Linc00152具有癌基因样作用, 其可通过不同的信号途径调控肿瘤细胞增殖及凋亡[15]; 在胃癌中的相关研究显示, 相较于癌旁非肿瘤组织和炎性胃粘膜组织, Linc00152在胃癌组织中高表达, 且Linc00152的高表达能促进胃癌侵袭和迁移[14-16]. 本研究发现, Linc00152在MMC耐药的胃癌NCI-N87/MMC细胞中的表达显著高其亲本细胞NCI-N87, 而通过小分子干扰技术下调NCI-N87/MMC细胞中Linc00152的表达可增加细胞对MMC以及顺铂的敏感性. 由此推测, 下调Linc00152可在一定程度逆转NCI-N87/MMC细胞的化疗耐药.

考虑到Linc00152对肿瘤细胞增殖及凋亡的调控作用, 本研究进一步从细胞凋亡的角度探讨了Linc00152调控NCI-N87/MMC细胞的MMC耐药的作用机制. 流式细胞术的检测结果显示, 下调Linc00152可显著促进耐药细胞NCI-N87/MMC的凋亡. 该结果提示, 下调Linc00152提高NCI-N87/MMC对MMC的敏感性可能与诱导细胞凋亡有关. Bcl-2家族是调控细胞凋亡最重要的基因, 其中抗凋亡蛋白Bcl-2可与促凋亡蛋白Bax形成异二聚体, 抑制细胞凋亡[17,18]. 本实验的检测结果显示, 下调Linc00152可抑制NCI-N87/MMC细胞中Bcl-2的蛋白表达, 同时促进Bax的蛋白表达. caspase3则是细胞

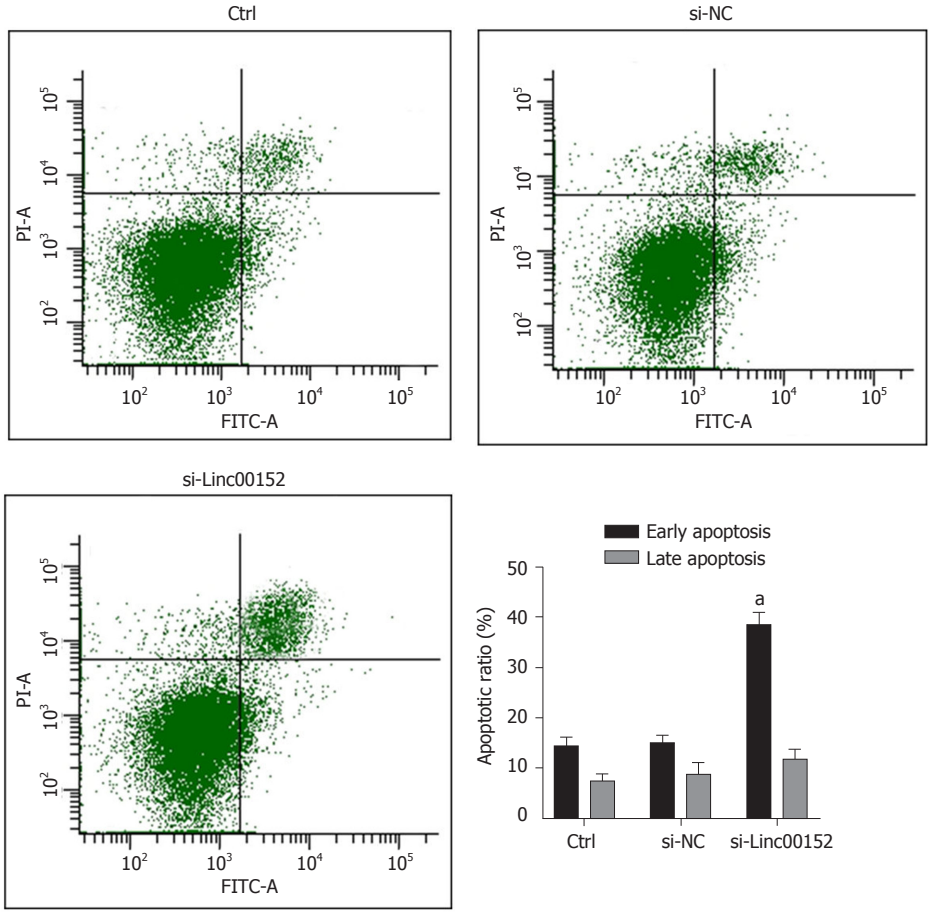


图 2　流式细胞术检测下调Linc00152对NCI-N87/MMC细胞凋亡的影响. Ctrl:对照组; si-NC: 阴性对照组; si-Linc00152: Linc00152干扰组. 与对照组比较, $^aP<0.05$.

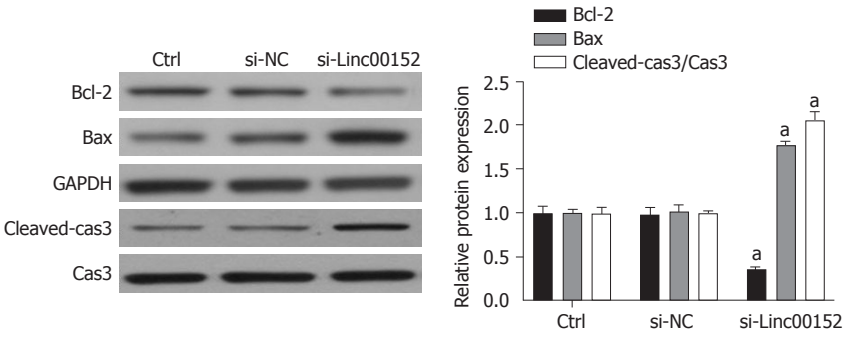


图 3　下调Linc00152对NCI-N87/MMC细胞中凋亡相关因子表达的影响. Ctrl:对照组; si-NC:阴性对照组; si-Linc00152: Linc00152干扰组. 与对照组比较, $^aP<0.05$.

凋亡通路中最主要的终末剪切酶, 活化后可启动下游的级联反应, 诱发凋亡[19]. 本实验中, 下调Linc00152可促进NCI-N87/MMC细胞的caspase3的活化. 结果表明, 下调Linc00152可通过调控凋亡相关因子的表达促进NCI-N87/MMC细胞的凋亡.

此外, 肿瘤细胞的获得性耐药性还与多药耐药相关基因的表达密切相关. MDR1基因可通过编码P-gp(一种ATP依赖性跨膜糖蛋白)主动泵出化疗药物, 降低肿瘤细胞中有效药物浓度[20,21]. MRP主要是促进谷胱甘肽结合药物, 进而促进化疗药物外排[22]. MGr1-Ag实在胃癌长春新碱耐药细胞株SGC7901/VCR中筛选出的耐药相关分子, 不仅可以降低肿瘤细胞中药物浓度, 还可调控细胞凋亡[23,24]. 本实验的检测结果表明, 下调Linc00152可抑制NCI-N87/MMC细胞中耐药相关基因MDR1、MGr1-Ag、MRP及其编码的蛋白的表达. 但是其中是否还涉及其他耐药相关的机制以及具体的分子靶点还有

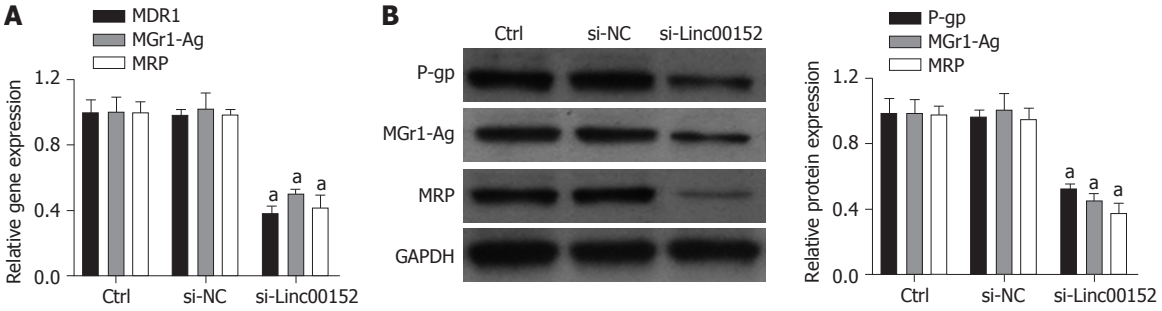


图 4　下调Linc00152对NCI-N87/MMC细胞中耐药相关基因表达的影响. A: 各组NCI-N87/MMC细胞中MDR1、MGr1-Ag和MRP的mRNA表达水平; B: 各组NCI-N87/MMC细胞中MDR1、MGr1-Ag和MRP的蛋白表达水平; Ctrl: 对照组; si-NC: 阴性对照组; si-Linc00152: Linc00152干扰组. 与对照组比较, $^{a}P<0.05$.

待进一步深入的研究. 此外, 因本研究仅采用NCI-N87/MMC细胞对靶向抑制Linc00152后发挥的逆转化疗耐药的作用进行了初步探讨, 其结果具有一定局限性, 因此, 仍需多种化疗耐药胃癌细胞以及由化疗耐药胃癌细胞构建的移植瘤动物模型来进一步验证靶向抑制Linc00152在胃癌化疗耐药中的作用.

4 结论

综上所述, 下调Linc00152可提高MMC耐药胃癌细胞NCI-N87/MMC对化疗药物MMC和顺铂的敏感性, 其作用可能与其诱导细胞凋亡以及下调多药耐药相关基因MDR1、MGr1-Ag、MRP的表达相关.

文章亮点

实验背景

胃癌化疗易产生化疗药物耐药, 而寻找并干预影响胃癌细胞化疗耐药的特异性靶点有望逆转耐药性, 使得胃癌化疗耐药患者获益.

实验动机

已有研究表明长基因间非编码RNA 152(long intergenic noncoding RNA 152, Linc00152)在胃癌组织中高表达, 且其促进胃癌恶性进展. 而目前尚不清楚Linc00152表达是否与胃癌化疗耐药具有内部联系.

实验目标

探究Linc00152表达与胃癌化疗耐药之间的关系, 研究敲除Linc00152是否能增强丝裂霉素(mitomycin, MMC)耐药胃癌细胞系NCI-N87/MMC对MMC和顺铂的敏感性, 并分析其中涉及的分子学机制.

实验方法

首先, 检测NCI-N87/MMC细胞和母本细胞NCI-N87中Linc00152的表达情况. 接着分析敲除Linc00152对NCI-N87/MMC细胞MMC和顺铂敏感性以及细胞凋亡的影响. 最后, 分析敲除Linc00152对NCI-N87/MMC细胞中凋亡相关蛋白以及多药耐药相关蛋白及其基因表达的影响.

实验结果

Linc00152在NCI-N87/MMC细胞中高表达. 敲除NCI-N87/MMC细胞中Linc00152表达可增加其对MMC和顺铂的敏感性, 诱导细胞凋亡并下调多药耐药基因MDR1、Mgr1-Ag、MRP及其编码的蛋白的表达.

实验结论

敲除Linc00152可部分逆转NCI-N87/MMC对MMC和顺铂的耐药性, 其机制可能与其诱导细胞凋亡并下调MDR1、MGr1-Ag、MRP的表达相关.

展望前景

外源性靶向敲除Linc00152可能是增强胃癌化疗耐药患者的化疗效果的潜在策略.

5 参考文献

1 Smyth EC, Nilsson M, Grabsch HI, van Grieken NC, Lordick F. Gastric cancer. *Lancet* 2020; 396: 635-648 [PMID: 32861308 DOI: 10.1016/S0140-6736(20)31288-5]
2 Song Z, Wu Y, Yang J, Yang D, Fang X. Progress in the treatment of advanced gastric cancer. *Tumour Biol* 2017; 39: 1010428317714626 [PMID: 28671042 DOI: 10.1177/1010428317714626]
3 Johnston FM, Beckman M. Updates on Management of Gastric Cancer. *Curr Oncol Rep* 2019; 21: 67 [PMID: 31236716 DOI: 10.1007/s11912-019-0820-4]
4 Nikolaou M, Pavlopoulou A, Georgakilas AG, Kyrodimos E. The challenge of drug resistance in cancer treatment: a current overview. *Clin Exp Metastasis* 2018; 35: 309-318 [PMID: 29799080 DOI: 10.1007/s10585-018-9903-0]
5 Wu Q, Yang Z, Nie Y, Shi Y, Fan D. Multi-drug resistance in cancer chemotherapeutics: mechanisms and lab approaches. *Cancer Lett* 2014; 347: 159-166 [PMID: 24657660 DOI: 10.1016/j.canlet.2014.03.013]
6 Assaraf YG, Brozovic A, Gonçalves AC, Jurkovicova D, Linē A, Machuqueiro M, Saponara S, Sarmento-Ribeiro AB, Xavier CPR, Vasconcelos MH. The multi-factorial nature of clinical

multidrug resistance in cancer. *Drug Resist Updat* 2019; 46: 100645 [PMID: 31585396 DOI: 10.1016/j.drup.2019.100645]
7 Hu W, Huang XS, Wu JF, Yang L, Zheng YT, Shen YM, Li ZY, Li X. Discovery of Novel Topoisomerase II Inhibitors by Medicinal Chemistry Approaches. *J Med Chem* 2018; 61: 8947-8980 [PMID: 29870668 DOI: 10.1021/acs.jmedchem.7b01202]
8 Shimizu T, Fujii T, Sakai H. The Relationship Between Actin Cytoskeleton and Membrane Transporters in Cisplatin Resistance of Cancer Cells. *Front Cell Dev Biol* 2020; 8: 597835 [PMID: 33195280 DOI: 10.3389/fcell.2020.597835]
9 Marin JJ, Al-Abdulla R, Lozano E, Briz O, Bujanda L, Banales JM, Macias RI. Mechanisms of Resistance to Chemotherapy in Gastric Cancer. *Anticancer Agents Med Chem* 2016; 16: 318-334 [PMID: 26234359 DOI: 10.2174/1871520615666150803125121]
10 Lucere KM, O'Malley MMR, Diermeier SD. Functional Screening Techniques to Identify Long Non-Coding RNAs as Therapeutic Targets in Cancer. *Cancers (Basel)* 2020; 12 [PMID: 33317042 DOI: 10.3390/cancers12123695]
11 Wang S, Weng W, Chen T, Xu M, Wei P, Li J, Lu L, Wang Y. LINC00152 Promotes Tumor Progression and Predicts Poor Prognosis by Stabilizing BCL6 From Degradation in the Epithelial Ovarian Cancer. *Front Oncol* 2020; 10: 555132 [PMID: 33282727 DOI: 10.3389/fonc.2020.555132]
12 Wang B, Yang S, Zhao W. Long Non-Coding RNA NRAD1 and LINC00152 are Highly Expressed and Associated with Prognosis in Patients with Hepatocellular Carcinoma. *Onco Targets Ther* 2020; 13: 10409-10416 [PMID: 33116620 DOI: 10.2147/OTT.S251231]
13 Yuan ZJ, Yu C, Hu XF, He Y, Chen P, Ouyang SX. LINC00152 promotes pancreatic cancer cell proliferation, migration and invasion via targeting miR-150. *Am J Transl Res* 2020; 12: 2241-2256 [PMID: 32509216]
14 Zhao J, Liu Y, Zhang W, Zhou Z, Wu J, Cui P, Zhang Y, Huang G. Long non-coding RNA Linc00152 is involved in cell cycle arrest, apoptosis, epithelial to mesenchymal transition, cell migration and invasion in gastric cancer. *Cell Cycle* 2015; 14: 3112-3123 [PMID: 26237576 DOI: 10.1080/15384101.2015.1078034]
15 Yu Y, Yang J, Li Q, Xu B, Lian Y, Miao L. LINC00152: A pivotal oncogenic long non-coding RNA in human cancers. *Cell Prolif* 2017; 50 [PMID: 28464433 DOI: 10.1111/cpr.12349]
16 Pang Q, Ge J, Shao Y, Sun W, Song H, Xia T, Xiao B, Guo J. Increased expression of long intergenic non-coding RNA LINC00152 in gastric cancer and its clinical significance. *Tumour Biol* 2014; 35: 5441-5447 [PMID: 24523021 DOI: 10.1007/s13277-014-1709-3]
17 Senichkin VV, Pervushin NV, Zuev AP, Zhivotovsky B, Kopeina GS. Targeting Bcl-2 Family Proteins: What, Where, When? *Biochemistry (Mosc)* 2020; 85: 1210-1226 [PMID: 33202206 DOI: 10.1134/S0006297920100090]
18 Naumova N, Šachl R. Regulation of Cell Death by Mitochondrial Transport Systems of Calcium and Bcl-2 Proteins. *Membranes (Basel)* 2020; 10 [PMID: 33096926 DOI: 10.3390/membranes10100299]
19 Jiang M, Qi L, Li L, Li Y. The caspase-3/GSDME signal pathway as a switch between apoptosis and pyroptosis in cancer. *Cell Death Discov* 2020; 6: 112 [PMID: 33298876 DOI: 10.1038/s41420-020-00349-0]
20 Robey RW, Pluchino KM, Hall MD, Fojo AT, Bates SE, Gottesman MM. Revisiting the role of ABC transporters in multidrug-resistant cancer. *Nat Rev Cancer* 2018; 18: 452-464 [PMID: 29643473 DOI: 10.1038/s41568-018-0005-8]
21 Silva R, Vilas-Boas V, Carmo H, Dinis-Oliveira RJ, Carvalho F, de Lourdes Bastos M, Remião F. Modulation of P-glycoprotein efflux pump: induction and activation as a therapeutic strategy. *Pharmacol Ther* 2015; 149: 1-123 [PMID: 25435018 DOI: 10.1016/j.pharmthera.2014.11.013]
22 Li S, Li B, Wang J, Zhang D, Liu Z, Zhang Z, Zhang W, Wang Y, Bai D, Guan J, Zhang Y. Identification of Sensitivity Predictors of Neoadjuvant Chemotherapy for the Treatment of Adenocarcinoma of Gastroesophageal Junction. *Oncol Res* 2017; 25: 93-97 [PMID: 28081737 DOI: 10.3727/096504016X14719078133564]
23 Luo G, Wang W, Wu Q, Lu Y, Su T, Gu N, Li K, Wang J, Du R, Zhao X, Li X, Fan R, Zhang H, Nie Y, Zhou X, Shi Y, Liang J, Wang X, Fan D. MGr1-Antigen/37 kDa laminin receptor precursor promotes cellular prion protein induced multi-drug-resistance of gastric cancer. *Oncotarget* 2017; 8: 71630-71641 [PMID: 29069734 DOI: 10.18632/oncotarget.17795]
24 Sun L, Liu L, Liu X, Wang Y, Li M, Yao L, Yang J, Ji G, Guo C, Pan Y, Liang S, Wang B, Ding J, Zhang H, Shi Y. Gastric cancer cell adhesion to laminin enhances acquired chemotherapeutic drug resistance mediated by MGr1-Ag/37LRP. *Oncol Rep* 2014; 32: 105-114 [PMID: 24840404 DOI: 10.3892/or.2014.3184]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: https://www.baishideng.com

世界华人消化杂志 2021年4月8日; 29(7): 340-346

DOI: 10.11569/wcjd.v29.i7.340

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

基础研究 BASIC RESEARCH

敲减LncRNA TPT1–AS1抑制肝癌细胞侵袭及迁移

刘清秀, 汪晓梅, 吕娇健, 卢 毅, 赵 园, 樊晓鹏

刘清秀, 汪晓梅, 吕娇健, 卢毅, 赵园, 丽水市人民医院肝科感染科 浙江省丽水市 323000

樊晓鹏, 丽水市人民医院肝胆胰外科 浙江省丽水市 323000

刘清秀, 硕士, 主治医师, 主要从事肝病及感染性疾病的相关临床及科研工作.

作者贡献分布: 此课题由刘清秀与樊晓鹏设计; 研究过程由刘清秀、汪晓梅及吕娇健操作完成; 研究所用试剂由刘清秀提供; 数据分析由卢毅和赵园完成; 本论文写作由刘清秀完成.

通讯作者: 刘清秀, 硕士, 主治医师, 323000, 浙江省丽水市莲都区大众街15号丽水市人民医院肝科感染科. liuqingxiufg123@163.com

收稿日期: 2021–01–22
修回日期: 2021–02–24
接受日期: 2021–03–15
在线出版日期: 2021–04–08

Knockdown of long non-coding RNA TPT1-AS1 inhibits invasion and migration of hepatocarcinoma cells

Qing-Xiu Liu, Xiao-Mei Wang, Jiao-Jian Lv, Yi Lu, Yuan Zhao, Xiao-Peng Fan

Qing-Xiu Liu, Xiao-Mei Wang, Jiao-Jian Lv, Yi Lu, Yuan Zhao, Department of Hepatology and Infection, Lishui City People's Hospital, Lishui 323000, Zhejiang Province, China

Xiao-Peng Fan, Department of Hepatopancreatobiliary Surgery, Lishui City People's Hospital, Lishui 323000, Zhejiang Province, China

Corresponding author: Qing-Xiu Liu, Master of Medicine, Attending Physician, Department of Hepatology and Infection, Lishui People's Hospital, No. 15 Dazhong Street, Liandu District, Lishui 323000, Zhejiang Province, China. liuqingxiufg123@163.com

Received: 2021-01-22
Revised: 2021-02-24
Accepted: 2021-03-15
Published online: 2021-04-08

Abstract

BACKGROUND

The long non-coding RNA (lncRNA) TPT1-AS1 has been proved to affect the migration and invasion of tumor cells by different means, but its specific role and related mechanisms in hepatic carcinoma still need further research.

AIM

To investigate the expression of TPT1-AS1 in hepatocarcinoma tissues and cell lines and explore its biological role in the invasion and migration of hepatocarcinoma cells.

METHODS

Real-time quantitative PCR was used to measure lncRNA TPT1-AS1 expression in hepatocarcinoma tissue and cell lines (Huh7, SMMC-7721, HCCLM3, and HepG2). After being transfected with small interfering RNA (siRNA-TPT1-AS1), the invasion and migration of HepG2 cells were detected by transwell assay and wound healing assay. Western blot was used to measure the epithelial-mesenchymal transition (EMT) process and the activity of the PI3K/AKT pathway.

RESULTS

TPT1-AS1 was up-regulated in hepatopcarcinoma tissues and cell lines Huh7, SMMC-7721, HCCLM3, and HepG2. Transfection with siRNA-TPT1-AS1 noticeably restrained HepG2 cell invasion and migration, and suppressed the EMT process. Furthermore, TPT1-AS1 knockdown reduced MMP-9 expression and inhibited the activation of the PI3K/AKT pathway.

CONCLUSION

TPT1-AS1 is up-n regulated in hepatic carcinoma. Knockdown of TPT1-AS1 inhibits the invasion and migration of HepG2 cells *via* mechanisms that may

be associated with reducing the activity of PI3K/AKT pathway and the expression of its downstream gene MMP-9, and inhibiting the EMT process.

© **The Author(s) 2021.** Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: LncRNA TPT1-AS; Hepatocarcinoma; Invasion; Migration; PI3K/AKT

Citation: Liu QX, Wang XM, Lv JJ, Lu Y, Zhao Y, Fan XP. Knockdown of long non-coding RNA TPT1-AS1 inhibits invasion and migration of hepatocarcinoma cells. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2021; 29(7): 340-346
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i7/340.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i7.340

摘要

背景

长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)肿瘤蛋白翻译调节因子1-反义RNA1(tumor protein translationally controlled regulator 1-antisence RNA 1, TPT1-AS1)TPT1-AS1可通过不同的作用方式影响肿瘤的侵袭转移, 但其在肝癌中的具体作用和相关作用机制还有待进一步的实验验证.

目的

探讨lncRNA TPT1-AS1在肝癌中的表达及其对肝癌细胞侵袭迁移能力的影响.

方法

实时荧光定量PCR检测肝癌组织及肝癌细胞系(Huh7、SMMC-7721、HCCLM3和HepG2)中lncRNA TPT1-AS1的表达. 靶向TPT1-AS1的小分子干扰RNA(siRNA targeted for TPT1-AS1, si-TPT1-AS1)转染后, 经Transwell实验和划痕实验检测HepG2细胞侵袭及迁移能力的变化; Western blot评估上皮-间充质转分化进程(epithelial-mesenchymal transition, EMT)以及磷酸肌醇3激酶(phosphotylinositol 3 kinase, PI3K)/蛋白激酶B(protein kinase B, PKB/AKT)信号通路的活性.

结果

肝癌组织及肝癌细胞系(Huh7、SMMC-7721、HCCLM3和HepG2)中均可检测到lncRNA TPT1-AS1的高表达. 转染siRNA-TPT1-AS1可抑制肝癌细胞HepG2的侵袭及迁移, 同时抑制HepG2细胞的EMT进程. 此外, 下调lncRNA TPT1-AS1可抑制MMP-9的表达及PI3K/AKT信号通路的活性.

结论

LncRNA TPT1-AS1在肝癌中高表达. 敲减lncRNA TPT1-AS1可抑制肝癌细胞HepG2的侵袭迁移, 其作用机制可能与下调PI3K/AKT信号通路的活性以及下游基质金属蛋白酶9(matrix metalloproteinase 9, MMP-9)的表达, 进而抑制细胞的EMT进程有关.

© **The Author(s) 2021.** Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: lncRNA TPT1-AS1; 肝癌; 侵袭; 迁移; PI3K/AKT

核心提要: 长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)肿瘤蛋白翻译调节因子1-反义RNA1(tumor protein translationally controlled regulator 1-antisence RNA 1, TPT1-AS1)在肝癌中表达上调. 敲除TPT1-AS1抑制HepG2细胞的EMT进程、迁移和侵袭, 并减弱其PI3K/AKT信号活性.

文献来源: 刘清秀, 汪晓梅, 吕娇健, 卢毅, 赵园, 樊晓鹏. 敲减LncRNA TPT1-AS1抑制肝癌细胞侵袭及迁移. 世界华人消化杂志 2021; 29(7): 340-346
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i7/340.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i7.340

0 引言

长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)是一类RNA转录的产物, 其转录本长度大于200 nt, 但不具备编码蛋白质的功能. LncRNA可通过多种方式影响基因的表达, 从而参与调控细胞的转分化、代谢以及增殖凋亡等生物学行为; 此外lncRNA还可调控细胞内以及细胞间复杂的信号通路, 进而影响肿瘤的发生发展进程[1,2]. 研究证实在包括胃癌、肝癌、肺癌以及乳腺癌等多类肿瘤中存在lncRNA的异常表达[3-6]. 肝癌是发病率和死亡率均高的常见恶性肿瘤之一, 其早期的诊疗手段依旧十分有限, 而lncRNA作为近年来备受关注的“明星分子”, 有望为肝癌的诊疗以及靶点药物的设计提供新的思路和方法. 目前已有多项研究证实lncRNA可通过抑癌或促癌作用参与调控肝癌的发生发展. 如Wu等[7]的研究结果显示lncRNA MT1JP在肝癌组织中表达降低, 且可通过下调AKT抑制肝癌的进展. Lin等[8]的研究结果则显示lncRNA CRNDE可通过调控miR-33a-5p/CDK6轴在肝癌中发挥促癌作用.

肿瘤蛋白翻译调节因子1-反义RNA1(tumor protein translationally controlled regulator 1-antisence RNA 1, TPT1-AS1)位于13号染色体. 既往研究发现[9-11], TPT1-AS1在胃癌、卵巢癌以及结直肠癌等恶性肿瘤中异常高表达, 并可促进上述肿瘤细胞的增殖、迁移和侵袭; 但考虑到lncRNA作用的复杂性, lncRNA TPT1-AS1在肝癌中的具体作用和相关作用机制尚不清楚, 还需大量的实验验证. 本研究首先通过实时荧光定量PCR检测肝癌中lncRNA TPT1-AS的表达情况, 之后利用小分子干扰

RNA下调肝癌细胞中lncRNA TPT1-AS的表达, 初步分析其对肝癌细胞侵袭及迁移能力的影响, 并通过western bot等检测手段进一步探讨其可能的作用机制, 以期为肝癌的诊疗提供潜在的靶点和一定的实验依据.

1 材料和方法

1.1 材料 肝癌细胞系(Huh7、SMMC-7721、HCCLM3和HepG2)及人永生化肝细胞LO2均购自中科院上海细胞库; 胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)、Ⅰ减血清培养基(I reduced serum medium modification of Eagle's minimal essential medium, Opti-MEM)培养基、达尔伯克氏改良伊格尔氏培养基(Dulbecco's modification of Eagle's medium, DMEM)培养基均购自美国Gibco公司; Trizol试剂、LipofectAMINE^{2000}购自美国Invitrogen公司; 靶向TPT1-AS1的小分子干扰RNA (siRNA targeted for TPT1-AS1, si-TPT1-AS1) 及其阴性对照小分子干扰RNA (siRNA targeted for negative control sequence, si-NC)由广州锐博生物技术有限公司合成; PrimeScript^{TM} RT Master Mix kit及SYBR-Green PCR Master Mix kit购自TaKaRa公司; 二辛可宁酸(bicinchoninic acid, BCA)蛋白定量试剂盒购自上海碧云天生物技术有限公司; 上皮钙黏蛋白(E-cadherin)、神经-钙粘蛋白(N-cadherin)、波形蛋白(vimentin)、基质金属蛋白酶9(matrix metalloproteinase 9, MMP-9)、和三磷酸甘油醛脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)抗体均购自美国Abcam公司; 磷酸肌醇3激酶(phosphotylinositol 3 kinase, PI3K)、磷酸化PI3K(phospho-PI3K, p-PI3K)抗体购自上海泊湾生物科技有限公司; 蛋白激酶B(protein kinase B, PKB/AKT)、磷酸化AKT(phospho-AKT, p-AKT)抗体购自美国Affinity Biosciences公司; 其余试剂均为国产市售分析纯.

1.2 方法

1.2.1 临床标本收集: 收集2017-12/2019-12丽水市人民医院普外科肝胆病区行肝癌切除手术患者的癌组织及其配对的癌旁正常组织. 所有纳入研究的12例病例均经我院病理科确证为肝细胞癌, 配对癌旁组织中无癌细胞, 距离癌组织边缘2.0 cm以上, 且所选病例术前并未接受过放化疗和介入等治疗. 本研究所有的临床标本均经患者签署知情同意书并获得丽水市人民医院伦理委员会批准. 标本离体后迅速取材并并置于冻存管中放入液氮, 于-80 ℃超低温冰箱中保存备用.

1.2.2 细胞培养、分组及转染: 肝癌细胞系(Huh7、SMMC-7721、HCCLM3和HepG2)及人永生化肝细胞LO2均常规培养于含10% FBS的DMEM完全培养基中, 培养条件为37 ℃、含5%CO_2的恒温细胞培养箱, 每2 d更换培养基一次, 每4-5 d细胞生长达80%左右时经0.25%的胰酶消化传代.

取对数生长期的HepG2细胞接种至6孔板中(接种密度为2×10^{5}个/mL), 并将细胞分为空白对照组(control, Ctrl)、阴性对照组(si-NC)和转染组(si-TPT1-AS1). 待细胞生长至约70%融合时进行转染. 将si-TPT1-AS1/si-NC和LipofectAMINE^{2000}分别加入到Opti-MEM培养基中混匀, 室温孵育5 min, 然后将已经添加si-TPT1-AS1/si-NC的培养基与已经添加LipofectAMINE^{2000}分别轻柔混合, 室温继续孵育25 min. 最后将混合物分别加至预设分组的各组细胞中, 置于37 ℃、含5%CO_2的恒温细胞培养箱中连续培养6 h, 更换为完全细胞培养基继续培养48 h. 检测转染效率并进行后续实验分析.

1.2.3 划痕实验: 取对数生长期的HepG2细胞接种至6孔板中(预先用记号笔在培养板的背面画直线作为参考线), 接种密度为2×10^{5}个/mL. 依据实验分组转染si-NC或si-TPT1-AS1后, 将细胞板重新置于细胞培养箱中继续培养至细胞生长达到约90%融合. 用灭菌枪头依据参考线垂直在孔底划上划痕, PBS清洗后加入完全细胞培养基继续置于培养箱中培养. 分别在0 h和48 h时用倒置相差显微镜随机选取6个视野观察并采集细胞图像, 检测划痕的修复情况并衡量细胞的迁移能力.

1.2.4 Transwell实验: 预先将人工基底膜(Matrigel)基质胶解冻并用无血清的DMEM培养基按1:8的比例稀释, 之后用Matrigel胶均匀包被transwell小室的微孔膜上, 37 ℃孵育2 h. 用无血清培养基将各组细胞制成1×10^{4}个/mL的细胞悬浮液, 然后每组细胞取100 μL细胞悬浮液分别接种至transwell小室的上室, 在下室中加入700 μL完全细胞培养基, 置于细胞培养箱中继续培养48 h. 取出小室后用棉签轻柔擦除微孔膜上层的细胞, PBS清洗2次后加95%的乙醇固定微孔膜下层的细胞, 之后用体积分数为0.5%的结晶紫染液染色, PBS漂洗后, 于倒置显微镜下观察并计数穿膜细胞(每组取6个视野的均值).

1.2.5 实时荧光定量PCR: 依据Trizol试剂盒说明书所提供的方法抽提组织或细胞总RNA, 经PrimeScript^{TM} RT Master Mix kit催化合成cDNA后, 采用SYBR-Green PCR Master Mix Kit经ABI PRISM 7700系统检测lncRNA TPT1-AS1的表达. lncRNA TPT1-AS1的正向引物序列为5'-AGGAGGCTATCCTTGCCCATC-3', 反向引物序列为5'-AATTGGAGGCCAGTGCTCTGAA-3'; GAPDH作为内参, 正向引物序列为5'-GCGACACCCACTCCTCCACCTTT-3'; 反向引物序列为5'-TGCTGTAGCCAAATTCG

TTGTCATA-3'. 反应参数设置: 95 ℃变性60 sec, 45个循环(94 ℃ 30 sec, 62 ℃ 45 sec). 结果采用$2^{-\triangle\triangle CT}$法分析LncRNA TPT1-AS1的相对表达量.

1.2.6 Western blot: 各组细胞经过相应的处理后, 加RIPA裂解液于冰上裂解30 min并用橡胶刮轻柔刮取细胞蛋白. 采用BCA蛋白定量试剂盒定量后调整每组上样蛋白总量至60 μg, 加入蛋白上样缓冲液煮沸变性后行十二烷基硫酸钠(sodium dodecyl sulfate, SDS)凝胶电泳. 电泳结束后采用200 mA恒流电将蛋白转移至PVDF膜. 用质量分数为5%的脱脂牛奶室温封闭膜2 h. 依据各抗体说明书的要求加入一抗4 ℃孵育过夜, 洗膜缓冲液(tris-buffered saline with tween 20,TBST)震荡洗涤5 min×3次; 加入对应的二抗室温孵育2 h, TBST震荡洗涤10 min×3次, 将含蛋白的聚偏二氟乙烯(polyvinylidene fluoride, PVDF)膜转移至暗室中利用电化学发光法显影, 定影并冲洗胶片. 所得结果采用Image J行灰度半定量分析.

统计学处理 实验数据均录入SPSS 19.0软件中行统计学分析. 计量资料以均数±标准差(mean±SD)表示, 两组计量资料的统计学差异分析采用*t*检验, 多组计量资料间的统计学比较采用方差分析, $P<0.05$表示结果有统计学差异.

2 结果

2.1 Linc RNATPT1-AS1在肝癌中的表达 实时荧光定量PCR检测结果显示 (图1A和B), 在12例肝癌患者中, 相较于配对癌旁正常组织, 肝癌组织中lncRNA TPT1-AS1的表达显著升高($P = 0.036$)(图1A); 在6次独立细胞实验中, 相较于人永生化肝细胞LO2, 肝癌细胞系Huh7、SMMC-7721、HCCLM3和HepG2中lncRNA TPT1-AS1的表达均出现不同程度的升高(图1B).

2.2 转染siRNA-TPT1-AS1对肝癌细胞HepG2侵袭及迁移的影响 转染效率检测如图2A所示, 在6次独立细胞实验中, 转染siRNA-TPT1-AS1之后HepG2细胞中lncRNA TPT1-AS1的表达降低至对照组的0.38±0.05倍, 可用于后续实验.

划痕实验的结果如图2B和D所示, 在6次独立细胞实验中, Ctrl、si-NC和siRNA-TPT1-AS1组的迁移距离(μm)分别为: 156.2±9.31、161.3±10.03和122.6±6.47. 同样, Transwell实验的结果显示(图2C和E) , siRNA-TPT1-AS1组HepG2细胞的侵袭率显著降低至(73.12±5.99)%($P<0.05$). 结果显示siRNA-TPT1-AS1可抑制肝癌细胞HepG2的侵袭及迁移.

2.3 转染siRNA-TPT1-AS1对HepG2细胞 EMT进程的影响 Western blot的检测结果如图3所示, 在6次独立细胞实验中, 转染siRNA-TPT1-AS1之后, HepG2细胞中上皮细胞标记物E-cadherin的表达显著增加($P<0.05$), 而间质细胞标记物N-cadherin和vimentin的表达明显减少($P<0.05$). 结果显示siRNA-TPT1-AS1可抑制肝癌细胞HepG2的EMT进程.

2.4 转染siRNA-TPT1-AS1对PI3K/AKT信号通路活性的影响 本实验检测了细胞中PI3K/AKT信号通路的活性, 结果显示(图4), 在6次独立细胞实验中, 相对于Ctrl组, 转染siRNA-TPT1-AS1后, MMP-9、p-PI3K/PI3K和p-AKT/AKT的蛋白表达水平显著降低($P<0.05$). 说明在HepG2细胞中转染siRNA-TPT1-AS1可明显抑制PI3K/AKT信号通路的活性以及下游MMP-9的表达.

3 讨论

研究表明, lncRNA TPT1-AS1作为一个新的长链非编码RNA, 在不同的肿瘤中可通过不同的方式影响肿瘤的发生发展; 但其在肝癌中的作用尚不清楚. 本实验通过实时荧光定量PCR初步检测了肝癌中lncRNA TPT1-AS1的表达, 结果显示在肝癌组织及肝癌细胞中, lncRNA TPT1-AS1的表达均出现不同程度的升高. 这一结果提示, lncRNA TPT1-AS1可能在肝癌进展中发挥重要作用.

既往研究显示[9-11]lncRNA TPT1-AS1可影响胃癌、卵巢癌以及结直肠癌等恶性肿瘤的转移, 本实验通过下调lncRNA TPT1-AS1的表达, 系统的研究了其对肝癌细胞HepG2侵袭及迁移能力的影响, 并进一步探讨了其作用机制. 划痕实验和Transwell细胞侵袭实验的结果显示, 转染siRNA-TPT1-AS1可抑制肝癌细胞HepG2的侵袭及迁移. 上皮-间充质转分化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)与肿瘤的侵袭迁移密切相关, 如lncRNA TUG1即是通过miR-137/AKT2轴影响肝癌细胞的EMT进程, 进而促进肝癌细胞的侵袭及迁移[12]. LncRNA HEIH则可通过miR-119a-3p影响肝癌细胞Huh7和Hep3B中vimentin、MMP-2以及MMP-3的表达, 进而调控细胞的增殖及迁移[13]. 我们的研究发现, 转染siRNA-TPT1-AS1之后, HepG2细胞中上皮细胞标志物(E-cadherin)表达升高而间质细胞标记物(N-cadherin, vimentin)的表达则明显下降, 提示下调lncRNA TPT1-AS1可抑制肝癌细胞HepG2的EMT进程.

细胞中有多条信号通路可影响肿瘤细胞的EMT进程、迁移与侵袭, 其中PI3k/Akt信号通路是一条多功能的经典信号通路, PI3K激活后磷酸化并激活AKT, 将其定位在质膜中, 进而通过AKT将信号传递到下游不同的靶点, 影响肿瘤细胞的增殖凋亡、侵袭迁移以及分化等生理过程[14,15]. Liu等[16]的研究显示, 在结直肠癌中, PI3K/AKT信号通路被激活后可促进核转录因

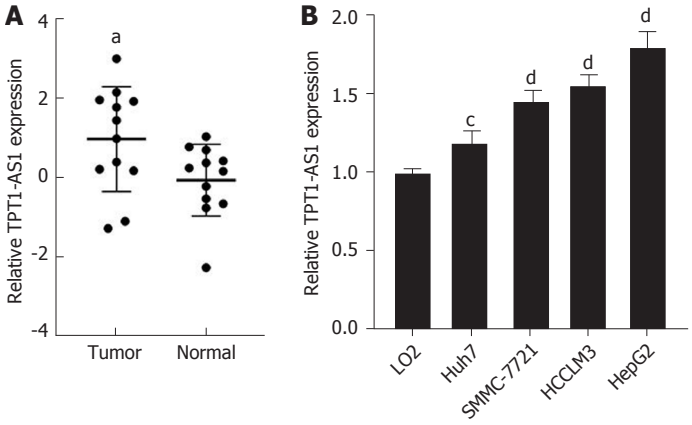


图 1　肝癌中lncRNA TPT1-AS1的表达情况. A: 肝癌组织和癌旁正常组织中lncRNA TPT1-AS1的表达水平, [a]P<0.05与癌旁正常组织比较; B: 人永生化肝细胞LO2和肝癌细胞系中lncRNA TPT1-AS1的表达水平, [c]P<0.05, [d]P<0.01与LO2细胞比较.

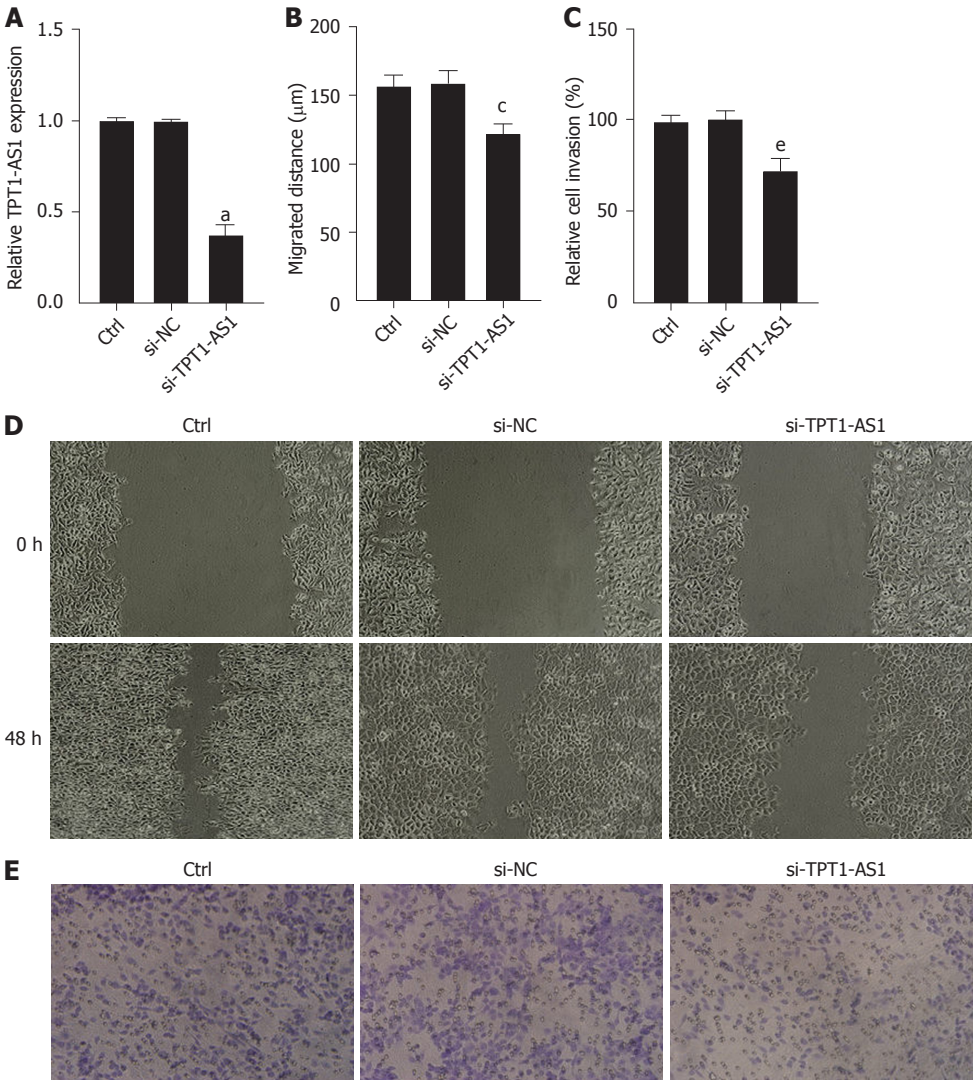


图 2　si-TPT1-AS1对HepG2细胞侵袭及迁移的影响. A: 转染效率检测, [a]P<0.05 与对照组A比较; B和D: 划痕实验检测HepG2细胞的迁移(放大倍数100×), [c]P<0.05与对照组B比较; C和E: transwell实验检测HepG2细胞的侵袭(放大倍数200×), [c]P<0.05与对照组C比较.

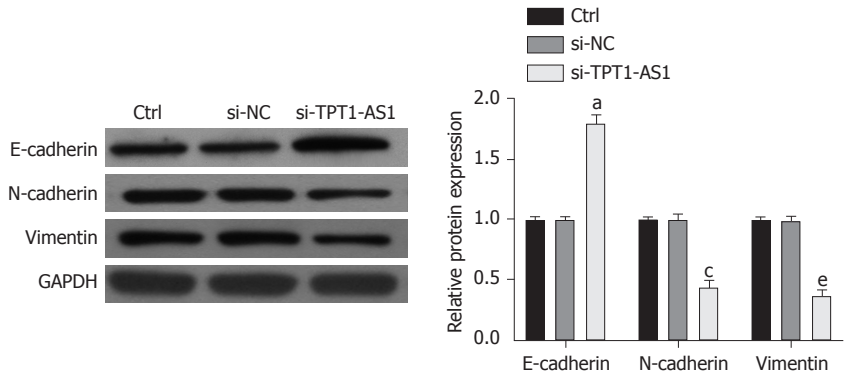


图 3　si–TPT1–AS1对HepG2细胞EMT进程的影响. $^{a}P<0.05$, $^{c}P<0.05$, $^{e}P<0.05$与对照组比较.

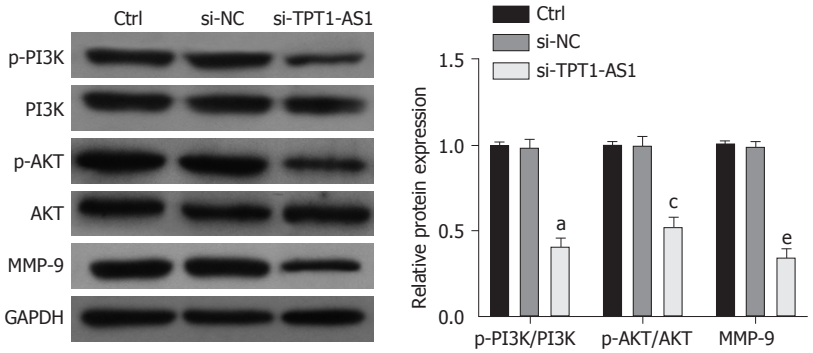


图 4　si–TPT1–AS1对HepG2细胞PI3K/AKT信号通路的影响. $^{a}P<0.05$, $^{c}P<0.05$, $^{e}P<0.05$与对照组比较.

子κB(nuclear transcription factor kappa-B, NF-κB)p65的活化及转位, 进而诱导EMT的发生. 在肝癌HepG2和HCCLM3细胞中, PI3K及AKT的磷酸化也是调控细胞EMT进程并影响细胞侵袭迁移的一个重要原因[17]. 故而本研究检测了lncRNA TPT1-AS1对PI3K/AKT信号通路的影响, 结果发现, 转染siRNA-TPT1-AS1后, p-PI3K/PI3K和p-AKT/AKT的蛋白表达水平显著降低. Zhu等[18]研究表明PI3K/AKT的抑制剂LY294002可抑制瘢痕疙瘩成纤维细胞中MMP-2与MMP-9的表达. Li等[19]的研究也显示Bmi-1的过表达通过介导PTEN/PI3k/Akt和上调MMP-2和MMP-9的表达参与了肝细胞癌的转移和侵袭, 提示MMP-2与MMP-9可能受到PI3k/Akt信号通路调节. 本实验的检测结果也证实在肝癌细胞HepG2中转染siRNA-TPT1-AS1可抑制MMP-9的表达. 以上结果提示下调lncRNA TPT1-AS1可能通过抑制HepG2细胞中PI3K/AKT信号通路的活性以及下游MMP-9的表达, 减少胞外基质的降解, 进而抑制细胞的EMT进程; 但是PI3K/AKT信号通路在其中的具体作用以及是否涉及其他信号通路和靶点还有待进一步深入的研究.

4 结论

综上所述, lncRNA TPT1-AS1在肝癌组织及细胞中高表达, 敲减lncRNA TPT1-AS1可抑制肝癌细胞HepG2的侵袭迁移, 其作用机制可能与抑制PI3K/AKT信号通路的活性以及下游MMP-9的表达, 进而影响细胞的EMT进程有关.

文章亮点

实验背景

长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)在肝癌中可发挥抑癌或促癌作用, 其有望成为肝癌诊疗的新靶点.

实验动机

LncRNA TPT1-AS1在多种恶性肿瘤中异常高表达, 并可促进肿瘤细胞的增殖、迁移和侵袭. 但, TPT1-AS1对肝癌细胞迁移和侵袭的影响尚不清楚.

实验目标

研究TPT1-AS1对肝癌细胞迁移以及侵袭的影响, 以及潜在的机制.

实验方法

用RT-qPCR检测肝癌组织与配对的癌旁组织样本、肝癌细胞系以及肝细胞LO2中lncRNA TPT1-AS1的表达.

以HepG2细胞为研究对象, 敲除TPT1-AS1后, 检测细胞迁移、侵袭、EMT进程以及PI3K/AKT信号活性.

实验结果

分别与癌旁组织或肝细胞LO2比较, lncRNA TPT1-AS1在肝癌组织样本和肝癌细胞系中表达增高. 敲除TPT1-AS1后, HepG2细胞的迁移、侵袭、EMT进程以及PI3K/AKT信号活性均降低.

实验结论

敲除TPT1-AS1能抑制肝癌细胞的迁移、侵袭、EMT进程以及PI3K/AKT信号活性.

展望前景

靶向抑制TPT1-AS1可能是潜在的肝癌的治疗策略.

5 参考文献

1 Renganathan A, Felley-Bosco E. Long Noncoding RNAs in Cancer and Therapeutic Potential. *Adv Exp Med Biol* 2017; 1008: 199-222 [PMID: 28815541 DOI: 10.1007/978-981-10-5203-3_7]
2 Peng WX, Koirala P, Mo YY. LncRNA-mediated regulation of cell signaling in cancer. *Oncogene* 2017; 36: 5661-5667 [PMID: 28604750 DOI: 10.1038/onc.2017.184]
3 Lim LJ, Jin Y, Yang H, Chung AYF, Goh BKP, Chow PKH, Chan CY, Blanks WK, Cheow PC, Lee SY, Lim TKH, Chong SS, Ooi LLPJ, Lee CG. Network of clinically-relevant lncRNAs-mRNAs associated with prognosis of hepatocellular carcinoma patients. *Sci Rep* 2020; 10: 11124 [PMID: 32636408 DOI: 10.1038/s41598-020-67742-8]
4 Liu Y, Sharma S, Watabe K. Roles of lncRNA in breast cancer. *Front Biosci (Schol Ed)* 2015; 7: 94-108 [PMID: 25961689]
5 Chen R, Li WX, Sun Y, Duan Y, Li Q, Zhang AX, Hu JL, Wang YM, Gao YD. Comprehensive Analysis of lncRNA and mRNA Expression Profiles in Lung Cancer. *Clin Lab* 2017; 63: 313-320 [PMID: 28182363 DOI: 10.7754/Clin.Lab.2016.160812]
6 Li Y, Ma D, Li T, Yin Y. Identification of functional long non-coding RNAs in gastric cancer by bioinformatics analysis. *Int J Exp Pathol* 2020; 101: 96-105 [PMID: 32608553 DOI: 10.1111/iep.12350]
7 Wu JH, Xu K, Liu JH, Du LL, Li XS, Su YM, Liu JC. LncRNA MT1JP inhibits the malignant progression of hepatocellular carcinoma through regulating AKT. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2020; 24: 6647-6656 [PMID: 32633354 DOI: 10.26355/eurrev_202006_21651]
8 Lin C, Xiang Y, Sheng J, Liu S, Cui M, Zhang X. Long non-coding RNA CRNDE promotes malignant progression of hepatocellular carcinoma through the miR-33a-5p/CDK6 axis. *J Physiol Biochem* 2020; 76: 469-481 [PMID: 32621257 DOI: 10.1007/s13105-020-00754-0]
9 Tang J, Huang F, Wang H, Cheng F, Pi Y, Zhao J, Li Z. Knockdown of TPT1-AS1 inhibits cell proliferation, cell cycle G1/S transition, and epithelial-mesenchymal transition in gastric cancer. *Bosn J Basic Med Sci* 2021; 21: 39-46 [PMID: 32156253 DOI: 10.17305/bjbms.2020.4470]
10 Wu W, Gao H, Li X, Zhu Y, Peng S, Yu J, Zhan G, Wang J, Liu N, Guo X. LncRNA TPT1-AS1 promotes tumorigenesis and metastasis in epithelial ovarian cancer by inducing TPT1 expression. *Cancer Sci* 2019; 110: 1587-1598 [PMID: 30941821 DOI: 10.1111/cas.14009]
11 Zhang Y, Sun J, Qi Y, Wang Y, Ding Y, Wang K, Zhou Q, Wang J, Ma F, Zhang J, Guo B. Long non-coding RNA TPT1-AS1 promotes angiogenesis and metastasis of colorectal cancer through TPT1-AS1/NF90/VEGFA signaling pathway. *Aging (Albany NY)* 2020; 12: 6191-6205 [PMID: 32248186 DOI: 10.18632/aging.103016]
12 Li W, Ge J, Xie J, Yang J, Chen J, He T. LncRNA TUG1 Promotes Hepatocellular Carcinoma Migration and Invasion Via Targeting miR-137/AKT2 Axis. *Cancer Biother Radiopharm* 2020 [PMID: 32589479 DOI: 10.1089/cbr.2019.3297]
13 Wu MM, Shen WD, Zou CW, Chen HJ, Guo HM. LncRNA-HEIH suppresses hepatocellular carcinoma cell growth and metastasis by up-regulating miR-199a-3p. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2020; 24: 6031-6038 [PMID: 32572917 DOI: 10.26355/eurrev_202006_21497]
14 Xia P, Xu XY. PI3K/Akt/mTOR signaling pathway in cancer stem cells: from basic research to clinical application. *Am J Cancer Res* 2015; 5: 1602-1609 [PMID: 26175931]
15 Rahmani F, Ziaeemehr A, Shahidsales S, Gharib M, Khazaei M, Ferns GA, Ryzhikov M, Avan A, Hassanian SM. Role of regulatory miRNAs of the PI3K/AKT/mTOR signaling in the pathogenesis of hepatocellular carcinoma. *J Cell Physiol* 2020; 235: 4146-4152 [PMID: 31663122 DOI: 10.1002/jcp.29333]
16 Liu W, Wang S, Sun Q, Yang Z, Liu M, Tang H. DCLK1 promotes epithelial-mesenchymal transition via the PI3K/Akt/NF-κB pathway in colorectal cancer. *Int J Cancer* 2018; 142: 2068-2079 [PMID: 29277893 DOI: 10.1002/ijc.31232]
17 Sun C, Zhang Z, He P, Zhou Y, Xie X. Involvement of PI3K/Akt pathway in the inhibition of hepatocarcinoma cell invasion and metastasis induced by SASH1 through downregulating Shh-Gli1 signaling. *Int J Biochem Cell Biol* 2017; 89: 95-100 [PMID: 28600143 DOI: 10.1016/j.biocel.2017.06.006]
18 Zhu W, Wu X, Yang B, Yao X, Cui X, Xu P, Chen X. miR-188-5p regulates proliferation and invasion via PI3K/Akt/MMP-2/9 signaling in keloids. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)* 2019; 51: 185-196 [PMID: 30668826 DOI: 10.1093/abbs/gmy165]
19 Li X, Yang Z, Song W, Zhou L, Li Q, Tao K, Zhou J, Wang X, Zheng Z, You N, Dou K, Li H. Overexpression of Bmi-1 contributes to the invasion and metastasis of hepatocellular carcinoma by increasing the expression of matrix metalloproteinase (MMP)-2, MMP-9 and vascular endothelial growth factor via the PTEN/PI3K/Akt pathway. *Int J Oncol* 2013; 43: 793-802 [PMID: 23807724 DOI: 10.3892/ijo.2013.1992]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁



WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: https://www.baishideng.com

世界华人消化杂志 2021年4月8日; 29(7): 347-355

DOI: 10.11569/wcjd.v29.i7.347

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

临床研究 CLINICAL RESEARCH

IFOBT与肿瘤标志物、炎症指标联合检测对结直肠进展期腺瘤发生的预测价值

王 绪, 张竞宇, 郑忠青, 王 涛, 朴美玉, 刘 恒, 刘 静, 刘文天

王绪, 张竞宇, 郑忠青, 王涛, 朴美玉, 刘恒, 刘静, 刘文天, 天津医科大学总医院消化内科 天津市 300052

王绪, 医学硕士, 主要从事消化内科疾病诊治的相关研究.

基金项目: 天津市科委慢性病防治科技重大专项, NO. 17ZXMFSY00210.

作者贡献分布: 此课题由王绪、刘文天设计; 数据采集由王绪、张竞宇、刘恒、刘静完成; 研究操作由郑忠青、王涛、朴美玉、刘文天完成; 数据分析由王绪完成; 本论文写作由王绪、刘文天完成.

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内科. Lwentian64@163.com

收稿日期: 2021-01-22
修回日期: 2021-02-02
接受日期: 2021-03-02
在线出版日期: 2021-04-08

Value of combined detection of IFOBT, tumor markers, and inflammatory markers in predicting occurrence of advanced colorectal adenoma

Xu Wang, Jing-Yu Zhang, Zhong-Qing Zheng, Tao Wang, Mei-Yu Piao, Heng Liu, Jing Liu, Wen-Tian Liu

Xu Wang, Jing-Yu Zhang, Zhong-Qing Zheng, Tao Wang, Mei-Yu Piao, Heng Liu, Jing Liu, Wen-Tian Liu, Department of Gastroenterology and Hepatology, Tianjin Medical University General Hospital, Tianjin 300052, China

Supported by: Tianjin Science and Technology Commission, Major Project of Prevention and Treatment of Chronic Disease, No. 17ZXMFSY00210.

Corresponding author: Wen-Tian Liu, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology and Hepatology, Tianjin Medical University General Hospital, No. 154 Anshan Road, Heping District, Tianjin 300052, China. Lwentian64@163.com

Received: 2021-01-22
Revised: 2021-02-02
Accepted: 2021-03-02
Published online: 2021-04-08

Abstract

BACKGROUND

At present, there is a lack of effective, non-invasive screening tests for colorectal precancerous lesions. Identification of high-risk groups and multi-biomarker detection have become the trend of cancer and precancerous lesion screening. Inflammatory markers have been widely used in the diagnosis and prognosis of various tumors, but there are few studies on their diagnostic value in precancerous lesions.

AIM

To explore the predictive value of the general characteristics, neutrophil to lymphocyte ratio (NLR), platelet to lymphocyte ratio (PLR), CEA, CA199, and immunochemical fecal occult blood testing (IFOBT) in the occurrence of advanced colorectal adenoma.

METHODS

Two hundred and ninety-five cases of advanced colorectal adenomas confirmed by pathology and electronic colonoscopy at our hospital from 2014 to 2018 were retrospectively analyzed, and 448 cases of non-advanced adenomas in the same period were selected as a control group. The general clinical data of the patients, including basic characteristics (gender and age), living habits (smoking and drinking), and past history of disease (hypertension, coronary heart disease, diabetes), history of surgery (history of cholecystectomy or appendectomy), and laboratory examinations (NLR, PLR, CEA, CA199, and IFOBT) were collected. Measurement data were compared using *t*-test or Mann-Whitney *U* test,

and count data were compared using χ^2 test. Statistically significant variables were included in binary logistic regression analysis. ROC curve was drawn to evaluate the predictive value of related indexes in the occurrence of advanced colorectal adenoma.

RESULTS

Multivariate logistic regression analysis demonstrated that age (odds ratio [OR] = 1.047, 95% confidence interval [CI]: 1.028-1.066, *P* = 0.000), smoking (OR = 1.880, 95%CI: 1.250-2.826, *P* = 0.002), diabetes (OR = 2.073, 95CI%: 1.216-3.535, *P*=0.007), previous cholecystectomy (OR = 9.206, 95CI%: 2.904-29.181, *P* = 0.000), IFOBT (OR = 7.681, 95%CI: 4.585-12.869, *P* = 0.000), CA199 (OR = 1.039, 95%CI: 1.018-1.059, *P* = 0.000), and NLR (OR = 1.706, 95%CI: 1.388-2.097, *P* = 0.000) were independent factors for advanced colorectal adenoma. ROC analysis showed that the areas under the ROC curves (AUCs) of IFOBT, CA199, and NLR in predicting advanced colorectal adenoma were 0.644 (95%CI: 0.602-0.686), 0.639 (95%CI: 0.598-0.679), and 0.645 (95%CI: 0.605-0.685), respectively. The optimal cutoff values for NLR and CA199 were 2.04 and 7.87 U/mL, respectively. The sensitivity and specificity of IFOBT, CA199, and NLR in predicting advanced colorectal adenoma were 34.6% and 94.2%, 53.9% and 66.1%, and 50.2% and 71.8%, respectively. The AUC of combination of the three biomarkers for the diagnosis of advanced adenoma was 0.752 (95%CI: 0.716-0.788), with a sensitivity of 52.9%and specificity of 82.8%. In the subgroup analysis, there were significant differences between the IFOBT(+) subgroup and IFOBT(-) subgroups with regard to tumor location (*P* = 0.048), diameter (*P* = 0.000), and differentiation(*P* = 0.000). There were also significant differences between the low NLR (< 2.04) subgroup and high NLR (≥ 2.04) subgroup with regard to gender (*P* = 0.004), tumor diameter (*P* = 0.028), and tumor differentiation (*P* = 0.000).

CONCLUSION

Advanced colorectal adenoma is associated with advanced age, smoking, diabetes, and previous cholecystectomy, and more attention should be paid to populations with these risk factors. IFOBT, NLR, and CA199 have appreciated diagnostic value for advanced colorectal adenoma, with the combination of all three having the highest diagnostic value.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Advanced adenoma; Colorectal adenoma; Neutrophil/lymphocyte ratio; CA199; Immunochemical fecal occult blood testing

Citation: Wang X, Zhang JY, Zheng ZQ, Wang T, Piao MY, Liu H, Liu J, Liu WT. Value of combined detection of IFOBT, tumor markers, and inflammatory markers in predicting occurrence of advanced colorectal adenoma. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2021; 29(7): 347-355

URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i7/347.htm

DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i7.347

摘要

背景

目前临床缺乏对结直肠癌前病变有效的无创筛查手段, 识别高危人群和多指标联合检测已成为癌及癌前病变筛查的趋势. 多种炎症指标已广泛用于各种肿瘤的诊断及预后, 而对癌前病变诊断价值的研究较少.

目的

探讨粪便免疫潜血实验(immunochemical fecal occult blood testing, IFOBT), 肿瘤标志物(CEA、CA199), 炎症指标包括中性粒细胞/淋巴细胞比值(neutrophil/lymphocyte ratio, NLR)、血小板/淋巴细胞比值(platelet/lymphocyte ratio, PLR)及一般临床特征对结直肠进展期腺瘤息肉发生的预测价值.

方法

回顾性分析我院2014-2018年行电子结肠镜检查并经病理学证实的295例结直肠进展期腺瘤病例作为观察组, 选择同期448例非进展期腺瘤病例作为对照组, 收集患者的一般临床资料包括基本特征(性别、年龄)、生活习惯(吸烟史、饮酒史)、既往史(高血压史、冠心病史、糖尿病史), 手术史(胆囊或阑尾切除史); 实验室检查(NLR、PLR、CEA、CA199、IFOBT); 进行单因素差异分析, 将有意义的结果纳入二元logistic回归分析, 绘制ROC曲线, 评估相关指标对结直肠进展期腺瘤发生的预测价值.

结果

Logistic回归分析显示: 年龄(OR = 1.047, 95%CI: 1.028-1.066, *P* = 0.000)、吸烟(OR = 1.880, 95%CI: 1.250-2.826, *P* = 0.002)、糖尿病(OR = 2.073, 95CI%: 1.216-3.535, *P* = 0.007)、既往胆囊切除(OR = 9.206, 95CI%: 2.904-29.181, *P* = 0.000)、IFOBT (OR = 7.681, 95%CI: 4.585-12.869, *P* = 0.000)、CA199 (OR = 1.039, 95%CI: 1.018-1.059, *P* = 0.000)、NLR (OR = 1.706, 95%CI: 1.388-2.097, *P* = 0.000)与进展期腺瘤的发生独立相关. 对于预测进展期腺瘤的发生, IFOBT的灵敏度为34.6%, 特异度为94.2%, AUC为0.644, 95%CI: 0.602-0.686, CA199的最佳截断点为7.87 U/mL, 灵敏度为53.9%, 特异度为66.1%, AUC为0.639, 95%CI: 0.598-0.679, NLR的最佳截断点为2.04, 灵敏度为50.2%. 特异度为71.8%, AUC为0.645, 95%CI: 0.605-0.685, 当三者联合检测时其灵敏度为52.9%, 特异度为82.8%, AUC 95%CI为0.752 (0.716-0.788), 进展期腺瘤亚组分析中, IFOBT(一)和 IFOBT(十)亚组之间的腺瘤位置(*P* = 0.048)、腺瘤直径(*P* = 0.000)、分化级

别(P = 0.000)差异有统计学意义, 低NLR(<2.04)和高NLR (≥2.04)亚组之间的性别(P = 0.004)、腺瘤直径(P = 0.028)、分化级别(P = 0.000)差异有统计学意义.

结论

高龄、吸烟、糖尿病、既往胆囊切除人群更易发生结直肠进展期腺瘤, 临床需对此类人群提高重视, IFOBT、NLR、CA199对进展期腺瘤的发生具有诊断意义, 三者联合检测时其诊断效能最佳.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 进展期腺瘤; 结直肠腺瘤; 中性粒细胞/淋巴细胞比值; CA199; 粪便免疫潜血实验; 预测价值

核心提要: 年龄、吸烟、糖尿病、既往胆囊切除是结直肠进展期腺瘤发生的独立危险因素, 中性粒细胞/淋巴细胞比值、肿瘤标志物、粪便免疫潜血实验对结直肠进展期腺瘤具有诊断价值, 尤其三者联合检测时诊断效果最佳, 本研究结果对结直肠进展期腺瘤的无创筛查方案建立有一定的指导意义.

文献来源: 王绪, 张竞宇, 郑忠青, 王涛, 朴美玉, 刘恒, 刘静, 刘文天. IFOBT与肿瘤标志物、炎症指标联合检测对结直肠进展期腺瘤发生的预测价值. 世界华人消化杂志 2021; 29(7): 347-355

URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i7/347.htm

DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i7.347

0 引言

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是全球第三大最常见的肿瘤, 同时也是第四大癌症死亡原因, 仅2012年全球就有120万的新发病例和70万的死亡病例[1], 结直肠腺瘤被认为是CRC的前体, 在肠道中多以息肉的形式存在, 目前认为约80%的CRC是从结直肠腺瘤转变而来, “正常粘膜-腺瘤-癌”路径被认为是散发CRC的主要发展演变过程[2], 结直肠腺瘤的发展为浸润性癌的年转化率为0.25%, 而进展期腺瘤最高可达5.7%[3,4], 对平均风险人群的CRC筛查主要依赖于腺瘤, 特别是进展期腺瘤的检测, 研究表明结肠镜可以发现和切除癌前病变, 有效预防90%的CRC[5,6], 但是对平均风险人群实现大规模结肠镜筛查会大大增加医疗资源的压力, 因此建立高效且节约医疗资源的进展期腺瘤筛查体系异常重要, 虽然粪便免疫潜血实验(immunochemical fecal occult blood testing, IFOBT)对CRC有较佳的灵敏度和特异度, 但对腺瘤的敏感性较低[7], CEA、CA199为CRC相关的常见研究指标[8,9], 但少有关于CEA、CA199与结直肠进展期腺瘤的研究, 而外周血中性粒细胞/淋巴细胞比值(neutrophil to lymphocyte ratio, NLR)、血小板/淋巴细胞比值(platelet to lymphocyte ratio, PLR)作为炎症观察指标, 可用来观察机体抗肿瘤与促肿瘤之间的动态平衡[10], 本文旨在探讨临床一般特征及NLR、PLR、CEA、CA199、IFOBT与进展期腺瘤发生的相关性, 为进展期腺瘤的非侵入筛查提供有效指导.

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 研究对象: 均为2014-2018年于我院行结肠镜检查并经病理学确诊的进展期腺瘤病例. 其中进展期腺瘤[3]为满足下列1条或多条定义的腺瘤: (1)腺瘤直径≥10 mm; (2)含有绒毛成分; (3)高级别上皮内瘤变. 非进展腺瘤定义同时满足以下条件的腺瘤: (1)直径<10 mm; (2)不含有绒毛成分; (3)无高级别上皮内瘤变. 排除标准: (1)既往诊断为CRC或其他癌者; (2)既往因结直肠息肉、腺瘤及其他原因行结直肠手术者; (3)既往有家族性腺瘤性息肉病或炎症肠病病史者; (4)因梗阻或无法耐受导致肠镜未完成者; (5)肠道准备不佳而导致肠镜视野不清晰者; 研究共纳入295例进展期腺瘤作为观察组, 另选取同期448例非进展期腺瘤作为对照组.

1.1.2 一般特征: 收集患者的一般资料, 包括性别、年龄、吸烟史(阳性定义为每天至少一支, 持续时间≥6 mo)、饮酒史(根据白酒或啤酒不同的酒精度数换算, 阳性定义为平均每天酒精摄入量≥10 mL, 持续时间≥6 mo)、既往史(至少在二级医院以上确诊的糖尿病、高血压、冠心病等)、阑尾及胆囊切除史(既往因阑尾炎或者胆囊结石等疾病行阑尾或胆囊切除术).

1.2 方法 NLR、PLR、IFOBT、CEA、CA199: 血常规检查: 血液标本均选用EDTA-K2抗凝真空管采集, 均通过自动血液分析仪测量得出中性粒细胞计数、淋巴细胞计数及血小板计数, 计算NLR、PLR; IFOBT: 采用胶体金法, 患者留取一次清晨自然便样本进行IFOBT, IFOBT检测试剂均购自北京万华普曼公司, 由消化内科实验室按产品说明书进行检测; 肿瘤标志物(CEA、CA199): 检测均采用ARCHITECTi2000全自动发光仪和配套的试剂盒进行, 由美国雅培公司生产,其中检测方法采用化学发光微粒子免疫,按说明书进行操作.

统计学处理 采用SPSS 23软件对数据进行统计学分析, 其中符合正态分布的计量资料采用mean±SD表示, 组间比较采用独立样本t检验, 偏态分布的资料采用M (P25, P75)表示, 组间比较采用Mann-Whitney U检验, 计数资料采用率(%)表示, 组间比较采用χ^2检验, 多因素分析采用二元logistic回归分析, 绘制进展期腺瘤的受试者工作特征(ROC)曲线, 计算灵敏度、特异度

和曲线下面积(AUC), 评价各项指标对进展期腺瘤的诊断价值, 以P<0.05有统计学意义.

2 结果

2.1 结直肠进展期腺瘤单因素分析 单因素分析显示观察组饮酒者、阑尾切除者占比与对照组相比差异无统计学意义(均P>0.05), 另外观察组男性、吸烟者、糖尿病者、高血压者、冠心病者、既往胆囊切除者和IFOBT阳性人数占比显著高于对照组(均P<0.05). 观察组年龄、CEA、CA199、NLR水平显著高于对照组(均P<0.05), 而两组的PLR水平无显著差异(P>0.05), 具体见表1.

2.2 结直肠进展期腺瘤Logistic回归分析 把性别(女性 = 0、男性 = 1)、年龄、吸烟(吸烟 = 1、不吸烟 = 0)、糖尿病(糖尿病 = 1、无糖尿病 = 0)、高血压(高血压 = 1、无高血压 = 0)、冠心病(冠心病 = 1、无冠心病 = 0)、胆囊切除史(既往胆囊切除 = 1、无胆囊切除史 = 0)、IFOBT((+) = 1、(-) = 0)、CEA、CA199、NLR等因素纳入二元Logistic回归分析, 采用强迫进入法, 分析结果显示, 年龄(OR = 1.047, 95%CI: 1.028-1.066, P = 0.000)、吸烟(OR = 1.880, 95%CI: 1.250-2.826, P = 0.002)、糖尿病(OR = 2.073 95CI%: 1.216-3.535, P = 0.007)、既往胆囊切除(OR = 9.206, 95CI%: 2.904-29.181, P = 0.000)、IFOBT (OR = 7.681, 95%CI: 4.585-12.869, P = 0.000)、CA199 (OR = 1.039, 95%CI: 1.018-1.059, P = 0.000)、NLR (OR = 1.706, 95%CI: 1.388-2.097, P = 0.000)与进展期腺瘤的发生独立相关, 具体见表2.

2.3 IFOBT、CA199、NLR单独及联合预测进展期腺瘤的发生的ROC曲线分析 ROC曲线分析显示, IFOBT、CA199、NLR对预测结直肠进展期腺瘤的发生的灵敏度分别为: 34.6%、53.9%、50.2%, 特异度分别为: 94.2%、66.1%、71.8%, 其ROC曲线下面积(AUC) 95%CI分别为: 0.644 (0.602-0.686)、0.639 (0.598-0.679)、0.645 (0.605-0.685), NLR的最佳截断点为2.04; CA199的最佳截断点为7.87 U/mL, 将IFOBT、CA199、NLR纳入Logistic回归分析评估三者联合检测的诊断效能, 当三者联合检测时其AUC (95%CI)为0.752 (0.716-0.788), 灵敏度为52.9%, 特异度为82.8%, 具体见图1, 表3.

2.4 不同临床特征进展期腺瘤中IFOBT、CA199、NLR水平的比较 根据IFOBT结果和CA199、NLR的最佳截断点可将结直肠进展期腺瘤分为IFOBT(−)亚组、IFOBT(+)亚组, 高CA199亚组(≥7.87 U/mL)、低CA199亚组(<7.87 U/mL), 高NLR亚组(≥2.04)、低NLR亚组(<2.04), IFOBT(−)和IFOBT(+)亚组之间的腺瘤位置(P = 0.048)、腺瘤直径(P = 0.000)、分化级别(P = 0.000)

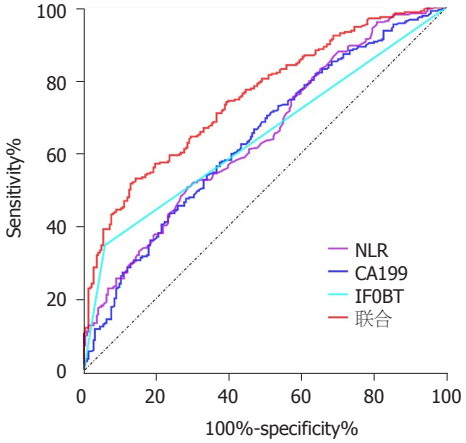


图 1 中性粒细胞/淋巴细胞比值、CA199、粪便免疫潜血实验单独及联合预测结直肠进展期腺瘤发生的ROC曲线.

差异有统计学意义, 低CA199和高CA199亚组之间年龄、性别、腺瘤位置、腺瘤直径、病理类型、分化级别均无显著差异(均P>0.05), 低NLR和高NLR亚组之间的性别(P = 0.004)、腺瘤直径(P = 0.028)、分化级别(P = 0.000)差异有统计学意义, 见表4.

3 讨论

CRC在我国为最常见的恶性肿瘤之一, 死亡率较高, 临床上CRC发现时多为晚期, 因此对CRC前病变的筛查就显得极为重要, 由于大多数CRC均由结直肠腺瘤演变而来, 尤其是进展期腺瘤的癌变率远高于非进展期, 所以临床对进展期腺瘤尤为重视, 目前多数文献建议从50岁开始行结肠镜检查, 平均每10年检查一次可以有效预防CRC[11], 年龄是目前公认的进展期腺瘤危险因素之一, 且有研究[12,13]显示进展期腺瘤发病年龄有逐渐年轻化的趋势, 考虑与年轻人群的生活饮食结构变化相关. 吸烟和饮酒是许多疾病的危险因素, 本研究观察到吸烟史进展期腺瘤的独立危险因素, 考虑吸烟可通过氧化损伤造成DNA的错误编码, 促进腺瘤的发生[14], 关于饮酒对进展期腺瘤的影响目前存在争议, 有研究[15,16]认为饮酒可显著增加进展期腺瘤的发病风险, 且饮酒时间越长, 风险越高, 本研究未观察到两组之间饮酒史存在明显差异, 考虑本研究未对具体饮酒量分层, 因此关于饮酒与进展期腺瘤的之间的关系尚需更加详细分层研究.

国外研究[17]同样显示血糖控制不良人群的进展期腺瘤发病率明显增加, 本研究显示糖尿病是进展期腺瘤的独立危险因素, 与国外研究基本相符, 关于胆囊切除与进展期腺瘤之间关系鲜有文献报道, 本研究显示既往囊切除与进展期腺瘤的发生显著相关, 目前大部分研究为胆囊切除与结肠癌之间的关系, 胆囊切除与CRC之间的机制尚不十分明确, 主要认为胆囊切除后胆汁的肝肠

表 1 结直肠进展期腺瘤单因素比较

项目	观察组 $n = 295$	对照组 $n = 448$	统计值	P
性别				
男	175 (59.3%)	230 (51.3%)	4.571	0.033
女	120 (40.7%)	218 (48.7%)		
年龄(岁)				
	62.5 ± 10.8	56.7 ± 11.7	6.923	0.000
吸烟史				
有	104 (35.3%)	106 (23.7%)	11.792	0.001
无	191 (64.7%)	342 (76.3%)		
饮酒史				
有	84 (28.5%)	132 (29.5%)	0.084	0.771
无	211 (71.5%)	316 (70.5%)		
糖尿病				
有	54 (18.3%)	36 (8.0%)	17.621	0.000
无	241 (81.7%)	412 (92.0%)		
高血压				
有	121 (41.0%)	122 (27.2%)	15.357	0.000
无	174 (59.0%)	326 (72.8%)		
冠心病				
有	41 (13.9%)	34 (7.6%)	7.801	0.005
无	254 (86.1%)	414 (92.4%)		
阑尾切除史				
有	29 (9.8%)	53 (11.8%)	0.725	0.395
无	266 (90.2%)	395 (88.2%)		
胆囊切除史				
有	19 (6.4%)	4 (0.9%)	18.250	0.000
无	276 (93.6%)	444 (99.1%)		
IFOBT				
(+)	102 (34.6%)	26 (5.8%)	109.150	0.000
(–)	193 (65.4%)	422 (94.2%)		
CEA (ng/mL)	2.40 (1.52, 3.64)	2.05 (1.38, 3.07)	9.301	0.003
CA199 (U/mL)	8.17 (4.84, 14.72)	5.74 (3.45, 9.89)	41.077	0.000
NLR	2.46 ± 1.51	1.77 ± 0.76	7.160	0.000
PLR	125.37 ± 53.61	119.51 ± 38.80	1.701	0.090

IFOBT: 粪便免疫潜血实验; NLR: 中性粒细胞/淋巴细胞比值; PLR: 血小板/淋巴细胞比值.

循环增加以及肝脏合成加快, 大量胆汁酸进入肠道, 初级胆汁酸脱羟化转变为次级胆酸, 次级胆酸作为一种致癌因子反复长期作用于肠粘膜最终导致CRC的发生. 关于胆囊切除与进展期腺瘤之间的关系尚需更深入的研究来明确.

粪便潜血实验及肿瘤标志物常用于CRC的早期诊断, 其中便潜血实验有取材方便, 操作简单、快速得出结果等优点, 但是化学法粪便潜血实验因为受到食物、药物、以及患者依从性问题所以假阳性率较高[18], 而IFOBT的原理在于检测试剂中人特异性Hb抗体可与粪便中的Hb结合, 非人Hb以及食物中的过氧化物酶无法与之结合, 从而大大降低了潜血实验的假阳性率, 本研究显示IFOBT对诊断进展期腺瘤的敏感度为34.6%, 而特异度为94.2%, 与国外研究[19,20]基本相符, 而单独的IFOBT对进展期腺瘤的诊断的灵敏度不佳, 常需要联合指标检测提高灵敏度, CEA、CA199作为CRC常用的辅助诊断指标, 与结直肠肿瘤的存在与严重程度密切相关[21], 临床上多为关于CEA、CA199与CRC的研究, 而关于CEA和CA199与进展期腺瘤的研究鲜有报道, 本研究显示CEA与进展期腺瘤的发生无明显相关性, 而进展期腺瘤的CA199水平显著高于对照组, CA199作为肿瘤判断的广谱标志物, 其广泛分布于多种恶性肿瘤组织, 如

表 2　结直肠进展期腺瘤Logistic回归分析

项目	B值	SE	Wald	*P*	OR	95%CI
性别	0.281	0.194	2.103	0.147	1.324	0.096–1.936
年龄	0.045	0.009	23.805	0.000	1.047	1.028–1.066
吸烟史	0.631	0.208	9.196	0.002	1.880	1.250–2.826
糖尿病	0.729	0.272	7.170	0.007	2.073	1.216–3.535
高血压	0.304	0.197	2.387	0.122	1.355	0.922–1.992
冠心病	0.301	0.299	1.014	0.314	1.352	0.752–2.431
胆囊切除	2.220	0.589	14.224	0.000	9.206	2.904–29.181
IFOBT	2.039	0.263	59.958	0.000	7.681	4.585–12.869
CEA	0.011	0.048	0.056	0.813	1.011	0.920–1.112
CA199	0.038	0.010	14.268	0.000	1.039	1.018–1.059
NLR	–0.002	0.002	1.017	0.000	1.706	1.388–2.097

B值: 回归系数; SE: 标准误; Wald: 瓦尔德χ^2值; IFOBT: 粪便免疫潜血实验; NLR: 中性粒细胞/淋巴细胞比值.

果细胞有恶性转化趋势, 糖基化酶会受到激活作用, 糖基结构发生改变, 患者血液中CA199表达水平升高, 临床上通常认为CA199对消化道肿瘤的预后有较佳的提示意义, 而对消化道肿瘤诊断的灵敏度不佳. 本研究发现虽然进展期腺瘤的CA199水平多数在正常值(<37 U/mL)范围之内, 但其平均水平显著高于对照组, 当CA199的最佳截断点为7.87 U/mL时, 对进展期腺瘤诊断灵敏度为53.9%, 特异度为66.1%, 提示CA199对进展期腺瘤具有一定的诊断意义.

NLR和PLR作为一种全身炎症反应标志物, 在多种肿瘤具有预后价值[22,23],目前已有许多研究指出NLR、PLR与多种肿瘤的预后相关, 因此NLR、PLR水平可能对进展期腺瘤的发生有一定的提示作用, Zhou[24]等人研究指出, 在健康人、腺瘤组、CRC组中其NLR水平依次递增, 对于腺瘤性息肉, NLR的最佳截断点为2.14时, 其敏感性和特异性水平分别为36.7%和80.9%, 结果提示NLR与结直肠腺瘤的发生密切相关. 炎症反应与肿瘤的发生、发展以及转移密切相关, 炎症细胞可释放炎性介质、上调各种细胞因子、改变肿瘤微环境等因素, 肿瘤局部的炎症反应会对肿瘤细胞增殖有促进作用. 另一方面, 机体在炎症反应时可释放一系列能导致机体免疫功能紊乱以及肿瘤免疫逃避的抑制性的免疫介质, NLR反映了机体炎症与肿瘤免疫状态,该指标容易获取、操作简便,是肿瘤早期筛查的热点,目前关于NLR联合肿瘤标志物筛查进展期腺瘤的研究较少, 本研究发现当NLR、CA199取最佳截断点和IFOBT三者联合预测进展期腺瘤时可大大提高其诊断效能.

4 结论

综上所述, 本研究中分析了一般临床特征对结直肠进展期腺瘤的发生影响及NLR、PLR、IFOBT、CEA、CA199对进展期腺瘤的诊断意义, 结果显示: (1)年龄、吸烟、糖尿病、既往胆囊切除是进展期腺瘤发生的独立危险因素; (2)单一指标检测时, NLR、CA199最佳截断点分别为2.04和7.87 U/mL时对进展期腺瘤的诊断效果最佳, 其灵敏度分别为50.2%、53.9%, 特异度分别为71.8%、66.1%, 而IFOBT对进展期腺瘤诊断的特异度较佳而灵敏度较差; (3)采用NLR、CA199、IFOBT联合检测时可提高其对进展期腺瘤的诊断效能; (4)IFOBT结果受腺瘤直径和分化级别影响, 而NLR水平受性别、腺瘤直径、分化级别的影响.

结直肠进展期腺瘤的发生是多因素参与、多阶段发展的结果, 临床需对高风险人群给予足够重视, 争取采取对腺瘤-癌途径的早期干预, 考虑结肠镜大面积筛查成本高且人群依从性差, 本研究发现IFOBT、NLR、CA199作为简便、易行、快速、经济的非侵入方法可为进展期腺瘤的筛查提供有效指导, 同样作为非侵入筛查手段, 炎性标志物、肿瘤标志物、粪便免疫潜血实验之间可以互相补充, 提高对结直肠进展期腺瘤诊断的敏感度, 本研究为单中心研究、且样本量有待丰富, 因此本研究结果需更多大样本、多中心研究来更加标准化各个指标的最佳截断点, 为临床提供更加科学的诊断依据.

文章亮点

实验背景

目前临床缺乏对进展期腺瘤有效的无创筛查手段, 而实现进展期腺瘤早期检测及干预又极为重要, 识别高危人群和多指标联合检测成为癌及癌前病变筛查的趋势, 既往研究指出粪便免疫潜血实验(immunochemical fecal

表 3　粪便免疫潜血实验、CA199、中性粒细胞/淋巴细胞比值、血小板/淋巴细胞比值单指标及联合检测对结直肠进展期腺瘤的诊断价值

项目	灵敏度(%)	特异度(%)	AUC	95%CI	*P*
IFOBT	34.6	94.2	0.644	0.602–0.686	0.000
CA199	53.9	66.1	0.639	0.598–0.679	0.000
NLR	50.2	71.8	0.645	0.605–0.685	0.000
联合	52.9	82.8	0.752	0.716–0.788	0.000

IFOBT、CA199、NLR三者联合; IFOBT: 粪便免疫潜血实验; NLR: 中性粒细胞/淋巴细胞比值.

表 4　不同临床特征进展期腺瘤中粪便免疫潜血实验、CA199、中性粒细胞/淋巴细胞比值水平的比较

项目	例数	IFOBT(–)	IFOBT(+)	*P*	低CA199	高CA199	*P*	低NLR	高NLR	*P*
		(*n* = 193)	(*n* = 102)		(*n* = 136)	(*n* = 159)		(*n* = 147)	(*n* = 148)	
年龄(岁)				0.247			0.446			0.101
<50	32	17	15		17	15		12	20	
50–59	71	45	26		36	35		37	34	
60–69	118	77	41		54	64		67	51	
≥70	74	54	20		29	45		31	43	
性别				0.384			0.581			0.004
女	120	82	38		53	67		72	48	
男	175	111	64		83	92		75	100	
腺瘤位置				0.048			0.132			0.503
近端结肠	91	67	24		36	55		48	43	
远端结肠	204	126	78		100	104		99	105	
腺瘤直径				0.000			0.220			0.028
<10 mm	48	42	6		25	23		28	20	
10–19 mm	143	99	44		70	73		78	65	
≥20 mm	104	52	52		41	63		41	63	
病理类型				0.355			0.980			0.078
TA	100	69	31		46	54		57	43	
TVA+VA	195	124	71		90	105		90	105	
分化级别				0.000			0.863			0.000
低级别	214	153	61		98	116		111	93	
高级别	81	40	41		38	43		36	55	

TA: 管状腺瘤; TVA: 管状绒毛状腺瘤; VA: 绒毛状腺瘤; IFOBT: 粪便免疫潜血实验; NLR: 中性粒细胞/淋巴细胞比值.

occult blood testing, IFOBT)和肿瘤标志物对进展期腺瘤诊断价值不佳, 炎症指标如中性粒细胞/淋巴细胞比值(neutrophil to lymphocyte ratio, NLR)、血小板/淋巴细胞比值(platelet to lymphocyte ratio, PLR)已被证实与多种肿瘤的诊断及预后相关, 而关于炎症指标对癌前病变的诊断价值研究较少.

实验目标

本文在既往研究基础上选取进展期腺瘤患者IFOBT、CEA、CA199、NLR、PLR五种指标并评估患者的一般临床特征, 旨在评估各指标对进展期腺瘤的诊断价值及识别高风险人群, 为建立合理有效的无创筛查方案提供参考.

实验方法

通过纳入排除标准回顾性分析了295例进展期腺瘤患者数据, 通过*t*检验、Mann-Whitney *U*检验、卡方检验和Logistic回归分析评估了进展期腺瘤的独立影响因素,通过受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线确定了IFOBT、CA199、NLR对进展期腺瘤的诊断价值.

实验结果

本研究发现年龄、吸烟、糖尿病、既往胆囊切除是进

展期腺瘤的独立危险因素, IFOBT、CA199、NLR对进展期腺瘤均有一定诊断价值, 而CEA、PLR对进展期腺瘤无诊断意义, 当IFOBT、CA199、NLR三者联合检测时可显著提高对进展期腺瘤的诊断效能.分析另外发现IFOBT与腺瘤的位置、直径、分化级别相关, 而NLR与患者性别、腺瘤直径、分化级别相关.

实验结论

高龄、吸烟、糖尿病、既往胆囊切除人群发生进展期腺瘤的风险更高, IFOBT、CA199、NLR联合检测时对进展期腺瘤具有良好的诊断价值, 本研究结果有望为结直肠癌前病变无创筛查方案建立提供有效参考.

展望前景

本研究为单中心研究, 样本量有限, 需多中心、大样本研究来验证本研究结果, 未来需对进展期腺瘤患者进行随访, 监测指标的动态变化并评估相关指标对进展期腺瘤的复发及预后影响.

5 参考文献

1 Arnold M, Sierra MS, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, Bray F. Global patterns and trends in colorectal cancer incidence and mortality. *Gut* 2017; 66: 683-691 [PMID: 26818619 DOI: 10.1136/gutjnl-2015-310912]

2 Mang T. [Colorectal cancer: role of imaging in screening]. *Radiologe* 2019; 59: 23-34 [PMID: 30564957 DOI: 10.1007/s00117-018-0479-0]

3 Winawer SJ, Zauber AG, Fletcher RH, Stillman JS, O'brien MJ, Levin B, Smith RA, Lieberman DA, Burt RW, Levin TR, Bond JH, Brooks D, Byers T, Hyman N, Kirk L, Thorson A, Simmang C, Johnson D, Rex DK. Guidelines for colonoscopy surveillance after polypectomy: a consensus update by the US Multi-Society Task Force on Colorectal Cancer and the American Cancer Society. *CA Cancer J Clin* 2006; 56: 143-59; quiz 184-5 [PMID: 16737947 DOI: 10.3322/canjclin.56.3.143]

4 Eide TJ. Risk of colorectal cancer in adenoma-bearing individuals within a defined population. *Int J Cancer* 1986; 38: 173-176 [PMID: 3733258 DOI: 10.1002/ijc.2910380205]

5 Winawer SJ, Zauber AG, Ho MN, O'Brien MJ, Gottlieb LS, Sternberg SS, Waye JD, Schapiro M, Bond JH, Panish JF. Prevention of colorectal cancer by colonoscopic polypectomy. The National Polyp Study Workgroup. *N Engl J Med* 1993; 329: 1977-1981 [PMID: 8247072 DOI: 10.1056/NEJM199312303292701]

6 Winawer SJ, Zauber AG, O'Brien MJ, Ho MN, Gottlieb L, Sternberg SS, Waye JD, Bond J, Schapiro M, Stewart ET. Randomized comparison of surveillance intervals after colonoscopic removal of newly diagnosed adenomatous polyps. The National Polyp Study Workgroup. *N Engl J Med* 1993; 328: 901-906 [PMID: 8446136 DOI: 10.1056/NEJM199304013281301]

7 Allison JE, Sakoda LC, Levin TR, Tucker JP, Tekawa IS, Cuff T, Pauly MP, Shlager L, Palitz AM, Zhao WK, Schwartz JS, Ransohoff DF, Selby JV. Screening for colorectal neoplasms with new fecal occult blood tests: update on performance characteristics. *J Natl Cancer Inst* 2007; 99: 1462-1470 [PMID: 17895475 DOI: 10.1093/jnci/djm150]

8 黄莹, 邓胜明, 张玮. 18F-FDG PET/CT及血清CEA在结直肠癌患者术后监测中的价值. 中国血液流变学杂志 2017; 27: 459-463 [DOI: 10.3969/j.issn.1009-881X.2017.04.030]

9 许昕, 常金, 张国庆, 刘宝军, 张艳英, 张本华. Kaplan-Meier生存曲线分析CEA、CA19-9在结直肠癌中的临床价值. 泰山医学院学报 2017; 38: 865-867 [DOI: 10.3969/j.issn.1004-7115.2017.08.009]

10 彭维忠. 外周血NLR或PLR与结直肠癌预后的相关性研究进展. 中国免疫学杂志 2017; 33: 1902-1906 [DOI: 10.3969/j.issn.1000-484X.2017.12.033]

11 Winawer SJ. Screening sigmoidoscopy: can the road to colonoscopy be less traveled? *Ann Intern Med* 2003; 139: 1034-1035 [PMID: 14678923 DOI: 10.7326/0003-4819-139-12-200312160-00013]

12 Lee SE, Jo HB, Kwack WG, Jeong YJ, Yoon YJ, Kang HW. Characteristics of and risk factors for colorectal neoplasms in young adults in a screening population. *World J Gastroenterol* 2016; 22: 2981-2992 [PMID: 26973394 DOI: 10.3748/wjg.v22.i10.2981]

13 Karsenti D, Tharsis G, Burtin P, Venezia F, Tordjman G, Gillet A, Samama J, Nahon-Uzan K, Cattan P, Cavicchi M. Adenoma and advanced neoplasia detection rates increase from 45 years of age. *World J Gastroenterol* 2019; 25: 447-456 [PMID: 30700941 DOI: 10.3748/wjg.v25.i4.447]

14 Fagunwa IO, Loughrey MB, Coleman HG. Alcohol, smoking and the risk of premalignant and malignant colorectal neoplasms. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2017; 31: 561-568 [PMID: 29195676 DOI: 10.1016/j.bpg.2017.09.012]

15 Shin A, Hong CW, Sohn DK, Chang Kim B, Han KS, Chang HJ, Kim J, Oh JH. Associations of cigarette smoking and alcohol consumption with advanced or multiple colorectal adenoma risks: a colonoscopy-based case-control study in Korea. *Am J Epidemiol* 2011; 174: 552-562 [PMID: 21791710 DOI: 10.1093/aje/kwr098]

16 Song YK, Park YS, Seon CS, Lim HJ, Son BK, Ahn SB, Jo YK, Kim SH, Jo YJ, Lee JH, Kim SC. Alcohol drinking increased the risk of advanced colorectal adenomas. *Intest Res* 2015; 13: 74-79 [PMID: 25691846 DOI: 10.5217/ir.2015.13.1.74]

17 Huang X, Fan Y, Zhang H, Wu J, Zhang X, Luo H. Association between serum HbA1c levels and adenomatous polyps in patients with the type 2 diabetes mellitus. *Minerva Endocrinol* 2015; 40: 163-167 [PMID: 25003225]

18 杨海芸, 戈之铮. 粪便隐血试验在结直肠癌早期筛查中的研究现状. 胃肠病学 2006; 11: 376-378 [DOI: 10.3969/j.issn.1008-7125.2006.06.017]

19 Park DI, Ryu S, Kim YH, Lee SH, Lee CK, Eun CS, Han DS. Comparison of guaiac-based and quantitative immunochemical fecal occult blood testing in a population at average risk undergoing colorectal cancer screening. *Am J Gastroenterol* 2010; 105: 2017-2025 [PMID: 20502450 DOI: 10.1038/ajg.2010.179]

20 Yuan SY, Wu W, Fu J, Lang YX, Li JC, Guo Y, Wang YN, Qian JM, Li JN. Quantitative immunochemical fecal occult blood test for neoplasia in colon cancer screening. *J Dig Dis* 2019; 20: 78-82 [PMID: 30714346 DOI: 10.1111/1751-2980.12711]

21 Kim NH, Lee MY, Park JH, Park DI, Sohn CI, Choi K, Jung YS. Serum CEA and CA 19-9 Levels are Associated with the Presence and Severity of Colorectal Neoplasia. *Yonsei Med J* 2017; 58: 918-924 [PMID: 28792134 DOI: 10.3349/ymj.2017.58.5.918]

22 Paik KY, Lee IK, Lee YS, Sung NY, Kwon TS. Clinical implications of systemic inflammatory response markers as independent prognostic factors in colorectal cancer patients. *Cancer Res Treat* 2014; 46: 65-73 [PMID: 24520225 DOI: 10.4143/crt.2014.46.1.65]

23 Mano Y, Shirabe K, Yamashita Y, Harimoto N, Tsujita E, Takeishi K, Aishima S, Ikegami T, Yoshizumi T, Yamanaka T, Maehara Y. Preoperative neutrophil-to-lymphocyte ratio is a predictor of survival after hepatectomy for hepatocellular carcinoma: a retrospective analysis. *Ann Surg* 2013; 258: 301-305

[PMID: 23774313 DOI: 10.1097/SLA.0b013e318297ad6b]
24 Zhou WW, Chu YP, An GY. Significant difference of neutrophil-lymphocyte ratio between colorectal cancer, adenomatous polyp and healthy people. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2017; 21: 5386-5391 [PMID: 29243802 DOI: 10.26355/eurrev_201712_13924]

科学编辑: 刘继红 制作编辑: 张砚梁

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 © 2021 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

• 消息 •

书讯

本刊讯 由池肇春教授主编的《腹痛的诊断、鉴别诊断与治疗》已由人民卫生出版社出版发行.

腹痛是消化系统最常见的症状之一, 可引起腹痛的疾病很多, 容易发生误诊或漏诊, 以致患者得不到及时的诊治. 本书由全国著名消化内科及相关学科专业学者共同执笔, 为近年在腹痛诊疗方面的最新代表作. 精装, 图文并茂, 内容新颖实用, 全书2014千字, 分上下两篇, 上篇为总论, 包括腹痛的病理生理学、腹痛的病因与发病机制、腹痛的临床诊断、腹痛的内镜与影像诊断与鉴别诊断、腹痛的实验室诊断、腹痛的治疗等11章. 下篇为各论, 分别介绍腹痛疾病的鉴别诊断与治疗. 从第12章至第15章分别介绍腹腔脏器炎症、阻塞、扭转、穿孔、破裂、血管疾病、心肺疾病、妇科疾病、急性中毒等引起急性腹痛的鉴别诊断与治疗. 从第17章至第29章分别介绍胃肠、胰, 肾、感染、肿瘤引起的慢性腹痛鉴别诊断与治疗. 从第30章至第36章分别介绍肝胆系统疾病和系统疾病引起腹痛的鉴别诊断与治疗. 最后一章为经典案例53例, 分别介绍了不同案例的诊治体会、经验与教训.

全书以症状鉴别诊断为中心, 与治疗并重, 均作了全面与详尽的阐述, 是一部有关腹痛诊治的新作, 有较高的学术水平和参考价值, 可为消化内科、普外科、小儿科、感染科、肿瘤科、影像科和妇产科等学科医师学习与参考. 每册定价188元 , 购书热线 010-59787592, 010-59787584, 010-65264830, 人卫智慧服务商城(人卫社官方购书网站)、当当、京东、天猫等网店均可搜索购书, 欢迎选购.

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: https://www.baishideng.com

世界华人消化杂志 2021年4月8日; 29(7): 356-365

DOI: 10.11569/wcjd.v29.i7.356

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

临床研究 CLINICAL RESEARCH

结直肠癌根治术后肠道菌群、miR-10a表达变化及微生态肠内营养干预作用

金佳琪, 贾新能, 宣俊毅

金佳琪, 贾新能, 宣俊毅, 义乌市中心医院 浙江省义乌市 322000

金佳琪, 住院医师, 主要研究方向为胃、肠消化.

作者贡献分布: 金佳琪负责项目申报实施和文章撰写, 贾新能负责资料提供, 宣俊毅负责数据分析和评估.

通讯作者: 贾新能, 硕士, 住院医师, 322000, 浙江省义乌市江东街道江东中路699号, 义乌市中心医院内科. renqingjir@163.com

收稿日期: 2021-01-18
修回日期: 2021-02-02
接受日期: 2021-03-15
在线出版日期: 2021-04-08

Changes of intestinal flora and miR-10a expression after radical resection of colorectal cancer: Effect of microecological enteral nutrition intervention

Jia-Qi Jin, Xin-Neng Jia, Jun-Yi Xuan

Jia-Qi Jin, Xin-Neng Jia, Jun-Yi Xuan, Yiwu Central Hospital, Yiwu 322000, Zhejiang Province, China

Corresponding author: Xin-Neng Jia, Master, Resident, Department of Internal Medicine, Yiwu Central Hospital, No. 699 Middle Jiangdong Road, Jiangdong Street, Yiwu 322000, Zhejiang Province, China. renqingjir@163.com

Received: 2021-01-18
Revised: 2021-02-02
Accepted: 2021-03-15
Published online: 2021-04-08

Abstract

BACKGROUND

Radical resection is an important method for the treatment of rectal cancer, but the imbalance of intestinal flora and changes in gene expression caused by surgery are not conducive to the improvement of prognosis. It is of great value to explore the changes of intestinal flora and related gene expression after surgery for the formulation of intervention measures.

AIM

To investigate the changes in intestinal flora and microRNA-10a (miR-10a) expression after radical resection of colorectal cancer, and to analyze the effect of microecological enteral nutrition intervention.

METHODS

From July 2017 to June 2020, 107 patients with colorectal cancer undergoing radical resection at our hospital were selected as research subjects. The intestinal flora and miR-10a expression changes of patients with different intestinal flora were compared, and the relationship between the intestinal flora, miR-10a expression, and dysbacteriosis was analyzed. Microecological enteral nutrition intervention was carried out for patients with intestinal flora disorders, and the intestinal flora and miR-10a expression of patients before and after the intervention were compared. Clinical data, intestinal flora, and miR-10a expression of patients with different curative effects were compared. Factors affecting the efficacy of microecological enteral nutrition intervention were analyzed, as well as the value of intestinal flora and miR-10a expression in evaluation of efficacy of microecological enteral nutrition intervention. The correlation between the intestinal flora and the expression of miR-10a in patients with dysbacteriosis was analyzed.

RESULTS

The numbers of colonies of *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, and *Eubacterium*, and miR-10a expression were higher

in patients with normal flora after radical resection of colorectal cancer than those in patients with dysbacteriosis degrees Ⅰ and Ⅱ, and in patients with dysbacteriosis degree Ⅰ than in those with dysbacteriosis degree Ⅱ. The number of *Enterococcus* was lower in patients with normal flora after radical resection of colorectal cancer than in those with dysbacteriosis degrees Ⅰ and Ⅱ, and in patients with dysbacteriosis degree Ⅰ than in those with dysbacteriosis degree Ⅱ ($P < 0.05$). As the numbers of *Lactobacillus, Bifidobacterium*, and *Eubacterium*, and the expression of miR-10a decreased, and the number of *Enterococcus* increased, the risk of dysbacteriosis in patients after radical resection of colorectal cancer increased ($P < 0.05$). The numbers of *Lactobacillus, Bifidobacterium,* and *Eubacterium* and miR-10a expression were higher and the number of *Enterococcus* was lower in patients after microecological enteral nutrition intervention than in patients before intervention ($P < 0.05$). Age, Duke stage, numbers of *Lactobacillus, Bifidobacterium, Enterococcus* and *Eubacterium* after intervention, and miR-10a expression were all significantly correlated with the efficacy of microecological enteral nutrition intervention ($P < 0.05$). After intervention, the areas under the curves of the intestinal flora and miR-10a expression in evaluating the efficacy of microecological enteral nutrition intervention were both > 0.7.

CONCLUSION
The intestinal flora and miR-10a expression changes after radical resection of colorectal cancer are significantly related to the occurrence of dysbacteriosis. Microecological enteral nutrition intervention can effectively regulate the intestinal flora and miR-10a expression, and the intestinal flora and miR-10a expression can be used as indicators to evaluate the intervention efficacy.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Colorectal cancer; Radical resection; Intestinal flora; microRNA-10a; Microecological enteral nutrition intervention

Citation: Jin JQ, Jia XN, Xuan JY. Changes of intestinal flora and microRNA-10a expression after radical resection of colorectal cancer: Effect of microecological enteral nutrition intervention. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2021; 29(7): 356-365
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i7/356.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i7.356

摘要

背景
直肠癌根治术为治疗直肠癌的重要方法, 但手术引起的肠道菌群失调、基因表达变化均不利于预后改善, 积极探索术后肠道菌群、相关基因表达变化情况对指导干预措施的制定具有重要指导价值.

目的
探讨结直肠癌根治术后肠道菌群、微小RNA-10a(microRNA-10a, miR-10a)表达变化情况, 并分析微生态肠内营养干预的作用.

方法
选取2017-07/2020-06期间我院107例结直肠癌根治术患者作为研究对象, 比较不同肠道菌群情况患者肠道菌群、miR-10a表达变化, 分析肠道菌群、miR-10a表达与肠道菌群失调的关系, 并对肠道菌群紊乱患者进行微生态肠内营养干预, 对比干预前后患者肠道菌群、miR-10a表达, 比较不同疗效患者临床资料、肠道菌群、miR-10a表达, 分析微生态肠内营养干预疗效影响因素, 及肠道菌群、miR-10a表达对微生态肠内营养干预疗效的评估价值, 并分析肠道菌群失调患者肠道菌群与miR-10a表达的相关性.

结果
结直肠癌根治术后菌群正常患者乳酸杆菌、双歧杆菌、真杆菌菌群菌落数、miR-10a表达均高于菌群失调Ⅰ度、Ⅱ度患者, 菌群失调Ⅰ度患者高于菌群失调Ⅱ度患者, 肠球菌均低于菌群失调Ⅰ度、Ⅱ度患者, 菌群失调Ⅰ度患者低于菌群失调Ⅱ度患者($P<0.05$); 随着乳酸杆菌、双歧杆菌、真杆菌菌群菌落数、miR-10a表达降低、肠球菌菌群菌落数升高, 结直肠癌根治术后肠道菌群失调发生风险升高($P<0.05$); 肠道菌群紊乱患者微生态肠内营养干预后乳杆菌、双歧杆菌、真杆菌菌群菌落数及miR-10a均高于干预前, 肠球菌菌群菌落数低于干预前($P<0.05$); 年龄、DUKE分期、干预后乳酸杆菌、双歧杆菌、肠球菌及真杆菌菌群菌落数、miR-10a表达均与微生态肠内营养干预疗效显著相关($P<0.05$); 干预后肠道菌群、miR-10a表达评估微生态肠内营养干预效果的曲线下面积(AUC)均>0.70.

结论
结直肠癌根治术后肠道菌群、miR-10a表达变化与肠道菌群失调的发生显著相关, 给予微生态肠内营养干预可有效调节肠道菌群、miR-10a表达, 且肠道菌群、miR-10a表达可作为评估干预效果的指标.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 结直肠癌; 根治术; 肠道菌群; 微小RNA-10a; 微生态肠内营养干预

核心提要: 本文重点探究结直肠癌根治术后肠道菌群、微小RNA-10a(microRNA-10a, miR-10a)表达变化情况, 并分析微生态肠内营养干预的作用, 旨在为结直肠癌根治术后干预措施的制定提供参考.

文献来源: 金佳琪, 贾新能, 宣俊毅. 结直肠癌根治术后肠道菌群、miR-10a表达变化及微生态肠内营养干预作用. 世界华人消化杂志 2021; 29(7): 356-365
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i7/356.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i7.356

0 引言

结直肠癌是消化道最常见恶性肿瘤之一, 资料显示[1,2], 结直肠癌发病率仅次于肺癌、乳腺癌, 被称为世界第三大恶性肿瘤, 每年约有70万例结直肠癌患者死亡. 目前, 临床治疗结直肠癌患者以结直肠癌根治术为主, 放疗、化疗为辅, 手术可有效切除肿瘤病灶, 在控制肿瘤进展、延长患者生存期方面具有良好效果[3]. 但手术操作导致患者肠道屏障受损, 易发生肠道菌群失调. 相关研究[4,5]指出, 结直肠癌根治术后肠道菌群失调与患者预后、甚至术后肿瘤复发、发展有关, 加强相关干预非常有必要. 微生态肠内营养干预是治疗结直肠癌术后肠道菌群失调的安全、可靠方法, 同时能明显增强患者免疫功能, 抑制炎症反应[6,7]. 此外, 微小RNA-10a(microRNA-10a, miR-10a)被证实具有调控机体固有免疫、获得性免疫的作用, 与炎症性肠病的发病密切相关, 参与肠粘膜的炎症损伤过程[8]. 基于此, 本研究尝试探讨结直肠癌根治术后肠道菌群、miR-10a表达变化情况, 并分析miR-10a表达与肠道菌群失调的关系, 及肠道菌群、miR-10a表达在评估微生态肠内营养干预效果方面的价值. 报告如下.

1 材料和方法

1.1 材料 经我院伦理委员会审批通过(审批号为S789356), 选取2017-07/2020-06我院107例结直肠癌根治术患者作为研究对象, 其中男57例, 女50例; 年龄39-78岁, 平均(61.38±8.29)岁; 侵袭深度: 63例T1-T2, 44例T3-T4; 临床分型: 49例肿块型, 35例溃疡型, 23例浸润型; DUKE分期: 68例A、B期, 39例C、D期. 其中侵袭深度、临床分型、DUKE分期均参照《中国结直肠癌诊疗规范(2017年版)》[9]判定.

纳入标准: (1)符合结直肠癌诊断标准[9], 并经术后病理诊断确诊; (2)原发病灶均经结直肠癌根治术切除; (3)肿瘤无远处转移; (4)术前1 mo内未服用过抗生素、微生态活菌制剂及导泻药; (5)患者知晓本研究, 已签署同意书.

排除标准: (1)合并其他原发恶性肿瘤者; (2)伴有肠道梗阻、胃穿孔等其他胃肠道疾病者; (3)自身免疫性疾病患者; (4)严重感染性疾病患者; (5)血液系统疾病患者; (6)精神疾病患者; (7)严重心脑血管疾病、肝肾功能障碍者.

1.2 方法 肠道菌群检测方法: 所有患者均于结直肠癌根治术后2 wk取中段、新鲜粪便标本, 由专业检测人员进行肠道菌群检测, 具体检测方法: 采用无菌试杯收集患者新鲜粪便1 g, 于30 min内检测, 取0.1 g新鲜粪便标本, 采用0.9 mL稀释液充分稀释, 采用10倍稀释法稀释至1000 mL, 随后采用血琼脂及麦康凯平板接种, 37 ℃恒温培养48 h后分离出乳酸杆菌、双歧杆菌、肠球菌及真杆菌, 采用平板计数法对菌株计数. 参照相关文献[10]将肠道菌群情况分为菌群正常、菌群失调Ⅰ度和菌群失调Ⅱ度.

微生态肠内营养干预方法: 根据术后2 wk肠道菌群检测结果, 给予肠道菌群失调患者微生态肠内营养干预, 经营养管滴入肠内营养混悬液[纽迪希亚制药(无锡)有限公司, 国药准字H20010285], 速度15 mL/h, 第1 d滴入250 mL, 第2 d适当增加肠内营养混悬液滴入速度, 共入滴入500 mL, 第3 d起, 视患者耐受情况, 逐渐增加到1000-1500 mL, 共干预7 d. 干预结束后再次采集患者中段、新鲜粪便标本进行肠道菌群检测.

miR-10a检测方法: 于结直肠癌根治术后2 wk、微生态肠内营养干预后, 分别采集微生态肠内营养干预前后患者外周静脉血3 mL, 以3500 r/min转速离心处理5 min(离心半径8 cm)后取血清, 置于-70 ℃冷藏室保存, 由专业检测人员统一检测, 取血清标本, 采用实时荧光聚合酶链式反应检测血清miR-10a水平, Trizol法提取心脏组织总RNA, RNA提取试剂盒购自北京索莱宝科技有限公司), 取1 μL按1:50稀释, 混匀, 采用紫外分光光度仪检测RNA质量与浓度, 后以1.2%甲醛变性凝胶电泳. 根据miRRase 18.0版, 利用Primer 5引物设计软件对所设计的引物进行选择与确认. 以U6为内参, 逆转录引物为5'-AACGCTTCACGAATTTGCGT-3', miR-10a上游引物、下游引物分别为5'-GCGGTAAGTGCTTCCATGTTTTAGTAG-3'、5'-ATGAACTCTGCGGATGGTG-3'. 上下游引物均购自广州锐博生物科技有限公司. 随后进行荧光聚合酶链式反应, 试剂盒购自德国Qiagen公司, 检测操作均由专业人员严格按照试剂盒说明书完成, 选取U6为内参照, 应用公式$2^{-\Delta\Delta ct}$计算miR-10a相对表达水平.

1.3 观察指标 (1)不同肠道菌群情况患者肠道菌群、miR-10a表达; (2)分析结直肠癌根治术后肠道菌群、miR-10a表达与肠道菌群失调的关系; (3)肠道菌群紊乱患者微生态肠内营养干预前后肠道菌群、miR-10a表达; (4)不同微生态肠内营养干预疗效患者临床资料、肠道菌群、miR-10a表达, 临床资料包括性别、年龄、病程、侵袭深度、临床分型、DUKE分期, 菌群失调下降≥1度为疗效良好, <1度则为不良[11]; (5)分析微生态

表 1　不同肠道菌群失调患者肠道菌群、miR-10a表达对比(mean ± SD)

肠道菌群情况	例数	肠道菌群($\times 10^8$ CFU/g)				miR-10a
		乳杆菌	双歧杆菌	肠球菌	真杆菌	
菌群正常	45	8.59 ± 0.36	9.37 ± 0.48	7.92 ± 0.58	7.26 ± 0.54	0.25 ± 0.10
菌群失调 I 度	41	7.49 ± 0.56[a]	8.45 ± 0.41[a]	8.94 ± 0.55[a]	6.37 ± 0.32[a]	0.19 ± 0.08[a]
菌群失调 II 度	21	6.32 ± 0.37[ab]	7.21 ± 0.40[ab]	9.67 ± 0.61[ab]	5.29 ± 0.41[ab]	0.14 ± 0.06[ab]
F		191.77	176.71	74.61	146.91	12.80
P		< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05

与菌群正常患者比较, [a]$P < 0.05$; 与菌群失调 I 度患者比较, [b]$P < 0.05$; miR-10a: 微小RNA-10a.

表 2　肠道菌群、miR-10a表达与肠道菌群失调的关系

因素	*β*	*S.E.*	χ^2	*P*	OR	95%CI
肠道菌群菌落数						
乳杆菌	−0.84	0.26	10.55	< 0.05	0.43	0.30−0.63
双歧杆菌	−0.41	0.13	10.42	< 0.05	0.67	0.45−0.98
肠球菌	1.67	0.34	23.85	< 0.05	5.29	3.13−8.94
真杆菌	−0.63	0.22	7.88	< 0.05	0.54	0.36−0.79
miR-10a	−0.71	0.22	10.65	< 0.05	0.49	0.27−0.89

赋值: 乳酸杆菌、双歧杆菌、肠球菌及真杆菌菌群菌落数、miR-10a表达均以平均数为界, ≤平均数 = 1, > 平均数 = 2; miR-10a: 微小RNA-10a.

肠内营养干预疗效的影响因素; (6)分析肠道菌群、miR-10a表达对微生态肠内营养干预疗效的评估价值; (7)分析肠道菌群失调患者肠道菌群与miR-10a表达的相关性.

统计学处理 数据处理采用SPSS 22.0软件, 计数资料以例数描述, 采用χ^2检验, 计量资料以mean±SD描述, 多组间比较采用单因素方差分析, 进一步两两组间比较采用SNK-*q*检验, 组内比较采用配对*t*检验, 两组间比较采用独立样本*t*检验, 相关性分析采用Pearson相关系数模型, 通过Logistic进行多因素回归分析, 评估效能分析采用受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线, 获取曲线下面积(area under the curve, AUC)、置信区间、敏感度、特异度及cut-off值, 不同评估方案间曲线下面积比较采用DeLong检验, 均采用双侧检验, $P < 0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 不同肠道菌群情况患者肠道菌群、miR-10a表达对比 不同肠道菌群情况患者乳酸杆菌、双歧杆菌、肠球菌及真杆菌菌群菌落数、miR-10a表达相比, 差异有统计学意义($P < 0.05$). 见表1.

2.2 肠道菌群、miR-10a表达与肠道菌群失调的关系 以结直肠癌根治术后是否发生肠道菌群失调为因变量(未发生 = 0, 发生 = 1), 纳入肠道菌群、miR-10a作为自变量, 进行Logistic回归分析显示, 乳酸杆菌、双歧杆菌、肠球菌及真杆菌菌群菌落数、miR-10a表达与结直肠癌根治术后肠道菌群失调有关($P < 0.05$). 见表2.

2.3 微生态肠内营养干预前后肠道菌群、miR-10a表达 与干预前相比, 微生态肠内营养干预后乳杆菌、双歧杆菌、真杆菌菌群菌落数及miR-10a均明显升高, 肠球菌菌群菌落数明显下降, 差异有统计学意义($P < 0.05$). 见表3.

2.4 不同疗效患者临床资料、干预后肠道菌群、miR-10a表达 不同疗效患者性别、病程、侵袭深度、临床分型、干预前乳酸杆菌、双歧杆菌、肠球菌及真杆菌菌群菌落数、miR-10a表达相比, 差异无统计学意义; 疗效良好患者年龄、DUKE分期、干预后乳酸杆菌、双歧杆菌、肠球菌及真杆菌菌群菌落数、miR-10a表达相比, 差异有统计学意义($P < 0.05$). 见表4.

2.5 微生态肠内营养干预疗效影响因素 以微生态肠内营养干预疗效为因变量(赋值: 疗效良好 = 1, 疗效不佳 = 2), 将结果2.4中有差异因素纳入Logistic回归分析, 结果显示, 年龄、DUKE分期、干预后乳酸杆菌、双歧杆菌、肠球菌及真杆菌菌群菌落数、miR-10a表达均为微生态肠内营养干预疗效的影响因素($P < 0.05$). 见表5.

2.6 肠道菌群、miR-10a表达对微生态肠内营养干预效

表 3　微生态肠内营养干预前后肠道菌群、miR-10a表达对比(mean ± SD)

时间	例数	肠道菌群菌落数($\times 10^8$ CFU/g)				miR-10a
		乳杆菌	双歧杆菌	肠球菌	真杆菌	
干预前	62	7.09 ± 0.52	8.03 ± 0.52	9.19 ± 0.65	6.00 ± 0.49	0.17 ± 0.08
干预后	62	8.65 ± 0.62	9.41 ± 0.49	8.02 ± 0.52	7.31 ± 0.56	0.29 ± 0.12
t		15.18	15.21	11.07	13.86	6.55
P		< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05

miR-10a: 微小RNA-10a.

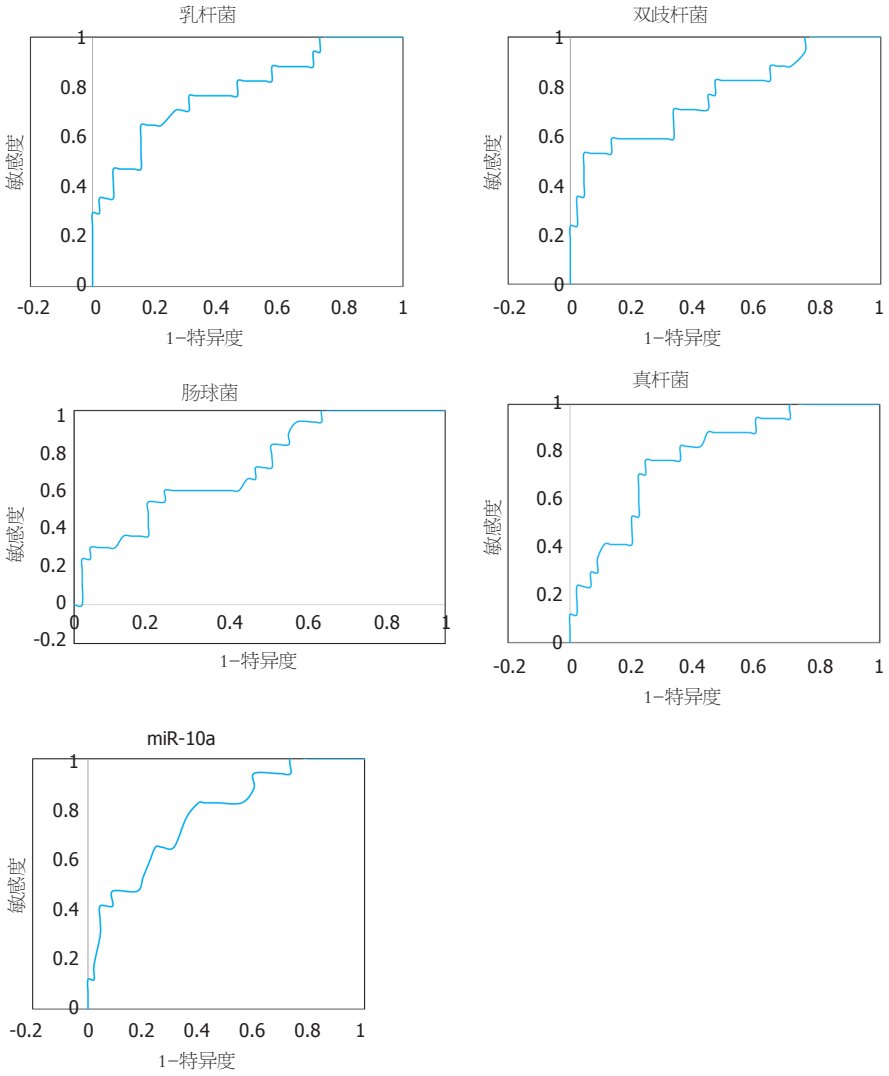


图 1　肠道菌群、miR-10a表达评估干预效果的ROC曲线.

果的评估价值 绘制干预后肠道菌群、miR-10a表达评估微生态肠内营养干预效果的ROC曲线, 结果显示各指标评估的AUC均>0.7, 其中乳杆菌评估的AUC最大, 为0.78, 截断值下评估敏感度、特异度分别为64.71%、84.44%. 见表6、图1.

2.7 肠道菌群失调患者肠道菌群与miR-10a表达相关性 肠道菌群失调患者微生态肠内营养干预后乳杆菌、双歧杆菌、真杆菌菌群菌落数与miR-10a间存在正相关关系, 肠球菌菌群菌落数与miR-10a间存在负相关关系(P < 0.05). 见图2-5.

表 4　不同疗效患者临床资料、干预后肠道菌群、miR-10a表达对比[(mean ± SD)/*n*(%)]

指标	疗效良好(*n* = 45)	疗效不良(*n* = 17)	t/χ^2	*P*
性别			0.08	0.78
男	23(51.11)	8(47.06)		
女	22(48.89)	9(52.94)		
年龄(岁)			4.27	< 0.05
≤60	29(64.44)	6(35.29)		
> 60	16(35.56)	11(64.71)		
病程(年)			0.15	0.70
≤1	21(46.67)	7(41.18)		
> 1	24(53.33)	10(58.82)		
侵袭深度			0.69	0.41
T1–T2	29(64.44)	9(52.94)		
T3–T4	16(35.56)	8(47.06)		
临床分型			1.24	0.54
肿块型	23(51.11)	6(35.29)		
溃疡型	12(26.67)	6(35.29)		
浸润型	10(22.22)	5(29.41)		
DUKE分期			6.51	< 0.05
A、B期	34(75.56)	7(41.18)		
C、D期	11(24.44)	10(58.82)		
肠道菌群菌落数				
干预前乳杆菌	7.16 ± 0.49	6.98 ± 0.41	1.35	0.18
干预后乳杆菌	8.92 ± 1.02	7.95 ± 1.15	3.23	< 0.05
干预前双歧杆菌	8.07 ± 0.37	7.96 ± 0.41	1.01	0.32
干预后双歧杆菌	9.58 ± 0.69	8.97 ± 0.74	3.05	< 0.05
干预前肠球菌	9.05 ± 0.89	9.44 ± 0.82	1.57	0.12
干预后肠球菌	7.92 ± 0.36	8.28 ± 0.38	3.46	< 0.05
干预前真杆菌	5.98 ± 0.42	6.12 ± 0.49	1.12	0.268
干预后真杆菌	7.58 ± 1.37	6.61 ± 1.25	2.55	< 0.05
干预前miR-10a	0.18 ± 0.08	0.14 ± 0.06	1.87	0.07
干预后miR-10a	0.32 ± 0.14	0.21 ± 0.10	2.96	< 0.05

miR-10a: 微小RNA-10a.

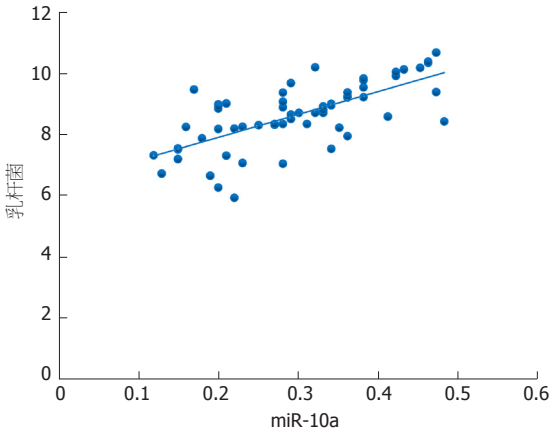


图 2　乳杆菌菌群菌落数与miR-10a相关性.

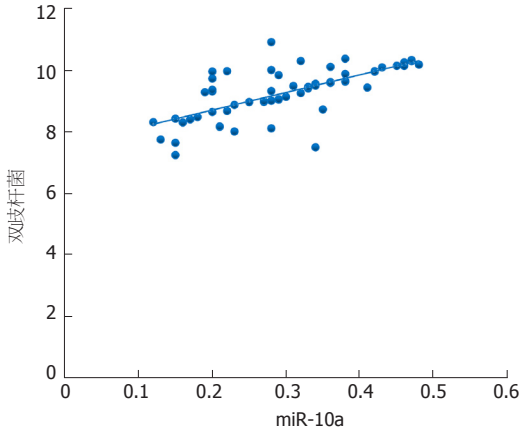


图 3　双歧杆菌菌群菌落数与miR-10a相关性.

表 5　微生态肠内营养干预疗效影响因素

因素	β	S.E.	χ^2	P	OR	95%CI
年龄	1.66	0.31	28.13	< 0.05	5.26	3.03–9.14
DUKE分期	1.60	0.37	18.33	< 0.05	4.96	2.79–8.79
干预后肠道菌群菌落数						
乳杆菌	–0.67	0.25	7.14	< 0.05	0.51	0.38–0.69
双歧杆菌	–0.47	0.19	6.46	< 0.05	0.63	0.42–0.94
肠球菌	1.72	0.37	21.06	< 0.05	5.56	2.75–11.28
真杆菌	–0.87	0.29	8.66	< 0.05	0.42	0.31–0.57
干预后miR-10a	–0.81	0.25	10.29	< 0.05	0.45	0.24–0.83

赋值: 年龄: ≤60岁 = 1, >60岁 = 2; DUKE分期: A、B期 = 1, C、D期 = 2; 干预后乳酸杆菌、双歧杆菌、肠球菌及真杆菌菌群菌落数、miR-10a表达: 以平均值为界, ≤平均值 = 1, >平均值 = 2; miR-10a: 微小RNA-10a.

表 6　肠道菌群、miR-10a表达评估干预效果的价值分析

指标	AUC	95%CI	Z统计	P	截断值	敏感度	特异度
干预后肠道菌群菌落数							
乳杆菌	0.78	0.66–0.88	4.14	< 0.05	≤8.31×10^8 CFU/g	64.71%	84.44%
双歧杆菌	0.76	0.64–0.86	3.59	< 0.05	≤8.41×10^8 CFU/g	52.94%	95.56%
肠球菌	0.71	0.58–0.82	2.94	< 0.05	>8.07×10^8 CFU/g	58.82%	75.56%
真杆菌	0.78	0.66–0.88	4.48	< 0.05	≤7.04×10^8 CFU/g	76.47%	75.56%
miR-10a	0.77	0.65–0.87	4.12	< 0.05	≤0.29	82.35%	60.00%

miR-10a: 微小RNA-10a.

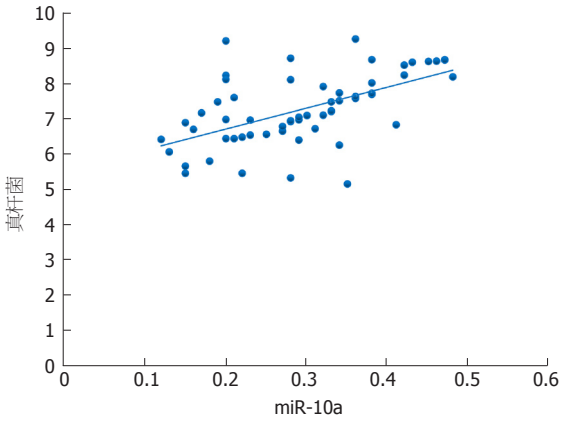


图 4　真杆菌菌群菌落数与miR-10a相关性.

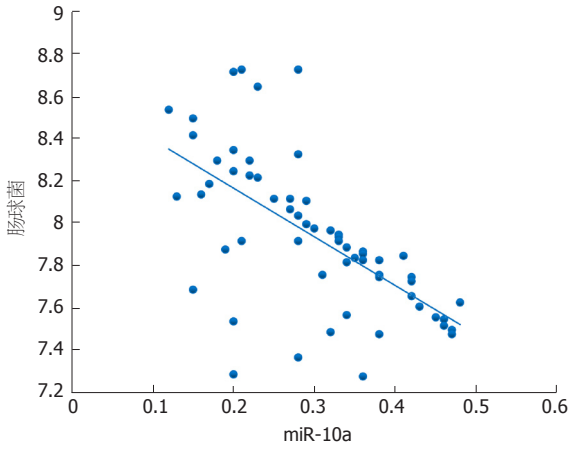


图 5　肠球菌菌群菌落数与miR-10a相关性.

3 讨论

肠道菌群是组成肠道保护屏障的重要部分, 而结直肠癌根治术围术期需进行多种准备和操作, 如术前肠道准备、手术切除肠道、禁食、术后抗生素的应用等, 均会给肠道菌群平衡带来明显影响[12,13]. 肠道菌群失调可导致大量细菌产生肠道毒素, 加重患者局部炎症反应, 降低机体免疫功能, 也在一定程度上影响肿瘤浸润[14,15].

本研究发现, 结直肠癌根治术后发生菌群失调患者乳酸杆菌、双歧杆菌、真杆菌菌群菌落数明显低于菌群正常患者, 而肠球菌则明显高于菌群正常患者, 进一步经多因素分析发现上述肠道菌群菌落数变化与结直肠癌根治术后菌群失调的发生显著相关. 肠道菌群以厌氧菌为基础, 其中乳酸杆菌、双歧杆菌、真杆菌是组成肠道菌群的主要益生菌, 益生菌与肠上皮细胞

在特异性受体结合情况下形成一道保护屏障, 此屏障具有一定层次性, 受占位效应保护, 在阻碍肠球菌等有害菌增殖方面发挥重要作用[16,17]. 手术等一系列操作导致乳酸杆菌、双歧杆菌等益生菌菌落数减少, 其抑制有害菌的作用减弱, 致使肠球菌菌落数增加, 最终形成肠道菌群失调[18]. 本研究还发现, 结直肠癌根治术后发生菌群失调患者血清miR-10a表达水平明显降低, 且其水平降低可明显增加术后肠道菌群失调发生风险, 提示miR-10a表达与肠道菌群失调有关. miR-10a是定位于17号染色体短臂HOXB4与HOXB5之间的非编码RNA, 其在多种恶性肿瘤中表达降低, 如胃癌、前列腺癌[19,20]. 新近研究指出[21], 转移的结直肠癌细胞中miR-10a表达降低, 与肿瘤的转移和浸润呈负相关. 程海霞等[22]研究发现, miR-10a具有介导肠道黏膜屏障功能的作用, 并指出结直肠癌患者围手术期应用益生菌可有效上调miR-10a表达. 本研究发现, 对结直肠癌根治术后发生菌群失调患者进行微生态肠内营养干预7 d后, 患者血清miR-10a均高于干预前, 与上述研究结果一致, 同时患者乳杆菌、双歧杆菌、真杆菌、肠球菌菌群菌落数均得到明显改善, 且本研究通过相关性分析发现患者干预后乳杆菌、双歧杆菌、真杆菌菌群菌落数与miR-10a呈正相关, 肠球菌菌群菌落数与miR-10a呈负相关. 笔者认为微生态肠内营养干预能上调血清miR-10a表达水平, miR-10a可介导肠道黏膜屏障相关蛋白表达, 从而修复、改善肠道黏膜屏障功能, 进而纠正肠道菌群失调.

从本研究结果2.4可见, 不同微生态肠内营养干预疗效患者的干预后乳酸杆菌、双歧杆菌、肠球菌及真杆菌菌群菌落数、miR-10a表达存在明显差异, 进一步经多因素分析发现上述指标均与疗效显著相关, 据此笔者推测干预后肠道菌群、miR-10a表达可作为评估微生态肠内营养干预疗效的指标. 本研究首次采用ROC曲线分析干预后肠道菌群、miR-10a表达对微生态肠内营养干预效果的评估价值, 结果发现各指标评估干预效果的AUC均在0.7以上, 具有良好评估效能, 证实了笔者推测的正确性, 各指标中乳杆菌评估的AUC最大, 为0.78, 可为临床评估微生态肠内营养干预疗效提供更准确参考. 本研究还发现, 年龄＞60岁、DUKE分期为C、D期均为微生态肠内营养干预疗效不良的危险因素, 因此对于老年、DUKE分期较高的结直肠癌患者, 临床应给予足够重视, 加强术后微生态肠内营养干预, 尽量纠正肠道菌群失调.

4 结论

综上可知, 结直肠癌根治术后肠道菌群、miR-10a表达变化是发生肠道菌群失调的影响因素, 采用微生态肠内营养干预在改善肠道菌群、miR-10a表达方面具有良好效果, 干预后通过检测肠道菌群、miR-10a表达可辅助临床评估干预效果, 具有较高临床应用价值. 但本研究收集的病例数有限, 研究结果可能存在一定偏倚, 后续工作中仍需纳入更多病例进一步验证.

文章亮点

实验背景

结直肠癌为临床常见恶性肿瘤, 近年来其发病率逐渐升高, 本研究主要探讨直肠癌根治术后肠道菌群失调、基因表达变化, 以期获得指导术后干预的指标.

实验动机

随着直肠癌患者的增加, 直肠癌根治术随之增多, 本研究主题为探究手术引起的肠道菌群失调、基因表达变化情况, 并分析其在微生态肠内营养干预效果的关系, 以期明确肠道菌群、相关基因表达变化情况在指导干预措施制定方面的指导价值.

实验目标

本研究主要目标为分析结直肠癌根治术后肠道菌群、微小RNA-10a(microRNA-10a, miR-10a)表达变化情况, 并分析微生态肠内营养干预的作用, 旨在为结直肠癌根治术后干预措施的制定提供参考.

实验方法

本研究选取我院107例结直肠癌根治术患者, 根据其术后肠道菌群情况分组, 所有患者均于结直肠癌根治术后2 wk取中段、新鲜粪便标本及血清标本, 检测术后2周肠道菌群及血清miR-10a水平, 通过对比不同肠道菌群情况患者肠道菌群、miR-10a表达变化, 分析肠道菌群、miR-10a表达与肠道菌群失调的关系, 并对肠道菌群紊乱患者予以微生态肠内营养干预, 对比干预前后患者肠道菌群、miR-10a表达, 不同疗效患者临床资料、肠道菌群、miR-10a表达, 分析微生态肠内营养干预疗效影响因素, 通过ROC曲线分析肠道菌群、miR-10a表达对微生态肠内营养干预疗效的评估价值, 采用Pearson相关系数模型分析肠道菌群失调患者肠道菌群、miR-10a表达相关性.

实验结果

本研究通过实验达到了主要目标, 结果发现: (1)结直肠癌根治术后菌群正常患者乳酸杆菌、双歧杆菌、真杆菌菌群菌落数、miR-10a表达均高于菌群失调Ⅰ度、Ⅱ度患者, 菌群失调Ⅰ度患者高于菌群失调Ⅱ度患者, 肠球菌均低于菌群失调Ⅰ度、Ⅱ度患者, 菌群失调Ⅰ度患者低于菌群失调Ⅱ度患者($P<0.05$); (2)随着乳酸杆菌、双歧杆菌、真杆菌菌群菌落数、miR-10a表达降低、肠球菌菌群菌落数升高, 结直肠癌根治术后肠道菌群失调发生风险升高($P<0.05$); (3)肠道菌群紊乱患者微生态肠内营养干预后乳杆菌、双歧杆菌、真杆菌菌群菌落数及miR-10a均高于干预前, 肠球菌菌群菌落数低于干预前($P<0.05$); (4)疗效良好患者年龄≤60岁占比、DUKE分期A、B期占比、干预后乳酸杆菌、双歧杆菌、真杆菌菌群菌落数、miR-10a表达均高于疗效不良患者, 干预后肠球菌低于疗效不良患者($P<0.05$); (5)年龄、DUKE分期、干预后乳酸杆菌、双歧杆菌、肠球菌及真杆菌菌群菌落数、miR-10a表达均与微生态肠内营养干预疗效显著相关($P<0.05$); (6)干预后肠道菌群、miR-10a表达评估微生态肠内营养干预效果的曲线下面积(AUC)均>0.7, 其中乳杆菌评估的AUC最大, 为0.784, 截断值下评估敏感度、特异度分别为64.71%、84.44%; (7)肠道菌群失调患者微生态肠内营养干预后乳杆菌、双歧杆菌、真杆菌菌群菌落数与miR-10a呈正相关, 肠球菌菌群菌落数与miR-10a呈负相关($P<0.05$).

实验结论

结直肠癌根治术后肠道菌群、miR-10a表达变化是发生肠道菌群失调的影响因素, 采用微生态肠内营养干预在改善肠道菌群、miR-10a表达方面具有良好效果.

展望前景

本研究收集的病例数有限, 研究结果可能存在一定偏倚, 后续工作中仍需纳入更多病例进一步验证. 未来我们将探究检测肠道菌群、miR-10a表达在辅助临床评估干预效果方面的价值, 可通过设计对比试验进行探讨.

5 参考文献

1 Dekker E, Tanis PJ, Vleugels JLA, Kasi PM, Wallace MB. Colorectal cancer. *Lancet* 2019; 394: 1467-1480 [PMID: 31631858 DOI: 10.1016/S0140-6736(19)32319-0]

2 高乐, 于树青, 杨继春, 马峻岭, 詹思延, 孙凤. 全球结直肠癌筛查指南的质量评价. 北京大学学报(医学版) 2019; 51: 548-555 [DOI: 10.19723/j.issn.1671-167X.2019.03.026]

3 陈治宇. 围手术期化疗在局部晚期结直肠癌中的应用. 中华胃肠外科杂志 2019; 22: 387-391 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-0274.2019.04.014]

4 余莉, 李红, 王思平. 老年结直肠癌患者肠道菌群变化与机体免疫炎症营养相关性. 中国微生态学杂志 2020; 32: 404-409+414 [DOI: 10.13381/j.cnki.cjm.202004006]

5 王纯, 陈东风, 魏艳玲. 肠道菌群对结直肠癌发生、发展和诊疗影响的研究进展. 胃肠病学 2019; 24: 62-64 [DOI: 10.3969/j.issn.1008-7125.2019.01.015]

6 刘杰锋, 何苗, 曾心雨, 龚煜靖. 老年结直肠癌患者术后早期微生态肠内营养对肠道菌群及免疫功能的影响. 中华老年医学杂志 2020; 39: 435-438 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-9026.2020.04.015]

7 杨国林, 赵登秋. 微生态肠内营养对结直肠癌患者术后肠道菌群、免疫功能和并发症的影响. 中国初级卫生保健 2018; 32: 83-85

8 王剑. 外泌体miR-10a对结直肠癌转移微环境中成纤维细胞的作用与机制研究.华北理工大学 2019 [DOI: 10.27108/d.cnki.ghelu.2019.000048]

9 国家卫生计生委医政医管局中华医学会肿瘤学分会. 中国结直肠癌诊疗规范(2017年版). 中华胃肠外科杂志 2018; 21: 92-106 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.0529-5815.2018.04.001]

10 郭建萍, 王华. 结直肠癌患者手术前后血清PCT, ADPN和IL-6水平变化及其与肠道菌群失调的相关性. 中国微生态学杂志 2020; 32: 794-797+804 [DOI: 10.13381/j.cnki.cjm.202007010]

11 高睿, 薄元恺, 姜文雅. 粪便细菌涂片对腹泻型肠易激综合征抗菌药物治疗的参考价值. 胃肠病学 2020; 25: 101-103 [DOI: 10.3969/j.issn.1008-7125.2020.02.007]

12 Han S, Gao J, Zhou Q, Liu S, Wen C, Yang X. Role of intestinal flora in colorectal cancer from the metabolite perspective: a systematic review. *Cancer Manag Res* 2018; 10: 199-206 [PMID: 29440929 DOI: 10.2147/CMAR.S153482]

13 Xu Q, Xu P, Cen Y, Li W. Effects of preoperative oral administration of glucose solution combined with postoperative probiotics on inflammation and intestinal barrier function in patients after colorectal cancer surgery. *Oncol Lett* 2019; 18: 694-698 [PMID: 31289543 DOI: 10.3892/ol.2019.10336]

14 袁保, 马朝群. 肠道菌群在结直肠癌中的研究进展. 肿瘤研究与临床 2019; 31: 425-428 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1006-9801.2019.06.017]

15 张威, 姜可伟. 肠道菌群在结直肠癌发生发展及治疗中的作用. 中华胃肠外科杂志 2020; 23: 516-520 [DOI: 10.3760/cma.j.cn.441530-20190820-00314]

16 Reis SAD, da Conceição LL, Peluzio MDCG. Intestinal microbiota and colorectal cancer: changes in the intestinal microenvironment and their relation to the disease. *J Med Microbiol* 2019; 68: 1391-1407 [PMID: 31424382 DOI: 10.1099/jmm.0.001049]

17 唐源淋, 陈烨. 肠道菌群失衡与肝硬化分级及预后的关系. 现代消化及介入诊疗 2019; 24: 11-15

18 王家欢, 吴艳烈. 腹腔镜手术联合微生态制剂对结直肠癌患者肠道菌群和肠道屏障功能的影响. 中国微生态学杂志 2020; 32: 298-301+305

19 吴江, 阿里木江•阿不都热合曼, 庞澜, 朱勇荷, 马秀英, 陈鹏, 张荔霜, 岳跃明. 抑癌因子miR-10a抑制Tiam1表达对胃癌细胞凋亡和迁移的影响. 现代生物医学进展 2020; 20: 2830-2837+2867

20 Mu H, Xiang L, Li S, Rao D, Wang S, Yu K. MiR-10a functions as a tumor suppressor in prostate cancer via targeting KDM4A. *J Cell Biochem* 2019; 120: 4987-4997 [PMID: 30302800 DOI: 10.1002/jcb.27774]

21 Wang J, Liu Y, Li Y, Zheng X, Gan J, Wan Z, Zhang J, Liu Y, Wang Y, Hu W, Li Y, Liu Y. Exosomal-miR-10a derived from colorectal cancer cells suppresses migration of human lung fibroblasts, and expression of IL-6, IL-8 and IL-1β. *Mol Med Rep* 2021; 23: 1 [PMID: 33236127 DOI: 10.3892/mmr.2020.11723]

22 程海霞, 刘涛, 张静, 贾增增, 徐月姣, 范国权, 何若冲. 结直肠癌围手术期应用益生菌对微小RNA-10a表达的影响. 中华实验外科杂志 2019; 36: 366 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-9030.2019.02.057]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 © 2021 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.

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: https://www.baishideng.com

世界华人消化杂志 2021年4月8日; 29(7): 366-371

DOI: 10.11569/wcjd.v29.i7.366

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

文献综述 REVIEW

鼠李糖乳杆菌治疗肠易激综合征机制新进展

苏 帅, 张智芳, 王 欣, 王玉明, 王邦茂

苏帅, 王欣, 王玉明, 王邦茂, 天津医科大学总医院消化内科 天津市 300052

张智芳, 天津市西青医院神经内科 天津市 300380

苏帅, 主治医师, 主要从事肠易激综合征治疗机制方面的研究.

基金项目: 国家自然科学基金, No.81570489.

作者贡献分布: 本综述写作由苏帅、张智芳及王欣完成; 王玉明及王邦茂审校.

通讯作者: 苏帅, 主治医师, 300052, 天津市和平区鞍山道154号, 天津医科大学总医院消化内科. sushuai6h6@163.com

收稿日期: 2021-01-23
修回日期: 2021-02-19
接受日期: 2021-03-15
在线出版日期: 2021-04-08

Mechanism of *Lactobacillus rhamnosus* in treatment of irritable bowel syndrome

Shuai Su, Zhi-Fang Zhang, Xin Wang, Yu-Ming Wang, Bang-Mao Wang

Shuai Su, Xin Wang, Yu-Ming Wang, Bang-Mao Wang, Department of Gastroenterology and Hepatology, Tianjin Medical University General Hospital, Tianjin 300052, China

Zhi-Fang Zhang, Department of Neurology, Tianjin Xiqing Hospital, Tianjin 300380, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81570489.

Corresponding author: Shuai Su, Attending Physician, Department of Gastroenterology and Hepatology, Tianjin Medical University General Hospital, No. 154 Anshan Road, Heping District, Tianjin 300052, China. sushuai6h6@163.com

Received: 2021-01-23
Revised: 2021-02-19
Accepted: 2021-03-15
Published online: 2021-04-08

Abstract

Irritable bowel syndrome (IBS) is a clinically common functional gastrointestinal disease, which affects the quality of life of patients. Therefore, it is of great significance to explore effective treatment methods for IBS. Probiotics can improve the symptoms of IBS patients and their quality of life. *Lactobacillus rhamnosus* is one of the most studied probiotics and has attracted much attention. . *Lactobacillus rhamnosus* has been used to treat IBS, and much progress has been made in recent years. *Lactobacillus rhamnosus* can improve the symptoms of IBS by regulating the imbalance of the intestinal flora, protecting the intestinal barrier function, exerting anti-inflammatory activity, regulating the intestinal immunity, improving visceral hypersensitivity, and inhibiting bacteria. This review aims to elucidate the possible mechanism of *Lactobacillus rhamnosus* in the treatment of IBS.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Irritable bowel syndrome; *Lactobacillus rhamnosus*; Probiotics; Treatment mechanism

Citation: Su S, Zhang ZF, Wang X, Wang YM, Wang BM. Mechanism of *Lactobacillus rhamnosus* in treatment of irritable bowel syndrome. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2021; 29(7): 366-371
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i7/366.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i7.366

摘要

肠易激综合征(irritable bowel syndrome , IBS)是临床上常见的功能性胃肠病, 其会影响患者的生活质量. 因此探寻IBS的有效治疗方法具有重要意义. 益生菌可改善IBS患者的症状并提高其生活质量, 其中备受关注的是鼠李糖乳杆菌(*Lactobacillus rhamnosus* GG, LGG). LGG是目前被研究最多的益生菌之一. LGG已

经在临床上被用来治疗IBS, 且近年来LGG治疗IBS机制不断有新的进展. LGG可通过调节肠道菌群失调、保护肠道屏障功能、抗炎、调节肠道免疫、改善内脏高敏感和抑菌来发挥作用从而改善IBS症状. 本文就LGG治疗IBS的可能机制作一综述.

© **The Author(s) 2021.** Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 鼠李糖乳杆菌; 肠易激综合征; 益生菌; 治疗机制

核心提要: 鼠李糖乳杆菌(*Lactobacillus rhamnosus* GG, LGG)具有耐胆汁、胃酸能力及良好的胃肠道定植能力, 且安全性高. LGG可通过调节肠道菌群失调、保护肠道屏障功能、抗炎、调节肠道免疫、改善内脏高敏感和抑菌等机制改善肠易激综合征症状.

文献来源: 苏帅, 张智芳, 王欣, 王玉明, 王邦茂. 鼠李糖乳杆菌治疗肠易激综合征机制新进展. 世界华人消化杂志 2021; 29(7): 366-371

URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i7/366.htm

DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i7.366

0 引言

肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)是最常见的功能性胃肠病之一, 其在全球的患病率为5%-15%[1]. 我国普通人群IBS总体患病率为1.4%-11.5%, 然而仅25%的IBS患者到医院就诊[2]. 我国最新专家共识意见定义IBS: 以腹痛、腹胀或腹部不适为主要症状, 与排便相关或伴随排便习惯如频率和(或)粪便性状改变, 通过临床常规检查, 尚无法发现能解释这些症状的器质性疾病[2]. IBS虽然不会危及生命, 但它却是影响患者生活质量最常见的病因之一[3]. 因此探寻IBS的有效治疗方法具有重要意义. 关于IBS的治疗方法有很多, 其中益生菌对改善IBS症状具有一定疗效且相对安全[4]. 鼠李糖乳杆菌(*Lactobacillus rhamnosus* GG, LGG)是当今世界上最著名、被研究最多的益生菌菌株之一. LGG有其自身的优势以及特点, 其在治疗肠易激综合征方面不断有新的进展. 本文将对LGG及其治疗IBS的可能机制进行简述.

1 鼠李糖乳杆菌介绍

鼠李糖乳杆菌(LGG)属于厚壁菌门、芽孢杆菌纲、乳杆菌目、乳杆菌科、乳杆菌属. LGG是由美国教授Barry Goldin和Sherwood Gorbach在上世纪80年代从健康人的肠道中分离获得的一种乳酸杆菌. “GG”即取自Barry Goldin和Sherwood Gorbach两位教授的姓氏首字母, 故称为LGG. 1985年4月17日两位教授为LGG申请了专利. LGG最初由美国典型培养物保藏中心(American Type Culture Collection, ATCC)命名为嗜酸乳杆菌GG株, 专利号为53103(ATCC53103), 后被重新分类为鼠李糖乳杆菌.

LGG是第三代益生菌, 本身不带有致病性、产毒素及耐药性基因. 目前LGG(ATCC53103)的基因组序列已被解码[5]; LGG基因组测序和分析发现LGG存在spaCBA-srtC1基因岛可以编码SpaC, SpaB和SpaA菌毛蛋白, LGG菌毛能使其在宿主胃肠道长时间定殖以及稳定的存在, 亦可参与信号转导以及生物膜的形成等[6]. 近些年研究发现[7-11]LGG所分泌的多肽或蛋白很多, 其被认为是发挥益生作用的主要活性成分, 其中备受关注的主要包括Msp1/p75、Msp2/p40和HM0539等.

LGG具有一些其它益生菌所不具备的功能, 具有其独特的优势. 首先, LGG对胆汁和胃酸的耐受性比较好, 这使得其被服用后能够稳定地发挥益生作用[12] . 其次, LGG菌毛使其对胃肠道环境的定植能力优于其它益生菌菌种. 再次, LGG在最终产品中的稳定性非常好, 可以长期保持较高的活菌数. 最后, LGG发酵过程中只产生乳酸, 对人体无副作用, 安全性比较好.

2 鼠李糖乳杆菌治疗肠易激综合征的机制

肠易激综合征发病率近年来逐渐上升, 显著影响着人们的生活质量, 因此探讨IBS发病机制具有重要意义. 但是目前IBS病理生理机制不明, 故目前尚缺乏特异性的药物进行治疗, 而益生菌的应用为IBS的临床治疗提供了新思路. 临床上治疗IBS常用的益生菌很多, LGG是其中一种. 由于LGG有其独特的优势, 用其来治疗IBS成为临床研究的热点之一. 曾有研究对PubMed数据库所发表的13项荟萃分析、3项系统评价和15项随机对照试验进行评估后得出结论: LGG用于治疗儿童IBS证据充分[13].

目前LGG治疗IBS具体机制仍然不明. 研究普遍认为IBS的发病与肠道菌群、肠道屏障功能、肠道免疫功能和内脏敏感性等多种因素有关, 近年来关于LGG对上述多种因素的研究不断有新的进展. 本综述将从6个方面对LGG辅助治疗IBS的机制进行探讨.

2.1 调节肠道菌群失调 IBS患者存在肠道菌群失调. 研究发现IBS患者肠道菌群在种类和数量上与健康人比较存在明显差异, 如IBS患者粪便中乳酸菌属和双歧杆菌数量下降, 而球形梭菌、多形拟杆菌和绿脓杆菌等增加, 且患者腹胀症状与上述菌群变化相关[14]. 研究发现LGG占总乳酸杆菌的比例具有个体差异, 而且其所占比例可能与肠道本来的乳酸杆菌数量有关[15], 当乳酸杆菌数量以及比例下降, 可能引起菌群失调. 所以可通过外源性补充LGG增加肠道内有益菌(比如双歧杆菌和乳酸杆菌)的数量从而改善IBS. 随机对照研究表明补充混合益生菌(包括LGG、嗜酸乳杆菌、乳双歧杆菌、长双歧

杆菌、短双歧杆菌及嗜热链球菌)治疗IBS患者4 wk, 粪便中乳酸杆菌、双歧杆菌计数明显增加, 肠道菌群恢复正常, IBS患者的症状得到缓解[16]. 另有研究发现给予IBS患者补充益生菌(LGG, LC705, 费氏丙酸杆菌)数周, 在治疗结束时对IBS患者进行评分, 治疗后IBS患者评分比治疗前明显降低, 且不适症状减轻, 肠道菌群失调进一步改善[17]. 深入研究发现[18]LGG可以减少抗生素对肠道菌群的影响: 学龄前儿童经常因各种原因应用青霉素而引起肠道菌群变化, 但摄入LGG后可以减轻青霉素对肠道菌群的影响. 以上研究说明LGG可以调节肠道菌群失调.

LGG调节肠道菌群有其自身独特优势. 与其他菌株相比(如乳酸菌LC705), LGG在胃肠道定植持续时间更长, 相对浓度更高, 这使其能够更稳定地调节肠道菌群[6]. 研究发现LGG之所以具有稳定的肠道定植能力, 主要依赖于菌毛, 菌毛是类似伞状菌的附属物, 而这一结构使其具有良好的粘附能力[19]. 目前研究发现LGG中SpaCBA菌毛在粘附粘液中起关键作用, 肠粘液层是LGG在人体定植的首要选择[20]. 降结肠是LGG倾向于定植的部位[21]. 深入研究发现LGG在成年人肠道的粘附率明显高于儿童, 主要是因为成年人的肠道环境更为成熟, 更适合LGG粘附, 这样能使其更稳定的调节肠道菌群.

2.2 保护肠道屏障功能 肠道屏障功能对人体具有非常重要的功能, 可以防止有害物质穿过肠粘膜进入体内组织、器官和血液循环. 当发生IBS时, 电镜下发现肠黏膜上皮部分细胞间隙明显增宽, 细胞间可见桥粒样结构, 有绒毛断裂现象, 说明肠道屏障功能受损. 当肠道屏障功能受损, 肠道内细菌、病毒、寄生虫可以直接通过肠上皮细胞进一步危害人体. 益生菌可通过保护上皮细胞间的紧密连接作用, 促进肠道黏蛋白的分泌, 增强黏膜的屏障作用.

益生菌LGG同样具有保护肠上皮屏障的功能[22]. ⑴LGG可通过增加肠黏蛋白的表达来增强肠上皮屏障功能. LGG分泌产生的P40能够将LS174T细胞和小鼠结肠上皮细胞中EGFR反式激活, 从而促进肠粘蛋白的产生保护肠上皮屏障功能[23]. LGG来源的可溶性蛋白HM0539同样能够通过增强肠粘蛋白的表达来保护肠上皮屏障功能[24]. ⑵LGG可通过增加紧密连接蛋白表达水平来增强肠上皮屏障功能. 腹泻型IBS存在肠黏膜通透性增加, 紧密连接蛋白Claudin-4、Occludin、ZO-1表达会明显下降, 肠道屏障功能随之下降, 但是经过LGG干预后, 紧密连接蛋白表达水平可明显增加, 且结肠黏膜中干扰素和白介素-4的表达水平明显降低, 最终改善肠道屏障功能[25]. Orlando等[26]同样发现LGG可以增加紧密连接蛋白的表达, 此研究首先用胃蛋白酶-胰蛋白酶-PTG诱导大鼠肠粘膜的损伤, 随后发现损伤后的肠粘膜会出现肠细胞间紧密连接(tight junctions, TJs)蛋白和粘附连接(adheren junctions, AJs)蛋白表达减少; 进一步给予大鼠LGG饮食, 发现LGG可以阻止TJs蛋白和AJs蛋白表达减少, 进而保护大鼠肠粘膜免受损伤. ⑶LGG可通过其他机制来增强肠上皮屏障功能. Henry等[27]发现使用鼠李糖乳杆菌预处理上皮细胞, 可使其免受出血型大肠埃希菌的侵害, 其原因是LGG可加固肠黏膜屏障, 帮助肠上皮层抵御致病菌入侵. 进一步研究发现LGG对肠道屏障功能保护作用需要菌毛粘附蛋白SpaC的参与[28].

2.3 抗炎作用 IBS的发病可能与促炎性细胞因子和炎症抑制因子之间的失衡有关. IBS患者回肠末端、空肠和结肠的肥大细胞数量增多和功能异常, 并且$CD3^+$、$CD4^+$、$CD8^+$的T淋巴细胞的数量也明显增多.

LGG可能具有抗炎作用. 首先, LGG通过影响NF-κB途径来发挥抗炎作用. Yang等[29]应用婴儿沙门氏菌诱导猪的肠道出现炎症, 随后外源性补充LGG后发现其可上调T-bet、激活STAT3通路和下调CCL2通路减轻肠道炎症; 该研究团队进一步发现LGG之所以能够在沙门氏菌感染的猪模型中发挥抗炎作用, 主要是因为其通过抑制NF-κB途径来减少在肠道中NLRP6介导的炎症小体[30]. 另有研究发现[31]幼年大鼠摄入二氧化钛纳米粒子(titanium dioxide nanoparticles, TiO2 NPs)可引起结肠上皮组织炎性损伤, 口服LGG可以通过下调NF-κB的表达改善幼鼠结肠损伤. 不仅LGG能够通过影响NF-κB途径发挥抗炎作用, LGG部分结构成分同样可以影响NF-κB途径发挥抗炎作用. 研究发现[32] LGG的部分成分[表层蛋白(surface layer protein, SLP); 基因组DNA(gDNA); 未甲基化的胞嘧啶-磷酸-鸟嘌呤的寡脱氧核苷酸(CpG-ODN)]可以抑制LPS所诱导的TLR/MAPK/NF-κB信号传导通路的激活, 减少炎症因子TNF-α和IL-6的产生, 对上皮细胞有抗炎作用. 其次, LGG通过影响肠上皮自噬作用来发挥抗炎作用. LGG可以通过促进表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)的激活和Akt的磷酸化, 进而抑制沙门氏菌所导致的猪肠炎模型中的上皮自噬作用, 从而抑制肠上皮细胞死亡[33], 说明LGG可以恢复自噬相关的肠上皮屏障功能进而减少炎症并控制感染. 另外, 研究发现[34]LGG和嗜酸乳杆菌的上清液通过抑制人单核细胞THP-1中*MMP-9*基因的表达, 增加金属蛋白酶组织抑制因子TIMP-1的表达和减少CD147表达, 从而使炎症因子的活性下降, 同样说明LGG具有抗炎作用.

2.4 调节肠道免疫 IBS患者结肠黏膜免疫系统被激活, 大量免疫细胞浸润, 炎症细胞因子释放. PI-IBS患者肠黏膜活检中肥大细胞、淋巴细胞等免疫细胞数量增加,

细胞因子产生增多, 以上说明膜免疫可能参与了IBS的发生. LGG及其上清液均具有调节肠道免疫的功能. 首先LGG具有调节肠道免疫的功能: (1)动物试验研究: Shen等[35]将从LGG分泌的p40喂养野生型小鼠, 小鼠出生后第2-21天伴随早期IgA的产生, p40同时能够调节T细胞的分化, 这些发现揭示了p40在新生小鼠肠道功能的成熟和先天免疫方面可发挥作用. 另外, LGG通过调节TLR表达和抑制MAPK和NF-kB信号传导通路减少炎症因子, 从而对LPS诱导的猪IEC具有免疫调节作用, 这证实了LGG具有调节肠道免疫的功能[36]. (2)临床试验研究: Sindhu等[37]发现124名轮状病毒感染的儿童出现腹泻后给予LGG治疗, 患儿IgG的水平显著增加, 肠粘膜通透性显著改善, 以上证明LGG可能参与了免疫调节. 其次, LGG上清液中的成分可能具有调节肠道免疫的功能. 研究表明LGG上清液可激活DC的因子进一步诱导T细胞具有Th1调节表型, 表明了LGG来源的可溶性介质能够调节获得性免疫细胞[38].

LGG之所以具有调节肠道免疫的功能, 可能与其具有免疫效应的关键物质-脂磷壁酸(lipoteichoic acid, LTA)相关. 研究发现[39]LTA是乳酸杆菌与宿主相互作用的重要的分子之一, 并且是抗炎和免疫调节作用的关键因素. 因此目前猜测LGG能够调节肠道免疫的功能需要LTA的参与, 但是这需进一步的研究来证实. LGG上清液能够调节免疫, 也可能有LGG代谢分泌产物的参与, 但这也需要进一步的研究证实.

2.5 改善内脏高敏感 IBS患者内脏敏感性异常涉及肠道局部、脑一肠轴等多个层面. 目前普遍认为内脏敏感性异常是IBS的主要病理生理学机制. IBS与内脏高敏感密切相关, 腹泻为主的IBS患者对直肠扩张试验的耐受性明显低于对照组[40]. 研究表明[41]肥大细胞在IBS内脏高敏感中发挥重要作用, 肥大细胞活化脱颗粒释放5-HT、组胺等, 使内脏感觉神经纤维致敏, 导致肠道运动功能异常. 目前普遍认为5-HT参与了调节肠道运动功能. Buhner等[42]对76例IBS患者结肠黏膜活检发现, 黏膜肥大细胞数目和上清液中5-HT、组胺含量明显高于对照组.

LGG可以通过改善内脏敏感性进一步改善IBS症状. 动物实验发现给予大鼠LGG和/或益生元聚葡萄糖/半乳糖低聚糖(PDX/GOS)可以通过改善结肠敏感性进一步改善内脏痛觉过敏, 这可能与大脑中神经递质水平的变化有关[43]. 我们研究发现[44]LGG上清液可以上调PI-IBS大鼠结肠黏膜SERT的表达, 同时改善大鼠内脏敏感性从而进一步改善IBS. 另外, 关于LGG的临床研究发现了相同的结论: LGG治疗肠易激综合征患儿, 不仅可以改善内脏高敏感, 同时还可以改善患儿的疼痛频率和强度[45]; LGG治疗急性胃肠炎患儿可以通过改善内脏高敏感性从而改善腹痛, 并且可以缩短腹泻持续时间[46].

2.6 抑菌作用 感染后IBS是IBS患者中一种重要类型. 被肠道病毒、细菌或寄生虫感染的患者, 在病原体已被清除及黏膜炎性反应消退后仍可发生IBS样症状, 提示病原微生物感染可能在某些类型的IBS中发挥作用. 益生菌可以用来治疗感染后IBS. 虽然益生菌治疗感染后IBS具体机制不清楚, 但是目前认为可能作用机制如下: (1)益生菌能够黏附在肠黏膜上皮细胞与肠道其他细菌竞争营养物质和空间, 同时加强黏膜屏障, 并阻止病原体入侵. (2)由益生菌产生的有机酸及细菌素可以抑制致病菌的生长, 降低感染后的炎症反应.

LGG除了通过上述机制发挥抑菌作用, 还具有其自身特点的抑菌机制. Petrova等[47]研究筛选了LGG的基因组序列中两个基因(*LGG_RS 02780*和*LGG_RS 02750*), 它们编码的凝集素样蛋白有N末端保守的L型凝集素结构域, 因此被命名为凝集素样蛋白质1(galectin-like protein 1, LIp1)和凝集素样蛋白质2(galectin-like protein 2, LIp2). LIp1和LIp2具有显著的抑制各种病原体生物膜形成的活性, 包括临床沙门氏菌和尿路病原体大肠杆菌等, 从而达到抑菌作用.

3 结论

本文通过对LGG治疗IBS的可能机制进行了回顾总结. 益生菌LGG在体外实验、动物实验以及临床试验中被证明治疗IBS有效, 其作用机制与调节肠道菌群失调、保护肠道屏障功能、抗炎、调节肠道免疫、改善内脏高敏感和抑菌等有关. 但上述机制仍有很多未能明确. 例如, LGG通过何种具体机制在体内发挥作用来治疗IBS并不清楚; LGG代谢产物在治疗IBS过程中是否发挥了重要作用仍需要进一步的研究. 同时临床上应用LGG治疗IBS的研究需要进一步完善, 例如LGG的疗程及剂量仍需进一步确定, 从而为临床安全使用LGG治疗IBS提供更多循证医学证据.

4 参考文献

1 Gendi R, Jahan N. Pharmacological and Non-pharmacological Treatments of Irritable Bowel Syndrome and Their Impact on the Quality of Life: A Literature Review. *Cureus* 2020; 12: e9324 [PMID: 32850202 DOI: 10.7759/cureus.9324]

2 中华医学会消化病学分会胃肠功能性疾病协作组, 中华医学会消化病学分会胃肠动力学组. 2020年中国肠易激综合征专家共识意见. 中华消化杂志 2020; 40: 803-818 [DOI:10.3760/cma.j.cn311367-20201116-00660]

3 Niewinna K, Zielińska A, Fichna J. Recent advances in the pharmacological management of constipation predominant irritable bowel syndrome. *Expert Opin Pharmacother* 2020; 21: 73-84 [PMID: 31724881 DOI: 10.1097/YCO.0000000000000628]

4 Sun JR, Kong CF, Qu XK, Deng C, Lou YN, Jia LQ. Efficacy and safety of probiotics in irritable bowel syndrome: A systematic

review and meta-analysis. *Saudi J Gastroenterol* 2020; 26: 66-77 [PMID: 31898645 DOI: 10.4103/sjg.SJG_384_19]
5 Kankainen M, Paulin L, Tynkkynen S, von Ossowski I, Reunanen J, Partanen P, Satokari R, Vesterlund S, Hendrickx AP, Lebeer S, De Keersmaecker SC, Vanderleyden J, Hämäläinen T, Laukkanen S, Salovuori N, Ritari J, Alatalo E, Korpela R, Mattila-Sandholm T, Lassig A, Hatakka K, Kinnunen KT, Karjalainen H, Saxelin M, Laakso K, Surakka A, Palva A, Salusjärvi T, Auvinen P, de Vos WM. Comparative genomic analysis of Lactobacillus rhamnosus GG reveals pili containing a human- mucus binding protein. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009; 106: 17193-17198 [PMID: 19805152 DOI: 10.1073/pnas.0908876106]
6 Capurso L. Thirty Years of Lactobacillus rhamnosus GG: A Review. *J Clin Gastroenterol* 2019; 53 Suppl 1: S1-S41 [PMID: 30741841 DOI: 10.1097/MCG.0000000000001170]
7 Yan F, Cao H, Cover TL, Whitehead R, Washington MK, Polk DB. Soluble proteins produced by probiotic bacteria regulate intestinal epithelial cell survival and growth. *Gastroenterology* 2007; 132: 562-575 [PMID: 17258729 DOI: 10.1053/j.gastro.2006.11.022]
8 Yang L, Higginbotham JN, Liu L, Zhao G, Acra SA, Peek RM Jr, Polk DB, Li H, Yan F. Production of a Functional Factor, p40, by Lactobacillus rhamnosus GG Is Promoted by Intestinal Epithelial Cell-Secreted Extracellular Vesicles. *Infect Immun* 2019; 87 [PMID: 31010817 DOI: 10.1128/IAI.00113-19]
9 张汉运, 高杰, 何肖龙, 龚泽龙, 万宇, 胡彤彤, 李煜彬, 曹虹. 鼠李糖乳杆菌效应蛋白HM0539增强小鼠对大肠杆菌O157: H7肠道感染的抵抗力. 南方医科大学学报 2020; 40: 211-218 [DOI: 10.12122/j.issn.1673-4254.2020.02.20]
10 Shen X, Liu L, Peek RM, Acra SA, Moore DJ, Wilson KT, He F, Polk DB, Yan F. Supplementation of p40, a Lactobacillus rhamnosus GG-derived protein, in early life promotes epidermal growth factor receptor-dependent intestinal development and long-term health outcomes. *Mucosal Immunol* 2018; 11: 1316-1328 [PMID: 29875401 DOI: 10.1038/s41385-018-0034-3]
11 Li Y, Yang S, Lun J, Gao J, Gao X, Gong Z, Wan Y, He X, Cao H. Inhibitory Effects of the Lactobacillus rhamnosus GG Effector Protein HM0539 on Inflammatory Response Through the TLR4/MyD88/NF-κB Axis. *Front Immunol* 2020; 11: 551449 [PMID: 33123130 DOI: 10.3389/fimmu.2020.551449]
12 李慧英. 鼠李糖乳杆菌(LGG)的功能特性及其应用前景. 临床医药文献电子杂志 2017; 50: 9889-9891 [DOI: 10.3877/j.issn.2095-8242.2017.50.135]
13 Szajewska H, Hojsak I. Health benefits of Lactobacillus rhamnosus GG and Bifidobacterium animalis subspecies lactis BB-12 in children. *Postgrad Med* 2020; 132: 441-451 [PMID: 32059116 DOI: 10.1080/00325481.2020.1731214]
14 Shukla R, Ghoshal U, Dhole TN, Ghoshal UC. Fecal Microbiota in Patients with Irritable Bowel Syndrome Compared with Healthy Controls Using Real-Time Polymerase Chain Reaction: An Evidence of Dysbiosis. *Dig Dis Sci* 2015; 60: 2953-2962 [PMID: 25784074 DOI: 10.1007/s10620-015-3607-y]
15 Chen L, Li H, Li J, Chen Y, Yang Y. Lactobacillus rhamnosus GG treatment improves intestinal permeability and modulates microbiota dysbiosis in an experimental model of sepsis. *Int J Mol Med* 2019; 43: 1139-1148 [PMID: 30628657 DOI: 10.3892/ijmm.2019.4050]
16 Yoon H, Park YS, Lee DH, Seo JG, Shin CM, Kim N. Effect of administering a multi-species probiotic mixture on the changes in fecal microbiota and symptoms of irritable bowel syndrome: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *J Clin Biochem Nutr* 2015; 57: 129-134 [PMID: 26388670 DOI: 10.3164/jcbn.15-14]
17 Sansotta N, Peroni DG, Romano S, Rugiano A, Vuilleumier P, Baviera G; Italian Society of Pediatric Allergy, Immunology (SIAIP), Microbiota Committee, Italy. The good bugs: the use of probiotics in pediatrics. *Curr Opin Pediatr* 2019; 31: 661-669 [PMID: 31356353 DOI: 10.1097/MOP.0000000000000808]
18 Korpela K, Salonen A, Virta LJ, Kumpu M, Kekkonen RA, de Vos WM. Lactobacillus rhamnosus GG Intake Modifies Preschool Children's Intestinal Microbiota, Alleviates Penicillin-Associated Changes, and Reduces Antibiotic Use. *PLoS One* 2016; 11: e0154012 [PMID: 27111772 DOI: 10.1371/journal.pone.0154012]
19 Pagnini C, Corleto VD, Martorelli M, Lanini C, D'Ambra G, Di Giulio E, Delle Fave G. Mucosal adhesion and anti-inflammatory effects of Lactobacillus rhamnosus GG in the human colonic mucosa: A proof-of-concept study. *World J Gastroenterol* 2018; 24: 4652-4662 [PMID: 30416313 DOI: 10.3748/wjg.v24.i41.4652]
20 Lebeer S, Claes I, Tytgat HL, Verhoeven TL, Marien E, von Ossowski I, Reunanen J, Palva A, Vos WM, Keersmaecker SC, Vanderleyden J. Functional analysis of Lactobacillus rhamnosus GG pili in relation to adhesion and immunomodulatory interactions with intestinal epithelial cells. *Appl Environ Microbiol* 2012; 78: 185-193 [PMID: 22020518 DOI: 10.1128/AEM.06192-11]
21 Alander M, Korpela R, Saxelin M, Vilpponen-Salmela T, Mattila-Sandholm T, von Wright A. Recovery of Lactobacillus rhamnosus GG from human colonic biopsies. *Lett Appl Microbiol* 1997; 24: 361-364 [PMID: 9172443 DOI: 10.1046/j.1472-765x.1997.00140.x]
22 Darby TM, Naudin CR, Luo L, Jones RM. Lactobacillus rhamnosus GG-induced Expression of Leptin in the Intestine Orchestrates Epithelial Cell Proliferation. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol* 2020; 9: 627-639 [PMID: 31874255 DOI: 10.1016/j.jcmgh.2019.12.004]
23 Wang L, Cao H, Liu L, Wang B, Walker WA, Acra SA, Yan F. Activation of epidermal growth factor receptor mediates mucin production stimulated by p40, a Lactobacillus rhamnosus GG-derived protein. *J Biol Chem* 2014; 289: 20234-20244 [PMID: 24895124 DOI: 10.1074/jbc.M114.553800]
24 Gao J, Li Y, Wan Y, Hu T, Liu L, Yang S, Gong Z, Zeng Q, Wei Y, Yang W, Zeng Z, He X, Huang SH, Cao H. A Novel Postbiotic From Lactobacillus rhamnosus GG With a Beneficial Effect on Intestinal Barrier Function. *Front Microbiol* 2019; 10: 477 [PMID: 30923519 DOI: 10.3389/fmicb.2019.00477]
25 Han X, Lee A, Huang S, Gao J, Spence JR, Owyang C. Lactobacillus rhamnosus GG prevents epithelial barrier dysfunction induced by interferon-gamma and fecal supernatants from irritable bowel syndrome patients in human intestinal enteroids and colonoids. *Gut Microbes* 2019; 10: 59-76 [PMID: 30040527 DOI: 10.1080/19490976.2018.1479625]
26 Orlando A, Linsalata M, Bianco G, Notarnicola M, D'Attoma B, Scavo MP, Tafaro A, Russo F. Lactobacillus rhamnosus GG Protects the Epithelial Barrier of Wistar Rats from the Pepsin-Trypsin-Digested Gliadin (PTG)-Induced Enteropathy. *Nutrients* 2018; 10 [PMID: 30405050 DOI: 10.3390/nu10111698]
27 Johnson-Henry KC, Donato KA, Shen-Tu G, Gordanpour M, Sherman PM. Lactobacillus rhamnosus strain GG prevents enterohemorrhagic Escherichia coli O157:H7-induced changes in epithelial barrier function. *Infect Immun* 2008; 76: 1340-1348 [PMID: 18227169 DOI: 10.1128/IAI.00778-07]
28 Ardita CS, Mercante JW, Kwon YM, Luo L, Crawford ME, Powell DN, Jones RM, Neish AS. Epithelial adhesion mediated by pilin SpaC is required for Lactobacillus rhamnosus GG-induced cellular responses. *Appl Environ Microbiol* 2014; 80: 5068-5077 [PMID: 24928883 DOI: 10.1128/AEM.01039-14]
29 Yang GY, Yu J, Su JH, Jiao LG, Liu X, Zhu YH. Oral Administration of Lactobacillus rhamnosus GG Ameliorates Salmonella Infantis-Induced Inflammation in a Pig Model via

Activation of the IL-22BP/IL-22/STAT3 Pathway. *Front Cell Infect Microbiol* 2017; 7: 323 [PMID: 28770173 DOI: 10.3389/fcimb.2017.00323]
30 Yu J, Zhu YH, Yang GY, Zhang W, Zhou D, Su JH, Wang JF. Anti-inflammatory capacity of Lactobacillus rhamnosus GG in monophasic variant Salmonella infected piglets is correlated with impeding NLRP6-mediated host inflammatory responses. *Vet Microbiol* 2017; 210: 91-100 [PMID: 29103703 DOI: 10.1016/j.vetmic.2017.08.008]
31 Zhao Y, Tang Y, Chen L, Lv S, Liu S, Nie P, Aguilar ZP, Xu H. Restraining the TiO_2 nanoparticles-induced intestinal inflammation mediated by gut microbiota in juvenile rats via ingestion of Lactobacillus rhamnosus GG. *Ecotoxicol Environ Saf* 2020; 206: 111393 [PMID: 33010597 DOI: 10.1016/j.ecoenv.2020.111393]
32 Qi SR, Cui YJ, Liu JX, Luo X, Wang HF. Lactobacillus rhamnosus GG components, SLP, gDNA and CpG, exert protective effects on mouse macrophages upon lipopolysaccharide challenge. *Lett Appl Microbiol* 2020; 70: 118-127 [PMID: 31782817 DOI: 10.1111/lam.13255]
33 Zhang W, Zhu YH, Yang GY, Liu X, Xia B, Hu X, Su JH, Wang JF. Lactobacillus rhamnosus GG Affects Microbiota and Suppresses Autophagy in the Intestines of Pigs Challenged with Salmonella Infantis. *Front Microbiol* 2017; 8: 2705 [PMID: 29403451 DOI: 10.3389/fmicb.2017.02705]
34 Maghsood F, Mirshafiey A, Farahani MM, Modarressi MH, Jafari P, Motevaseli E. Dual Effects of Cell Free Supernatants from Lactobacillus acidophilus and Lactobacillus rhamnosus GG in Regulation of MMP-9 by Up-Regulating TIMP-1 and Down-Regulating CD147 in PMADifferentiated THP-1 Cells. *Cell J* 2018; 19: 559-568 [PMID: 29105390 DOI: 10.22074/cellj.2018.4447]
35 Shen X, Liu L, Peek RM, Acra SA, Moore DJ, Wilson KT, He F, Polk DB, Yan F. Supplementation of p40, a Lactobacillus rhamnosus GG-derived protein, in early life promotes epidermal growth factor receptor-dependent intestinal development and long-term health outcomes. *Mucosal Immunol* 2018; 11: 1316-1328 [PMID: 29875401 DOI: 10.1038/s41385-018-0034-3]
36 Gao K, Wang C, Liu L, Dou X, Liu J, Yuan L, Zhang W, Wang H. Immunomodulation and signaling mechanism of Lactobacillus rhamnosus GG and its components on porcine intestinal epithelial cells stimulated by lipopolysaccharide. *J Microbiol Immunol Infect* 2017; 50: 700-713 [PMID: 26055689 DOI: 10.1016/j.jmii.2015.05.002]
37 Sindhu KN, Sowmyanarayanan TV, Paul A, Babji S, Ajjampur SS, Priyadarshini S, Sarkar R, Balasubramanian KA, Wanke CA, Ward HD, Kang G. Immune response and intestinal permeability in children with acute gastroenteritis treated with Lactobacillus rhamnosus GG: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Clin Infect Dis* 2014; 58: 1107-1115 [PMID: 24501384 DOI: 10.1093/cid/ciu065]
38 Ludwig IS, Broere F, Manurung S, Lambers TT, van der Zee R, van Eden W. Lactobacillus rhamnosus GG-Derived Soluble Mediators Modulate Adaptive Immune Cells. *Front Immunol* 2018; 9: 1546 [PMID: 30042761 DOI: 10.3389/fimmu.2018.01546]
39 Claes IJ, Segers ME, Verhoeven TL, Dusselier M, Sels BF, De Keersmaecker SC, Vanderleyden J, Lebeer S. Lipoteichoic acid is an important microbe-associated molecular pattern of Lactobacillus rhamnosus GG. *Microb Cell Fact* 2012; 11: 161 [PMID: 23241240 DOI: 10.1186/1475-2859-11-161]
40 Zuo XL, Li YQ, Shi L, Lv GP, Kuang RG, Lu XF, Li JM, Desmond PV. Visceral hypersensitivity following cold water intake in subjects with irritable bowel syndrome. *J Gastroenterol* 2006; 41: 311-317 [PMID: 16741609 DOI: 10.1007/s00535-005-1766-x]
41 Ortiz-Lucas M, Saz-Peiró P, Sebastián-Domingo JJ. Irritable bowel syndrome immune hypothesis. Part one: the role of lymphocytes and mast cells. *Rev Esp Enferm Dig* 2010; 102: 637-647 [PMID: 21142384 DOI: 10.4321/s1130-01082010001100004]
42 Buhner S, Li Q, Vignali S, Barbara G, De Giorgio R, Stanghellini V, Cremon C, Zeller F, Langer R, Daniel H, Michel K, Schemann M. Activation of human enteric neurons by supernatants of colonic biopsy specimens from patients with irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 2009; 137: 1425-1434 [PMID: 19596012 DOI: 10.1053/j.gastro.2009.07.005]
43 Kannampalli P, Pochiraju S, Chichlowski M, Berg BM, Rudolph C, Bruckert M, Miranda A, Sengupta JN. Probiotic Lactobacillus rhamnosus GG (LGG) and prebiotic prevent neonatal inflammation-induced visceral hypersensitivity in adult rats. *Neurogastroenterol Motil* 2014; 26: 1694-1704 [PMID: 25298006 DOI: 10.1111/nmo.12450]
44 Cao YN, Feng LJ, Liu YY, Jiang K, Zhang MJ, Gu YX, Wang BM, Gao J, Wang ZL, Wang YM. Effect of Lactobacillus rhamnosus GG supernatant on serotonin transporter expression in rats with post-infectious irritable bowel syndrome. *World J Gastroenterol* 2018; 24: 338-350 [PMID: 29391756 DOI: 10.3748/wjg.v24.i3.338]
45 Horvath A, Dziechciarz P, Szajewska H. Meta-analysis: Lactobacillus rhamnosus GG for abdominal pain-related functional gastrointestinal disorders in childhood. *Aliment Pharmacol Ther* 2011; 33: 1302-1310 [PMID: 21507030 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2011.04665.x]
46 Szajewska H, Skórka A, Ruszczyński M, Gieruszczak-Białek D. Meta-analysis: Lactobacillus GG for treating acute gastroenteritis in children--updated analysis of randomised controlled trials. *Aliment Pharmacol Ther* 2013; 38: 467-476 [PMID: 23841880 DOI: 10.1111/apt.12403]
47 Petrova MI, Imholz NC, Verhoeven TL, Balzarini J, Van Damme EJ, Schols D, Vanderleyden J, Lebeer S. Lectin-Like Molecules of Lactobacillus rhamnosus GG Inhibit Pathogenic Escherichia coli and Salmonella Biofilm Formation. *PLoS One* 2016; 11: e0161337 [PMID: 27537843 DOI: 10.1371/journal.pone.0161337]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁



WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: https://www.baishideng.com

世界华人消化杂志 2021年4月8日; 29(7): 372-377

DOI: 10.11569/wcjd.v29.i7.372

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

临床实践 CLINICAL PRACTICE

创伤性颅脑外伤合并急性胃肠功能损伤患者血清中热休克蛋白70水平的变化及意义

魏文桂, 张雪琴, 张艳景, 田 野

魏文桂, 张雪琴, 张艳景, 田野, 天津医科大学总医院神经外科 天津市 300052

魏文桂, 本科, 主管护师, 主要研究方向为神经外科.

作者贡献分布: 此课题由魏文桂, 张雪琴, 张艳景及田野设计; 研究过程由魏文桂, 张雪琴, 张艳景, 田野操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由张雪琴, 张艳景, 田野提供; 数据分析由魏文桂完成; 本论文写作由魏文桂, 田野完成.

通讯作者: 田野, 博士研究生, 主治医师, 300052, 天津市和平区鞍山道154号, 天津医科大学总医院神经外科. tianye030710@163.com

收稿日期: 2021-01-08
修回日期: 2021-01-19
接受日期: 2021-03-15
在线出版日期: 2021-04-08

Significance of changes of serum heat shock protein 70 levels in patients with traumatic brain injury and acute gastrointestinal injury

Wen-Gui Wei, Xue-Qin Zhang, Yan-Jing Zhang, Ye Tian

Wen-Gui Wei, Xue-Qin Zhang, Yan-Jing Zhang, Ye Tian, Department of Neurosurgery, Tianjin Medical University General Hospital, Tianjin 300052, China

Corresponding author: Ye Tian, Doctoral Candidate, Attending Physician, Department of Neurosurgery, Tianjin Medical University General Hospital, No. 154 Anshan Road, Heping District, Tianjin 300052, China. tianye030710@163.com

Received: 2021-01-08
Revised: 2021-01-19
Accepted: 2021-03-15
Published online: 2021-04-08

Abstract

BACKGROUND

At present, most researchers believe that serum heat shock protein 70 (HSP70) has a high sensitivity when gastrointestinal function is damaged and it is a sensitive indicator of early intestinal ischemia. However, there are few studies on the role of serum HSP70 in the evaluation of gastrointestinal function in patients with traumatic brain injury (TBI), which is worthy of further study.

AIM

To explore the significance of changes of serum heat shock protein 70 (HSP70) levels in patients with TBI combined with acute gastrointestinal injury (AGI).

METHODS

A total of 133 patients with TBI and AGI who were treated and hospitalized at the intensive care unit of Tianjin Medical University General Hospital from March 2019 to October 2020 were selected as the research subjects. According to the modified Glasgow coma scoring method combined with the clinical classification criteria of traumatic brain injury, the study subjects were divided into three groups: 63 cases of mild type, 32 cases of moderate type, and 38 cases of severe type. According to the AGI grading standard, the study subjects were divided into 68 cases of grade I AGI, 37 cases of grade II, 17 cases of grade III, and 11 cases of grade IV. Another 50 patients with no history of TBI and basic diseases of various systems who underwent routine physical examination at our hospital were selected as a control group. Serum HSP70 levels were compared between patients with different brain trauma types and different AGI grades and the control group. The correlation of serum HSP70 levels of TBI patients with AGI and the degree with brain injury and AGI grades was analyzed. The performance of serum HSP70 levels in the diagnosis of TBI with AGI was evaluated.

RESULTS

On the day of admission, as the degree of brain injury worsened, serum HSP70 level gradually increased,

and HSP70 levels of various types were significantly higher than those in the control group. As the AGI grade increased, serum HSP70 level also gradually increased. And the HSP70 levels of each grade were significantly higher than those in the control group ($P < 0.05$). On the 3rd day of admission, serum HSP70 levels of each type were significantly lower than the values on the day of admission, but the values were still higher than those in the control group. And serum HSP70 level of each grade was significantly lower than the value on the day of admission, but the value was still significantly higher than that of the control group ($P < 0.05$). Pearson correlation analysis indicated that serum HSP70 levels were significantly positively correlated with the degree of brain injury and AGI grades in patients with TBI and AGI ($r_s = 0.802$ and 0.836, respectively, $P < 0.01$). ROC curve analysis showed that the accuracy of serum HSP70 in the diagnosis of TBI combined with AGI was relatively high, with an AUC of 0.803 and 95%CI of 0.720-0.872. When the best cutoff value was 258.50 ng/L, the sensitivity was 80.94%, the specificity was 87.93%, and the Youden index was 0.501.

CONCLUSION
Serum HSP70 in patients with TBI combined with AGI is significantly up-regulated, which may be related to the progression of the disease and has high diagnostic value for TBI combined with AGI.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Traumatic brain injury; Gastrointestinal function; Acute injury; Heat shock protein 70; Disease progression; Diagnostic efficacy

Citation: Wei WG, Zhang XQ, Zhang YJ, Tian Y. Significance of changes of serum heat shock protein 70 levels in patients with traumatic brain injury and acute gastrointestinal injury. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2021; 29(7): 372-377
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i7/372.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i7.372

摘要

背景
目前多数研究者们认为在胃肠功能受损时, 血清HSP70具有较高的敏感性, 为早期肠缺血的敏感指标, 但血清中热休克蛋白70(HSP70)在创伤性颅脑外伤(traumatic head injury, TBI)患者的胃肠功能评估中的研究较少, 值得进一步研究.

目的
探究TBI合并急性胃肠功能损伤(acute gastrointestinal impairment, AGI)患者HSP70水平的变化及意义.

方法
选取2019-03/2020-10期间天津医科大学总医院重症监护病房就诊并住院的TBI合并AGI患者133例作为研究对象, 按照改良Glasgow昏迷评分法并结合创伤性颅脑损伤临床分型标准, 将研究对象分为轻型63例, 中型32例, 重型38例; 按照AGI分级标准, 将研究对象分为AGI Ⅰ级68例, AGI Ⅱ级37例, AGI Ⅲ级17例, AGI Ⅳ级11例. 另选取50例于我院进行常规体检的无颅脑外伤病史、各系统基础疾病者作为对照组. 比较不同脑外伤程度及不同AGI分级患者与对照组血清中HSP70水平, 并分析TBI合并AGI患者血清HSP70水平与脑损伤程度、AGI分级的相关性, 同时分析其单独诊断TBI合并AGI的诊断效能.

结果
入院当天, 随着脑损伤程度的加重, 血清HSP70水平也逐渐升高, 且各型HSP70水平均显著高于对照组患者, 而随着AGI分级的提高, 血清HSP70水平也逐渐升高, 且各分级HSP70水平均显著高于对照组患者, 差异均有统计学意义($P<0.05$); 入院第3 天, 各型血清HSP70水平较入院当天数值明显降低, 但数值仍高于对照组患者, 而各分级血清HSP70水平较入院当天数值明显降低, 但数值仍高于对照组患者, 差异均有统计学意义($P<0.05$); Pearson检验发现, TBI合并AGI患者血清HSP70水平与脑损伤程度、AGI分级均呈显著正相关($r_s = 0.802$、0.836, $P<0.01$); ROC曲线显示, 血清HSP70诊断TBI合并AGI的试验准确性较高, AUC为0.803, 95%CI为0.720-0.872. 当最佳截断值为258.50 ng/L时, 敏感度为80.94%, 特异度为87.93%, 约登指数为0.501.

结论
HSP70在TBI合并AGI患者血清中的表达显著上调, 可能与疾病发展进程有关, 对TBI合并AGI有较高的诊断价值.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 创伤性颅脑外伤; 胃肠功能; 急性损伤; 热休克蛋白70; 疾病发展进程; 诊断效能

核心提要: 现阶段常用于评价胃肠功能障碍的标准为急性胃肠功能损伤(acute gastrointestinal impairment, AGI)分级标准, 但评价医生的主观因素对此分级标准的结果有很大的影响, 而本文选取血清中热休克蛋白70(HSP70)这一生物标志物来反应创伤性颅脑外伤(traumatic head injury, TBI)合并AGI患者疾病进程, 这为临床治疗提供一定的参考依据.

文献来源: 魏文桂, 张雪琴, 张艳景, 田野. 创伤性颅脑外伤合并急性胃肠功能损伤患者血清中热休克蛋白70水平的变化及意义. 世界华人消化杂志 2021; 29(7): 372-377
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i7/372.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i7.372

0 引言

创伤性颅脑外伤(traumatic brain injury, TBI)在临床中属于较为常见的一种脑外伤, 随着我国交通事业的快速发展及城市流动人口的增多, 其患病率日益增加[1]. 既往研究发现[2], 当机体遭受严重创伤、颅脑损伤等危及情况时, 会诱发胃肠等脏器部位血管收缩, 使胃肠局部血流减少, 致使胃肠道成为极易受损的靶器官, 也更容易继发贯序性的多器官功能衰竭, 对患者今后的康复带来诸多不利. 现阶段临床多以急性胃肠损伤(acute gastrointestinal injury, AGI)分级标准评价胃肠功能障碍, 但考虑到此分级标准主要依靠临床医生, 受主观因素影响较大, 故而探究更为客观的生物标志物对TBI患者发生AGI的早期诊断和病情评估有重要意义[3,4]. 热休克蛋白70(heat shock protein 70, HSP70)在HSPs家族中是最为重要、功能最多、应激反应中最敏感的成员, 既往多用于判断心力衰竭和细菌性肺炎患者的预后[5,6], 而近年来随着研究的深入, 人们发现HSP70可发挥多种应激保护反应促使组织从应激中恢复, 在保护胃肠道黏膜, 预防应激性溃疡方面起着举足轻重的作用[7]. 然而, 目前关于血清HSP70的这种变化是否与TBI继发AGI的病变状态相关尚不明确, 为此, 本研究通过探讨血清HSP70在TBI合并AGI患者外周血中的表达, 以期为临床预防和针对性治疗提供理论依据.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2019-03/-2020-10期间天津医科大学总医院重症监护病房就诊并住院的TBI合并AGI患者133例作为研究对象, 男73例, 女60例, 年龄20-65(39.85±8.61)岁, 按照改良Glasgow昏迷评分法并结合创伤性颅脑损伤临床分型标准, 将研究对象分为轻型(指单纯性脑震荡伴有或无颅骨骨折)63例, 中型(指轻度脑挫裂伤或无颅骨骨折及蛛网膜下腔出血, 无脑受压者)32例, 重型(指广泛颅骨骨折, 广泛脑挫裂伤及脑干损伤或颅内血肿)38例; 按照急性肠胃损伤(acute gastrointestinal injury, AGI)分级标准, 将研究对象分为AGI Ⅰ级(有发生胃肠功能不全或衰竭的风险)68例, AGI Ⅱ级(胃肠功能障碍)37例, AGI Ⅲ级(胃肠功能衰竭)17例, AGI Ⅳ级(胃肠功能衰竭伴有远隔器官功能障碍)11例. 另选取50例于我院进行常规体检的无颅脑外伤病史、各系统基础疾病者作为对照组, 男27例, 女23例, 年龄20-63(39.17±8.44)岁. 本研究由我院医学伦理委员会审批且批准.

1.1.1 诊断标准: 经全面的体格检查和头颅X线平片、头颅CT或头颅磁共振等检测诊断为颅脑外伤, 包括有[8]: (1)头皮伤: 挫伤, 裂伤, 头皮血肿; (2)火器性颅脑开放伤; (3)脑损伤: 原发性脑损伤, 继发性脑损伤; (4)颅骨骨折: 颅盖骨折, 颅底骨折. 急性胃肠功能损伤诊断符合2012年欧洲重症医学会发布的相关定义[9].

1.1.2 纳入标准: (1)年龄>18岁; (2)近1个月内未持续应用抗生素、微生态制剂、激素等药物; (3)无合并消化系统基础疾病或者直接损伤; (4)病例资料完整, 患者及家属均自愿参加并签署知情同意书.

1.1.3 排除标准: (1)近7天内接受过外科手术或输注血液制品者; (2)入院前已经存在其他系统感染性疾病者; (3)近3个月内参加其他临床实验者; (4)存在免疫缺陷疾病病史、器官移植病史或长期应用免疫抑制剂者; (5)存在意识或精神障碍者; (6)因感染中毒、灼伤、失血、脱水、缺氧等其他影响因素所引起的急性胃肠功能损伤.

1.1.4 剔除标准: (1)自动出院或中途退出研究, 或不愿配合医护人员完成本次试验者; (2)已进入试验但发现患者不符合本研究纳入标准或其符合排除标准.

1.2 方法 所有研究对象入院当天抽取2 mL空腹血, 对照组患者于门诊体检时留取外周血标本, 均常温下20 min凝固, 离心收集血清, 用酶联免疫吸附法检测血清HSP70水平, 试剂盒(济南来宝医疗器械有限公司生产)检测, 酶标仪选用济南来宝医疗器械有限公司生产的博科BIOBASE-EL10A酶标仪. 将标本和样本在各待测孔放置, 根据操作要求滴度试剂, 使用内源性过氧化物酶进行室温封闭1 h后, 再次洗涤样本拍干, 向每个样孔中加入50 μL的终止液, 孔中颜色由蓝色变为黄色, 并使用波长为450 nm的酶标仪在30 min内测定吸光度(OD)值, 通过测绘OD标准曲线, 计算样本和标本浓度[10]. 这一过程中若样孔的颜色为绿色或颜色变化不均匀, 轻轻敲打板以确保充分混合.

统计学处理 利用SPSS 20.0软件分析, 年龄、PDCD5等计量资料经正态性检验符合正态性分布, 以mean±SD示, 多组间比较采用单因素方差分析, 进一步两两比较采用LSD-t检验. 性别等计数资料采用率(%)表示, 应用χ^2检验分析. 对TBI合并AGI患者血清HSP70水平与脑损伤程度、AGI分级的相关关系检验采用person相关分析, 绘制ROC评价血清HSP70对TBI继发AGI的诊断效能, $P<0.05$时具统计学意义.

2 结果

2.1 不同脑外伤程度的TBI合并AGI患者和对照组血清HSP70水平比较 入院当天, 随着脑损伤程度的加重, 血清HSP70水平也逐渐升高, 且各型HSP70水平均显著高于对照组患者, 差异均有统计学意义($P<0.05$); 入院第3天, 各型血清HSP70水平较入院当天数值明显降低, 但数值仍高于对照组患者, 差异均有统计学意义($P<0.05$).

见表1.

2.2 不同AGI分级TBI合并AGI和对照组血清HSP70水平比较 入院当天, 随着AGI分级的提高, 血清HSP70水平也逐渐升高, 且各分级HSP70水平均显著高于对照组患者, 差异均有统计学意义(P<0.05); 入院第3天, 各分级血清HSP70水平较入院当天数值明显降低, 但数值仍高于对照组患者, 差异均有统计学意义(P<0.05). 见表2.

2.3 TBI合并AGI血清HSP70水平与脑损伤程度、AGI分级的关系 Pearson检验发现, TBI合并AGI患者血清HSP70水平与脑损伤程度、AGI分级均呈显著正相关(r_s = 0.802、0.836, P<0.01).

2.4 血清HSP70水平对TBI合并AGI患者的诊断价值 ROC曲线显示, 血清HSP70诊断TBI合并AGI的试验准确性较高, AUC为0.803, 95%CI为0.720-0.872. 当最佳截断值为258.50 ng/L时, 敏感度为80.94%, 特异度为87.93%, 约登指数为0.501. 见图1.

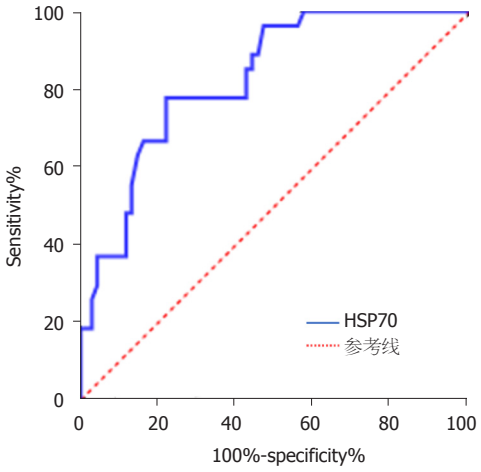


图 1 ROC曲线分析.

3 讨论

胃肠功能障碍系TBI后合并缺氧、代谢性酸中毒、细菌感染、休克等造成胃肠道缺血再灌注、炎症介质、黏膜功能障碍等诱发的并发症, 其不单会诱发消化吸收障碍, 营养不良, 还会加重已存在的炎症免疫紊乱, 是TBI患者病情加重或恶化的重要标志之一[11,12]. 现阶段有关TBI后AGI的发生仍然了解不多, 更是缺乏反映TBI合并AGI严重程度的敏感性指标[13], 故此, 应寻找早期合适的TBI合并AGI监测指标, 以反映其疾病严重程度及预后.

本研究结果显示, 轻度TBI患者入院血清HSP70水平较健康正常者明显偏高, 分析原因可能是轻度TBI患者在临床表现上虽未表现出明显的胃肠道症状, 但由于应激状态、炎症反应、血流重新分布等多种因素互相作用, 胃肠黏膜层已经开始出现缺血缺氧状态, 这就导致胃肠黏膜受到应激原刺激而迅速诱导HSP70的合成, 表现为循环内HSP70水平升高, 在损伤早期即具有提示作用[14]. 而中、重度TBI患者多处于休克及大量毒素存在的情况, 而内毒素、细菌移位进入血液循环导致炎症反应加剧甚至失控, 再加之胃肠黏膜长期处于缺血缺氧状态, 发生再灌注损伤, 继而导致已受损的胃肠黏膜进一步遭到破坏, 肠黏膜绒毛组织内的HSP70大量表达并持续释放入血, 并启动后续的免疫反应, 进一步加重病情[15]. 故此, 随着TBI病情的加重, 血清HSP70水平也呈不断升高趋势. 另外, 本研究也发现, 随着AGI分级的提高, 血清HSP70水平也逐渐升高, 且各分级HSP70水平均显著高于对照组患者, 提示当HSP70水平升高时, 缺血损害已侵及肠黏膜肌层. 本研究也进一步对入院第3天时各组血清HSP70水平进行检测, 发现各组入院第3天时的血清HSP70水平较入院当天均有所下降, 这也提示了HSP70水平与TBI患者疾病进程和胃肠功能障碍程度有关, 经过住院治疗, 其胃肠功能损伤较前均有所好转.

HSP70是热休克蛋白家族中的一员, 普遍存在于内质网、细胞质及细胞核中, 能感知细胞内炎症和凋亡信号变化, 并对此做出反应, 进一步起到维持细胞内环境的稳态及稳定细胞膜结构的作用[16-18]. 余文雯等[17]研究显示HSP70可能通过抑制细胞凋亡和炎症反应, 对机体各器官发挥保护作用. 曾志刚等人[19]同样也表明, HSP70在高温、化学刺激等应激情况下可大量表达, 且能够促进多种因素导致的胃肠道黏膜细胞损伤的恢复. 杨海娜等人[20]就通过对130例重症肺炎患者进行研究发现, 血清HSP70与可用来诊断及评估重症肺炎合并胃肠功能障碍的预后情况. 但是, 血清HSP70在判断TBI合并AGI的严重程度中的效果仍不明确. 进一步, 我们分析了HSP70与TBI合并AGI的相关性, 结果发现, TBI合并AGI患者血清HSP70水平与脑损伤程度、AGI分级均呈显著正相关(r_s = 0.802、0.836, P<0.01), 同时本研究拟合血清HSP70诊断TBI合并AGI的ROC曲线发现, 血清HSP70诊断TBI患者并发AGI的AUC为0.803, 95%CI为0.720-0.872. 当最佳截断值为258.50 ng/L时, 敏感度为80.94%, 特异度为87.93%. 这一结果提示血清HSP70可作为肠道损伤的实时监测指标, 观察其变化趋势, 可能助于TBI合并AGI患者预后的判断.

4 结论

综上所述, HSP70在TBI合并AGI患者血清中的表达显著上调, 可能与疾病发展进程有关, 对TBI合并AGI有较高的诊断价值, 为临床TBI合并AGI的防治提供了新的研究方向和思路. 然而, 本研究仍存在一些不足之处, 如单

表 1　不同程度脑外伤的TBI合并AGI和对照组血清HSP70水平比较(mean ± SD)

项目	例数	HSP70 (ng/L)		*t*	*P*值
		入院当天	入院第3天		
轻型	63	184.58 ± 21.31	135.40 ± 14.19	15.247	0.000
中型	32	236.79 ± 25.66	192.58 ± 20.36	7.635	0.000
重型	38	302.53 ± 31.87	243.63 ± 25.05	8.957	0.000
对照组	50	117.68 ± 20.50	–		
*F*值		8.456	8.152		
*P*值		0.000	0.000		

TBI: 创伤性颅脑外伤; AGI: 急性胃肠损伤; HSP70: 热休克蛋白70.

表 2　不同AGI分级TBI合并AGI和对照组血清HSP70水平比较(mean ± SD)

项目	例数	HSP70 (ng/L)		*t*	*P*值
		入院当天	入院第3天		
AGI Ⅰ级	68	170.70 ± 17.22	129.50 ± 14.27	15.191	0.000
AGI Ⅱ级	37	245.20 ± 25.84	201.28 ± 21.98	7.875	0.000
AGI Ⅲ级	17	283.51 ± 29.48	249.14 ± 29.26	3.412	0.002
AGI Ⅳ级	11	317.34 ± 32.30	260.79 ± 33.29	4.044	0.001
对照组	50	117.68 ± 20.50	–		
*F*值		8.456	8.152		
*P*值		0.000	0.000		

TBI: 创伤性颅脑外伤; AGI: 急性胃肠损伤; HSP70: 热休克蛋白70.

中心回顾研究、样本量有限、未继续长期随访以及继续进行调节机制的研究等, 因此尚需后续进一步更大样本量、设计严谨的多中心研究推广该结论, 以期为TBI合并AGI患者的临床治疗提供一定的参考依据.

文章亮点

实验背景

创伤性颅脑外伤(traumatic head injury, TBI)在目前对世界范围的各个国家来说都是一个重要的公共问题, 而此类患者普遍危重病评分值低、严重感染、休克等均增加了急性胃肠功能损伤(acute gastrointestinal impairment, AGI)发生的风险. 近年来, 人们对胃肠黏膜屏障, 免疫功能等也有了进一步深入的了解, 胃肠功能的损害在脑外伤所致的全身炎症反应综合征、脓毒症或器官功能衰竭的连续发生发展中占据的重要地位也逐渐被重视.

实验动机

现阶段评价胃肠功能障碍的标准多受评价医生的主观因素的影响, 且有关TBI患者肠胃功能评价标准更是缺乏, 因此, 应寻找更客观的生物学指标提供依据.

实验目标

探讨血清中热休克蛋白70(HSP70)对TBI的病情严重程度和胃肠功能损伤程度的反映情况, 并且探讨其对TBI患者合并AGI的诊断价值.

实验方法

选取符合入选标准的133例TBI合并AGI患者, 按照改良Glasgow昏迷评分法并结合创伤性颅脑损伤临床分型标准, 将研究对象分为轻型63例, 中型32例, 重型38例; 按照AGI分级标准, 将研究对象分为AGI Ⅰ级68例, AGI Ⅱ级37例, AGI Ⅲ级17例, AGI Ⅳ级11例. 另选取50例健康体检作为对照组. 比较不同脑外伤程度及不同AGI分级患者与对照组血清中HSP70水平, 并分析TBI合并AGI患者血清HSP70水平与脑损伤程度、AGI分级的相关性, 同时分析其单独诊断TBI合并AGI的诊断效能.

实验结果

血清HSP70在TBI合并AGI患者血清中的表达显著上调, 可能与疾病发展进程有关, 对TBI合并AGI有较高的诊断价值.

实验结论

血清HSP70可作为肠道损伤的实时监测指标, 观察其变化趋势, 可能助于TBI合并AGI诊断及预后的判断.

展望前景

我们下一步的工作方向可能分为几个方面: (1)下一步准备扩大样本容量, 继续进行调节机制的研究; (2)深入研究具体细胞信号通路及药物防治; (3)仅提供指示性方向, 而且血清HSP70预测TBI合并AGI患者预后的临床价值也需要进一步研究探讨.

5 参考文献

1 任艳晶, 郝占寅, 陈艳红. 126例车祸伤存活患者创伤后成长状况及相关因素调查分析. 解放军预防医学杂志 2017; 35: 1279-1281
2 Inoue H, Hasegawa S, Kajimoto M, Matsushige T, Ichiyama T. Traumatic head injury mimicking acute encephalopathy with biphasic seizures and late reduced diffusion. *Pediatr Int* 2014; 56: e58-e61 [PMID: 25336011 DOI: 10.1111/ped.12411.]
3 黎宁君, 隋明亮, 吴长江, 胡贤著, 朱团结. 严重创伤患者早期肠黏膜屏障功能检测的临床意义. 吉林医学 2017; 38: 1437-1440
4 张秉欣, 吴建浓, 冯丹丹, 蒋昭清. 重症患者肠屏障功能检测指标的研究进展. 浙江医学 2017; 39: 1127-1130 [DOI: 10.12056/j.issn.1006-2785.2017.39.13.2017-1143]
5 郭秋霞. 老年心力衰竭合并细菌性肺炎患者血清氨基末端脑钠肽原, 热休克蛋白, 降钙素原水平的变化及意义. 中国老年学杂志 2017; 15: 85-87 [DOI: 10.3969/j.issn.1005-9202.2017.15.033]
6 Roberts JL, Tavallai M, Nourbakhsh A, Fidanza A, Cruz-Luna T, Smith E, Siembida P, Plamondon P, Cycon KA, Doern CD, Booth L, Dent P. GRP78/Dna K Is a Target for Nexavar/Stivarga/Votrient in the Treatment of Human Malignancies, Viral Infections and Bacterial Diseases. *J Cell Physiol* 2015; 230: 2552-2578 [PMID: 25858032 DOI: 10.1002/jcp.25014]
7 杨波, 杜利君, 魏剑林, 郭运芬, 赵佳. 幽门螺杆菌细胞毒素相关蛋白A、热休克蛋白60和细胞空泡毒素与慢性胃炎患者胃粘膜病理变化的关系. 解放军预防医学杂志 2018; 36: 832-835
8 景红. 重症TBI患者的临床数据及生理学特征的临床应用价值. 基因组学与应用生物学 2019; 38: 462-470
9 马晓春. 欧洲危重病学会(2012)急性胃肠损伤共识解读. 临床外科杂志 2013; 21: 159-161 [DOI:10.3969/j.issn.1005-6483.2013.03.003]
10 娜日罕, 周红, 董莉. 热休克蛋白70检测在急性心肌梗死诊断及治疗中的意义. 中华老年心脑血管病杂志 2019; 21: 1054-1057 [DOI: 10.3969/j.issn.1009-0126.2019.10.012]
11 葛唱, 王怀立, 范晓蕾, 陈晓昕, 李海英. 肠脂肪酸结合蛋白在脑外伤合并胃肠功能损伤患儿血清中的变化及意义. 中国小儿急救医学 2019; 13: 113-117 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4912.2019.02.008]
12 邵雪非, 程世翔, 涂悦, 张赛. Ghrelin对大鼠创伤性脑损伤后胃肠功能的影响. 中华创伤杂志 2018; 34: 370-376 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-8050.2018.04.014]
13 包龙, 徐峰, 凌伟华, 丁礼. 创伤性颅脑损伤患者:急性胃肠损伤与营养支持-基于欧洲危重病医学会关于急性胃肠损伤定义及处理指南的思考. 中国急救医学 2013; 33: 793-796 [DOI: 10.3969/j.issn.1002-1949.2013.9.007]
14 Fei G, Guo C, Sun HS, Feng ZP. Chronic hypoxia stress-induced differential modulation of heat-shock protein 70 and presynaptic proteins. *J Neurochem* 2007; 100: 50-61 [PMID: 17227434 DOI: 10.1111/j.1471-4159.2006.04194.x]
15 杜会博, 张立民, 靳国印. 内毒素休克引起多器官损伤发病机制研究进展[J].河北北方学院学报(自然科学版) 2019; 35: 46-51 [DOI: 10.3969/j.issn.1673-1492.2019.06.019]
16 Tsai YC, Lam KK, Peng YJ, Lee YM, Yang CY, Tsai YJ, Yen MH, Cheng PY. Heat shock protein 70 and AMP-activated protein kinase contribute to 17-DMAG-dependent protection against heat stroke. *J Cell Mol Med* 2016; 20: 1889-1897 [PMID: 27241357 DOI: 10.1111/jcmm.12881]
17 Zaiter SS, Huo Y, Tiew FY, Gestwicki JE, McAlpine SR. Designing de Novo Small Molecules That Control Heat Shock Protein 70 (Hsp70) and Heat Shock Organizing Protein (HOP) within the Chaperone Protein-Folding Machinery. *J Med Chem* 2019; 62: 742-761 [PMID: 30507174 DOI: 10.1021/acs.jmedchem.8b01436]
18 余文雯, 鲍秀琦, 孙华, 张丹 . 热休克蛋白70对神经炎症的调节作用. 药学学报 2015; 50: 945-950 [DOI: 10.16438/j.0513-4870.2015.08.016]
19 曾志刚, 张红艳. 热休克蛋白70对严重烧伤等应激状态下胃肠黏膜的保护机制. 广东医学 2013; 34: 1626-1628 [DOI: 10.13820/j.cnki.gdyx.2013.10.041]
20 杨海娜, 秦超, 叶艳. 热休克蛋白70和肠型脂肪酸结合蛋白在重症肺炎合并胃肠功能障碍患者血清中的表达及其意义. 武汉大学学报(医学版) 2020; 41: 151-155 [DOI: 10.14188/j.1671-8852.2018.1092]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: https://www.baishideng.com

世界华人消化杂志 2021年4月8日; 29(7): 378-382

DOI: 10.11569/wcjd.v29.i7.378

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

病例报告 CASE REPORT

类鼻疽伯克霍尔德菌肝脾脓肿超声造影表现1例

高 玲, 时莹瑜, 卢 强

高玲, 时莹瑜, 卢强, 四川大学华西医院超声医学科 四川省成都市 610041

高玲, 硕士在读, 研究方向为超声诊断方向.

作者贡献分布: 此课题由高玲、卢强设计; 数据收集及研究过程由高玲、时莹瑜、卢强操作完成; 数据分析由高玲、卢强完成; 本论文写作由高玲完成.

通讯作者: 卢强, 教授, 610041, 四川省成都市国学巷37号, 四川大学华西医院超声医学科. luqiang@scu.edu.cn

收稿日期: 2021-01-18
修回日期: 2021-02-06
接受日期: 2021-03-15
在线出版日期: 2021-04-08

Contrast-enhanced ultrasound findings of liver and spleen abscesses due to infection with *Burkholderia pseudomallei*: A case report

Ling Gao, Ying-Yu Shi, Qiang Lu

Ling Gao, Ying-Yu Shi, Qiang Lu, Department of Medical Ultrasound, West China Hospital of Sichuan University, Chengdu, 610041, Sichuan Province, China

Corresponding author: Qiang Lu, Professor, West China Hospital of Sichuan University, No. 37 Guoxue Lane, Chengdu 610041, Sichuan Province, China. luqiang@scu.edu.cn

Received: 2021-01-18
Revised: 2021-02-06
Accepted: 2021-03-15
Published online: 2021-04-08

Abstract

BACKGROUND

Burkholderia pseudomallei is the pathogen of melioidosis. It is generally resistant to commonly used antibiotics. *Burkholderia pseudomallei* infection is usually severe, with a high mortality rate. Moreover, the clinical manifestations are diverse, leading to a difficult diagnosis. Most of the cases are accompanied by multiple purulent lesions, and ultrasonography can play an important role in the detection and evaluation of abscesses.

CASE SUMMARY

The patient was from Hainan Province, an epidemic area of *Burkholderia pseudomallei* infection. He had a history of diabetes and had suffered from a fever for half a month. Routine ultrasonography revealed multiple mixed lesions in the liver and spleen. The mass has multiple septations with characteristic radial arrangement. On contrast-enhanced ultrasound, thick ring hyperenhancement was demonstrated in the arterial phase. Enhancement of the septations can also be observed with irregular flaky non-enhanced area inside. The patient was diagnosed as having *Burkholderia pseudomallei* infection by blood culture. After anti-infective treatment based on drug sensitivity, the lesions were significantly reduced.

CONCLUSION

We have reported a case of liver and spleen abscesses due to infection with *Burkholderia pseudomallei*, which was confirmed by blood culture. Routine ultrasonography revealed multiple mixed lesions in the liver and spleen. On contrast-enhanced ultrasound, thick ring hyperenhancement was demonstrated in the arterial phase, while slightly low enhancement in the portal phase and parenchymal phase and the characteristics of radial arrangement were consistent with the reported typical CT findings. Contrast-enhanced ultrasound could help ascertain necrotic area of the abscesses. The recognition of the purulent nature by conventional and contrast-enhanced ultrasound, and the feature of radial septations could assist in ultrasound diagnosis of melioidosis abscess in non-endemic areas.

© **The Author(s) 2021.** Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: *Burkholderia pseudomallei*; Melioidosis; Ultrasound; Contrast-enhanced ultrasound

Citation: Gao L, Shi YY, Lu Q. Contrast-enhanced ultrasound findings in liver and spleen abscesses due to infection with *Burkholderis pseudomallei*: A case report. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2021; 29(7): 378-382
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i7/378.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i7.378

摘要

背景

类鼻疽伯克尔德菌(*Burkholderia pseudomallei*)是类鼻疽病(Melioidosis)的病原菌, 对常用抗生素普遍耐药, 感染后病情较重, 病死率较高, 临床表现多样化, 诊断困难, 多数伴有多处化脓性病灶, 超声造影检查在脓肿的评估中可起重要作用.

病例简介

本例患者来自海南省, 为该病菌流行地区, 患有糖尿病, 因发热半月就诊, 常规超声检查发现肝脾内多发分隔囊性占位, 团块内分隔较多, 呈放射状排列; 造影后动脉期周边呈厚环状高增强, 分隔可见强化, 门脉及实质期呈稍低增强, 内可见片状无增强区, 通过血培养诊断为类鼻疽伯克尔德菌感染. 根据药敏抗感染治疗后病灶明显缩小.

结论

本文报道了一例经血培养证实为类鼻疽伯克霍尔德菌感染引起肝脾脓肿的病例, 其超声造影表现具有一定的特征性, 表现为肝、脾多发分隔囊性占位, 动脉期周边厚环状高增强, 内部分隔呈高增强, 门脉期、实质期呈稍低增强, 且其内部分隔呈放射状排列, 这一特征符合该病的CT表现“项链征”. 此外, 超声造影可明确脓肿内坏死范围. 超声造影检查可作为类鼻疽病肝、脾脓肿的筛查手段, 有助于辅助非流行地区的超声诊断.

© **The Author(s) 2021.** Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 类鼻疽伯克尔德菌; 类鼻疽病; 超声; 超声造影

核心提要: 类鼻疽病常见于热带地区, 临床表现多样化, 非流行地区诊断极具挑战性. 超声造影声像图显示肝、脾多发分隔囊性占位, 周边厚环状高增强, 内部分隔增强且呈放射状排列, 结合疫区生活史及危险因素等有助于临床诊断.

文献来源: 高玲, 时莹瑜, 卢强. 类鼻疽伯克霍尔德菌肝脾脓肿超声造影表现1例. 世界华人消化杂志 2021; 29(7): 378-382
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i7/378.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i7.378

0 引言

类鼻疽病是人类与动物共患疾病, 主要见于热带地区, 临床表现多样化, 多伴有多处化脓性病灶, 缺乏特异性, 与其他常见疾病如肺炎和登革热相似, 非流行地区的类鼻疽病的诊断极具挑战性. 影像学检查有助于该病的诊断, 其中CT报道较多, 超声造影检查报道较少. 现将我院1例类鼻疽伯克霍尔德菌引起的肝脾脓肿超声表现报道如下.

1 病例简介

患者男性, 49岁, 建筑业工人, 长期居住于海南省万宁市, 入院前半月无明显诱因出现发热(最高体温39.8 ℃, 间歇热)、乏力、头晕、纳差, 就诊于海南省某医院, 给与抗生素治疗4 d(头孢类, 具体不详), 自觉症状缓解, 但体温控制不佳, 遂于2020-11-14就诊于我院急诊科. 否认肝炎、结核或其他传染病史, 否认糖尿病史. 入院时体温39.2 ℃, 脉搏102次/分, 呼吸20次/分, 血压109/65 mmHg, 心率101次/分. 血常规: 白细胞计数(WBC) 7.70×10^9/L, 中性分叶核粒细胞百分率(NEUT%) 87.7%, 淋巴细胞绝对值0.27×10^9/L, 单核细胞绝对值0.66×10^9/L. 生化检查: 碱性磷酸酶172 IU/L, 谷氨酰转肽酶166 IU/L , 白蛋白31.3 g/L, 降钙素原 0.78 ng/mL, C-反应蛋白(CRP) 241.00 mg/L, 血沉82.0 mm/h, 葡萄糖16.40 mmol/L, 糖化血红蛋白A1c 10.3%, 后连续几日空腹血糖均大于8.6 mmol/L. 甲胎蛋白、异常凝血酶原正常范围. 疟原虫、肝包虫、血吸虫抗体阴性, 真菌检查阴性, 结核感染T细胞斑点试验阴性. 急诊增强CT发现肝内多发稍低密度结节及肿块影, 较大者位于右肝, 大小约7.0 cm×6.7 cm, 其内密度欠均匀, 可见多发分隔, 囊壁及分隔可见强化, 周围见水肿带包绕. 脾脏上极见直径约0.9 cm稍低密度结节. 左肺尖见大小约1.4 cm×1.0 cm实性结节, 边界清楚, 怀疑炎性结节或肿瘤性病变等. 2020-11-17的超声造影检查(图1)发现肝内多个分隔囊性团块, 较大位于右肝, 大小约9.9 cm × 7.5 cm, 边界较清楚, 形态欠规则, 分隔较多, 呈放射状排列, 囊性部分主要位于外周, 透声差, 彩色多普勒示分隔上可见分支状血流信号. 经外周静脉注入超声造影剂声诺维后, 动脉期团块周边呈厚环状高增强, 内部分隔呈高增强, 门脉期及实质期呈稍低增强, 囊性成分未见增强, 考虑肝脓肿伴部分坏死. 脾脏内散在分

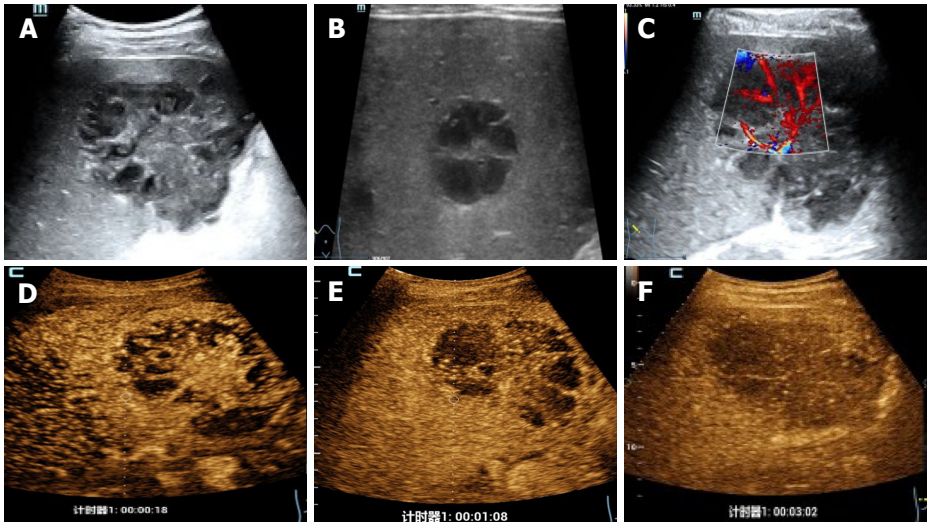


图 1　肝脏超声图像. A: 常规超声显示右肝分隔囊性占位, 分隔较多, 呈放射状排列(项链征); B: 高频超声结果; C: 分隔上可见树枝状血流信号; D: 超声造影动脉期呈周边厚环状高增强, 内部分隔呈高增强, 囊性部分未见增强; E: 门脉期分隔呈低增强; F: 实质期图像.

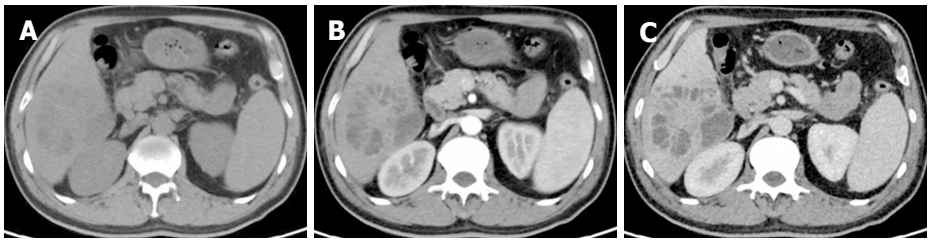


图 2　腹部CT图像. A: CT平扫右肝病灶呈“蜂窝状”, 内较多分隔, 排列呈放射状(钻石征); 增强扫描动脉期及门脉期(B、C)囊壁及分隔可见强化.

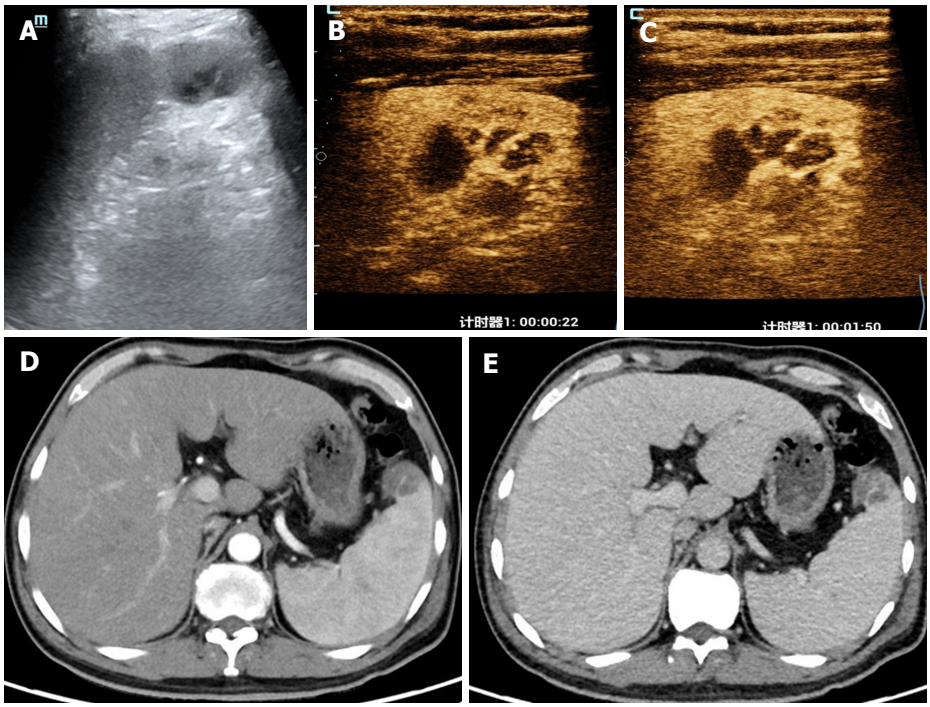


图 3　脾脏图像. A: 常规超声显示脾脏上极分隔囊性占位; 超声造影动脉期及静脉期(B、C)分隔可见增强, 囊性成分未见增强; 增强CT动脉期及静脉期(D、E)囊壁及分隔可见强化.

布类似回声结节, 较大者位于上极, 直径约1.0 cm, 动脉期及静脉期增强方式与肝脏病变类似. 根据患者的临床表现, 实验室和影像检查, 考虑感染性病变, 转入感染科继续治疗, 早期给予头孢曲松抗感染治疗, 患者体温下降, 但发热反复发作. (图2, 3).

2 最终诊断

2020-11-23经血培养确定为类鼻疽伯克霍尔德菌感染, 考虑肺、肝、脾占位为感染所致多处脓肿, 2020-12-02行超声引导下肝占位穿刺活检, 术后病理报告为炎性病变.

3 治疗

药敏试验对头孢他啶、左旋氧氟沙星、美洛培南、复方新诺明敏感, 2020-11-23开始使用美罗培南1000 mg q8h+左氧氟沙星0.5 g qd静脉滴注14 d, 2020-11-28患者体温开始降为正常, 血常规检查阴性, 症状明显缓解. 2020-12-8改为口服头孢他啶+左氧氟沙星抗感染, 于2020-12-12出院, 继续口服药物治疗.

4 结果和随访 治疗效果和术后随访

2020-12-30, 来院复查, 常规超声示右肝查见两个囊实混合回声团, 较大者位于右肝下份, 较入院时明显缩小, 大小约4.6 cm×3.3 cm, 内见斑片状强回声, 未见血流信号. 脾脏内病灶消失.

5 讨论

类鼻疽伯克尔德菌(*Burkholderia pseudomallei*)是革兰氏阴性杆菌, 是类鼻疽病(Melioidosis)的病原菌, 被世界卫生组织列为B类生物恐怖制剂, 该细菌存在于土壤和水中, 广泛分布于东南亚和北澳大利亚, 我国感染病例主要来自海南、广东、广西等地[1-3]. 在类鼻疽病流行地区, 年发病率高达每10万人 50例[1]. 主要是通过接触含有致病菌的水和土壤, 经破损皮肤而感染. 类鼻疽伯克尔德菌感染后潜伏期1-21 d, 危险因素包括糖尿病、过度饮酒、慢性肾脏疾病、恶性肿瘤等, 多数起病急, 急性败血症是其最严重的类型, 病情凶险, 病死率高达10%-40%[4-7]. 该病的诊断金标准是从临床标本中培养出类鼻疽伯克尔德菌[8], 但培养时间较长, 可能延误治疗, 因此其影像诊断也十分重要. 类鼻疽病最常见的临床表现是肺炎(36%), 其次是软组织脓肿(33%), 脓肿常见部位依次为皮下、肝脏、脾脏和肺部, 也有前列腺和腮腺脓肿的个案报道. 该病多为单器官受累, 部分表现为多器官受累; 多器官受累的病例中, 多发脓肿比单发脓肿更常见, 通常呈离散分布[9,10]. 类鼻疽病所致的肝、脾脓肿具有一些特征性影像学表现, 包括脓肿离散分布, 大小不等, 脓肿内部呈多间隔, 分隔呈放射状排列, Apisarnthanarak等人[11]将CT的这一特征命名为“项链征”, 并指出这一特征是预测类鼻疽肝脓肿的最强预测因子, 而其它非类鼻疽病所致的肝脾脓肿多表现为“蜂窝状”[10,12]. 超声同样可以观察到这些影像学特征.

6 结论

类鼻疽伯克尔德菌引起的类鼻疽病, 病死率较高, 临床表现多样化, 诊断困难. 本例患者常年居住于海南, 并患有糖尿病, 超声检查及CT均发现肝、脾多发、散在、大小不等的脓肿, 多分隔, 呈放射状排列, 最后通过血培养出类鼻疽伯克霍尔德菌而确诊. 值得注意的是, 本例患者超声造影表现为动脉期周边呈厚环状高增强, 内部分隔呈高增强, 门脉、实质期呈稍低增强, 有助于脓肿的诊断, 加上脓肿分隔的放射状排列, 肝脾多发, 患者来自疫区, 患有糖尿病, 具有较强的临床辅助诊断价值, 同时可明确脓肿内坏死范围, 有助于进一步治疗方案的制订. 超声造影检查方便、快捷, 可作为类鼻疽病肝、脾脓肿的筛查手段, 有助于辅助非流行地区的超声诊断.

7 参考文献

1 Wiersinga WJ, Currie BJ, Peacock SJ. Melioidosis. *N Engl J Med* 2012; 367: 1035-1044. [PMID: 22970946 DOI: 10.1056/NEJMra1204699]
2 Limmathurotsakul D, Golding N, Dance DA, Messina JP, Pigott DM, Moyes CL, Rolim DB, Bertherat E, Day NP, Peacock SJ, Hay SI. Predicted global distribution of Burkholderia pseudomallei and burden of melioidosis. *Nat Microbiol* 2016; 1: 15008 [PMID: 27571754 DOI: 10.1038/nmicrobiol.2015.8]
3 蒋忠军, 宋阳, 陆振多. 我国类鼻疽研究的历史与现状. 热带医学杂志 2002; 2: 176-180.
4 匡慧慧, 沈定霞, 郑维, 张有江. 类鼻疽伯克霍尔德菌引起败血症伴肝脓肿一例并文献复习. 中华检验医学杂志 2013; 36: 931-932
5 Currie BJ, Ward L, Cheng AC. The epidemiology and clinical spectrum of melioidosis: 540 cases from the 20 year Darwin prospective study. *PLoS Negl Trop Dis* 2010; 4: e900. [PMID: 21152057 DOI: 10.1371/journal.pntd.0000900]
6 Wiersinga WJ, Virk HS, Torres AG, Currie BJ, Peacock SJ, Dance DAB, Limmathurotsakul D. Melioidosis. *Nat Rev Dis Primers* 2018; 4: 17107 [PMID: 29388572 DOI: 10.1038/nrdp.2017.107]
7 Domthong P, Chaisuksant S, Sawanyawisuth K. What clinical factors are associated with mortality in septicemic melioidosis? A report from an endemic area. *J Infect Dev Ctries* 2016; 10: 404-409. [PMID: 27131004 DOI: 10.3855/jidc.6455]
8 Fairley L, Smith S, Maisrikrod S, Henning L. Systematic review and meta-analysis of diagnostic tests for diagnosis of melioidosis. *Acta Trop* 2021; 214: 105784. [PMID: 33296681 DOI: 10.1016/j.actatropica.2020.105784]
9 Kingsley PV, Leader M, Nagodawithana NS, Tipre M, Sathiakumar N. Melioidosis in Malaysia: A Review of Case Reports. *PLoS Negl Trop Dis* 2016; 10: e0005182. [PMID: 28005910 DOI: 10.1371/journal.pntd.0005182]
10 Ong SCL, Alemam MMM, Zakaria NA, Abdul Halim NA. Honeycomb and necklace signs in liver abscesses secondary to melioidosis. *BMJ Case Rep* 2017; 2017. [PMID: 29054959 DOI: 10.1136/bcr-2017-222342]

11 Apisarnthanarak P, Thairatananon A, Muangsomboon K, Lu DS, Mundy LM, Apisarnthanarak A. Computed tomography characteristics of hepatic and splenic abscesses associated with melioidosis: a 7-year study. *J Med Imaging Radiat Oncol* 2011; 55: 176-182. [PMID: 21501407 DOI: 10.1111/j.1754-9485.2011.02248.x]

12 Popescu A, Sporea I, Şirli R, Dănilă M, Mare R, Grădinaru Taşcău O, Moga T. Does Contrast Enhanced Ultrasound improve the management of liver abscesses? A single centre experience. *Med Ultrason* 2015; 17: 451-455. [PMID: 26649338 DOI: 10.11152/mu.2013.2066.174.deu]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 © 2021 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: $^{a}P<0.05$, $^{b}P<0.01$($P>0.05$不注). 如同一表中另有一套P值, 则$^{c}P<0.05$, $^{d}P<0.01$; 第3套为$^{e}P<0.05$, $^{f}P<0.01$. 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/min, c/(mol/L), p/kPa, V/mL, t/℃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 cm×4.5 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.

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: https://www.baishideng.com

世界华人消化杂志 2021年4月8日; 29(7): I-V

www.wjgnet.com

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

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学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学事业的发展, 提高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:

7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA

E-mail: wcjd@wjgnet.com

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

https://www.wjgnet.com

Telephone: +1-925-3991568

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

E-mail: 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》编辑部主任王金磊, 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

E-mail: j.l.wang@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, *T*1/2不能写成tl/2或T, *V*max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, 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, ℃), *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), *j* (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*max, *C*max, *V*d, *T*1/2 *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 kD改为*M*r 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*r (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+、一及-后列出, 在±前后均要列出, 如37.6 ℃±1.2 ℃, 45.6岁±24岁, 56.4 d±0.5 d. 3.56±0.27 pg/ml应为3.56 ng/L±0.27 ng/L. BP用kPa (mmHg), RBC数用1×10^{12}/L, WBC数用1×10^{9}/L, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L. *M*r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_2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、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸用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1×10^{-3} g与5×10^{-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_2应为50 mL/L CO_2; 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 = 45×10^{-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χ^2; (4)样本的相关系数用英文小写*r*; (5)自由度用希文小写υ; (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$^aP<0.05$或$^bP<0.01$($P>0.05$不注). 如同一表中另有一套*P*值, 则用$^cP<0.05$和$^dP<0.01$; 第三套为$^eP<0.05$和$^fP<0.01$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 ofMedical 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志谢中. 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^{a}P<0.05或^{b}P<0.01(*P*>0.05不注). 如同一表中另有一套*P*值, 则用^{c}P<0.05和^{d}P<0.01; 第3套为^{e}P<0.05和^{f}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/min, c/(mol/L), p/kPa, V/mL, t/℃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[2-5]认为……; PCR方法敏感性高[6-7]. 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**
7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton,
CA 94566, USA
Telephone: +1-925-3991568
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
https://www.wjgnet.com

ISSN 1009-3079

© 2021 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

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

2021 年 4 月 28 日　　第 29 卷　　第 8 期　　(Volume 29 Number 8)



8/2021

《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.

ISSN 1009-3079
9 771009 307056 08>

世界华人消化杂志 https://www.wjgnet.com 二零二一年四月二十八日 第二十九卷 第八期

WCJD 世界华人消化杂志®

目　次

2021年4月28日 第29卷 第8期 (总第676期)

述评

383 钾离子竞争性酸阻滞剂在酸相关疾病中的应用

牛春燕, 罗晓春

基础研究

389 miR-484通过靶向SIRT1介导细胞凋亡参与非酒精性脂肪肝性肝病损伤

贾银钊, 枚巧娟, 张勇

398 藤梨根提取物通过调控miR-192-5p/ARPP19轴影响结直肠癌细胞的增殖和凋亡

徐万苏, 柯飞, 许怡, 郑艺

临床研究

407 京都胃炎分类在基层医院胃癌筛查中的应用

刘晓明, 唐翔宇, 徐舒佳

413 善胃系列方分阶段辨治胃癌前病变的临床疗效观察

张月林, 苗嘉萌, 张泽, 袁红霞

文献综述

421 胰腺癌细胞外吉西他滨耐药机制的研究进展

顾宗廷, 李宗泽, 王成锋

临床实践

435 酪酸梭菌活菌片对结直肠癌术后FOLFOX4方案化疗肠道菌群平衡、毒副反应及免疫炎症指标的影响

王沁, 龚黎明, 郑惠

病例报告

443 以肝占位为首发表现的非霍奇金淋巴瘤1例

徐国峰, 刘威, 陈华

消　　息

397　《世界华人消化杂志》参考文献要求
412　《腹痛的诊断、鉴别诊断与治疗》书讯
434　《世界华人消化杂志》栏目设置
448　《世界华人消化杂志》正文要求

封面故事

孙文兵, 主任医师, 教授, 首都医科大学附属北京朝阳医院西院肝胆胰脾外科. 从事肝胆胰脾疾病的医疗、教学、科研工作35年. 发表SCI论文43篇, 国内期刊论文300余篇. 获全军科技进步二等奖和全军医疗成果二等奖各一项, 全军科技进步三等奖一项. 2002年被解放军总后勤部评为科技新星, 2009年被评为首批北京市卫生系统高层次技术人才, 2016年获北京市二级教授和“名医”称号.

本期责任人

编务 王栋梅; 送审编辑 张砚梁; 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 吴云晓健; 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 2021-04-28
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
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
王金磊, 主任
《世界华人消化杂志》编辑部
Baishideng Publishing Group Inc
7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA
Telephone: +1-925-3991568
E-mail: wcjd@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com

出版
百世登出版集团有限公司
Baishideng Publishing Group Inc
7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA
Telephone: +1-925-3991568
E-mail: 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: +86-10-85381892

《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

© 2021 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

WCJD 世界华人消化杂志®

Contents

Volume 29 Number 8 April 28, 2021

EDITORIAL

383 Application of potassium competitive acid blockers in acid-related diseases
Niu CY, Luo XC

BASIC RESEARCH

389 MiR-484 participates in non-alcoholic fatty liver injury by targeting SIRT1 to mediate cell apoptosis
Jia YZ, Mei QJ, Zhang Y

398 Radix Actinidiae extract affects proliferation and apoptosis of colorectal cancer cells by regulating miR-192-5p/ARPP19
Xu WS, Ke F, Xu Y, Zheng Y

CLINICAL RESEARCH

407 Application of Kyoto Classification of Gastritis to gastric cancer screening in a primary hospital
Liu XM, Tang XY, Xu SJ

413 Clinical curative effect of Shanwei series decoction in treating gastric precancerous lesions
Zhang YL, Miao JM, Zhang Z, Yuan HX

REVIEW

421 Advances in research of extracellular mechanisms underlying gemcitabine resistance in pancreatic cancer
Gu ZT, Li ZZ, Wang CF

CLINICAL PRACTICE

435 Effects of live *Clostridium butyricum* tablets on intestinal flora balance, toxic and side effects, and immune inflammatory indexes in colorectal cancer patients on postoperative FOLFOX4 chemotherapy
Wang Q, Gong LM, Zheng H

CASE REPORT

443 Non-Hodgkin's lymphoma with hepatic space occupying lesion as first manifestation: A case report
Xu GF, Liu W, Chen H

Contents

World Chinese Journal of Digestology
Volume 29 Number 8 April 28, 2021

COVER Editorial Board Member of *World Chinese Journal of Digestology*, Wen-Bing Sun, Chief Physician, Professor, Department of Hepatobiliary Surgery, Chaoyang Hospital Affiliated to Capital Medical University West Campus, No.5 Jingyuan Road, Shijingshan District, Beijing 200043, China. cyhswb@qq.com

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

RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE

Assistant Editor: *Dong-Mei Wang*
Review Editor: *Yan-Liang Zhang*
Production Editor: *Yan-Liang Zhang*
English Language Editor: *Tian-Qi Wang*
Proof Editor: *Yun-Xiaojian Wu*
Layout Reviewer: *Lian-Sheng Ma*

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993
Renamed on January 25, 1998
Publication date April 28, 2021

NAME OF JOURNAL
World Chinese Journal of Digestology

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

EDITOR-IN-CHIEF
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
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
Jin-Lei Wang, Director
World Chinese Journal of Digestology
Baishideng Publishing Group Inc
7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA
Telephone: +1-925-3991568
E-mail: wcjd@wjgnet.com
https://www.wjgnet.com

PUBLISHER
Baishideng Publishing Group Inc
7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA
Telephone: +1-925-3991568
E-mail: 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

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

COPYRIGHT
© 2021 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.

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: https://www.baishideng.com

世界华人消化杂志 2021年4月28日; 29(8): 383-388

DOI: 10.11569/wcjd.v29.i8.383

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

述评 EDITORIAL

钾离子竞争性酸阻滞剂在酸相关疾病中的应用

牛春燕, 罗晓春

牛春燕, 南京市溧水区人民医院(东南大学附属中大医院溧水分院)消化内科 江苏省南京市 211200

罗晓春, 厦门大学附属翔安医院内镜中心 福建省厦门市 361101

牛春燕, 教授, 主任医师, 研究方向为肝病、酸相关疾病、功能性胃肠病.

作者贡献分布: 罗晓春负责收集、整理文献; 牛春燕完成手稿撰写并负责审校.

通讯作者: 牛春燕, 教授, 主任医师, 211200, 江苏省南京市溧水区崇文路86号, 南京市溧水区人民医院(东南大学附属中大医院溧水分院)消化内科. nchy69@163.com

收稿日期: 2021–01–21
修回日期: 2021–02–23
接受日期: 2021–03–15
在线出版日期: 2021–04–28

Application of potassium competitive acid blockers in acid-related diseases

Chun-Yan Niu, Xiao-Chun Luo

Chun-Yan Niu, Department of Gastroenterology, Nanjing Lishui People's Hospital (Zhongda Hospital Lishui Branch, Southeast University), Nanjing 211200, Jiangsu Province, China

Xiao-Chun Luo, Endoscopy Center, Xiang'an Hospital, Xiamen University, Xiamen 361101, Fujian Province, China

Corresponding author: Professor, Chief Physician, Chun-Yan Niu, Department of Gastroenterology, Nanjing Lishui People's Hospital (Zhongda Hospital Lishui Branch, Southeast University), No. 86 Chongwen Road, Lishui District, Nanjing 211200, Jiangsu Province, China. nchy69@163.com

Received: 2021-01-21
Revised: 2021-02-23
Accepted: 2021-03-15
Published online: 2021-04-28

Abstract

Acid-related diseases (ARDs) are common chronic diseases of the digestive system. Proton pump inhibitors (PPIs) have become the first-line drugs for the treatment of acid-related diseases. However, PPIs display some limitations in clinical application, such as short half-life, slow action, insufficient acid inhibition, pharmacological effects affected by *CYP2C19* gene polymorphism, and nocturnal acid breakthrough, which lead to insufficient symptom remission of ARDs, as well as refractoriness, relapse, and even direct decline in health-related quality of life and increased economic burden. Potassium competitive acid blockers (P-CABs) are a class of novel anti-secretory drugs, which can overcome the limitations of traditional PPIs and show satisfactory acid inhibition effect and safety in clinical application. They may become a new strategy to solve the unsatisfied medical needs in the treatment of ARDs, but their potential adverse reactions remain to be monitored. In this article, we review the challenges in the treatment of acid-related diseases, and the advantages and prospects of P-CABs in the prevention and treatment of ARDs.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Acid-related disorders; Proton pump inhibitors; Novel anti-secretory drugs; Potassium-competitive acid blockers

Citation: Niu CY, Luo XC. Application of potassium competitive acid blockers in acid-related diseases. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2021; 29(8): 383-388
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i8/383.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i8.383

摘要

酸相关疾病是一类消化系统中的常见慢性疾病. 质子泵抑制剂现已成为治疗酸相关疾病的一线用药, 然而临床应用中逐渐显现出一些局限性, 如半衰期短、起效较慢、抑酸不充分、药理作用受CYP2C19

基因多态性影响、夜间酸突破等, 导致分酸相关疾病患者的症状不能获得充分缓解, 以及难治、复发、直接的健康相关生活质量下降和经济负担增大. 钾离子竞争性酸阻滞剂是一种新型抗分泌药, 能够克服传统质子泵抑制剂的多种局限性, 在临床应用中显示出更好的抑酸效应和安全性, 可能成为解决酸相关疾病治疗中未满足的医疗需求的新策略, 但也需要继续观察潜在的不良反应. 本文综述了酸相关疾病治疗中面临的挑战, 以及钾离子竞争性酸阻滞剂在酸相关疾病预防和治疗中的优势和前景.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 酸相关疾病; 质子泵抑制剂; 新型抗分泌药物; 钾离子竞争性酸阻滞剂

核心提要: 质子泵抑制剂为治疗酸相关疾病(acid related diseases, ARDs)的传统一线药物, 但在临床应用过程中仍有一部分患者的疗效、生活质量和满意度欠佳, 这与ARDs的个体间异质性、传统抑酸药物的药理学特性、以及患者的依从性等有关. 新型钾离子竞争性酸阻滞剂直接阻断质子泵的K+交换通道, 克服了传统抑酸药物的局限性, 在抑酸强度、作用持续时间、缓解症状速度、疗效维持时间、预防复发和并发症方面具有优越的特征, 为ARDs治疗中临床未满足的需求治疗提供了新的选择.

文献来源: 牛春燕, 罗晓春. 钾离子竞争性酸阻滞剂在酸相关疾病中的应用. 世界华人消化杂志 2021; 29(8): 383-388
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i8/383.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i8.383

0 引言

酸相关疾病(acid-related disorders, ARDs)指与胃酸或胃酸分泌相关的一类疾病, 包括胃食管反流病(gastroesophageal reflux disease, GERD)、消化性溃疡、幽门螺杆菌感染相关疾病、阿司匹林和非甾体类抗炎药(nonsteroidal anti-inflammatory drugs, NSAIDs)相关胃十二指肠不良事件, 以及上消化道出血[1,2]. 近年来随着内镜粘膜下剥离术(endoscopic submucosal dissection, ESD)的开展, ESD术后并发症(如上消化道出血和人工溃疡)趋于增多. 少见的有Zollinger-Ellison综合征.

ARDs无论在发病机制、临床表现或是疗效方面均存在较大异质性, 而且对抑酸程度、抑酸持续时间、疗程以及疗效的判断标准不同. 比如, 胃溃疡和十二指肠溃疡的治愈标准为胃内pH≥4, 糜烂性食管炎(erosive esophagitis, EE)的治愈标准为胃内pH≥3, 上消化道出血的治愈标准为胃内pH≥6[1,2]. 自从H_2受体拮抗剂(histamine-2 receptor antagonists, H_2RAs)和质子泵抑制剂(proton pump inhibitors, PPIs)问世以来, ARDs得到了很好的治疗. 但H_2RAs很快就显示出许多不足, 包括作用时间相对较短、餐后胃酸分泌抑制不完全、抗分泌作用下降, 以及治疗后反跳性胃酸高分泌. PPIs已成为ARDs的一线治疗药物, 然而, 仍有相当数量的患者对抑酸药物的应答不良, 不能达到理想疗效, 严重影响生活质量和疾病预后. PPIs在药理学上存在一些局限性: (1)传统的PPIs为延迟释放剂型[3,4], 需要3-5 d时间才能达到充分药理作用(起效慢), 需要餐前给药, 在酸性条件下很容易失活(酸不稳定性); (2)需要在壁细胞的分泌小管内转化为其活性形式(需要酸激活)[5,6]; (3)血浆半衰期为60-90 min (半衰期短), 而胃质子泵的半衰期为50 h, 每天约有三分之一被新的生物合成所取代, 这样, 在夜间合成的新质子泵不能暴露于PPIs中, 即使每天服用PPIs两次, 仍有低量酸分泌持续存在(夜间酸突破nocturnal acid breakthrough, NAB)[5], 因此, 对夜间酸分泌控制差; (4)生物利用度低; 代谢受CYP2C19基因多态性影响; (5)此外, PPIs还可以通过抑制胃酸分泌或抑制药物代谢相关酶而干扰其他药物的代谢和效应[7]. 这些局限性成为制约PPIs在ARDs中疗效的重要因素, 使ARDs的治疗面临诸多挑战: 现有的抑酸药物起效较慢, 不能快速缓解症状和产生持久疗效; 夜间酸分泌尚缺乏有效控制方案; CYP2C19基因多态性导致患者个体间药代动力学的巨大异质性; 维持症状长期缓解尚未达到理想状态. 进一步导致医疗费用上升、患者满意度和生活质量下降等社会经济负担. 因此, 亟待更多新型治疗方案以供选择.

1 新型抗分泌药钾离子竞争性酸阻滞剂: 酸相关疾病治疗的新选择

新型抗分泌药钾离子竞争性酸阻滞剂(potassium-competitive acid blockers, P-CABs)是一类吡咯衍生物, 直接阻断质子泵的K^+交换通道, 理论上也属于PPIs, 但无需转换为活性形式, 具有一种非常快速、竞争性强、可逆的酸分泌抑制作用, 不需要酸活化, 在酸性条件下稳定, 能迅速提高胃内pH值, 而且从质子泵缓慢解离, 因此不仅迅速起效、缓解症状, 而且由于半衰期较PPIs延长, 可保持持续、稳定的抗分泌作用. 第一代P-CAB(revaprazan,YH1885)在韩国和印度上市后, 发现疗效并不优于奥美拉唑和埃索美拉唑, 后来的P-CABs linaprazan(AZD0865)、soraprazan、CS526、YH4808也因未显示出优越性, 并且引起转氨酶升高, 因此被停止研发[3]. 沃诺拉赞(Vonoprazan)是一种新型P-CABs, 于2015年在日本首先上市. 与传统PPIs和其他P-CABs比较, 抗分泌活性不依赖CYP2C19基因型[8], 具有更迅

速、强大和持久的酸抑制作用, 几乎没有NAB[9], 个体间药代动力学差异微小[10]. 已被用于治疗胃和十二指肠溃疡、反流性食管炎以及预防低剂量阿司匹林或非甾抗炎药相关的胃和十二指肠溃疡复发[11].

2 沃诺拉赞在酸相关疾病中的应用

2.1 沃诺拉赞与胃食管反流病 胃食管反流病(gastroesophageal reflux disease, GERD)属于由多种发病机制引起的动力障碍性疾病, 动力障碍主要包括食管下括约肌功能不全和功能障碍、食管清除异常以及高达40%的胃排空延迟, 所有这些功能障碍都可导致食管粘膜长时间暴露于酸性胃内容物[12], 从而引起黏膜损害. PPIs已成为GERD治疗最常用处方药. 然而, 在一日2次的PPIs剂量下, 仍有20%-40%的PPI-难治性GERD患者表现为持续的烧心和/或反流或者持续的夜间症状, 以及20%-40%的高级别(C/D级) EE和非糜烂性反流病(NERD)失败率、30%的维持治疗复发率[13]; 另外, PPIs对餐后烧心、GERD并发症及食管外症状并非十分有效[14]. 沃诺拉赞的8 wk RE治愈率接近100%, 沃诺拉赞(20 mg 1次/日) 与兰索拉唑(30 mg 1次/日) 在A/B级食管炎疗效无差异, 但在治愈高级别食管炎(C/D级)和预防C/D级食管炎复发、食管炎总体症状缓解、食管炎症状缓解速度以及难治性GERD方面, 均优于传统PPIs, 在CYP2C19快代谢型者中具有持续优势, PPI-耐药食管炎治愈率高达87.5%[15-18]. 一项长期研究显示, 沃诺拉赞可以保持症状长期缓解, 复发率较低, 一个月和一年时维持症状缓解率为89%和81.6%[19]. 一项基于自评式问卷(FSSG)的最新研究显示, 沃诺拉赞对EE、NERD、PPI-耐药GERD的初始治疗和维持治疗均有效, 明显改善患者烧心症状和满意度, 24 wk时各组缓解率分别为38.9%、45%及30%[20], 即在提高生活质量方面具有显著效果. PPI-耐药EE患者应用沃诺拉赞后, 胃pH>4时间百分比显著增加, 从26.5%增加到78.0%, 食管pH<4的时间百分比降低, 此外, 酸清除时间和反流事件的总数, 包括酸和近端反流事件均显著减少, 表明沃诺拉赞是PPI-耐药RE患者的有效选择[16,21]. 沃诺拉赞还可以改善与GERD伴随的上腹部疼痛、餐后疼痛、便秘和腹泻[22].

2.2 沃诺拉赞与幽门螺旋杆菌感染 幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori, H. pylori*)感染与酸相关疾病尤其是消化性溃疡相关, 与胃恶性肿瘤密切相关. 目前*H. pylori*的全球整体根除率正在下降, 主要原因在于抗生素耐药逐渐增多和胃酸抑制不足. 理想根除方案需具备两个条件: 有效根除率>90%, 以及安全性[23]. 提高胃内pH值可使细菌进入生长期, 对抗生素如阿莫西林和克拉霉素的敏感性增加, 因此控制胃内特别是夜间pH、延长的抑酸时间, 对保持联合抗菌的杀菌活性至关重要, 以沃诺拉赞为基础的根除方案在根除率、耐受性和不良反应方面优于传统PPIs[24]. 一项小型研究发现, 沃诺拉赞(20 mg bid)+阿莫西林(500 mg tid)二联治疗作为一线和二线方案, 对*H. pylori*的根除率分别达到95%和90%, 无需使用第二种抗菌药, 如克拉霉素[25], 提示这种优化的双重疗法(剂量、给药次数和持续时间)可以作为一种简单、可靠和有效的一线根除治疗方案, 提高*H. pylori*的总体根除率[26]. 高剂量PPI和阿莫西林双重治疗的基本机制是, *H. pylori*对阿莫西林的耐药率非常低, 在胃pH值较高(>6)时对*H. pylori*的杀菌作用会增强. pH>6时细菌进入复制状态, 对阿莫西林敏感性增加[27]. 沃诺拉赞在根除克拉霉素耐药*H. pylori*菌株时优于传统PPIs[28], 这为克服克拉霉素耐药、提高*H. pylori*根除率提供了有前景的选择. 另外, 沃诺拉赞、阿莫西林和克拉霉素均经CYP3A4代谢, 因此联合给药可能导致清除延迟[6], 从而延长血浆滞留时间、延长药物持效时间. 以沃诺拉赞为基础的三联方案也显示出高达98%的*H. pylori*根除率[29]. 美国和欧洲正在进行基于沃诺拉赞的二联方案和三联方案治疗*H. pylori*感染的3期临床试验[30], 如果有效性和安全性得到证实, 那么将为*H. pylori*根除提供新的方案, 同时在减少抗生素使用和降低抗生素耐药、降低医疗成本、提高*H. pylori*根除率方面做出很大贡献.

2.3 沃诺拉赞与NSAIDs相关性胃十二指肠损伤 NSAIDs是应用最广泛的药物之一, 每天有超过3000万人服用NSAIDs, 30%-50%的NSAIDs使用者表现为内镜下黏膜损伤及消化性溃疡, 上消化道并发症的风险增加3-5倍[31]. 胃酸可能是NSAIDs诱发黏膜损伤的必要条件, 即pH依赖性, 酸性损伤程度取决于NSAIDs局部作用导致的胃酸反弥散程度[32]. 在胃酸分泌增加的患者中, NSAIDs引起的胃黏膜损害加重, 而胃内pH越高, 黏膜损伤的范围、程度以及可能性就越低. NSAIDs和类固醇激素还可导致*H. pylori*感染及增加消化性溃疡出血风险[33]. 很大一部分患者需要持续服用NSAIDs, 随着时间推移, 即使同步联合PPIs治疗, 也会失去保护作用. 胃溃疡和十二指肠溃疡的治疗要求为胃内pH≥4, 沃诺拉赞因延长的酸分泌控制时间, 保持胃内的高pH, 有望提供更好的黏膜保护作用, 在阿司匹林和NSAIDs相关溃疡的复发以及NSAIDs相关溃疡的二级预防中显示出有效性和安全性[34,35], 但尚有待于NSAIDs相关溃疡的一级预防临床数据. *H. pylori*感染和高危患者使用NSAIDs是消化性溃疡的两个主要危险因素, 因此, 能够真正24 h胃酸控制, 从而提供更好黏膜保护和NSAIDs相关溃疡一级预防, 以及提高*H. pylori*根除率是*H. pylori*感染和NSAIDs相关溃疡未满足的临床需求. 沃诺拉赞对于长

期低剂量阿司匹林应用者复发性溃疡预防的疗效和安全性正在临床III期研究评估中[29].

2.4 沃诺拉赞与ESD术后溃疡和上消化道出血 术后溃疡和消化道出血是ESD最常见并发症, ESD后胃溃疡愈合通常需要8 wk, 但也取决于病变大小、位置、*H. pylori*感染和胃萎缩程度. 目前PPIs是预防ESD后出血和治愈溃疡的常用药物, 但对于最有效的治疗方案尚存争议. 沃诺拉赞为ESD后人工溃疡提供了更快速有效的治疗, 在治疗的前2周内, 沃诺拉赞比PPIs更有效地治疗*H. pylori*阳性ESD诱发的胃溃疡患者, 4 wk溃疡愈合率显著高于其他PPIs[7]. 一项回顾和前瞻性研究及一项Meta分析研究表明, 沃诺拉赞可预防和减少ESD后出血(包括迟发性出血), 并促进溃疡愈合, 机制可能与ESD期间高胃pH值有关[36], 当延长疗程至8 wk或联合黏膜保护剂时, 疗效更为显著[37]. 沃诺拉赞还能有效预防使用持续抗血栓治疗(抗血小板药物如低剂量阿司匹林, 西洛他唑等; 抗凝药物如华法林或直接口服抗凝剂)患者的ESD术后出血[38]. 持续的胃内pH>6, 可促进血小板聚集、血栓形成和稳定性, 对上消化道出血有益. 出血性胃十二指肠溃疡时纤溶活性增强, 而胃酸抑制可降低其活性. 多个指南认为大剂量静脉注射PPIs可降低近期出血, 并有可能减少内镜治疗的需要. 然而, 传统的PPIs作为胃保护剂难以达到长时间维持胃液pH≥6, 所提供的抑酸时间、抑酸效应尚未达到最佳, 尤其是对高危患者, 如: 高龄(>65岁, 特别是>70岁), 有消化性溃疡病史, 病情危重, *H. pylori*感染, 同时使用2种或以上NSAIDs, 使用其他类型胃损伤药物[32]. 口服沃诺拉赞的药效学特性可达到与静脉注射PPIs相同或更好的效果, 可能满足上消化道出血管理中未满足的的需求. 一项系统综述和荟萃分析结果表明, PPIs和H_2RAs治疗可显著降低食管静脉曲张套扎术患者的出血率, 但抑酸治疗组和未接受抑酸治疗组之间死亡率、溃疡、胸痛、吞咽困难和吞咽困难的发生率以及住院时间没有显着差异[39], 提示PPIs和H_2RAs在改善这类患者预后方面尚存不足. 目前尚未见P-CABs应用于静脉曲张性上消化道出血的临床研究. 鉴于P-CABs在ARDs中的应用, 可能具有潜在应用前景. P-CABs能否达到快速治愈任何溃疡及其并发的出血, 并防止远期溃疡复发, 提供长时间抑酸, 改善预后(如减少再出血、输血、外科手术的需求, 降低死亡率), 能否在静脉曲张性上消化道出血治疗中提供新的选择, 需要进一步研究和观察.

3 沃诺拉赞的不足和不良反应

3.1 不足 P-CABs耐药的NERD确实存在, 可能与弱酸反流或功能性烧心有关[15,40]. 最近一项系统性分析显示, 以沃诺拉赞为基础的三联方案的优势仅在一线*H. pylori*根除方案中明显, 在二线方案中则不优于传统PPIs[28]. 另一项最新Meta-analysis指出, 沃诺拉赞仅在根除克拉霉素耐药*H. pylori*菌株时优于传统PPI, 但在根除克拉霉素敏感*H. pylori*菌株时与传统PPIs疗效相似[41]. 现有的2项研究比较了沃诺拉赞和PPIs对胃溃疡和十二指肠溃疡的疗效, 结果未显示出统计学差异[42,43], 可能与病例选择的偏倚以及病例数量较少有关, 尚有待于进一步研究.

3.2 不良反应 已报道的沃诺拉赞治疗引起的不良事件包括鼻咽炎、腹泻、便秘、上呼吸道炎症、跌倒、胃肠炎和湿疹[11], 星尘状胃粘膜[44] , 出血性小肠结肠炎[45], 这需要进一步观察并且引起重视. 几乎所有与PPIs相关的不良反应都发生在长期治疗的患者中, 通过定期评估患者对抑酸治疗的需求, 尽可能缩短治疗时间, 可以消除或大大降低不良后果的风险. 任何新的治疗方法都可能导致过度使用和滥用, P-CABs也不例外, 应当重视. 评估沃诺拉赞(10 mg或20 mg)对治愈后EE 5年维持治疗的安全性研究正在日本进行[46].

4 结论

综上所述, 沃诺拉赞因其特殊的化学结构和药理学特性, 在酸相关疾病的治疗中显示出等同于或优于传统PPIs的抗分泌疗效, 为ARDs治疗面临的挑战提供了新的选择, 尤其是对于PPIs难治性酸相关疾病或PPIs未满足的临床需求, 但因临床应用时间并非很长, 远期疗效和安全性、耐受性仍有待于进一步观察.

5 参考文献

1 Hunt RH, Scarpignato C. Potent Acid Suppression with PPIs and P-CABs: What's New? *Curr Treat Options Gastroenterol* 2018; 16: 570-590 [PMID: 30361857 DOI: 10.1007/s11938-018-0206-y]

2 Savarino V, Dulbecco P, de Bortoli N, Ottonello A, Savarino E. The appropriate use of proton pump inhibitors (PPIs): Need for a reappraisal. *Eur J Intern Med* 2017; 37: 19-24 [PMID: 27784575 DOI: 10.1016/j.ejim.2016.10.007]

3 Scarpignato C, Hunt RH. The potential role of potassium-competitive acid blockers in the treatment of gastroesophageal reflux disease. *Curr Opin Gastroenterol* 2019; 35: 344-355 [PMID: 31045597 DOI: 10.1097/MOG.0000000000000543]

4 Scarpignato C, Hongo M, Wu JCY, Lottrup C, Lazarescu A, Stein E, Hunt RH. Pharmacologic treatment of GERD: Where we are now, and where are we going? *Ann N Y Acad Sci* 2020; 1482: 193-212 [PMID: 32935346 DOI: 10.1111/nyas.14473]

5 Savarino E, Martinucci I, Furnari M, Romana C, Pellegatta G, Moscatelli A, Bodini G, Marabotto E, Savarino V, de Bortoli N, Blandizzi C. Vonoprazan for treatment of gastroesophageal reflux: pharmacodynamic and pharmacokinetic considerations. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 2016; 12: 1333-1341 [PMID: 27428571 DOI: 10.1080/17425255.2016.1214714]

6 Martinucci I, Blandizzi C, Bodini G, Marabotto E, Savarino V, Marchi S, de Bortoli N, Savarino E. Vonoprazan fumarate

for the management of acid-related diseases. *Expert Opin Pharmacother* 2017; 18: 1145-1152 [PMID: 28657473 DOI: 10.1080/14656566.2017.1346087]
7 Marabotto E, Ziola S, Savarino V, Giannini EG, Furnari M, Bodini G, Zingone F, Ghisa M, Barberio B, Zentilin P, Savarino E. Vonoprazan Fumarate for the Treatment of Gastric Ulcers: A Short Review on Emerging Data. *Clin Exp Gastroenterol* 2020; 13: 99-104 [PMID: 32346304 DOI: 10.2147/CEG.S228352]
8 Kagami T, Sahara S, Ichikawa H, Uotani T, Yamade M, Sugimoto M, Hamaya Y, Iwaizumi M, Osawa S, Sugimoto K, Miyajima H, Furuta T. Potent acid inhibition by vonoprazan in comparison with esomeprazole, with reference to CYP2C19 genotype. *Aliment Pharmacol Ther* 2016; 43: 1048-1059 [PMID: 26991399 DOI: 10.1111/apt.13588]
9 Echizen H. The First-in-Class Potassium-Competitive Acid Blocker, Vonoprazan Fumarate: Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Considerations. *Clin Pharmacokinet* 2016; 55: 409-418 [PMID: 26369775 DOI: 10.1007/s40262-015-0326-7]
10 Otake K, Sakurai Y, Nishida H, Fukui H, Tagawa Y, Yamasaki H, Karashima M, Otsuka K, Inatomi N. Characteristics of the Novel Potassium-Competitive Acid Blocker Vonoprazan Fumarate (TAK-438). *Adv Ther* 2016; 33: 1140-1157 [PMID: 27287852 DOI: 10.1007/s12325-016-0345-2]
11 Oshima T, Miwa H. Potent Potassium-competitive Acid Blockers: A New Era for the Treatment of Acid-related Diseases. *J Neurogastroenterol Motil* 2018; 24: 334-344 [PMID: 29739175 DOI: 10.5056/jnm18029]
12 Hungin APS, Molloy-Bland M, Scarpignato C. Revisiting Montreal: New Insights into Symptoms and Their Causes, and Implications for the Future of GERD. *Am J Gastroenterol* 2019; 114: 414-421 [PMID: 30323266 DOI: 10.1038/s41395-018-0287-1]
13 Fass R. Proton pump inhibitor failure--what are the therapeutic options? *Am J Gastroenterol* 2009; 104 Suppl 2: S33-S38 [PMID: 19262545 DOI: 10.1038/ajg.2009.50]
14 Shibli F, Kitayama Y, Fass R. Novel Therapies for Gastroesophageal Reflux Disease: Beyond Proton Pump Inhibitors. *Curr Gastroenterol Rep* 2020; 22: 16 [PMID: 32185589 DOI: 10.1007/s11894-020-0753-y]
15 Ashida K, Iwakiri K, Hiramatsu N, Sakurai Y, Hori T, Kudou K, Nishimura A, Umegaki E. Maintenance for healed erosive esophagitis: Phase III comparison of vonoprazan with lansoprazole. *World J Gastroenterol* 2018; 24: 1550-1561 [PMID: 29662293 DOI: 10.3748/wjg.v24.i14.1550]
16 Tanabe T, Hoshino S, Kawami N, Hoshikawa Y, Hanada Y, Takenouchi N, Goto O, Kaise M, Iwakiri K. Efficacy of long-term maintenance therapy with 10-mg vonoprazan for proton pump inhibitor-resistant reflux esophagitis. *Esophagus* 2019; 16: 377-381 [PMID: 31119492 DOI: 10.1007/s10388-019-00676-x]
17 Graham DY, Dore MP. Update on the Use of Vonoprazan: A Competitive Acid Blocker. *Gastroenterology* 2018; 154: 462-466 [PMID: 29337157 DOI: 10.1053/j.gastro.2018.01.018]
18 Oshima T, Arai E, Taki M, Kondo T, Tomita T, Fukui H, Watari J, Miwa H. Randomised clinical trial: vonoprazan versus lansoprazole for the initial relief of heartburn in patients with erosive oesophagitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2019; 49: 140-146 [PMID: 30589965 DOI: 10.1111/apt.15062]
19 Shinozaki S, Osawa H, Kobayashi Y, Sakamoto H, Hayashi Y, Miura Y, Kawarai Lefor A, Yamamoto H. Long-term outcomes of patients with symptomatic gastroesophageal reflux disease treated with vonoprazan. *Scand J Gastroenterol* 2018; 53: 897-904 [PMID: 30056768 DOI: 10.1080/00365521.2018.1486883]
20 Gotoh Y, Ishibashi E, Honda S, Nakaya T, Noguchi C, Kagawa K, Murakami K. Efficacy of vonoprazan for initial and maintenance therapy in reflux esophagitis, nonerosive esophagitis, and proton pump inhibitor-resistant gastroesophageal reflux disease. *Medicine (Baltimore)* 2020; 99: e19520 [PMID: 32176102 DOI: 10.1097/MD.0000000000019520]
21 Yamashita H, Kanamori A, Kano C, Hashimura H, Matsumoto K, Tsujimae M, Yoshizaki T, Momose K, Obata D, Eguchi T, Fujita M, Okada A. The Effects of Switching to Vonoprazan, a Novel Potassium-Competitive Acid Blocker, on Gastric Acidity and Reflux Patterns in Patients with Erosive Esophagitis Refractory to Proton Pump Inhibitors. *Digestion* 2017; 96: 52-59 [PMID: 28662503 DOI: 10.1159/000478255]
22 Shinozaki S, Osawa H, Hayashi Y, Sakamoto H, Miura Y, Lefor AK, Yamamoto H. Vonoprazan treatment improves gastrointestinal symptoms in patients with gastroesophageal reflux disease. *Kaohsiung J Med Sci* 2017; 33: 616-622 [PMID: 29132551 DOI: 10.1016/j.kjms.2017.07.004]
23 Matysiak-Budnik T, Fabiani B, Hennequin C, Thieblemont C, Malamut G, Cadiot G, Bouché O, Ruskoné-Fourmestraux A. Gastrointestinal lymphomas: French Intergroup clinical practice recommendations for diagnosis, treatment and follow-up (SNFGE, FFCD, GERCOR, UNICANCER, SFCD, SFED, SFRO, SFH). *Dig Liver Dis* 2018; 50: 124-131 [PMID: 29301732 DOI: 10.1016/j.dld.2017.12.006]
24 Gatta L, Scarpignato C. Editorial: Helicobacter pylori resistance and sequential therapy-authors' reply. *Aliment Pharmacol Ther* 2018; 48: 96-97 [PMID: 29882988 DOI: 10.1111/apt.14676]
25 Furuta T, Yamade M, Kagami T, Uotani T, Suzuki T, Higuchi T, Tani S, Hamaya Y, Iwaizumi M, Miyajima H, Umemura K, Osawa S, Sugimoto K. Dual Therapy with Vonoprazan and Amoxicillin Is as Effective as Triple Therapy with Vonoprazan, Amoxicillin and Clarithromycin for Eradication of Helicobacter pylori. *Digestion* 2020; 101: 743-751 [PMID: 31434101 DOI: 10.1159/000502287]
26 Graham DY, Lu H, Shiotani A. Vonoprazan-containing Helicobacter pylori triple therapies contribution to global antimicrobial resistance. *J Gastroenterol Hepatol* 2020 [PMID: 32918832 DOI: 10.1111/jgh.15252]
27 Furuta T, Graham DY. Pharmacologic aspects of eradication therapy for Helicobacter pylori Infection. *Gastroenterol Clin North Am* 2010; 39: 465-480 [PMID: 20951912 DOI: 10.1016/j.gtc.2010.08.007]
28 Dong SQ, Singh TP, Wei X, Yao H, Wang HL. Review: A Japanese population-based meta-analysis of vonoprazan versus PPI for Helicobacter pylori eradication therapy: Is superiority an illusion? *Helicobacter* 2017; 22 [PMID: 28884937 DOI: 10.1111/hel.12438]
29 Murakami K, Sakurai Y, Shiino M, Funao N, Nishimura A, Asaka M. Vonoprazan, a novel potassium-competitive acid blocker, as a component of first-line and second-line triple therapy for Helicobacter pylori eradication: a phase III, randomised, double-blind study. *Gut* 2016; 65: 1439-1446 [PMID: 26935876 DOI: 10.1136/gutjnl-2015-311304]
30 Saleem N, Howden CW. Update on the Management of Helicobacter pylori Infection. *Curr Treat Options Gastroenterol* 2020: 1-12 [PMID: 32837180 DOI: 10.1007/s11938-020-00300-3]
31 Dubois RW, Melmed GY, Henning JM, Laine L. Guidelines for the appropriate use of non-steroidal anti-inflammatory drugs, cyclo-oxygenase-2-specific inhibitors and proton pump inhibitors in patients requiring chronic anti-inflammatory therapy. *Aliment Pharmacol Ther* 2004; 19: 197-208 [PMID: 14723611 DOI: 10.1111/j.0269-2813.2004.01834.x]
32 García-Rayado G, Navarro M, Lanas A. NSAID induced gastrointestinal damage and designing GI-sparing NSAIDs. *Expert Rev Clin Pharmacol* 2018; 11: 1031-1043 [PMID: 30139288 DOI: 10.1080/17512433.2018.1516143]
33 Venerito M, Schneider C, Costanzo R, Breja R, Röhl FW, Malfertheiner P. Contribution of Helicobacter pylori infection to the risk of peptic ulcer bleeding in patients on nonsteroidal anti-inflammatory drugs, antiplatelet agents, anticoagulants,

corticosteroids and selective serotonin reuptake inhibitors. *Aliment Pharmacol Ther* 2018; 47: 1464-1471 [PMID: 29655196 DOI: 10.1111/apt.14652]
34 Kawai T, Oda K, Funao N, Nishimura A, Matsumoto Y, Mizokami Y, Ashida K, Sugano K. Vonoprazan prevents low-dose aspirin-associated ulcer recurrence: randomised phase 3 study. *Gut* 2018; 67: 1033-1041 [PMID: 29196436 DOI: 10.1136/gutjnl-2017-314852]
35 Mizokami Y, Oda K, Funao N, Nishimura A, Soen S, Kawai T, Ashida K, Sugano K. Vonoprazan prevents ulcer recurrence during long-term NSAID therapy: randomised, lansoprazole-controlled non-inferiority and single-blind extension study. *Gut* 2018; 67: 1042-1051 [PMID: 28988197 DOI: 10.1136/gutjnl-2017-314010]
36 Suto D, Yoshida M, Otake T, Ichiishi E, Sato K, Murata K, Ebinuma H, Odaira H, Suzuki Y, Kohgo Y. Effects of vonoprazan on gastric PH and clinical course after gastric ESD: A retrospective and prospective study. *Ann Med Surg (Lond)* 2020; 60: 27-30 [PMID: 33101669 DOI: 10.1016/j.amsu.2020.10.002]
37 Jiang X, Li J, Xie J, Liang Z, Wan N, Jiang J, Zhang T, Wu Y. Histamine2-Receptor Antagonists, Proton Pump Inhibitors, or Potassium-Competitive Acid Blockers Preventing Delayed Bleeding After Endoscopic Submucosal Dissection: A Meta-Analysis. *Front Pharmacol* 2019; 10: 1055 [PMID: 31607912 DOI: 10.3389/fphar.2019.01055]
38 Yoshii S, Yamada T, Yamaguchi S, Hayashi Y, Nakahara M, Shibukawa N, Yamamoto M, Ishihara R, Kinoshita K, Egawa S, Tsujii Y, Iijima H, Takehara T. Efficacy of vonoprazan for the prevention of bleeding after gastric endoscopic submucosal dissection with continuous use of antiplatelet agents. *Endosc Int Open* 2020; 8: E481-E487 [PMID: 32258369 DOI: 10.1055/a-1067-4380]
39 Zhu J, Qi X, Yu H, Su C, Guo X. Acid suppression in patients treated with endoscopic therapy for the management of gastroesophageal varices: a systematic review and meta-analysis. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2018; 12: 617-624 [PMID: 29564926 DOI: 10.1080/17474124.2018.1456918]
40 Kawami N, Hoshino S, Hoshikawa Y, Takenouchi N, Umezawa M, Hanada Y, Kaise M, Iwakiri K. Pathogenesis of Potassium-Competitive Acid Blocker-Resistant Non-Erosive Reflux Disease. *Digestion* 2018; 98: 194-200 [PMID: 29870976 DOI: 10.1159/000488530]
41 Li M, Oshima T, Horikawa T, Tozawa K, Tomita T, Fukui H, Watari J, Miwa H. Systematic review with meta-analysis: Vonoprazan, a potent acid blocker, is superior to proton-pump inhibitors for eradication of clarithromycin-resistant strains of Helicobacter pylori. *Helicobacter* 2018; 23: e12495 [PMID: 29873436 DOI: 10.1111/hel.12495]
42 Ichida T, Ueyama S, Eto T, Kusano F, Sakai Y. Randomized Controlled Trial Comparing the Effects of Vonoprazan Plus Rebamipide and Esomeprazole Plus Rebamipide on Gastric Ulcer Healing Induced by Endoscopic Submucosal Dissection. *Intern Med* 2019; 58: 159-166 [PMID: 30210115 DOI: 10.2169/internalmedicine.1146-18]
43 Miwa H, Uedo N, Watari J, Mori Y, Sakurai Y, Takanami Y, Nishimura A, Tatsumi T, Sakaki N. Randomised clinical trial: efficacy and safety of vonoprazan vs. lansoprazole in patients with gastric or duodenal ulcers - results from two phase 3, non-inferiority randomised controlled trials. *Aliment Pharmacol Ther* 2017; 45: 240-252 [PMID: 27891632 DOI: 10.1111/apt.13876]
44 Yoshizaki T, Morisawa T, Fujinami M, Matsuda T, Katayama N, Inoue K, Matsumoto M, Ikeoka S, Takagi M, Sako T, Momose K, Noda M, Eguchi T, Okada A. Propensity score matching analysis: incidence and risk factors for "stardust" gastric mucosa, a novel gastric finding potentially induced by vonoprazan. *Aliment Pharmacol Ther* 2021; 53: 94-102 [PMID: 33159407 DOI: 10.1111/apt.16151]
45 Kambara H, Hosohata K, Nakatsuji T, Ueno S, Oyama S, Inada A, Niinomi I, Wakabayashi T, Iwanaga K. Safety profile of vonoprazan compared with proton pump inhibitors: insight from a pharmacovigilance study. *Pharmazie* 2020; 75: 527-530 [PMID: 33305731 DOI: 10.1691/ph.2020.0604]
46 Vonoprazan study in patients with erosive esophagitis to evaluate long-term safety. (assessed 5 May 2018). Available from: https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02679508

科学编辑: 刘继红 制作编辑: 张砚梁



WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: https://www.baishideng.com

世界华人消化杂志 2021年4月28日; 29(8): 389-397

DOI: 10.11569/wcjd.v29.i8.389

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

基础研究 BASIC RESEARCH

miR-484通过靶向SIRT1介导细胞凋亡参与非酒精性脂肪肝性肝病损伤

贾银钊, 枚巧娟, 张 勇

贾银钊, 张勇, 武汉协和医院肝胆外科 湖北省武汉市 430022

枚巧娟, 华中科技大学同济医学院生殖研究健康所 湖北省武汉市 430030

张勇, 主任医师, 研究方向为非酒精性脂肪肝性肝病及缺血再灌注损伤机制.

基金项目: 国家自然科学基金面上项目, No. 81570566.

作者贡献分布: 张勇与贾银钊对此文所作贡献均等; 此课题由张勇与贾银钊设计; 研究过程由张勇、贾银钊、枚巧娟操作完成; 数据分析由贾银钊、枚巧娟完成; 本论文写作由张勇、贾银钊完成.

通讯作者: 张勇, 教授, 主任医师, 430022, 湖北省武汉市江汉区解放大道1277号, 武汉协和医院肝胆外科. mailzhangyong@126.com

收稿日期: 2021-01-21
修回日期: 2021-02-25
接受日期: 2021-03-15
在线出版日期: 2021-04-28

MiR-484 participates in non-alcoholic fatty liver injury by targeting SIRT1 to mediate cell apoptosis

Yin-Zhao Jia, Qiao-Juan Mei, Yong Zhang

Yin-Zhao Jia, Yong Zhang, Department of Hepatobiliary Surgery, Wuhan Union Hospital, Wuhan 430022, Hubei Province, China

Qiao-Juan Mei, Insititute of Reproductive Health, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81570566.

Corresponding author: Yong Zhang, Professor, Chief Physician, Department of Hepatobiliary Surgery, Wuhan Union Hospital, No. 1277 Jiefang Avenue, Jianghan District, Wuhan 430022, Hubei Province, China. mailzhangyong @ 126.com

Received: 2021-01-21
Revised: 2021-02-25
Accepted: 2021-03-15
Published online: 2021-04-28

Abstract

BACKGROUND

Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) has become a major health threat that is seriously underestimated. Although the pathogenesis of NAFLD is complex, more and more evidence shows that microRNAs (miRNAs) play an important role in regulating the occurrence and development of NAFLD. Whether miR-484 is involved in the occurrence and development of NAFLD remains to be clarified.

AIM

To explore the mechanism of miR-484 in the damage of liver steatosis.

METHODS

A mouse model of NAFLD was established by feeding mice a high-fat diet, and the expression levels of miR-484 and SIRT1 in liver tissues were measured by RT-qPCR and Western blot. A miR-484 knockout NAFLD mouse model was constructed, the degree of steatosis and apoptosis were detected by oil red O staining, HE staining, and TUNEL staining, and the levels of serum ALT and AST were detected. In addition, a cell model of NAFLD was constructed through free fatty acid exposure. The dual luciferase reporter gene assay was first used to verify the direct targeting relationship between miR-484 and SIRT1, then an SIRT1 overexpression model was constructed by transfection with pc-DNA and pc-DNA SIRT1. Oil red O staining was used to detect lipid accumulation and flow cytometry was used to detect cell

apoptosis.

RESULTS

In the mouse model of NAFLD, the expression of miR-484 was significantly up-regulated, while the expression of SIRT1 was decreased. The degree of steatosis was reduced and serum ALT and AST levels were significantly reduced in miR-484 knockout mice. In the cell model of NAFLD, miR-484 can directly target SIRT1. In addition, overexpression of SIRT1 significantly decreased the rate of apoptosis and alleviated lipid accumulation in liver cells

CONCLUSION

MiR-484 regulates cell apoptosis by targeting SIRT1 and aggravates lipid accumulation in liver cells, which suggests that miR-484 may be a therapeutic target for NAFLD.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Non-alcoholic fatty liver disease; MiR-484; NAD-dependent deacetylase Sirtuin-1; Steatosis; Apoptosis

Citation: Jia YZ, Mei QJ, Zhang Y. MiR-484 participates in non-alcoholic fatty liver injury by targeting SIRT1 to mediate cell apoptosis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2021; 29(8): 389-397
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i8/389.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i8.389

摘要

背景

目前非酒精性脂肪肝性病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)已经成为被严重低估的重大健康威胁. 尽管NAFLD发病机理复杂, 但是越来越多的证据表明microRNAs (miRNAs)在调控NAFLD的发生和发展中起着重要的作用. 其中, miR-484是否参与NAFLD发生和发展仍有待阐明.

目的

研究miR-484参与肝脏脂肪变性的损伤作用机制.

方法

通过喂养高脂饲料建立小鼠高脂模型, 采用RT-qPCR和Western blot方法测定肝组织中miR-484和SIRT1的mRNA和蛋白水平, 再次构建miR-484基因敲除NAFLD小鼠模型, 检测小鼠血清ALT、AST、TG、TC变化水平, 通过油红O染色、HE染色和TUNEL染色检测脂肪变性程度和细胞凋亡水平. 此外, 通过游离脂肪酸构建NAFLD细胞模型, 采用双荧光素酶报告基因实验验证miR-484和SIRT1的直接靶向关系; 通过转染pc-DNA和pc-DNA SIRT1构建SIRT1过表达模型, 通过油红O染色检测脂质积累和流式细胞学检测细胞凋亡水平.

结果

在NAFLD小鼠模型中, miR-484表达明显上调, 而SIRT1表达下降; 敲除miR-484后小鼠脂肪变性程度减轻,血清ALT和AST明显降低. 在NAFLD细胞模型中, miR-484能够通过直接靶向SIRT1, 过表达SIRT1显著降低细胞凋亡率, 减轻肝细胞脂质积累.

结论

miR-484通过靶向SIRT1调控细胞凋亡, 加重肝细胞脂质积累, 表明miR-484可能是NAFLD的治疗靶标.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 非酒精性脂肪肝性肝病疾病; miR-484; NAD-依赖性去乙酰化酶Sirtuin-1;脂肪变性; 细胞凋亡

核心提要: 近年来, miR-484在调控肿瘤缺氧微环境(肺癌、乳腺癌、结直肠癌、胃癌、肝癌、胰腺癌等)中发挥重要作用, 但目前对miR-484是否参与NAFLD损伤作用机制国内外均尚无相关研究报道. 本研究通过建立小鼠和细胞高脂模型发现: miR - 484通过下调SIRT1表达, 诱导细胞凋亡加重非酒精性脂肪肝损伤. 降低miR-484表达或者上调SIRT1表达能够通过抑制细胞凋亡减轻非酒精性脂肪肝损伤, 为预防或治疗NAFLD损伤提供新的靶点.

文献来源: 贾银钊, 枚巧娟, 张勇. miR-484通过靶向SIRT1介导细胞凋亡参与非酒精性脂肪肝性肝病损伤. 世界华人消化杂志 2021; 29(8): 389-397
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i8/389.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i8.389

0 引言

当前中国脂肪肝的发病率正以每年0.594%的速度上升, 最新数据显示已有20%的中国人患有脂肪肝[1]. 脂肪肝已经成为被严重低估的重大健康威胁. 非酒精性脂肪肝性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)是我国脂肪肝最主要的病理类型, 也是全球患病人数最多的肝脏慢性疾病. NAFLD在引起肝功能严重受损的同时, 部分患者还可进一步发展为纤维化、肝硬化, 甚至可直接演变成肝癌[2,3]. 尽管目前对NAFLD的研究很多, 但是其病因及分子作用机制尚不清楚, 胰岛素抵抗(insulin resistance, IR)[4]、氧化应激[5]与脂质过氧化物[6,7]可能是其病因的关键因素, 其他因素如瘦素[8]、脂联体[9]、抵抗素、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)[10]等多种脂肪因子参与NAFLD的形成、炎性改变和纤维化过程. 一直以来, NAFLD 发病机制是基于“二次打击”理论,

但随着近几年研究的深入进一步揭示NAFLD发生的许多分子途径, 导致其发生机制仍处于争论中.

微小RNAs (microRNA, miRNA, miR)为19-24个核苷酸之间的内源性短链非编码RNA, 通过与靶mRNA的3'-非翻译区(3'-UTR)结合, 在基因沉默和翻译抑制中发挥作用, 调控多种生物学功能. 前期已有研究证实miR-484在癌前病变到癌症的过程中是一个关键的调节因子[11-13]. 然而, miR-484是否参与非酒精性脂肪肝性肝病的损伤过程及机制尚不清楚.

NAD+依赖的组蛋白去乙酰化酶Sirtuin 1 (SIRT1)参与许多细胞的生理功能, 包括肝脂肪酸代谢、线粒体功能、肝糖异生、胰岛素分泌和脂肪细胞成熟. SIRT1是控制肝脏脂质代谢的主要调控因子[14]. 尽管已有研究报道肝脏特异性SIRT1的缺失会促进肝脂肪变性[15,16], 但尚不清楚miR-484是否通过靶向SIRT1来调节NAFLD中的脂肪蓄积. 因此, 本研究旨在探讨miR-484在NAFLD中对SIRT1的作用和潜在的调节机制, 将为NAFLD的诊断和治疗提供参考. 结果报道如下.

1 材料和方法

1.1 材料 SPF级C57/BL小鼠(购自湖北省实验动物研究中心, 许可证号: SCXK(鄂)-2015-0018,6-8周龄); miR-484基因敲除鼠(购买于南京大学-南京生物医药研究院, 品系编号: T000103); 人正常肝脏细胞(LO2细胞系)(购自中国武汉普诺赛生命科技公司); DMEM 培养基、胎牛血清、胰蛋白酶、青霉素和链霉素(美国Gibco公司); Trizol试剂、逆转录试剂盒、SYBR Green PCR Master Mix试剂盒、双荧光素酶报告试剂盒(南京诺唯赞生物科技股份有限公司); miR-484 mimic、inhibitor与阴性对照mimic control、inhibitor control(广州锐博生物有限公司); 引物合成、PGL3-CMV-LUC- SIRT1 3'UTR突变型和野生型质粒构建、pc-DNA、pc-DNA SIRT1(吉满生物科技(上海)有限公司合成); Lipofectamine ™3000(美国Invitrogen公司); SDS-PAGE试剂盒、ECL发光液、BCA蛋白定量试剂盒和RIPA蛋白裂解液(碧云天生物技术公司); PVDF膜(美国Abcam公司); ALT、AST、TG、TC试剂盒(南京建成生物工程研究所); TUNEL试剂盒(武汉赛维尔生物科技有限公司); 油红O染色剂、油酸(O1383)、棕榈酸(P5585)(美国Sigma公司); 膜联蛋白V-异硫氰酸荧光素(annexin V-FITC)和碘化丙啶(propidium iodide, PI) (安迪福诺生物科技(武汉)有限公司); 高纯度质粒小提中量试剂盒(DP107) (TIANGEN公司); SIRT1抗体、β-ACTIN抗体及二抗(美国CST公司).

1.2 方法

1.2.1 动物分组及动物模型: 取SPF级6-8周龄雄性野生型(WT组)和miR-484敲除型(KO组)C57/BL小鼠各40只, 体重28-32 g之间, 置于恒温(25 ℃), 湿度为70%的动物房适应性喂养1 wk后, 将各组小鼠随机分为正常对照组(NC组)和高脂饮食组(HF组), 分别给予普通饲料和高脂饲料(基础饲料、2%胆固醇、15%猪油)喂养16 wk后, 造模结束后取眼眶静脉丛采血, 留取肝脏, 一部分甲醛固定, 另一部分液氮速冻后于-80 ℃保存. 血清获取方法: 血液室温静置4 h后, 2500 rpm/min, 离心10 min, 得到的上清液即为血清, 分装后放置-80 ℃备用.

1.2.2 LO2细胞培养: 将冻存的2代LO2细胞复苏, 接种于含10%胎牛血清、1%青霉素-链霉素的DMEM培养液中, 在37 ℃、5% CO_2恒温培养箱中培养. 根据细胞的生长情况, 用含0.25%胰蛋白酶的EDTA消化液进行传代培养, 取第4-7代的LO2细胞用于后续试验.

1.2.3 LO2脂肪变性造模: 将呈对数生长期的细胞转接种入6孔板中, 6孔板中提前置入多聚赖氨酸包被的无菌盖玻片1片, 培养24 h后, 用移液器去除培养液, 更换为含有0.4 Mm棕榈酸和0.2 Mm油酸的游离脂肪酸(free fatty acid, FFA)DMEM培养液继续培养, FFA干预24 h后用于后续实验[17].

1.2.4 细胞转染和分组: 转染前1 d将LO2细胞接种到6孔板中, 接种密度为2×10^5个/孔, 放置于37 ℃培养箱内继续培养, 待细胞生长密度达40%-50%时, 分别将miR-484 mimic(M组)、mimic control(MC组)、miR-484 inhibitor(I组)、inhibitor control(IC组)、pcDNA SIRT1(overexpression, OE组)和pcDNA(overexpression normal control, OE-NC组)转染至LO2细胞, 转染操作步骤严格参照Lipofectamine 3000转染试剂说明书进行, 转染后的细胞继续放置于37 ℃培养箱中培养, 转染持续8-10 h后更换含FFA培养基干预24 h后, 用于后续实验.

1.2.5 HE染色: 取各组肝组织石蜡包埋切片、脱蜡至水、苏木素染细胞核、伊红染细胞质、脱水封片, 用显微镜观察各组肝组织结构.

1.2.6 油红O染色: 油红染色步骤如下: (1)固定: 将冰冻切片复温干燥10 min; 细胞爬片4%多聚甲醛固定10 min, PBS充分洗涤; (2)染色: 油红工作液孵育10-15 min; 细胞爬片破膜10-15 min, PBS漂洗3次, 5 min/次, 随后以60%异丙醇浸洗约15 s, 入油红O工作液染色10 min; (3)分化: 75%酒精分化2 s, 水洗1 min; 细胞爬片用60%异丙醇分化至间质清晰后用蒸馏水洗涤; (4)复染细胞核: Harris苏木素复染1 min左右, 蒸馏水冲洗, 1%的盐酸酒精分化数秒, 蒸馏水冲洗, 氨水返蓝, 流水冲洗; (5)封片: 用纸巾吸去周边水分, 甘油明胶封片.

1.2.7 TUNEL染色: 上述各组肝组织切片染色步骤: 脱蜡至水, 蛋白酶K修复, 破膜通透, 孵育tunel反应液, 孵育

表 1 RT-qPCR相关引物序列如下

Primer	Sequence 5'-3'
miR-484-F	GCGTCAGGCTCAGTCCCCT
miR-484-R	AGTGCAGGGTCCGAGGTATT
miR-484-RT	GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCACTGGATACGACATCGGG
U6-F	CTCGCTTCGGCAGCACA
U6-R	AACGCTTCACGAATTTGCGT
U6-RT	AACGCTTCACGAATTTGCGT
mou-SIRT1-F	CAGGTTGCAGGAATCCAAA
mou-SIRT1-R	CAAATCAGGCAAGATGCTGT
mou-β-actin-F	AAGTGCTTCTAGGCGGACTGTT
mou-β-actin-R	TTTTCTGCGCAAGTTAGGTTTTG
has- SIRT1-F	CCAGAACATAGACACGCTGGAAC
has- SIRT1-R	CTCCTCGTACAGCTTCACAGTCA
hsa-β-actin-F	TCACCCACACTGTGCCCATCTACG
hsa-β-actin-R	CAGCGGAACCGCTCATTGCCAATG

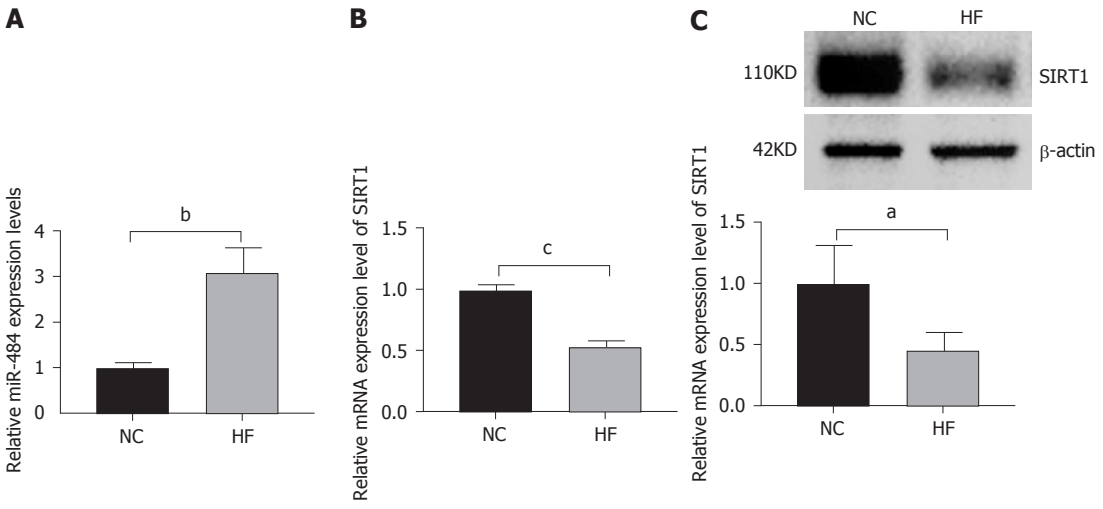


图 1 高脂暴露对miR-484和SIRT1的表达影响. A: 高脂组小鼠肝组织miR-484 mRNA表达较对照组明显上调; B: 高脂组小鼠肝组织SIRT1 mRNA表达较对照组明显下调; C: 高脂组小鼠肝组织SIRT1蛋白表达较对照组明显下调($^{a}P<0.05$, $^{b}P<0.01$, $^{c}P<0.001$).

POD反应液, DAB显色, 苏木素染核, 脱水封片, 镜检拍照.

1.2.8 流式细胞学: 通过流式细胞术检测细胞凋亡: (1)收集上清: 收集培养液于流式管中(有少量悬浮细胞); (2)收集细胞: 六孔板中的细胞用PBS洗涤一次, 加入1 mL 0.25%胰酶消化细胞, 待细胞变圆且有部分细胞悬浮, 即加入培养基终止消化. 用移液枪轻轻吹打细胞, 使细胞悬浮. 收集于流式管中, 1500 rpm离心5 min, 弃上清; (3)PBS洗涤细胞: 加入3 mL 4 ℃预冷的PBS完全重悬细胞, 1500 rpm离心5 min, 弃上清. 沉淀用300 μL的Binding Buffer重悬; (4)荧光标记: 加入5 μL Annexin V-FITC混匀后, 加入5 μL Propidium Iodide, 混匀. 室温下避光反应5-15 min; (5)于1 h内上机检测: Annexin V-FITC的绿色荧光通过FITC通道(FL1)检测, PI红色荧光通过PI通道(FL2)检测. 流式细胞仪参数如下: 激发波长Ex = 488 nm, 发射波长Em = 530 nm.

1.2.9 RT-qPCR: 采用Trizol试剂提取各组肝组织和细胞中总RNA, 使用Nanodrop超微量核酸蛋白检测仪测定所提RNA的浓度和纯度. 各组按照逆转录试剂盒说明书进行操作, 使用RT-qPCR法检测miR-484和SIRT1基因的表达, 使用软件分析检测样本的CT值, 采用$2^{-\triangle\triangle CT}$值反映相对表达水平. 相关引物序列见表1

1.2.10 Western Blot: 测定组织和细胞蛋白上清中SIRT1、β-actin的蛋白表达量:取适量对数生长期的LO2细胞和适量大小肝组织(约80 mg), RIPA裂解后采用BCA法进行蛋白定量, 高温变性离心后取上清进行蛋白上样(蛋白量约50 ug). 按照Western Blot实验常规操作流

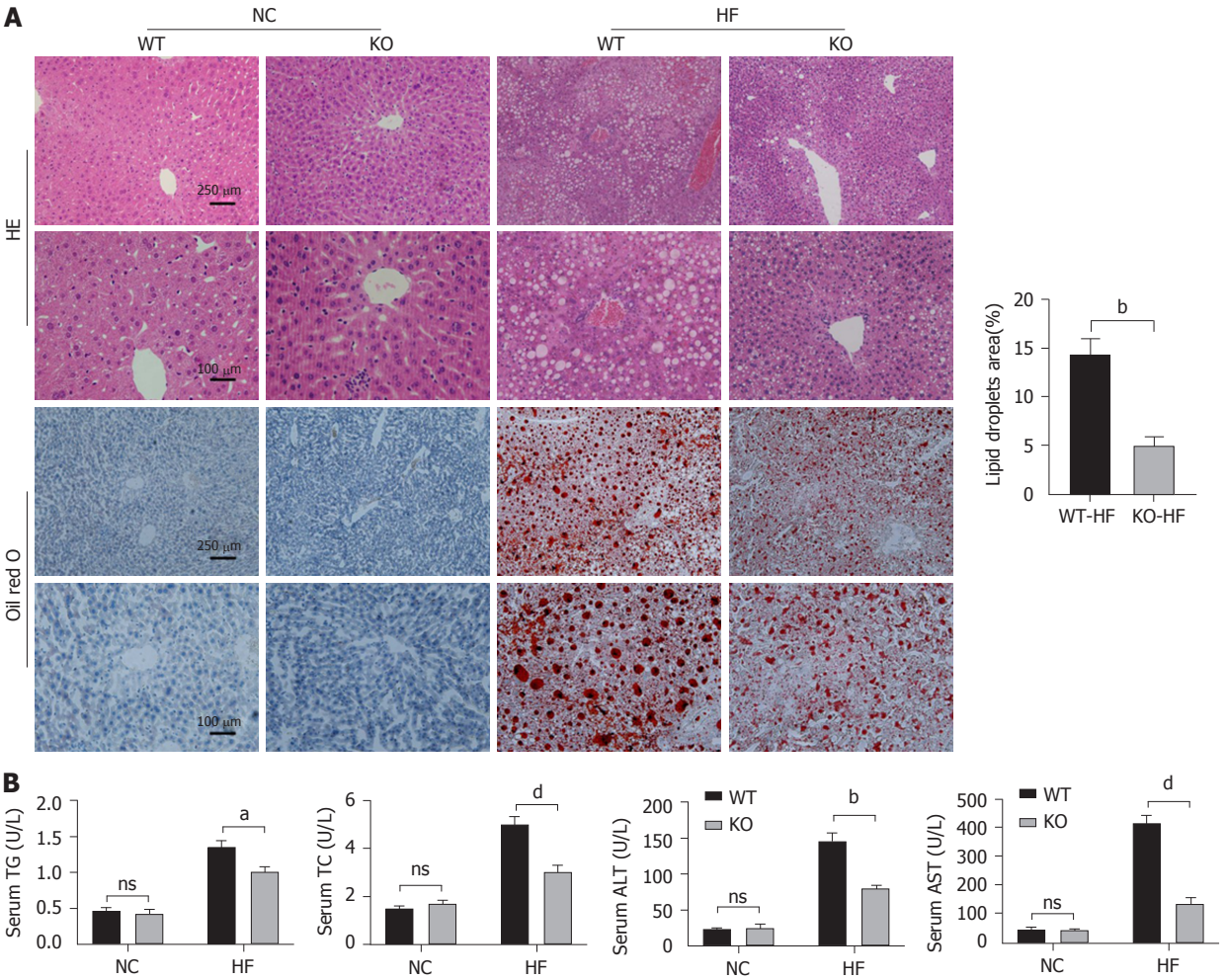


图 2　miR-484的表达对脂肪变性的影响. A: HE染色和油红O染色检测各组肝组织脂滴积累情况; B: 各组间小鼠血清中ALT和AST表达差异 (^{b}P<0.01, ^{d}P<0.0001).

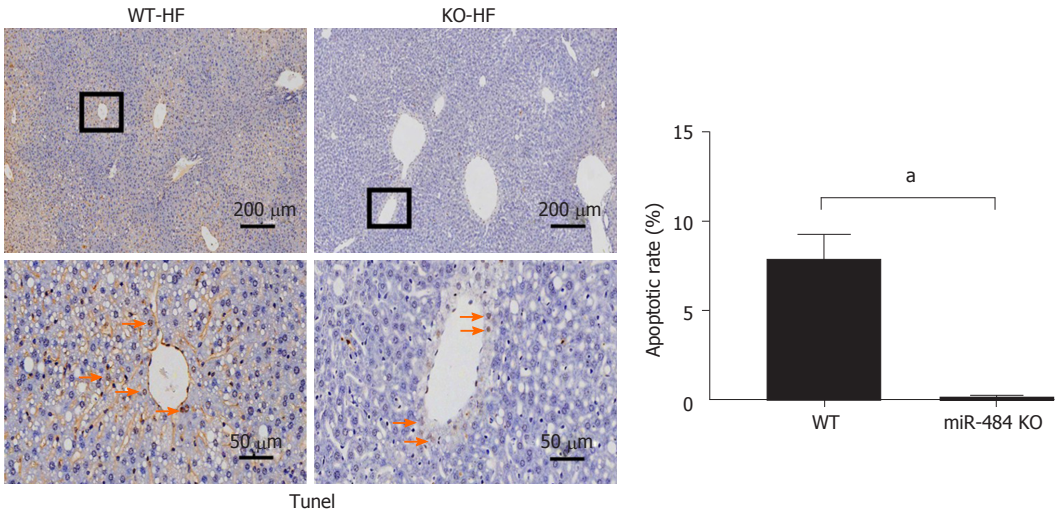


图 3　敲除miR-484的表达对高脂暴露下肝细胞凋亡的影响. TUNEL染色显示KO-HF组小鼠肝脏组织中凋亡细胞明显减轻(^{a}P<0.05).

程进行. Image J分析目的条带的灰度值, 以目的条带灰度值与β-actin灰度值的比值表示目的蛋白的表达.

统计学处理　实验数据采用GraphPad Prism 8.0版软件进行分析, 计量资料以mean±SD表示, 组间采用

单因素方差分析比较, 以$P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 高脂暴露对miR-484和SIRT1的表达影响 与NC组相比, HF组肝组织中miR-484表达显著升高, SIRT1的mRNA和蛋白表达均显著降低($P<0.05$), 见图1. 这表明高脂暴露诱导肝组织miR-484的表达增加, 伴随SIRT1的表达下调.

2.2 miR-484的表达对脂肪变性的影响 与NC组相比, HF组小鼠肝脏脂滴形成明显增高; 与WT-HF组相比, KO-HF组小鼠肝脏中脂滴积累明显减少($P<0.05$), 见图2A. HF组小鼠血清TC和TG含量明显高于NC组, KO-HF组小鼠血清中TC和TG含量较WT-HF组明显降低, 见图2B. 此外, 与NC组相比, HF组小鼠血清ALT和AST明显增高; 与WT-HF组相比, KO-HF组小鼠血清中ALT和AST明显减少($P<0.05$), 见图2B. 这一结果提示miR-484不仅能够抑制肝脏脂肪蓄积, 同时减轻肝细胞损伤.

2.3 敲除miR-484的表达对高脂暴露下肝细胞凋亡的影响 与WT-NC组相比, WT-HF组细胞凋亡明显, 与WT-HF组相比, KO-HF组细胞凋亡显著减轻, 见图3. 这一结果提示, miR-484可促进高脂暴露下的细胞凋亡.

2.4 miR-484直接调控SIRT1 运用miRanda数据库预测到miR-484与SIRT1 3'UTR存在结合位点, 见图4A. 双荧光素酶活性检测结果显示, 与MC组相比, M组WT-SIRT1细胞中萤光素酶活性显著降低, MUT-SIRT1细胞中萤光素酶活性不受影响, 见图4B. 与MC组相比, M组细胞中SIRT1表达明显显著降低; 与IC组相比, I 组细胞中SIRT1表达明显升高, 见图4C. 上述结果提示, miR-484可靶向调控SIRT1.

2.5 过表达SIRT1能够减轻肝细胞脂肪变性 与HF+pcDNA组相比, HF+pcDNA-SIRT1组LO2细胞中SIRT1的蛋白表达显著升高, 细胞的凋亡率显著降低($P<0.05$), 见图5. 这一结果提示SIRT1可能通过降低细胞凋亡减轻肝细胞脂肪变性.

3 讨论

NAFLD因其患病率高, 发病机理复杂加之缺乏标准的治疗方法, 目前已成为当今全球第一大肝脏疾病[18]. 虽然对其诊治和发病机制的研究很多年, 但是有效药物和治疗方案仍处于探索阶段[19]. 目前已有研究证明NAFLD存在表达失调现象[20], 而且miRNA被视为质稳态和健康的关键调节因子, 在调控肝脏脂肪酸和胆固醇合成中具有潜在的病理作用[21], 所以miRNAs在NAFLD中具有作为诊断和预后水平的生物标志物的前景价值. 因此在本研究中, 我们首次发现NAFLD中miR-484的异常表达, 并通过靶向SIRT1研究miR-484在NAFLD中脂质积累的调节.

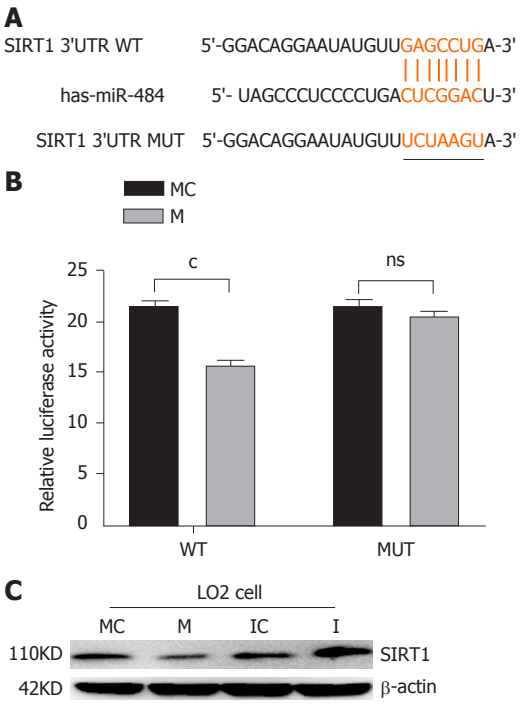


图 4 miR-484直接调控SIRT1. A: miR-484与SIRT1 3'UTR存在结合位点(字体红色标注者为结合位点, 下划线者为突变位点); B: 双荧光素酶活性检测结果($^{*}P<0.001$); C: miR-484过表达组(M组)和敲低组(I组)中SIRT1蛋白表达差异.

目前研究已证实miR-484参与调控肿瘤发生与发展, 被视为是癌前病变的关键触发器[22,23]. 值得注意的是, miR-484可以通过靶向Fis1表达, 调节线粒体形态从而改变细胞凋亡[24]. Li等[25]证实miR-484通过抑制Apaf-1和凋亡相关蛋白表达促进非小细胞肺癌的发生. Liu研究[26]认为miR-484通过抑制Caspase-3和Caspase-9表达保护大鼠心肌细胞免受缺血再灌注损伤. 然而, 其他学者[27]提出miR-484在胃癌中通过CCL-18/PI3K/AKT促进细胞凋亡, 从而发挥抗癌作用. Li等[28]揭示长链非编码RNA LINC00339能够通过靶向miR-484加重阿霉素诱导的心肌细胞凋亡. 本研究构建了体内和体外高脂损伤模型, 发现高脂暴露下miR-484表达异常升高, 深入研究发现, 抑制miR-484能够减轻细胞凋亡, 这与后者研究结果相一致. 这是国内外首次揭示在非酒精性脂肪肝性肝病中miR-484与细胞凋亡的相关性, 为miR-484在NAFLD中的功能研究和机制探索奠定了基础, 推进了miR-484在肝脏疾病中潜在的治疗价值的进一步深入研究. 本研究通过双荧光素酶报告基因实验进一步验证miR-484能够直接负调控SIRT1, 揭示了靶向 SIRT1为miR-484在肝脏细胞中的调控网络之一.

SIRT1是一种依赖于NAD^{+}的去乙酰化酶, 在氧化和毒性应激下调节细胞凋亡, 被视为调节代谢稳态的关键

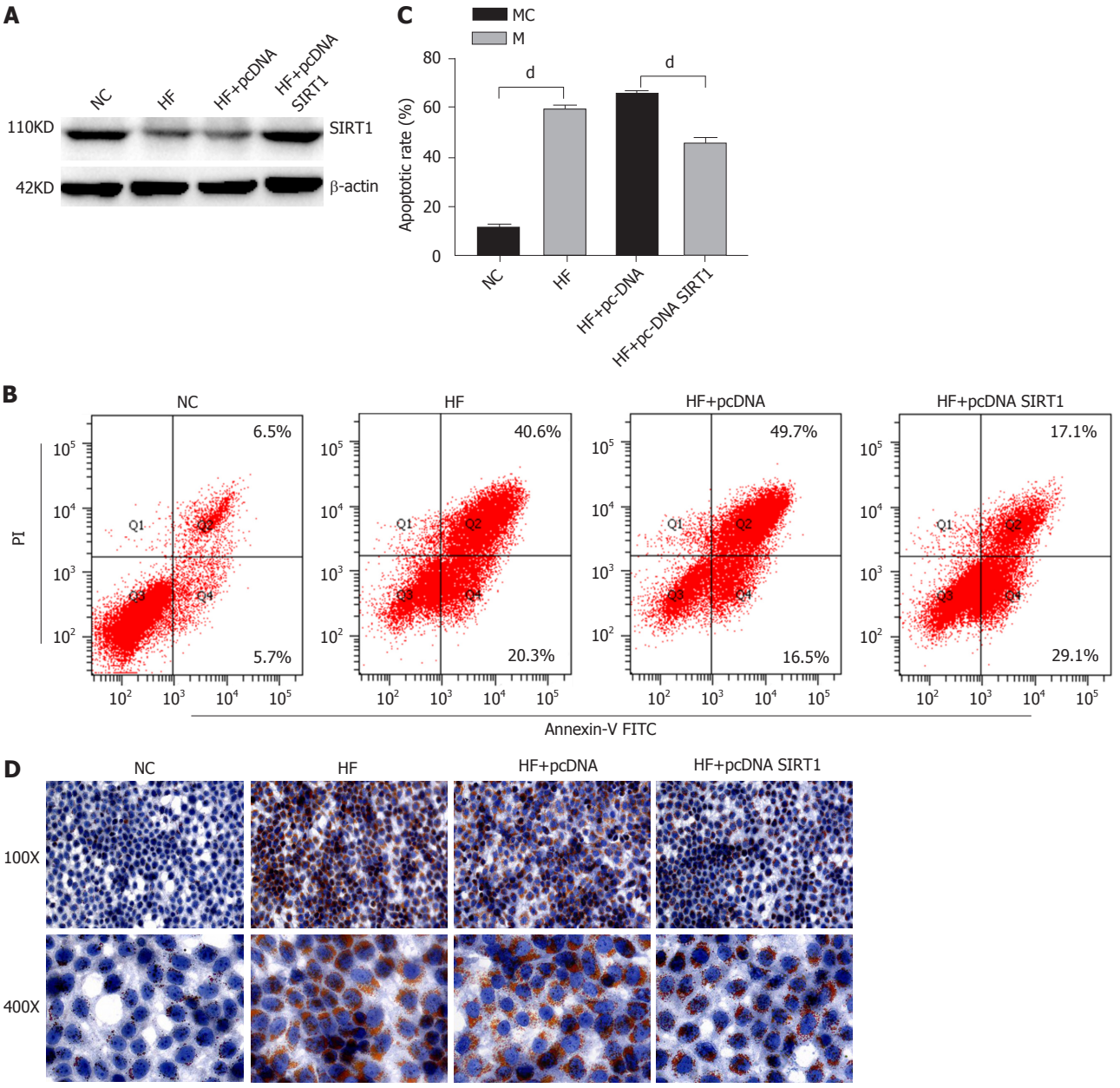


图 5　过表达SIRT1能够减轻肝细胞脂肪变性. A: 不同处理方式对LO2细胞中SIRT1蛋白表达的影响; B、C: 通过流式细胞学检测不同处理方式对LO2细胞凋亡的影响; D: 通过油红O染色检测不同处理方式对LO2细胞脂滴积累的影响.

代谢传感器. 已有研究证实SIRT1可以直接调控脂肪代谢相关基因(如sterol regulatory element binding proteins, SREBPs、FASN和ACC)表达的增加[29]. 值得注意的是, SIRT1能够抑制脂肪生成, 增加脂类分解, 刺激三酰甘油脂肪酶基因转录, 激活相关的过氧化物酶体增殖物激活受体γ调节叉头形盒子1的脱乙酰作用, 加快体内脂解作用[30-32]. 本研究通过细胞油红O染色实验证实过表达SIRT1能够降低细胞凋亡同时伴随LO2脂滴蓄积程度降低. 已有研究证实SIRT1能够通过下调p53表达对高脂诱导的肝细胞凋亡产生保护作用[32]. 本研究结果与前者一致: 过表达SIRT1能够减轻高脂暴露下细胞凋亡严重程度. 以上研究结果说明SIRT1参与细胞的凋亡过程, 为研究SIRT1参与NAFLD损伤作用机制提供参考依据.

4 结论

综上所述, miR-484能够加重肝细胞脂肪变性过程, 其机制与靶向SIRT1有关, 靶向miR-484/SIRT1可能将来新的NAFLD治疗方法.

文章亮点

实验背景

近年来, miR-484在调控肿瘤缺氧微环境(肺癌、乳腺癌、结直肠癌、胃癌、肝癌、胰腺癌等)中发挥重要作

用, 但目前对miR-484是否参与NAFLD损伤作用机制国内外均尚无相关研究报道.

实验动机

本研究旨在研究miR-484在高脂暴露下对肝细胞凋亡影响, 并探讨其分子作用机制, 为预防或治疗NAFLD损伤提供新的靶点.

实验目标

探讨miR-484通过SIRT1介导细胞凋亡参与NAFLD损伤机制, 为临床治疗或诊断NAFLD提供科研依据.

实验方法

首先, 我们采用野生组(WT组)、miR-484敲除组(miR-484 KO组)小鼠进行高脂造模, 通过RT-qPCR和Western blot实验验证miR-484对下游分子SIRT1的表达影响. 此外, 用一定浓度的游离脂肪酸建立NAFLD细胞模型, 随机分成miR-484 mimic(M组)、miR-484 mimic NC(MC组)、miR-484 inhibitor(I组)、miR-484 inhibitor NC(IC组)、pcDNA SIRT1组、pcDNA组, 采用油红O染色法分析脂滴积累情况, 流式细胞学分析细胞凋亡, Western blot检测LO2细胞SIRT1蛋白表达, 双荧光素酶报告基因检测实验验证miR-484与SIIRT1的靶向关系.

实验结果

本研究通过建立小鼠和细胞高脂模型发现: miR-484通过下调SIRT1表达, 诱导细胞凋亡加重非酒精性脂肪肝损伤. 降低miR-484表达或者上调SIRT1表达能够通过抑制细胞凋亡减轻非酒精性脂肪肝损伤.

实验结论

肝脏细胞在高脂暴露下通过促进miR-484表达上调, 导致下游分子SIRT1表达下调, 进一步加速细胞凋亡, 加重非酒精性脂肪肝损伤作用.

展望前景

本研究通过体内及体外实验共同验证miR-484在高脂暴露下抑制SIRT1表达, 通过促进细胞凋亡, 后期还需要进一步研究高脂暴露下如何促进miR-484表达上调, 明确miR-484上游调控分子, 以更清晰的展示非酒精性脂肪肝损伤作用机制, 也为治疗非酒精性脂肪肝损伤提供理论依据.

5 参考文献

1 Tanaka N, Kimura T, Fujimori N, Nagaya T, Komatsu M, Tanaka E. Current status, problems, and perspectives of non-alcoholic fatty liver disease research. *World J Gastroenterol* 2019; 25: 163-177 [PMID: 30670907 DOI: 10.3748/wjg.v25.i2.163]

2 Fang YL, Chen H, Wang CL, Liang L. Pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease in children and adolescence: From "two hit theory" to "multiple hit model". *World J Gastroenterol* 2018; 24: 2974-2983 [PMID: 30038464 DOI: 10.3748/wjg.v24.i27.2974]

3 Issa D, Patel V, Sanyal AJ. Future therapy for non-alcoholic fatty liver disease. *Liver Int* 2018; 38 Suppl 1: 56-63 [PMID: 29427492 DOI: 10.1111/liv.13676]

4 Utzschneider KM, Kahn SE, Polidori DC. Hepatic Insulin Extraction in NAFLD Is Related to Insulin Resistance Rather Than Liver Fat Content. *J Clin Endocrinol Metab* 2019; 104: 1855-1865 [PMID: 30566676 DOI: 10.1210/jc.2018-01808]

5 Satapati S, Kucejova B, Duarte JA, Fletcher JA, Reynolds L, Sunny NE, He T, Nair LA, Livingston KA, Fu X, Merritt ME, Sherry AD, Malloy CR, Shelton JM, Lambert J, Parks EJ, Corbin I, Magnuson MA, Browning JD, Burgess SC. Mitochondrial metabolism mediates oxidative stress and inflammation in fatty liver. *J Clin Invest* 2015; 125: 4447-4462 [PMID: 26571396 DOI: 10.1172/JCI82204]

6 Ore A, Akinloye OA. Oxidative Stress and Antioxidant Biomarkers in Clinical and Experimental Models of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *Medicina (Kaunas)* 2019; 55 [PMID: 30682878 DOI: 10.3390/medicina55020026]

7 Zhao T, Wu K, Hogstrand C, Xu YH, Chen GH, Wei CC, Luo Z. Lipophagy mediated carbohydrate-induced changes of lipid metabolism via oxidative stress, endoplasmic reticulum (ER) stress and ChREBP/PPARγ pathways. *Cell Mol Life Sci* 2020; 77: 1987-2003 [PMID: 31392349 DOI: 10.1007/s00018-019-03263-6]

8 徐丹, 黄晓东, 罗和生, 袁静萍, 张姮, 吴杰. 一种新的瘦素抵抗机制:非酒精性脂肪肝性肝病瘦素/PI3-K/Akt信号通路的激活缺陷. 世界华人消化杂志 2012; 20: 3095-3100 [DOI: 10.11569/wcjd.v20.i32.3095]

9 张炜, 朱丽群, 蒋小猛, 曹亮, 程兆明, 徐岷. 非酒精性脂肪肝性肝病患者脂联素基因-4522位点的单核苷酸多态性. 世界华人消化杂志 2013; 21: 1660-1663 [DOI: 10.11569/wcjd.v21.i17.1660]

10 许腊梅, 孙丹莉, 张予蜀, 张振玉, 李晓翠. 紧密连接蛋白Occludin在非酒精性脂肪肝性肝病大鼠肠上皮细胞中的表达及其与TNF-α的关系. 世界华人消化杂志 2010; 18: 981-986 [DOI: 10.11569/wcjd.v18.i10.981]

11 Wang S, Wang W, Han X, Wang Y, Ge Y, Tan Z. Dysregulation of miR484-TUSC5 axis takes part in the progression of hepatocellular carcinoma. *J Biochem* 2019; 166: 271-279 [PMID: 31157375 DOI: 10.1093/jb/mvz034]

12 Lechel A, Gougelet A. Early HCC treatment: a future strategy against interferon/miR-484 axis to revert precancerous lesions? *Gut* 2016; 65: 1073-1074 [PMID: 26944073 DOI: 10.1136/gutjnl-2016-311446]

13 Qiu L, Huang Y, Li Z, Dong X, Chen G, Xu H, Zeng Y, Cai Z, Liu X, Liu J. Circular RNA profiling identifies circADAMTS13 as a miR-484 sponge which suppresses cell proliferation in hepatocellular carcinoma. *Mol Oncol* 2019; 13: 441-455 [PMID: 30537115 DOI: 10.1002/1878-0261.12424]

14 Khan SA, Sathyanarayan A, Mashek MT, Ong KT, Wollaston-Hayden EE, Mashek DG. ATGL-catalyzed lipolysis regulates SIRT1 to control PGC-1α/PPAR-α signaling. *Diabetes* 2015; 64: 418-426 [PMID: 25614670 DOI: 10.2337/db14-0325]

15 Purushotham A, Schug TT, Xu Q, Surapureddi S, Guo X, Li X. Hepatocyte-specific deletion of SIRT1 alters fatty acid metabolism and results in hepatic steatosis and inflammation. *Cell Metab* 2009; 9: 327-338 [PMID: 19356714 DOI: 10.1016/j.cmet.2009.02.006]

16 Li Y, Wong K, Giles A, Jiang J, Lee JW, Adams AC, Kharitonenkov A, Yang Q, Gao B, Guarente L, Zang M. Hepatic SIRT1 attenuates hepatic steatosis and controls energy balance in mice by inducing fibroblast growth factor 21. *Gastroenterology* 2014; 146: 539-49.e7 [PMID: 24184811 DOI: 10.1053/j.gastro.2013.10.059]

17 Li T, Xian WJ, Gao Y, Jiang S, Yu QH, Zheng QC, Zhang Y. Higd1a Protects Cells from Lipotoxicity under High-Fat Exposure. *Oxid Med Cell Longev* 2019; 2019: 6051262 [PMID: 31089410 DOI: 10.1155/2019/6051262]
18 Neuschwander-Tetri BA. Non-alcoholic fatty liver disease. *BMC Med* 2017; 15: 45 [PMID: 28241825 DOI: 10.1186/s12916-017-0806-8]
19 叶俊钊, 钟碧慧. 非酒精性脂肪肝性肝病的研究历程与展望. 世界华人消化杂志 2017; 25: 3094-3103 [DOI: 10.11569/ wcjd.v25.i35.3094]
20 Tessitore A, Cicciarelli G, Del Vecchio F, Gaggiano A, Verzella D, Fischietti M, Mastroiaco V, Vetuschi A, Sferra R, Barnabei R, Capece D, Zazzeroni F, Alesse E. MicroRNA expression analysis in high fat diet-induced NAFLD-NASH-HCC progression: study on C57BL/6J mice. *BMC Cancer* 2016; 16: 3 [PMID: 26728044 DOI: 10.1186/s12885-015-2007-1]
21 Sedgeman LR, Michell DL, Vickers KC. Integrative roles of microRNAs in lipid metabolism and dyslipidemia. *Curr Opin Lipidol* 2019; 30: 165-171 [PMID: 30985366 DOI: 10.1097/MOL.0000000000000603]
22 Lee D, Tang W, Dorsey TH, Ambs S. miR-484 is associated with disease recurrence and promotes migration in prostate cancer. *Biosci Rep* 2020; 40 [PMID: 32338277 DOI: 10.1042/BSR20191028]
23 Hu Y, Xie H, Liu Y, Liu W, Liu M, Tang H. Correction to: miR-484 suppresses proliferation and epithelial-mesenchymal transition by targeting ZEB1 and SMAD2 in cervical cancer cells. *Cancer Cell Int* 2020; 20: 318 [PMID: 32694940 DOI: 10.1186/s12935-020-01375-9]
24 Wang K, Long B, Jiao JQ, Wang JX, Liu JP, Li Q, Li PF. miR-484 regulates mitochondrial network through targeting Fis1. *Nat Commun* 2012; 3: 781 [PMID: 22510686 DOI: 10.1038/ncomms1770]
25 Li T, Ding ZL, Zheng YL, Wang W. MiR-484 promotes non-small-cell lung cancer (NSCLC) progression through inhibiting Apaf-1 associated with the suppression of apoptosis. *Biomed Pharmacother* 2017; 96: 153-164 [PMID: 28982084 DOI: 10.1016/j.biopha.2017.09.102]
26 Liu H, Li S, Jiang W, Li Y. MiR-484 Protects Rat Myocardial Cells from Ischemia-Reperfusion Injury by Inhibiting Caspase-3 and Caspase-9 during Apoptosis. *Korean Circ J* 2020; 50: 250-263 [PMID: 31845557 DOI: 10.4070/kcj.2019.0107]
27 Liu J, Li SM. MiR-484 suppressed proliferation, migration, invasion and induced apoptosis of gastric cancer via targeting CCL-18. *Int J Exp Pathol* 2020; 101: 203-214 [PMID: 32985776 DOI: 10.1111/iep.12366]
28 Li J, Li L, Li X, Wu S. Long noncoding RNA LINC00339 aggravates doxorubicin-induced cardiomyocyte apoptosis by targeting MiR-484. *Biochem Biophys Res Commun* 2018; 503: 3038-3043 [PMID: 30170730 DOI: 10.1016/j.bbrc.2018.08.090]
29 Wu T, Liu YH, Fu YC, Liu XM, Zhou XH. Direct evidence of sirtuin downregulation in the liver of non-alcoholic fatty liver disease patients. *Ann Clin Lab Sci* 2014; 44: 410-418 [PMID: 25361925]
30 Colak Y, Yesil A, Mutlu HH, Caklili OT, Ulasoglu C, Senates E, Takir M, Kostek O, Yilmaz Y, Yilmaz Enc F, Tasan G, Tuncer I. A potential treatment of non-alcoholic fatty liver disease with SIRT1 activators. *J Gastrointestin Liver Dis* 2014; 23: 311-319 [PMID: 25267960 DOI: 10.15403/jgld.2014.1121.233.yck]
31 Chakrabarti P, English T, Karki S, Qiang L, Tao R, Kim J, Luo Z, Farmer SR, Kandror KV. SIRT1 controls lipolysis in adipocytes via FOXO1-mediated expression of ATGL. *J Lipid Res* 2011; 52: 1693-1701 [PMID: 21743036 DOI: 10.1194/jlr.M014647]
32 Wang H, Qiang L, Farmer SR. Identification of a domain within peroxisome proliferator-activated receptor gamma regulating expression of a group of genes containing fibroblast growth factor 21 that are selectively repressed by SIRT1 in adipocytes. *Mol Cell Biol* 2008; 28: 188-200 [PMID: 17954559 DOI: 10.1128/MCB.00992-07]

科学编辑: 刘继红 制作编辑: 张砚梁



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 © 2021 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

• 消息 •

《世界华人消化杂志》参考文献要求

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

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: https://www.baishideng.com

世界华人消化杂志 2021年4月28日; 29(8): 398-406

DOI: 10.11569/wcjd.v29.i8.398

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

基础研究 BASIC RESEARCH

藤梨根提取物通过调控miR-192-5p/ARPP19轴影响结直肠癌细胞的增殖和凋亡

徐万苏, 柯 飞, 许 怡, 郑 艺

徐万苏, 衢州市人民医院肿瘤放疗科 浙江省衢州市 324000

柯飞, 衢州市人民医院病理科 浙江省衢州市 324000

许怡, 郑艺, 衢州市人民医院消毒供应中心 浙江省衢州市 324000

徐万苏, 主治医师, 研究方向为肿瘤学.

作者贡献分布: 本文由徐万苏、柯飞、许怡、郑艺统计并撰写; 徐万苏审阅.

通讯作者: 徐万苏, 本科,主治医师, 324000, 浙江省衢州市柯城区钟楼底2号衢州市人民医院肿瘤放疗科. xws121987@163.com

收稿日期: 2021-01-23
修回日期: 2021-03-01
接受日期: 2021-03-27
在线出版日期: 2021-04-28

Radix Actinidiae extract affects proliferation and apoptosis of colorectal cancer cells by regulating miR-192-5p/ARPP19

Wan-Su Xu, Fei Ke, Yi Xu, Yi Zheng

Wan-Su Xu, Department of Oncology Radiotherapy, Quzhou People's Hospital, Quzhou 324000, Zhejiang Province, China

Fei Ke, Department of Pathology, Quzhou People's Hospital, Quzhou 324000, Zhejiang Province, China

Yi Xu, Yi Zheng, Sterilization Supplying Center, Quzhou People's Hospital, Quzhou 324000, Zhejiang Province, China

Corresponding author: Wan-Su Xu, Bachelor, Attending Doctor, Department of Oncology Radiotherapy, Quzhou People's Hospital, No. 2 Zhongloudi, Kecheng District, Quzhou 324000, Zhejiang Province, China. xws121987@163.com

Received: 2021-01-23
Revised: 2021-03-01
Accepted: 2021-03-27

Published online: 2021-04-28

Abstract

BACKGROUND

Radix Actinidiae extract (RAE) can inhibit the proliferation of gastric cancer, lung cancer, and other tumor cells, and has appreciated anti-tumor effects, but it is unknown whether it affects the malignant phenotype of colorectal cancer cells. The expression of miR-192-5p is reduced in colorectal cancer tissues, and its low expression is related to clinicopathological characteristics such as tumor size. Thus, it can be used as a potential biomarker for the diagnosis and treatment of colorectal cancer. StarBase bioinformatics software predicts that cAMP-regulated phosphoprotein 19 (ARPP19) may be a target gene of miR-192-5p. This study hypothesized that RAE can affect the proliferation and apoptosis of colorectal cancer cells by regulating the miR-192-5p/ARPP19 axis.

AIM

To investigate the effects and mechanism of RAE on proliferation and apoptosis of colorectal cancer SW480 cells.

METHODS

After SW480 cells were treated with RAE, cell proliferation was detected by MTT assay, apoptosis was detected by flow cytometry, and the protein expression levels of Cyclin D1, cleaved Caspase-3, and ARPP19 were detected by Western blot. The expression of miR-192-5p and ARPP19 mRNA in cells was detected by RT-qPCR. miR-192-5p mimic or ARPP19 small interfering RNA was transfected into SW480 cells, and then the above methods were used to observe the effects of over-expressing miR-192-5p or inhibiting ARPP19 on cell proliferation, apoptosis, and the protein expression of

CyclinD1 and cleaved Caspase-3 in SW480 cells. The regulatory relationship between miR-192-5p and ARPP19 was verified by the dual luciferase reporter gene assay.

RESULTS

RAE decreased the survival rate of SW480 cells and the expression of ARPP19 mRNA and protein ($P < 0.05$), but increased the apoptosis rate of SW480 cells and the expression of cleaved Caspase-3 protein and miR-192-5p ($P < 0.05$). Over-expressing miR-192-5p or inhibiting ARPP19 expression could decrease the survival rate of SW480 cells and the expression of CyclinD1 protein ($P < 0.05$), but increase the apoptosis rate of SW480 cells and the expression of cleaved Caspase-3 protein ($P < 0.05$). miR-192-5p negatively regulated the expression of ARPP19 in SW480 cells. Inhibiting miR-192-5p reversed the effects of RAE on proliferation, apoptosis, and the protein expression of CyclinD1 and cleaved Caspase-3 in SW480 cells. Inhibiting ARPP19 reversed the effects of inhibiting miR-192-5p on proliferation, apoptosis, and the protein expression of CyclinD1 and cleaved Caspase-3 of SW480 cells treated with RAE.

CONCLUSION

RAE inhibits the proliferation of colorectal cancer SW480 cells and promotes apoptosis, and its mechanism of action is related to the regulation of the miR-192-5p/ARPP19 axis.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Colorectal cancer; Radix Actinidiae extract; miR-192-5p; cAMP-regulated phosphoprotein 19; Cell proliferation; Apoptosis

Citation: Xu WS, Ke F, Xu Y, Zheng Y. Radix Actinidiae extract affects proliferation and apoptosis of colorectal cancer cells by regulating miR-192-5p/ARPP19. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2021; 29(8): 398-406

URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i8/398.htm

DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i8.398

摘要

背景

藤梨根提取物(rattan root extract, RRE)可抑制胃癌、肺癌等肿瘤细胞增殖, 具有一定抗肿瘤作用, 但其是否影响结直肠癌细胞的恶性表型还未知. miR-192-5p在结直肠癌组织中表达降低, 且其低表达与肿瘤大小等临床病理特征相关, 可作为结直肠癌诊治的潜在生物学标志物. StarBase生物信息学软件预测显示, 环腺苷酸调节的磷酸化蛋白19(cAMP-regulated phosphoprotein 19, ARPP19)可能是miR-192-5p的靶基因. 本研究假设RRE可通过调控miR-192-5p/ARPP19轴影响结直肠癌细胞增殖和凋亡.

目的

探讨RRE对结直肠癌SW480细胞增殖和凋亡的影响及作用机制.

方法

RRE干预SW480细胞后, MTT检测细胞增殖, 流式细胞术检测细胞凋亡, 蛋白质印迹法检测细胞中CyclinD1、C-caspase-3和ARPP19蛋白水平, RT-qPCR检测细胞中miR-192-5p和ARPP19 mRNA水平. 转染miR-192-5p模拟物或ARPP19小干扰RNA至SW480细胞, 上述相同方法观察过表达miR-192-5p或抑制ARPP19表达对SW480细胞增殖、凋亡及CyclinD1和C-caspase-3蛋白表达的影响. 双荧光素酶报告基因实验验证miR-192-5p和ARPP19调控关系.

结果

RRE可降低SW480细胞存活率及ARPP19 mRNA和蛋白的表达($P<0.05$), 增加SW480细胞凋亡率及C-caspase-3蛋白和miR-192-5p的表达($P<0.05$). 过表达miR-192-5p或抑制ARPP19表达均可降低SW480细胞存活率及CyclinD1蛋白表达($P<0.05$), 而提高SW480细胞凋亡率及C-caspase-3蛋白表达($P<0.05$). miR-192-5p在SW480细胞中靶向负调控ARPP19表达. 抑制miR-192-5p表达可逆转RRE对SW480细胞增殖、凋亡及CyclinD1和C-caspase-3蛋白表达的影响. 抑制ARPP19表达可逆转抑制miR-192-5p表达对RRE处理的SW480细胞增殖、凋亡及CyclinD1和C-caspase-3蛋白表达的影响.

结论

RRE可有效抑制结直肠癌SW480细胞增殖, 促进细胞凋亡, 其作用机制与调miR-192-5p/ARPP19轴有关.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 结直肠癌; 藤梨根提取物; miR-192-5p; 环腺苷酸调节的磷酸化蛋白19; 细胞增殖; 凋亡

核心提要: 藤梨根提取物可降低结直肠癌SW480细胞的增殖能力, 并诱导细胞凋亡, 其可能通过上调miR-192-5p进而抑制ARPP19的表达发挥作用.

文献来源: 徐万苏, 柯飞, 许怡, 郑艺. 藤梨根提取物通过调控miR-192-5p/ARPP19轴影响结直肠癌细胞的增殖和凋亡. 世界华人消化杂志 2021; 29(8): 398-406

URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i8/398.htm

DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i8.398

0 引言

结直肠癌是常见的恶性肿瘤, 发病率在所有恶性肿瘤中

排名第三位, 死亡率居第四位严重威胁人类生命健康[1,2]. 目前, 结直肠癌的发病机制尚未明确且缺乏有效的治疗药物, 探讨其发生发展的分子机制, 并寻找用于治疗该肿瘤的药物和分子靶点具有积极意义. 藤梨根是猕猴桃科猕猴桃属软枣猕猴桃的根, 具有清热利湿、祛风除痹、解毒消肿、止血的功效. 近年来研究显示, 藤梨根提取物(rattan root extract, RRE)具有抗肿瘤功效, 是肿瘤治疗的潜在药物. 党辉等[3]研究显示, RRE可通过干预胃癌SGC7901细胞周期和凋亡抑制SGC7901细胞的增殖, 发挥抗肿瘤作用. 孙雪飞等[4]研究显示, RRE可通过阻滞细胞周期和诱导细胞凋亡抑制人肺癌A549细胞生长. 目前, RRE是否发挥抗结肠癌的作用还未知. 微小RNA (microRNA, miRNA)可调控其靶基因的表达, 参与细胞的生长、分化、凋亡等生命过程, 可作为肿瘤治疗的分子靶点[5]. 研究显示, miR-192-5p在结直肠癌组织和细胞系中表达降低, 与肿瘤大小等临床病理特征相关, 是结直肠癌诊治的潜在生物学标志物[6,7]. StarBase生物信息学软件预测显示, 环腺苷酸调节的磷酸化蛋白19 (cAMP-regulated phosphoprotein 19, ARPP19)可能是miR-192-5p的靶基因. ARPP19可通过抑制蛋白磷酸酶2A来调节有丝分裂, 其高表达可能与肿瘤细胞的恶性行为有关[8]. 因此, 本研究以结直肠癌SW480细胞为研究对象, miR-192-5p/ARPP19轴为切入点, 探讨了RRE对SW480细胞增殖和凋亡及可能的分子机制, 以期为结直肠癌的治疗提供新途径.

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 RRE制备: 藤梨根(河南中医药大学第一附属医院中药房)干燥后, 粉碎, 过200目筛. 准确称取500 g藤梨根粉, 加入2000 mL正丁醇, 60 ℃回流24 h, 过滤. 滤渣再次回流, 将两次滤液合并, 旋转蒸发回收正丁醇至膏状, 真空干燥后研磨至粉末. 经检测提取物(RRE)主要成分为三萜类化合物.

1.1.2 细胞和试剂: SW480细胞系, 中国科学院上海细胞库; 胎牛血清(FBS)、RPMI 1640培养基和四甲基噻唑蓝(MTT), 北京索莱宝; Lipofectamine™ 2000试剂盒, 美国Invitrogen公司; 鼠抗人细胞周期蛋白D1(CyclinD1)和活化的半胱天冬酶-3(C-caspase-3)抗体, 美国Santa Cruz公司; 重组人cAMP调节磷蛋白(ARPP19)抗体, 南京莱富赛生物科技有限公司; PCR引物、miR-192-5p模拟物(mimics)和抑制剂(anti-miR-192-5p)及对照序列miR-NC和anti-miR-NC、ARPP19小干扰RNA(si-ARPP19)及乱序无意义阴性序列(si-NC), 上海吉凯基因公司; Trizol试剂和逆转录试剂盒和PCR试剂盒, 日本TAKARA公司; Annexin V-FITC/PI细胞凋亡试剂盒, 二喹啉甲酸(BCA)蛋白检测试剂盒和双荧光素酶活性检测试剂盒, 上海碧云天.

1.2 方法

1.2.1 细胞培养和转染: SW480细胞复苏后, 用含10% FBS的RPMI 1640培养基培养. 调整对数生长期的SW480细胞浓度为2.5×10^{4}个/mL, 以2.5 mL/孔接种于6孔板中. 采用Lipofectamine™ 2000脂质体法, 分别转染miR-192-5p mimics、miR-NC、anti-miR-192-5p、anti-miR-NC、si-ARPP19、si-NC、anti-miR-192-5p与si-ARPP19、anti-miR-192-5p与si-NC. 转染12 h, 更换培养基, 再培养24 h, 收集细胞备用.

1.2.2 细胞分组: 未转染的SW480细胞分为对照组(NC组)和不同剂量RRE组, 其中NC组细胞正常培养; RRE组细胞分别用含50、100、200、400 μg/mL[3] RRE的培养基培养24 h. 转染miR-192-5p、miR-NC、si-ARPP19、si-NC的SW480细胞用不含RRE的培养基培养24 h, 分别记为miR-192-5p组、miR-NC组、si-ARPP19、si-NC组. 转染anti-miR-192-5p、anti-miR-NC、共转染anti-miR-192-5p与si-ARPP19、anti-miR-192-5p与si-NC的SW480细胞均用含200 μg/mL RRE的培养基培养24 h, 分别记为, RRE+anti-miR-192-5p组、RRE+anti-miR-NC组、RRE+anti-miR-192-5p+si-ARPP19组、RRE+anti-miR-192-5p+si-NC组.

1.2.3 MTT检测细胞增殖: 调整细胞浓度为1.0×10^{5}个/mL, 以200 μL/孔接种于96孔板中. 按1.3.2分组处理, 培养后, 加20 μL MTT (5 mg/mL). 再孵育4 h, 弃培养基, 加150 μL二甲基亚砜, 酶标仪490 nm测吸光度值(A). 存活率(%) = $A_{实验组}/A_{对照组}$×100%.

1.2.4 流式细胞仪检测细胞凋亡: 调整细胞浓度为1.0×10^{5}个/mL, 以1.0 mL/孔接种于24孔板中. 按1.3.2分组处理, 培养后, 收集细胞, 参照Annexin V-FITC/PI试剂盒说明书, 用流式细胞仪检测细胞凋亡.

1.2.5 RT-qPCR检测细胞中miR-192-5p和ARPP19 mRNA水平: 细胞接种和处理同1.3.4, 培养结束后, Trizol试剂提取总RNA, 逆转录为cDNA, 行PCR扩增. 引物序列: miR-192-5p上游5'-GCCGCGGTACGTCGAGCAA-3', 下游5'-CCGTAGCCGAAGTAAAGTA-3'; ARPP19上游5'-GCCTGGAGGTTCAGATTTCTTA-3', 下游5'-CACCAGTGACCTCCGTCTTAT-3'; GAPDH上游5'-GCTGGCGCTGAGTACGTCGTGGAGT-3', 下游5'-CACAGTCTTCTGGGTGGCA GTGA-3'; U6上游5'-TGTCCGTAGCTGAAACGACAC-3', 下游5'-CCGTAAAGCTGCCCG CTGACGC-3'. $2^{-\triangle\triangle Ct}$法计算miR-192-5p相对于内参U6、ARPP19 mRNA相对于内参

GAPDH的表达水平.

1.2.6 Western Blot法检测ARPP19、CyclinD1和C-caspase-3蛋白表达水平: 细胞接种和处理同1.2.4, 培养结束后, RIPA试剂提取细胞中总蛋白, 经BCA法定量、10% SDS-PAGE电泳、转膜、5%脱脂奶粉封闭后, 分别加ARPP19(稀释度1:500)、CyclinD1(稀释度1:600)、C-caspase-3(稀释度1:400)一抗体, 4 ℃孵育过夜. 加山羊抗兔二抗(稀释度1:2000), 室温孵育1 h. 加化学发光试剂, 避光显影后曝光拍照.

1.2.7 双荧光素酶报告基因实验: 调整对数生长期的SW480细胞浓度为2.5×10^{4}个/mL, 以2.5 mL/孔接种于6孔板中. 采用Lipofectamine™ 2000脂质体法, 分别共转染WT-ARPP19与miR-192-5p mimic或miR-NC、MUT-ARPP19与miR-192-5p mimic或miR-NC. 转染12 h, 更换培养基, 再培养24 h, 收集细胞. 参照双荧光素酶活性检测试剂盒操作说明, 检测荧光素酶活性.

统计学处理 SPSS 22.0软件分析实验数据. 符合正态分布的计量资料以mean±SD表示. 两组间比较用独立样本*t*检验; 多组间比较用单因素方差分析, 进一步两两比较采用SNK-*q*检验. 以*P*<0.05表示差异有统计学意义.

2 结果

2.1 RRE对结直肠癌SW480细胞增殖的影响 与NC组比较, 不同浓度(50、100、200、400 μg/mL)的RRE作用SW480细胞后, 细胞存活率降低(*P*<0.05). 由于200 μg/mL的RRE对SW480细胞抑制率接近50%, 因此选择RRE浓度为200 μg/mL进行后续实验. 见表1.

2.2 RRE对结直肠癌SW480细胞凋亡的影响 与NC组比较, 200 μg/mL RRE作用SW480细胞后, 细胞凋亡率、C-caspase-3蛋白表达升高(*P*<0.05). 见图1、表2.

2.3 RRE对结直肠癌SW480细胞miR-192-5p和ARPP19表达的影响 与NC组比较, 200 μg/mL RRE作用SW480细胞后, 细胞中miR-192-5p表达升高(*P*<0.05), ARPP19 mRNA和蛋白的表达降低(*P*<0.05). 见图2、表3.

2.4 miR-192-5p过表达对结直肠癌SW480细胞增殖和凋亡的影响 与miR-NC组比较, miR-192-5p组SW480细胞中miR-192-5p表达升高(*P*<0.05), 细胞存活率、CyclinD1蛋白表达降低(*P*<0.05), 凋亡率、C-caspase-3蛋白表达升高(*P*<0.05). 见图3和表4.

2.5 抑制ARPP19表达对结直肠癌SW480细胞增殖和凋亡的影响 与si-NC组比较, si-ARPP19组SW480细胞中ARPP19蛋白表达降低(*P*<0.05), 细胞存活率、CyclinD1蛋白表达降低(*P*<0.05), 凋亡率、C-caspase-3蛋白表达升高(*P*<0.05). 见图4、表5.

表 1 MTT法检测不同浓度藤梨根提取物对SW480细胞增殖的影响(mean ± SD, *n* = 9)

组别		存活率(%)
NC组		100.00 ± 10.57
RRE	50 μg/mL	90.13 ± 9.02[a]
	100 μg/mL	76.02 ± 7.61[a]
	200 μg/mL	51.13 ± 5.10[a]
	400 μg/mL	30.04 ± 4.02[a]
F		125.276
P		0.000

与NC组比较, [a]*P*<0.05, RRE: 藤梨根提取物.

表 2 藤梨根提取物对SW480细胞凋亡的影响(mean ± SD, *n* = 9)

组别	C-caspase-3	凋亡率(%)
NC	0.35 ± 0.04	8.43 ± 0.85
200 μg/mL RRE	0.86 ± 0.09[a]	25.76 ± 2.55[a]
t	15.535	19.342
P	0.000	0.000

与NC组比较, [a]*P*<0.05, RRE: 藤梨根提取物.

2.6 miR-192-5p负调控ARPP19表达 ARPP19的3'UTR与miR-192-5p的连续结合位点见图5A. SW480细胞中共转染miR-192-5p mimics与WT-ARPP19后荧光素酶活性降低(0.29±0.03比1.00±0.11, *t* = 18.681, *P*<0.05), 而共转染miR-192-5p mimics与MUT-ARPP19后荧光素酶活性无显著变化(1.07±0.12比1.06±0.10, *t* = 0.192, *P* = 0.850), 说明miR-192-5p可与ARPP19的3'UTR靶向结合. 与miR-NC组比较, miR-192-5p组SW480细胞中ARPP19蛋白水平降低(0.42±0.04比1.04±0.11, *t* = 15.891, *P*<0.05), 而与anti-miR-NC组比较, anti-miR-192-5p组SW480细胞中ARPP19蛋白水平升高(1.25±0.13比1.02±0.12, *t* = 3.900, *P*<0.05), 进一步说明miR-192-5p靶向负调空ARPP19表达. 见图5.

2.7 抑制miR-192-5p可逆转RRE对结直肠癌SW480细胞增殖和凋亡的影响 与RRE+anti-miR-NC组比较, RRE+anti-miR-192-5p组SW480细胞存活率、CyclinD1蛋白表达升高(*P*<0.05), 凋亡率、C-caspase-3蛋白表达降低(*P*<0.05). 见图6和表6.

2.8 抑制ARPP19可以逆转抑制miR-192-5p对RRE处理的结直肠癌SW480细胞增殖和凋亡的影响 与RRE+anti-miR-192-5p+si-NC组比较, RRE+anti-miR-192-5p+si-ARPP19组SW480细胞存活率、CyclinD1蛋白表达降低(*P*<0.05), 凋亡率、C-caspase-3蛋白表达升高

表 3 藤梨根提取物对SW480细胞中miR-192-5p和ARPP19表达的影响(mean ± SD, n = 9)

组别	miR-192-5p	ARPP19 mRNA	ARPP19蛋白
NC	1.00 ± 0.11	1.02 ± 0.12	1.05 ± 0.13
200 μg/mL RRE	3.24 ± 0.32[a]	0.34 ± 0.03[a]	0.40 ± 0.04[a]
t	19.859	16.492	14.337
P	0.000	0.000	0.000

与NC组比较, [a]P<0.05, RRE: 藤梨根提取物.

表 4 miR-192-5p过表达对SW480细胞增殖和凋亡的影响(mean ± SD, n = 9)

组别	miR-192-5p	CyclinD1	C-caspase-3	存活率(%)	凋亡率(%)
miR-NC	1.00 ± 0.12	0.86 ± 0.09	0.38 ± 0.04	100.24 ± 10.02	8.38 ± 0.84
miR-192-5p	2.96 ± 0.29[a]	0.32 ± 0.03[a]	0.99 ± 0.10[a]	62.19 ± 6.22[a]	22.16 ± 2.21[a]
t	18.735	17.076	16.991	9.679	17.485
P	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

与NC组比较, [a]P<0.05.

表 5 抑制ARPP19表达对SW480细胞增殖和凋亡的影响(mean ± SD, n = 9)

组别	ARPP19	CyclinD1	C-caspase-3	存活率(%)	凋亡率(%)
si-NC	1.08 ± 0.11	0.86 ± 0.09	0.37 ± 0.04	100.89 ± 10.08	8.40 ± 0.84
si-ARPP19	0.42 ± 0.04[a]	0.33 ± 0.03[a]	0.95 ± 0.10[a]	53.07 ± 5.31[a]	27.43 ± 2.75[a]
t	16.916	16.760	16.155	12.592	19.854
P	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

与si-NC组比较, [a]P<0.05.

表 6 抑制miR-192-5p可逆转藤梨根提取物对SW480细胞增殖和凋亡的影响(mean ± SD, n = 9)

组别	miR-192-5p	CyclinD1	C-caspase-3	存活率(%)	凋亡率(%)
RRE+anti-miR-NC	1.00 ± 0.12	0.38 ± 0.04	0.88 ± 0.09	51.86 ± 5.18	25.69 ± 2.56
RRE+anti-miR-192-5p	0.45 ± 0.05[a]	0.77 ± 0.08[a]	0.42 ± 0.04[a]	89.33 ± 8.93[a]	12.66 ± 1.26[a]
t	12.692	13.081	14.012	10.889	13.700
P	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

与RRE+anti-miR-NC组比较, [a]P<0.05, RRE: 藤梨根提取物.

(P<0.05). 见图7和表7.

3 讨论

结直肠癌的治疗通常辅助化疗、放疗等治疗, 但化疗药物通常存在较大的副作用, 且疗效不佳[9]. 近年来, 中药及其活性成分因毒副作用小、药效强, 其在肿瘤治疗中的作用备受关注. RRE是从中药藤梨根提取而来, 研究显示, RRE可能通过胃癌SGC-7901细胞Bcl-2蛋白水平的表达促进SGC-7901细胞凋亡[10]; RRE可通过抑制PI3K/Akt通路的激活抑制人肺癌细胞A549增殖. 这说明RRE具有抗肿瘤的作用. Caspase级联反应参与调控细胞凋亡, 而caspase-3是caspase级联反应的关键调控蛋白, 其活化后剪切下游分子, 进而诱导细胞凋亡[11]. 本研究显示, RRE作用SW480细胞后, 细胞存活率降低, 而凋亡率及细胞中C-caspase-3蛋白表达升高, 表明RRE可能通过调控caspase级联反应来抑制SW480细胞增殖及促进细胞凋亡, 发挥抗结直肠癌作用.

miR-192-5p是一种miRNA, 参与多种肿瘤的发生发

表 7　抑制ARPP19可以逆转抑制miR-192-5p对藤梨根提取物处理的SW480细胞增殖和凋亡的影响(mean ± SD, n = 9)

组别	ARPP19	CyclinD1	C-caspase-3	存活率(%)	凋亡率(%)
RRE+anti-miR-192-5p+si-NC	0.98 ± 0.10	0.78 ± 0.08[a]	0.40 ± 0.04[a]	90.02 ± 9.01[a]	12.53 ± 1.25[a]
RRE+anti-miR-192-5p+si-ARPP19	0.52 ± 0.05[a]	0.46 ± 0.05[a]	0.75 ± 0.08[a]	62.39 ± 6.24[a]	23.68 ± 2.37[a]
t	12.343	10.176	11.739	7.563	12.484
P	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

与RRE+anti-miR-192-5p+si-NC组比较, [a]P<0.05, RRE: 藤梨根提取物.

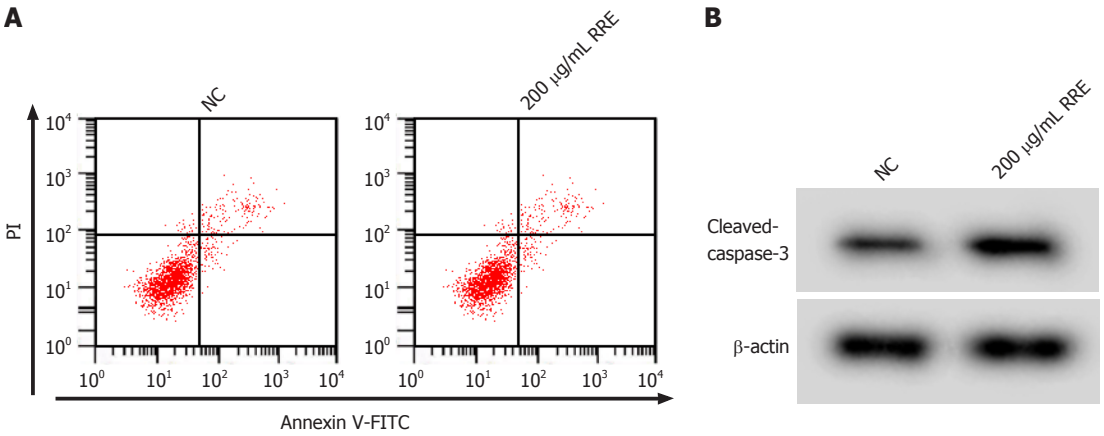


图 1　藤梨根提取物(rattan root extract, RRE)对SW480细胞凋亡的影响. A: 流式细胞仪检测RRE对SW480细胞凋亡的影响; B: RRE对SW480细胞中C-caspase-3蛋白表达的影响.

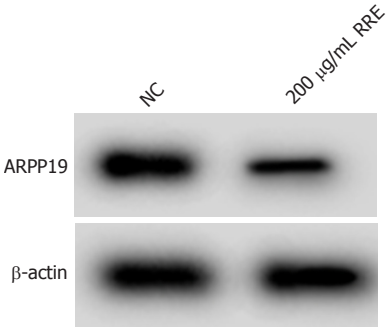


图 2　藤梨根提取物对SW480细胞中ARPP19蛋白表达的影响.

展. Zhu等[12]研究显示, miR-192-5p在肝癌组织中表达降低, 过表达miR-192-5p通过靶向甲状腺激素受体相互作用因子13对肝癌细胞增殖、迁移和侵袭发挥抑制作用, 而对其上皮-间质转化起促进作用, 为肝癌的治疗提供了新的作用靶点. Zou等[13]研究显示, miR-192-5p在胰腺癌组织和患者血清表达上调, 血清miR-192-5p可用于胰腺癌的早期诊断. 这说明miR-192-5p在不同肿瘤中发挥的作用不同, 即可作为抑癌基因抑制肿瘤发展进程, 又可作为促癌基因促进肿瘤发展进程. 吴巍芸等[14]研究显示, 过表达miR-192可抑制结直肠癌SW480细胞的迁移和侵袭. 本研究显示, 转染miR-192-5p mimics对阻碍SW480细胞增殖, 并加剧其凋亡, 提示miR-192-5p在结直肠癌中起抑癌基因作用, 其可能是结直肠癌治疗的分子靶点. Jin等[15]研究显示, 姜黄素可通过上调miR-192-5p表达减弱非小细胞肺癌细胞的增殖能力及促进细胞凋亡. 本研究显示显示, RRE可促进结直肠癌SW480细胞中miR-192-5p表达, 抑制miR-192-5p表达逆转了RRE对SW480细胞增殖、凋亡及CyclinD1和C-caspase-3蛋白表达的影响, 说明RRE通过上调细胞中miR-192-5p表达发挥抗结直肠癌作用.

为了进一步探讨RRE通过上调细胞中miR-192-5p表达发挥抗结直肠癌作用的机制, 本研究还证实了miR-192-5p在SW480细胞中靶向负调控ARPP19表达. 研究显示, 甲状腺乳头状癌细胞中ARPP19表达升高, 上调miR-26a通过靶向抑制ARPP19阻碍甲状腺乳头状癌细胞增殖[16]; ARPP19表达水平与肝细胞癌肿瘤大小成正比, 抑制ARPP19表达可降低肝细胞癌细胞HepG2和SMMC-7721的生长速率[17]; 抑制miR-320表达通过上调ARPP19促进乳腺癌MCF-7细胞的生长[18]. 目前, ARPP19在结直肠癌中发挥的作用还未知. 本研究显示, 抑制ARPP19表达可抑制结直肠癌细胞增殖, 并促进细胞凋亡, 说明ARPP19作为促癌基因参与结直肠癌的发生发展, 抑制其表达可有效缓解结直肠癌的发展进程,

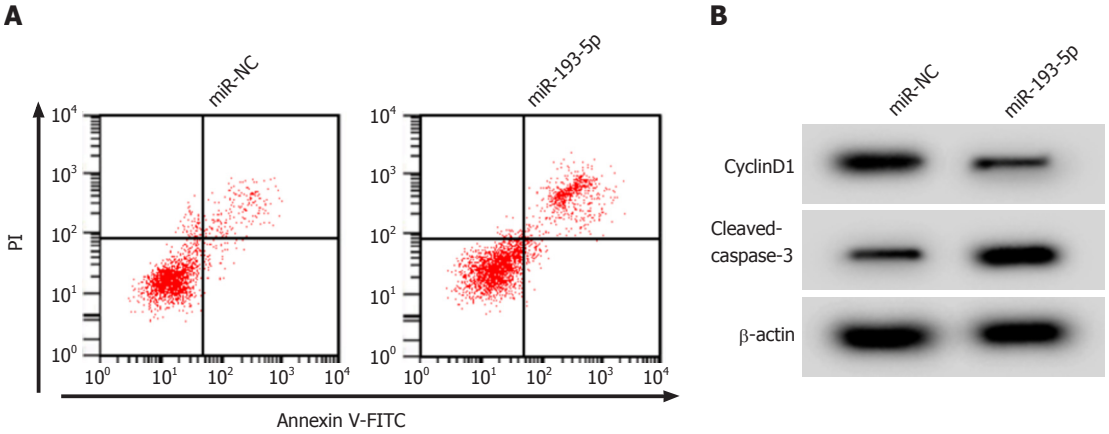


图 3　miR-192-5p过表达后SW480细胞凋亡及CyclinD1、C-caspase-3蛋白表达. A: 流式细胞仪检测细胞miR-192-5p过表达后SW480细胞凋亡; B: Western blot检测miR-192-5p过表达后SW480细胞中CyclinD1、C-caspase-3蛋白表达.

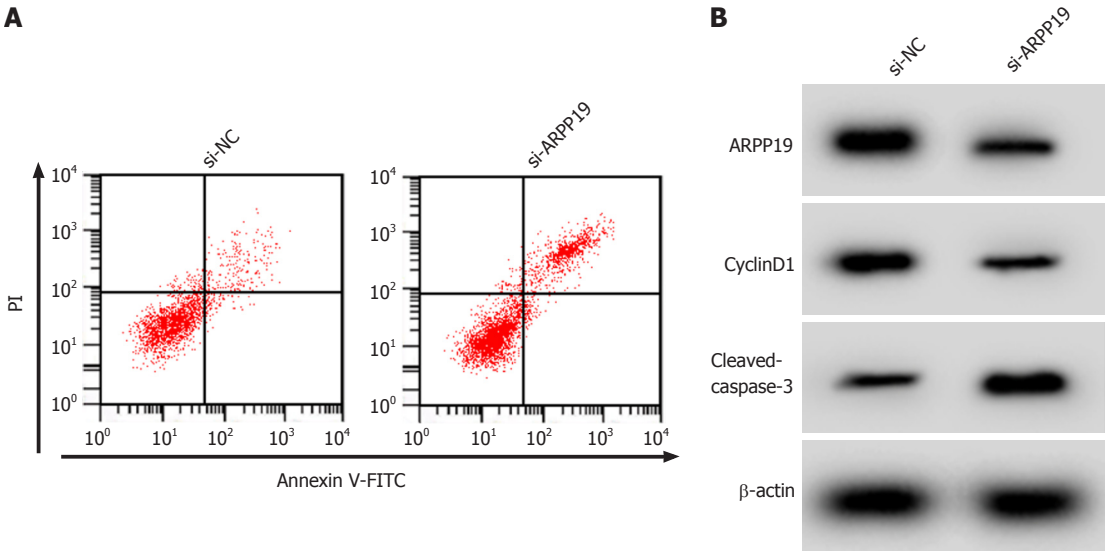


图 4　抑制ARPP19表达后SW480细胞凋亡及细胞中ARPP19、CyclinD1、C-caspase-3蛋白表达. A: 流式细胞仪检测抑制ARPP19表达后SW480细胞凋亡; B: Western blot检测抑制ARPP19表达后SW480细胞中ARPP19、CyclinD1、C-caspase-3蛋白表达.

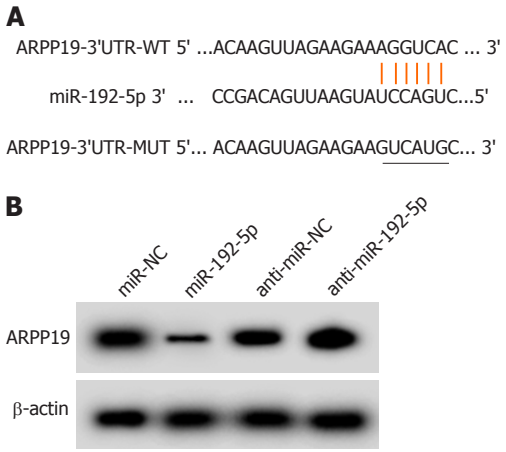


图 5　miR-192-5p靶向调控ARPP19的表达. A: 通过TargetScan对miR-192-5p和ARPP19结合进行预测示意图; B: Western blot检测ARPP19蛋白的表达.

对改善患者预后有积极帮助. 本研究还显示, RRE可抑制结直肠癌SW480细胞中ARPP19表达, 抑制ARPP19表达可逆转抑制miR-192-5p表达对RRE处理的SW480细胞增殖、凋亡及CyclinD1和C-caspase-3蛋白表达的影响, 进一步说明RRE通过上调细胞中miR-192-5p表达, 进而下调ARPP19表达发挥抗结直肠癌作用.

4 结论

综上, RRE可阻碍结直肠癌SW480细胞增殖, 而诱导其凋亡, 作用机制可能与调控miR-192-5p/ARPP19轴有关, 具有治疗结直肠癌的潜在价值. 本研究接下来将通过动物实验进一步探讨RRE对体内结肠癌肿瘤生长和转移的影响及其他作用机制, 以期为其用于临床治疗提供实验依据.

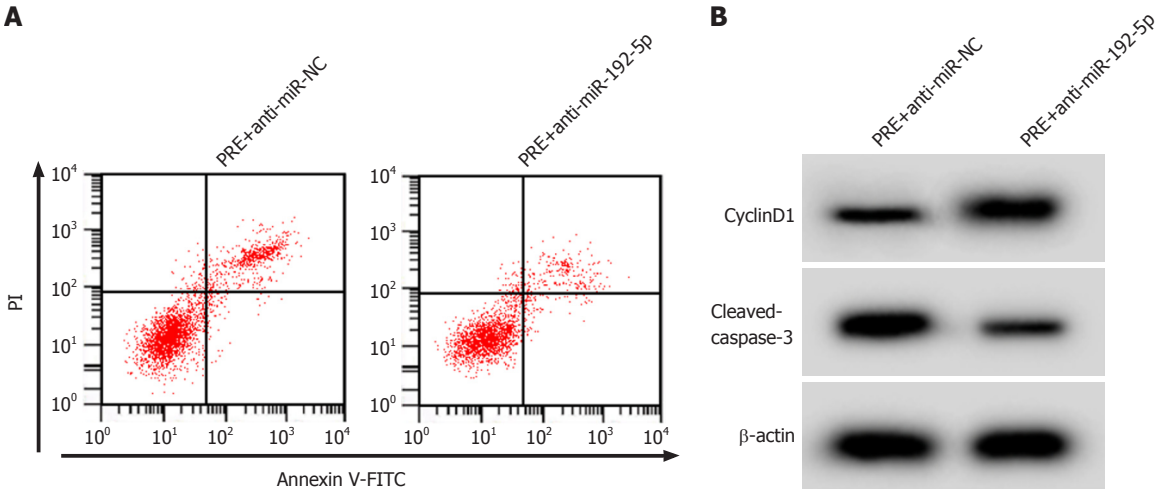


图 6　抑制miR-192-5p可逆转RRE对SW480细胞增殖和凋亡的影响. A: 流式细胞仪检测抑制miR-192-5p对RRE处理的SW480细胞凋亡的影响; B: Western blot检测抑制miR-192-5p对RRE处理的SW480细胞中CyclinD1、C-caspase-3蛋白表达的影响.

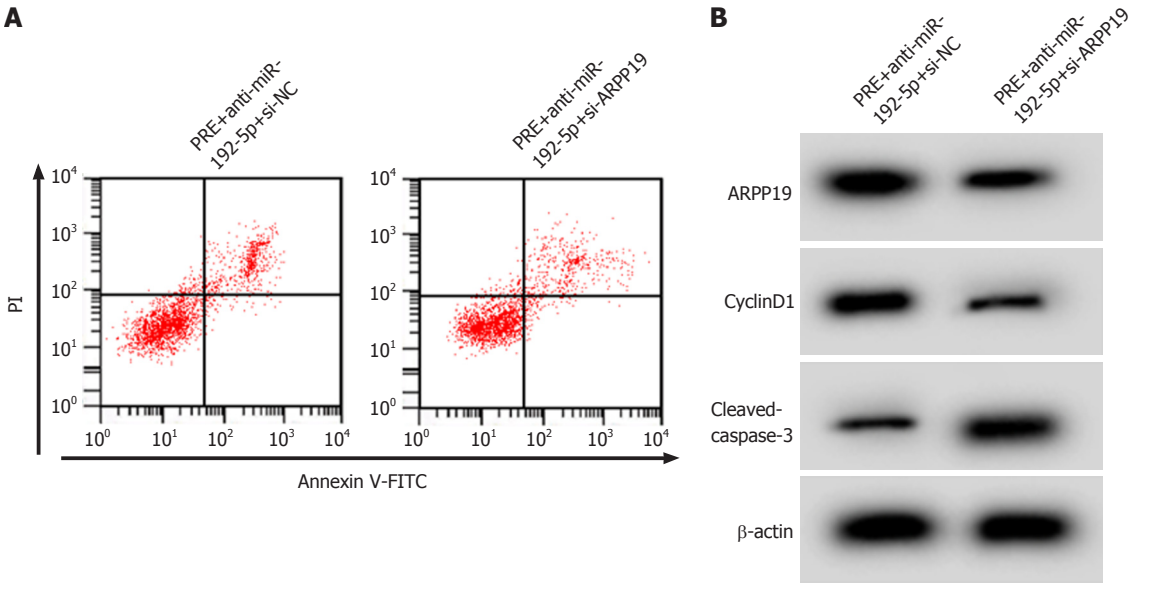


图 7　抑制ARPP19可以逆转抑制miR-192-5p对藤梨根提取物(rattan root extract, RRE)处理的SW480细胞增殖和凋亡的影响. A: 流式细胞仪检测抑制ARPP19和miR-192-5p对RRE处理的SW480细胞凋亡的影响; B: Western blot检测抑制ARPP19和miR-192-5p对RRE处理的SW480细胞中ARPP19、CyclinD1、C-caspase-3蛋白表达的影响.

文章亮点

实验背景

结直肠癌的发病机制尚未明确, 且缺乏有效的治疗药物. 藤梨根提取物(rattan root extract, RRE)具有一定抗胃癌和肺癌作用, 但其是否影响结直肠癌发生发展还未知. 本研究探究RRE对结直肠癌细胞增殖和凋亡的影响及可能机制, 以期为结直肠癌的治疗提供新途径.

实验动机

本研究的主题是RRE是否影响结直肠癌细胞增殖和凋亡及其能否调控miR-192-5p/ARPP19轴发挥作用, 目前是为了探究RRE是否发挥抗结直肠癌作用及其可能的作用机制.

实验目标

本研究的主要目标是探讨RRE是否具有抗结直肠癌作用及其可能的作用机制, 通过体外细胞实验明确RRE可能通过调控miR-192-5p/ARPP19轴抑制结直肠癌细胞增殖, 并促进细胞凋亡, 以期为其用于结直肠癌的治疗提供一定的实验依据.

实验方法

本研究采用MTT检测细胞增殖, 流式细胞术检测细胞

凋亡, 蛋白质印迹法检测细胞中CyclinD1、C-caspase-3和ARPP19蛋白水平, RT-qPCR检测细胞中miR-192-5p和ARPP19 mRNA水平. 双荧光素酶报告基因实验验证miR-192-5p和ARPP19靶向调控关系.

实验结果

本研究结果表明RRE可抑制结直肠癌细胞增殖, 并促进其凋亡, 在一定程度上发挥抗结直肠癌作用. 同时, RRE促进结直肠癌细胞中miR-192-5p表达而抑制ARPP19表达. 过表达miR-192-5p或抑制ARPP19均可降低结直肠癌细胞的增殖能力, 并促进细胞凋亡, 且miR-192-5p靶向负调控ARPP19.

实验结论

本研究首次发现RRE可抑制结直肠癌细胞增殖, 并加剧细胞凋亡, 其作用机制可能与调控miR-192-5p/ARPP19轴有关, 具有治疗结直肠癌的潜在价值.

展望前景

本研究存在不足之处, 仅在体外细胞层面进行了探究, 尚未通过动物实验在体内探究RRE的抗结直肠癌作用, 接下来将通过裸鼠移植瘤实验进一步在体内验证RRE对结直肠癌发生发展的影响及潜在机制, 以期为结直肠癌的治疗提供新途径.

5 参考文献

1 郑晓芳, 刘坤祥. 结直肠癌应用他汀类药物治疗作用机制的研究进展. 现代肿瘤医学 2017; 25: 3716-3719 [DOI: 10.3969/j.issn.1672-4992.2017.22.042]

2 王雅坤, 王晰程(综述), 沈琳. 结直肠癌脑转移的临床特征及诊断治疗. 中国肿瘤临床 2016; 43: 962-966 [DOI: 10.3969/j.issn.1000-8179.2016.21.811]

3 党辉, 牟宗玲, 宋锐, 王涛, 关徐涛, 高萍. 藤梨根提取物对人胃癌SGC7901细胞增殖抑制的影响. 中国老年学杂志 2017; 37: 786-788 [DOI: 10.3969/j.issn.1005-9202.2017.04.003]

4 孙雪飞, 裴艳涛, 杨国涛, 尹秋伟, 吴铭生. 藤梨根提取物对肺癌A549细胞凋亡及细胞周期的影响. 中国老年学杂志 2011; 31: 4001-4004 [DOI: 10.3969/j.issn.1005-9202.2011.20.059]

5 Mao Y, Liu R, Zhou H, Yin S, Zhao Q, Ding X, Wang H. Transcriptome analysis of miRNA-lncRNA-mRNA interactions in the malignant transformation process of gastric cancer initiation. *Cancer Gene Ther* 2017; 24: 267-275 [PMID: 28524153 DOI: 10.1038/cgt.2017.14]

6 Zhao H, Chen J, Chen J, Kong X, Zhu H, Zhang Y, Dong H, Wang J, Ren Q, Wang Q, Chen S, Deng Z, Chen Z, Cui Q, Zheng J, Lu J, Wang S, Tan J. miR-192/215-5p act as tumor suppressors and link Crohn's disease and colorectal cancer by targeting common metabolic pathways: An integrated informatics analysis and experimental study. *J Cell Physiol* 2019; 234: 21060-21075 [PMID: 31020657 DOI: 10.1002/jcp.28709]

7 Chiang Y, Song Y, Wang Z, Liu Z, Gao P, Liang J, Zhu J, Xing C, Xu H. microRNA-192, -194 and -215 are frequently downregulated in colorectal cancer. *Exp Ther Med* 2012; 3: 560-566 [PMID: 22969930 DOI: 10.3892/etm.2011.436]

8 Gharbi-Ayachi A, Labbé JC, Burgess A, Vigneron S, Strub JM, Brioudes E, Van-Dorsselaer A, Castro A, Lorca T. The substrate of Greatwall kinase, Arpp19, controls mitosis by inhibiting protein phosphatase 2A. *Science* 2010; 330: 1673-1677 [PMID: 21164014 DOI: 10.1126/science.1197048]

9 王安华. 忐苓胶囊联合FOLFOX6方案治疗老年晚期结直肠癌疗效及对患者免疫功能的影响. 中国药物与临床 2018; 18: 1334-1335 [DOI: 10.11655/zgywylc2018.08.029]

10 白吉庆, 王小平, 叶峥嵘. 藤梨根提取物对人胃癌SGC-7901细胞凋亡及Bcl-2的影响. 陕西中医学院学报 2012; 35: 59-61

11 江流芳, 劳雅琴, 马庆华, 赵宗权. 维生素D受体对高糖环境下足细胞凋亡及Caspase-3活化水平的影响及机制. 中国老年学杂志 2018; 38: 2482-2485 [DOI: 10.3969/j.issn.1005-9202.2018.10.071]

12 Zhu MX, Wei CY, Zhang PF, Gao DM, Chen J, Zhao Y, Dong SS, Liu BB. Elevated TRIP13 drives the AKT/mTOR pathway to induce the progression of hepatocellular carcinoma via interacting with ACTN4. *J Exp Clin Cancer Res* 2019; 38: 409 [PMID: 31533816 DOI: 10.1186/s13046-019-1401-y]

13 Zou X, Wei J, Huang Z, Zhou X, Lu Z, Zhu W, Miao Y. Identification of a six-miRNA panel in serum benefiting pancreatic cancer diagnosis. *Cancer Med* 2019; 8: 2810-2822 [PMID: 31006985 DOI: 10.1002/cam4.2145]

14 吴巍芸, 梁坚, 叶石才, 周宇. MiR-192对结直肠癌细胞ZEB2表达及迁移和侵袭的影响. 肿瘤 2016; 34: 13-18 [DOI: 10.3781/j.issn.1000-7431.2014.01.003]

15 Jin H, Qiao F, Wang Y, Xu Y, Shang Y. Curcumin inhibits cell proliferation and induces apoptosis of human non-small cell lung cancer cells through the upregulation of miR-192-5p and suppression of PI3K/Akt signaling pathway. *Oncol Rep* 2015; 34: 2782-2789 [PMID: 26351877 DOI: 10.3892/or.2015.4258]

16 Gong Y, Wu W, Zou X, Liu F, Wei T, Zhu J. MiR-26a inhibits thyroid cancer cell proliferation by targeting ARPP19. *Am J Cancer Res* 2018; 8: 1030-1039 [PMID: 30034940]

17 Song H, Pan J, Liu Y, Wen H, Wang L, Cui J, Liu Y, Hu B, Yao Z, Ji G. Increased ARPP-19 expression is associated with hepatocellular carcinoma. *Int J Mol Sci* 2014; 16: 178-192 [PMID: 25547487 DOI: 10.3390/ijms16010178]

18 Lü M, Ding K, Zhang G, Yin M, Yao G, Tian H, Lian J, Liu L, Liang M, Zhu T, Sun F. MicroRNA-320a sensitizes tamoxifen-resistant breast cancer cells to tamoxifen by targeting ARPP-19 and ERRγ. *Sci Rep* 2015; 5: 8735 [PMID: 25736597 DOI: 10.1038/srep08735]

科学编辑: 刘继红 制作编辑: 张砚梁

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: https://www.baishideng.com

世界华人消化杂志 2021年4月28日; 29(8): 407-412

DOI: 10.11569/wcjd.v29.i8.407

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

临床研究 CLINICAL RESEARCH

京都胃炎分类在基层医院胃癌筛查中的应用

刘晓明, 唐翔宇, 徐舒佳

刘晓明, 唐翔宇, 徐舒佳, 深圳市蛇口人民医院消化内科 广东省深圳市 510001

刘晓明, 主治医师, 主要从事消化道早癌内镜诊治的研究.

基金项目: 深圳市南山区技术研发和创意设计项目分项资金教育(卫生)科技项目, NO.2020061.

作者贡献分布: 本研究主要由刘晓明设计、数据分析及文章写作, 研究过程由唐翔宇搜集、整理内镜资料, 徐舒佳搜集、整理临床资料.

通讯作者: 刘晓明, 主治医师, 510001, 深圳市南山区工业七路36号, 深圳市蛇口人民医院. 104477350@qq.com

收稿日期: 2021-01-07
修回日期: 2021-02-04
接受日期: 2021-03-27
在线出版日期: 2021-04-28

摘要

背景

胃癌是我国常见的恶性消化系统肿瘤, 其预后与早诊早治密切相关. 我国早期胃癌发现率不足10%, 远低于日本(70%)和韩国(50%). 规范胃镜诊断和寻找适合我国的胃癌筛查方案具有重要意义.

目的

探讨京都胃炎分类在基层医院胃癌筛查中的临床价值.

方法

采用京都胃炎分类对2019-09-2020-11在深圳市蛇口人民医院因消化道症状就诊并符合新的胃癌筛查方案要求的患者进行回顾性分析. 根据京都胃炎分类的分级结果将患者分为三组: 低分组(< 2分), 中分组(≥ 2分但 < 4分), 高分组(≥ 4分). 对三组胃癌检出情况进行对比分析.

结果

共纳入1383例患者, 其中低分组918例(66.4%), 中分组290例(20.9%), 高分组175例(12.7%). 胃癌总检出率为3.54% (49/1383). 三组间胃癌检出率两两比较差异均有统计学意义($P < 0.05$).

Application of Kyoto Classification of Gastritis to gastric cancer screening in a primary hospital

Xiao-Ming Liu, Xiang-Yu Tang, Shu-Jia Xu

Xiao-Ming Liu, Xiang-Yu Tang, Shu-Jia Xu, Department of Gastroenterology, Shekou People's Hospital, Shenzhen 510001, Guangdong Province, China

Supported by: Shenzhen Nanshan District Technology Research and Development and Creative Design Project of Capital Education Science and Technology Project (Health), No. 2020061.

Corresponding author: Xiao-Ming Liu, Attending Physician, Department of Gastroenterology, the People's Hospital of Shenzhen Shekou, No. 36 Industrial Seven Road, Nanshan District, Shenzhen 510001, Guangdong Province, China. 104477350 @qq.com

Received: 2021-01-07
Revised: 2021-02-04
Accepted: 2021-03-27
Published online: 2021-04-28

Abstract

BACKGROUND

Gastric cancer is a common malignant digestive system tumor in China, and its prognosis is closely related to the early diagnosis and treatment. The rate of early gastric cancer is less than 10% in China, which is far less than those in Japan (70%) and Korea (50%). Standardization of gastroscopic diagnosis and finding gastric cancer screening program suitable for China are of great significance.

AIM

To explore the clinical value of Kyoto Classification of Gastritis in gastric cancer screening in primary hospitals.

METHODS

The Kyoto Classification of Gastritisg was used to retrospectively analyze the data of patients who visited Shekou People's Hospital of Shenzhen for digestive symptoms from September 2019 to November 2020 and met the new system for gastric cancer screening requirements. All patients were divided into three groups according to the grading results of the Kyoto Classification of Gastritis: Low-score group (< 2 points), medium-score group (≥ 2 points but < 4 points), and high-score group(≥ 4 points). A comparative analysis was performed on the detection of gastric cancer among the three groups.

RESULTS

A total of 1383 patients were included in this study, including 918 (66.4%) in the low-score group, 290 (20.9%) in the medium-score group, and 175 (12.7%) in the high-score group. The total detection rate of gastric cancer was 3.54% (49/1383). There were significant differences in the detection rates of gastric cancer between any two of the three groups ($P < 0.05$).

CONCLUSION
The Kyoto Classification of Gastritis can significantly improve the detection rate of early gastric cancer and gastric cancer.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Gastric cancer; Kyoto Classification of Gastritis; Early gastric cancer

Citation: Liu XM, Tang XY, Xu SJ. Application of Kyoto Classification of Gastritis to gastric cancer screening in a primary hospital. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2021; 29(8): 407-412
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i8/407.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i8.407

摘要

背景
胃癌是我国常见的消化系统恶性肿瘤, 其预后与诊治时机密切相关, 我国早期胃癌的发现率小于10%, 远远低于日本(70%)和韩国(50%). 规范胃镜诊断标准, 探索适合我国国情的胃癌筛查方案迫在眉睫.

目的
探讨京都胃炎分类标准在基层医院消化内科就诊患者的临床应用价值.

方法
采用京都胃炎分类标准对2019-09/2020-11间因消化系统症状在深圳市蛇口人民医院就诊, 依据《中国早期胃癌筛查流程专家共识意见(草案2017年, 上海)》确定纳入研究对象, 并依据京都胃炎分类评分将纳入患者分为3组, 即低分组(小于2分)、中分组(≥2分, <4分)、高分组(≥4分), 对3组患者的胃癌检出情况进行分析.

结果
共1383例患者纳入本研究, 低分组共918例; 中分组共290例; 高分组175例. 3组患者间的胃癌、早期胃癌检出率两两对比, 差异具有统计学意义(P<0.05).

结论
采用京都胃炎分类评分, 可提高基层医院就诊人群中早期胃癌、胃癌的检出率.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 胃癌; 京都胃炎分类; 早期胃癌

核心提要: 胃癌是我国常见的消化系统恶性肿瘤, 其预后与诊治时机密切相关, 我国早期胃癌的发现率小于10%, 远远低于日本(70%)和韩国(50%). 本研究发现依据京都胃炎分类规范胃镜诊断, 可显著提高我国胃癌、早期胃癌检出率.

文献来源: 刘晓明, 唐翔宇, 徐舒佳. 京都胃炎分类在基层医院胃癌筛查中的应用. 世界华人消化杂志 2021; 29(8): 407-412
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i8/407.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i8.407

0 引言

胃癌是我国常见的消化系统恶性肿瘤, 威胁民众的健康, 且疾病负担重, 是国家癌症防治的重点[1].

胃癌的预后与诊治时机密切相关, 进展期胃癌5年生存率小于30%[2], 早期胃癌的5年生存率大于90%, 甚至可以达到治愈[3], 然而, 我国早期胃癌的发现率小于10%, 远远低于日本(70%)和韩国(50%)[4].

胃镜是发现胃癌的有效手段, 2013年第85届日本消化内镜学会制定《京都胃炎分类》, 规范胃炎内镜表现的记录, 评价胃癌风险, 中文版于2018年我国出版[5], 近期, 日本学者研究证实其可明显提高普通白光胃镜早期胃癌的发现率[6]. 其是否适用于我国临床工作, 目前相关研究甚少. 本研究旨在采用京都胃炎分类, 客观记录白光胃镜下的胃黏膜表现, 依据京都胃炎分类标准评分, 对因消化系统症状在深圳市蛇口人民医院就诊, 并且符合本研究纳入标准的患者资料进行回顾性分析, 旨在探讨京都胃炎分类在基层医院就诊人群中胃癌筛查的应用价值.

1 材料和方法

1.1 材料 2019-09/2020-11期间因消化系统症状如腹痛、腹胀、腹部不适、恶心、呕吐、呕血、黑便、早饱、嗳气、反酸、烧心等在我院完成胃镜检查并在胃镜下留取活组织检查, 其中早期胃癌病例经内镜内镜粘膜下剥离术(endoscopic submucosal dissection, ESD)术后标本病理证实, 胃癌病例均经外科手术标本病理证实.
纳入标准: 依据《中国早期胃癌筛查流程专家共识意见(草案2017年, 上海)》确定本研究纳入对象, 即年龄≥40岁, 且符合下列任一条者: 胃癌高发地区人群; 幽门螺杆菌感染者; 既往患有慢性萎缩性胃炎、胃溃疡、胃息肉、肥厚性胃炎、恶性贫血等胃的癌前疾病; 胃癌患者一级亲属; 存在胃癌其他风险因素(如摄入高盐、腌制饮食、吸烟、重度饮酒等)[7].
排除标准: 严重心肝肾等重要脏器功能障碍无法耐受胃镜检查者; 既往因胃部肿瘤接受过胃部手术者(包括外科手术、ESD、内镜下粘膜切除术(endoscopic

mucosal resection, EMR); 有出血倾向不能活检者[8]. 本研究入组研究对象均知情同意, 并且经我院伦理委员会审核批准.

1.2 方法 本研究所有病例均由从事胃镜年限超过5年, 胃镜单独操作例数超过1000例的高年资医师操作, 并由2名以上熟练掌握京都胃炎分类内镜评分的消化内镜医师进行审核, 所用设备为奥林巴斯290系统及奥林巴斯290胃镜.

1.2.1 白光内镜下京都胃炎分类的观察要点及评分方法: 依据《京都胃炎分类》标准(表1), 客观记录白光内镜下胃黏膜表现包括: 萎缩程度、肠上皮化生、皱襞肿大、鸡皮样改变、弥漫性发红, 依据轻重程度赋予不同分值, 并计算总分(图1).

1.2.2 相关指标定义: 早期胃癌包括高级别上皮内瘤变、黏膜内癌、黏膜下层浸润癌; 未分化癌包括印戒细胞癌、低分化腺癌.

统计学处理 使用SPSS 17.0进行统计分析, 计量资料采用mean±SD表示, 计数资料采用百分比表示, 3组间比较采用χ^2检验进行两两比较, P<0.05为差异有统计学意义.

表 1 京都胃炎分类评分表

变量	分值
萎缩	
C0-C1	0
C2-C3	1
O1-OP	2
肠化	
无	0
胃窦	1
胃窦、胃体	2
弥漫性发红	
无	0
轻度(部分RAC+)	1
高度	2
皱襞肿大	
无	0
有	1
鸡皮样改变	
无	0
有	1
总分	0-8

2 结果

2.1 一般情况 本研究最终共纳入患者1383例, 女性594例, 男性789例, 中位年龄54岁(40-76岁); 依据京都胃炎分类标准, 记录评分结果, 参照Toyoshima等研究[6], 分为3组: 评分<2分为低分组共918例(66.38%); 2≤评分<4分为中分组共290例(20.97%); 评分≥4分为高分组175例(12.65%).

2.2 病变检出情况

2.2.1 幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori, H. pylori*)感染情况: 低分组(评分<2分)共918例, *H. pylori*阳性病例64例(6.97%), 发现胃癌1例, *H. pylori*阴性; 中分组(2≤评分<4分)共290例, *H. pylori*阳性病例163例(56.21%), 共发现胃癌16例, 7例(46.67%)*H. pylori*阳性, 其中早期胃癌1例, 为*H. pylori*除菌后病例; 高分组(评分≥4分)共175例, *H. pylori*阳性病例140例(80.00%), 共发现胃癌32例, 26例(81.25%)*H. pylori*阳性, 其中早期胃癌4例, *H. pylori*均为阳性. 3组患者间的*H. pylori*阳性检出率两两对比, 中、高分组明显高于低分组, 并且, 低分与中分组间、中分与高分组间、低分与高分组间χ^2分别为350.08、516.36、27.22, *H. pylori*阳性病例检出率差异均具有统计学意义(P<0.05).

2.2.2 癌前疾病检出情况: 低分组(评分<2分)共918例, 检出胃黏膜肠上皮化生28例(3.05%), 萎缩性胃炎71例(7.73%); 中分组(2≤评分<4分)共290例, 检出胃黏膜肠上皮化生113例(38.97%), 萎缩性胃炎121例(41.72%); 高分组(评分≥4分)共175例, 检出胃黏膜肠上皮化生148例(84.57%), 萎缩性胃炎158例(90.29%). 3组患者间的胃黏膜肠上皮化生检出率两两对比, 中、高分组明显高于低分组, 并且, 低分与中分组间、中分与高分组间、低分与高分组间χ^2分别为275.73、723.04、92.19, 胃黏膜肠上皮化生检出率差异均具有统计学意义(P<0.05); 3组患者间的萎缩性胃炎检出率两两对比, 中、高分组明显高于低分组, 并且, 低分与中分组间、中分与高分组间、低分与高分组间χ^2分别为190.46、604.79、107.24, 萎缩性胃炎检出率差异均具有统计学意义(P<0.05).

2.2.3 胃癌检出情况: 所有1383例患者中检出胃癌49例, 胃癌检出率为3.54%(49/1383); 各组的胃癌检出率分别为0.11%(1/918)、5.52%(16/290)、18.29%(32/175), 3组患者间的胃癌检出率两两对比, 中、高分组明显高于低分组, 并且, 低分与中分组间、中分与高分组间、低分与高分组间χ^2分别为46.42、19.22、165.85, 胃癌检出率差异均具有统计学意义(P<0.05). 其中早期胃癌5例(高级别上皮内瘤变2例, 粘膜内癌3例), 早期胃癌占所有检出胃癌的10.20%(5/49), 低分组、中分组、高分组早期胃癌检出率分别为0%(0/918), 0.34%(1/290)、2.29%(4/175), 3组患者间的早期胃癌检出率两两对比, 低分与中分组间、中分与高分组间、低分与高分组间χ^2分别为3.17、3.86、21.06, 低分组与高分组间差异具有统计学意义(P<0.05). 本研究中, 就胃癌分化类型、

表 2　京都胃炎分类评分分组后的胃癌检出情况(例)

评分分组	总例数	分期		分化类型		胃癌发生部位			
		早期胃癌	进展期胃癌	未分化型	分化型	胃食管连接处	胃体	胃角	胃窦
低分组	918	0	1(0.11%)	0	1(0.11%)	0	0	0	1(0.11%)
中分组	290	1(0.34%)	15(5.17%)	7(2.41%)	9(3.10%)	0	2(0.69%)	1(0.34%)	13(4.48%)
高分组	175	4(2.29%)	28(16.00%)	10(5.71%)	22(12.57%)	2(1.14%)	6(3.43%)	4(2.29%)	20(11.43%)
合计	1383	5(0.36%)	44(3.18%)	17(1.23%)	32(2.31%)	2(0.14%)	8(0.58%)	5(2.73%)	34(19.43%)

表 3　京都胃炎分类评分分组后的胃癌检出率统计分析结果

评分分组	总例数	胃癌	χ^2	*P*值	早期胃癌	χ^2	*P*值
低分组	918	1(0.11%)	46.42[a]	[a]*P*<0.05	0	3.17[d]	[d]*P*<0.05
中分组	290	16(5.52%)	19.22[b]	[b]*P*<0.05	1(0.34%)	3.86[e]	
高分组	175	32(18.29%)	165.85[c]	[c]*P*<0.05	4(2.29%)	21.06[f]	[f]*P*<0.05
合计	1383	49(3.54%)			5(0.36%)		

胃癌: a为低分与中分组对比; b为中分与高分组对比; c为高分与低分组对比;早期胃癌: d为低分与中分组对比; e为中分与高分组对比; f为高分与低分组对比.

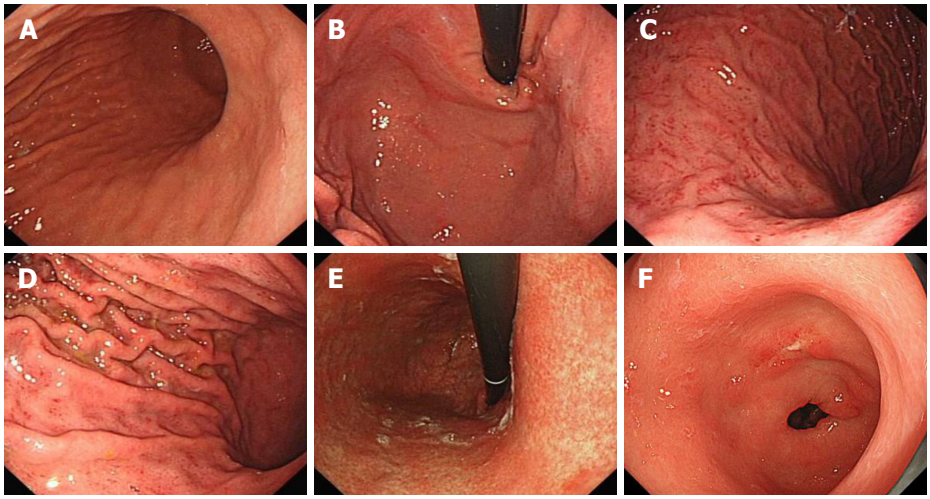


图 1　京都胃炎分类内镜表现评分. A: 正常胃黏膜(评分0); B: 胃底轻度发红(评分1); C: 胃底、体弥漫性发红(评分2); D: 胃体大弯皱襞肿大(评分1); E: 胃体小弯萎缩范围近贲门C3(评分1); F: 胃窦小弯侧高级别上皮内瘤变.

发生部位依据京都胃炎分类评分分组后, 部分组例数为较少, 考虑到研究结果的可信程度, 未进行统计学分析(表2、3).

3　讨论

胃癌是我国常见恶性肿瘤之一, 每年胃癌新发病例67.9万例, 死亡病例49.8万例, 分别约占全球的42.6%、45.0%[9]. 胃癌早发现、早诊断、早治疗对提高胃癌生存率, 降低医疗支出起到至关重要的作用, 然而, 我国目前仍面临人口基数大, 医疗资源分布不均的现状, 因此, 探索一种高效可行的早期胃癌筛查方案迫在眉睫.

本研究依据《中国早期胃癌筛查流程专家共识意见(草案2017年, 上海)》确定纳入研究对象, 并结合日本《京都胃炎分类》客观记录白光胃镜下表现, 将弥漫性发红、皱襞肿大、鸡皮样改变、萎缩、肠化共5项指标赋予不同的权重分值, 计算总分, 依据日本Toyoshima等研究[6]结果进行分组. 本研究通过组间两两比较分析, 中分组、高分组*H. pylori*阳性率、萎缩性胃炎、胃黏膜肠上皮化生及胃癌检出率明显高于低分组, 并且, 3组间两两比较差异具有统计学意义(*P*<0.05), 这与日本学者研究结果一致[6], 与谌黄威[10]和Sugimoto等[11]的研究结果相符. 众所周知, *H. pylori*感染、萎缩性胃炎、胃

黏膜肠上皮化生与胃癌发生密切相关, 本研究结果提示京都胃炎分类评分标准有助于发现癌前疾病. 其中早期胃癌检出率高分组显著高于低分组, 差异具有统计学意义, 进一步提示, 《京都胃炎分类》评分≥4分人群行放大胃镜精查, 有助于提高早期胃癌的检出率. 本研究结果中, 虽然就分化类型的统计分析未见统计学差异, 但仍发现, 本研究所发现早期胃癌均为分化型, 且绝大部分评分为高分组, 提示京都胃炎分类对分化型早期胃癌具有较高的筛查价值, 可能对未分化型早期胃癌检出价值有限, 其原因为该分类标准主要针对胃镜下萎缩、肠化的评分, 萎缩、肠化背景下的胃黏膜更易发生肠型胃癌相关, 然而, 对于低分组人群胃镜检查应更关注未分型癌的可能, 该结论可能需要更大样本的多中心、前瞻性研究加以佐证.

4 结论

基于上述研究结果, 采用京都胃炎分类规范我国内镜诊断, 有助提高肠型胃癌的检出率. 评分高分组患者建议胃镜精查, 可提高早期胃癌检出率, 从而提高生存率, 降低病死率, 节约医疗支出; 对于评分低分组、中分组患者可结合《中国早期胃癌筛查流程专家共识意见(草案2017年, 上海)》提出的新型胃癌筛查评分系统, 筛选高危人群, 并建立适合的随访机制, 进而制定符合我国国情的高效胃癌筛查方案.

文章亮点

实验背景

胃癌是我国常见的恶性肿瘤之一, 严重威胁国民的健康, 我国每年胃癌新发病例67.9万例, 死亡病例49.8万例, 分别约占全球的42.6%、45.0%. 我国是全球幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori, H. pylori*)高感染地区, *H. pylori*已被WHO的国际癌症研究机构列为人类胃癌第I类致癌原, 《京都胃炎分类》, 规范胃炎内镜表现的记录, 中文版已于2018年我国出版[10], 近期国外文献证实其可提高普通白光胃镜对*H. pylori*感染胃黏膜的诊断, 以及提高早期胃癌的检出率.

实验动机

胃镜检查是发现胃癌的有效途径, 胃癌的预后与诊治时机密切相关, 进展期胃癌的5年生存率低于30%, 早期胃癌的5年生存率可超过90%, 甚至达到治愈. 我国早期胃癌的诊治率低于10%, 远低于日本(70%)和韩国(50%). 本研究旨在依据京都胃炎分类标准规范胃镜诊断, 提高我国胃癌及早期胃癌的诊断率.

实验目标

本研究最终结果证实依据京都胃炎分类标准分组后, 中、高分组的幽门螺杆菌感染率、胃癌及早期胃癌检出率均显著高于低分组, 为进一步全面推广该分类标准提供一定的依据.

实验方法

本研究依据《中国早期胃癌筛查流程专家共识意见(草案2017年, 上海)》确定纳入研究对象, 依据京都胃炎分类标准并参照国外Meta分析结果进行分组, 确定低分、中分、高分组进行统计学分析, 分析3组研究对象*H. pylori*感染率、萎缩性胃炎、胃黏膜肠上皮化生、胃癌及早期胃癌检出率.

实验结果

共1383例患者纳入本研究, 低分组共918例; 中分组共290例; 高分组175例. 3组患者间的*H. pylori*感染率、胃癌癌前疾病、胃癌、早期胃癌检出率两两对比, 差异具有统计学意义($P<0.05$).

实验结论

采用京都胃炎分类评分有助于*H. pylori*阳性胃黏膜的诊断, 可提高基层医院就诊人群中癌前疾病、早期胃癌、胃癌的检出率.

展望前景

期待更大样本量的前瞻性研究结果, 对本研究结果进一步加以佐证.

5 参考文献

1 左婷婷, 郑荣寿, 曾红梅, 张思维, 陈万青. 中国胃癌流行病学现状. 中国肿瘤临床 2017; 44: 52-58
2 Sumiyama K. Past and current trends in endoscopic diagnosis for early stage gastric cancer in Japan. *Gastric Cancer* 2017; 20: 20-27 [PMID: 27734273 DOI: 10.1007/s10120-016-0659-4]
3 Ren W, Yu J, Zhang ZM, Song YK, Li YH, Wang L. Missed diagnosis of early gastric cancer or high-grade intraepithelial neoplasia. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 2092-2096 [PMID: 23599630 DOI: 10.3748/wjg.v19.i13.2092]
4 郑荣寿, 孙可欣, 张思维, 曾红梅, 邹小农, 陈茹, 顾秀瑛, 魏文强, 赫捷. 2015年中国恶性肿瘤流行情况分析. 中华肿瘤杂志 2019; 41: 19-28
5 加藤元嗣, 井上和彦, 村上和成, 镰田智有. 京都胃炎分类(吴永友, 李锐译). 沈阳: 辽宁科学技术出版社 2018; 27-31
6 Toyoshima O, Nishizawa T, Koike K. Endoscopic Kyoto classification of Helicobacter pylori infection and gastric cancer risk diagnosis. *World J Gastroenterol* 2020; 26: 466-477 [PMID: 32089624 DOI: 10.3748/wjg.v26.i5.466]
7 国家消化系疾病临床医学研究中心, 中华医学会消化内镜学分会中华医学会健康管理学分会, 中国医师协会内镜医师分会消化内镜专业委员会. 中国早期胃癌筛查流程专家共识意见(草案2017年, 上海). 中华消化内镜杂志 2018; 35: 77-88

8 倪栋琼, 吕宾, 包海标, 金海峰, 赵晶, 徐毅, 黄宣. 不同血清学危险分层方法在人群早期胃癌筛查中的比较研究. 中华内科杂志 2019; 58: 294-300
9 Chen W, Zheng R, Baade PD, Zhang S, Zeng H, Bray F, Jemal A, Yu XQ, He J. Cancer statistics in China, 2015. *CA Cancer J Clin* 2016; 66: 115-132 [PMID: 26808342 DOI: 10.3322/caac.21338]
10 谌黄威, 伦伟健, 熊婷, 梁晓燕, 黄鹤, 贾柳萍. 京都胃炎分类在白光胃镜下直接判断幽门螺杆菌感染中的应用价值. 新医学 2019; 50: 457-462
11 Sugimoto M, Ban H, Ichikawa H, Sahara S, Otsuka T, Inatomi O, Bamba S, Furuta T, Andoh A. Efficacy of the Kyoto Classification of Gastritis in Identifying Patients at High Risk for Gastric Cancer. *Intern Med* 2017; 56: 579-586 [PMID: 28321054 DOI: 10.2169/internalmedicine.56.7775]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 © 2021 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

• 消息 •

书讯

本刊讯 由池肇春教授主编的《腹痛的诊断、鉴别诊断与治疗》已由人民卫生出版社出版发行.

腹痛是消化系统最常见的症状之一, 可引起腹痛的疾病很多, 容易发生误诊或漏诊, 以致患者得不到及时的诊治. 本书由全国著名消化内科及相关学科专业学者共同执笔, 为近年在腹痛诊疗方面的最新代表作. 精装, 图文并茂, 内容新颖实用, 全书2014千字, 分上下两篇, 上篇为总论, 包括腹痛的病理生理学、腹痛的病因与发病机制、腹痛的临床诊断、腹痛的内镜与影像诊断与鉴别诊断、腹痛的实验室诊断、腹痛的治疗等11章. 下篇为各论, 分别介绍腹痛疾病的鉴别诊断与治疗. 从第12章至第15章分别介绍腹腔脏器炎症、阻塞、扭转、穿孔、破裂、血管疾病、心肺疾病、妇科疾病、急性中毒等引起急性腹痛的鉴别诊断与治疗. 从第17章至第29章分别介绍胃肠、胰, 肾、感染、肿瘤引起的慢性腹痛鉴别诊断与治疗. 从第30章至第36章分别介绍肝胆系统疾病和系统疾病引起腹痛的鉴别诊断与治疗. 最后一章为经典案例53例, 分别介绍了不同案例的诊治体会、经验与教训.

全书以症状鉴别诊断为中心, 与治疗并重, 均作了全面与详尽的阐述, 是一部有关腹痛诊治的新作, 有较高的学术水平和参考价值, 可为消化内科、普外科、小儿科、感染科、肿瘤科、影像科和妇产科等学科医师学习与参考. 每册定价188元 , 购书热线 010-59787592, 010-59787584, 010-65264830, 人卫智慧服务商城(人卫社官方购书网站)、当当、京东、天猫等网店均可搜索购书, 欢迎选购.

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: https://www.baishideng.com

世界华人消化杂志 2021年4月28日; 29(8): 413-420

DOI: 10.11569/wcjd.v29.i8.413

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

临床研究 CLINICAL RESEARCH

善胃系列方分阶段辨治胃癌前病变的临床疗效观察

张月林, 苗嘉萌, 张 泽, 袁红霞

张月林, 苗嘉萌, 天津中医药大学研究生学院 天津市 301617

张泽, 贵州中医药大学研究生院 贵州省贵阳市 550312

袁红霞, 天津中医药大学管理学院 天津市 301617

张月林, 天津中医药大学硕士研究生, 中医内科学方向.

基金项目: 天津市科委项目, 基于“虚实夹杂”理论探索胃癌前病变精准诊断与分阶段辨治的中西医协作方案研究, No.17ZXMFSY00110.

作者贡献分布: 此课题由张月林、苗嘉萌、张泽、袁红霞设计; 研究过程由张月林、苗嘉萌、张泽、袁红霞及相关医护人员操作完成; 研究所用试剂、药品及分析工具由张月林、苗嘉萌提供; 数据分析由张月林、苗嘉萌完成; 本论文写作由张月林、苗嘉萌完成.

通讯作者: 袁红霞, 教授, 301617, 天津市静海区鄚阳湖路10号, 天津中医药大学管理学院. yhx1877@163.com

收稿日期: 2021-01-20
修回日期: 2021-02-06
接受日期: 2021-04-02
在线出版日期: 2021-04-28

Clinical curative effect of Shanwei series decoction in treating gastric precancerous lesions

Yue-Lin Zhang, Jia-Meng Miao, Ze Zhang, Hong-Xia Yuan

Yue-Lin Zhang, Jia-Meng Miao, Post-Graduate Collage of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China

Ze Zhang, Post-Graduate Collage of Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550312, Guizhou Province, China

Hong-Xia Yuan, Collage of Management of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China

Supported by: Tianjin Science and Technology Commission Project, No.17ZXMFSY00110.

Corresponding author: Hong-Xia Yuan, Professor, College of Management of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, No. 10 Poyanghu Road, Jinghai District, Tianjin 301617, China. yhx1877@163.com

Received: 2021-01-20
Revised: 2021-02-06
Accepted: 2021-04-02
Published online: 2021-04-28

Abstract

BACKGROUND

Gastroscopy and targeted biopsy techniques have advantages in the early and accurate diagnosis of gastric precancerous lesions. Although traditional Chinese medicine has a definite effect, it is mostly based on subjective symptoms and lacks of objective and scientific basis. This study combined gastroscopy precision examination technology with TCM staging and differentiation, to explore the correlation between TCM syndromes of different stages of gastric precancerous lesions and gastroscopic pathology.

AIM

To explore the clinical effectiveness of Shanwei series decoction in treating PLGC, and to provide new ideas for the clinical treatment of PLGC.

METHODS

One hundred and fifty patients with PLGC were treated clinically and divided into three groups (three phases) according to their disease stages and TCM syndrome differentiation criteria, with 50 cases in each group; each group was stratified and randomly divided into either a treatment group or a control group with 25 cases each. The three-phase treatment groups were treated with Shanwei Nos. Ⅰ, Ⅱ, and Ⅲ prescriptions, and the control groups were treated with Weifuchun combined with folic acid. The medication cycle was 24 weeks. Gastroscopy and pathology scores, serum pepsinogen results, efficacy, and safety of each group before and after

treatment were compared.

RESULTS

After 24 weeks of treatment, the efficacy of gastroscopy in the three-stage treatment group was higher than that in the control group ($P < 0.05$); there were statistical differences in different dimensions in the comparison between the groups in the same period. The comparison between the groups before and after the three-stage treatment showed that the differences in the total pathological score, inflammation, and dysplasia were statistically significant ($P < 0.05$). After treatment, the PG Ⅰ value of each group increased to different degrees, while during the same period, the difference between the two groups was not significant ($P > 0.05$). The results of self-control before and after treatment in each group were statistically different ($P < 0.05$). Before treatment, there was no statistically significant difference in PG Ⅰ/PG Ⅱ among the three groups ($P > 0.05$). After treatment, the PG Ⅰ/PG II of each group increased to varying degrees, and there were statistical differences between the early and late groups ($P < 0.05$); the differences of each group before and after treatment were statistically significant ($P < 0.05$). Treatment in each treatment group had a significant effect in improving the positive rate of serum pepsinogen ($P < 0.05$).

CONCLUSION

Shanwei series decoction have clinical effects for patients with PLGC at different stages, which can reduce pathological changes to varying degrees, improve TCM symptoms, and reduce recurrence rates. Our results prove the necessity of treating PLGC by stage and syndrome differentiation. The further research and popularization of this prescription have positive significance for the clinical treatment of PLGC.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Gastric precancerous lesions; ShanWei series decoction; Traditional Chinese medicine; Clinical trials

Citation: Zhang YL, Miao JM, Zhang Z, Yuan HX. Clinical curative effect of Shanwei series decoction in treating gastric precancerous lesions. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2021; 29(8): 413-420
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i8/413.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i8.413

摘要

背景

胃镜及靶向活检技术对胃癌前病变(precancerous lesion of gastric cancer, PLGC)早期精确诊断有优势; 中医药治疗虽疗效确切, 但多基于主观症状, 缺少客观依据. 本文结合胃镜精检技术与中医分期辨治, 探讨PLGC不同分期中医证候与胃镜病理的相关性.

目的

探究善胃系列方分阶段治疗PLGC的临床有效性, 为PLGC的中医药临床治疗提供新的思路.

方法

临床收治150例PLGC患者, 按其疾病分期与中医辨证分型标准分为三组(三期), 每组50例, 分层随机分为治疗组与对照组各25 例. 三期治疗组分别予以治疗量的善胃Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ号方, 对照组予以胃复春联合叶酸治疗. 服药周期24 wk. 从治疗前后各组的胃镜及病理积分、血清胃蛋白酶原结果、疗效分析及安全性指标进行比较.

结果

经治24 wk后, 三期治疗组胃镜下显效率均高于对照组($P<0.05$); 同期组间对比, 在不同维度存在统计学差异. 三期治疗前后组间比较, 在病理总积分、炎症、异型增生三方面差异均具有统计学意义($P<0.05$). 治疗后各组PGⅠ值均有不同程度的升高; 但同期两组组间比较, 差异不具有显著性. 各组治疗前后自身对照, 结果均具有统计学差异($P<0.05$). 治疗前, 三组PGⅠ/PGⅡ结果组间比较, 差异无统计学意义, 治疗后, 各组 PGⅠ/PGⅡ结果不同程度升高, 早期组、后期组存在统计学差异($P<0.05$), 各组治疗前后自身比较, 差异均具有统计学意义($P<0.05$). 各治疗组改善血清胃蛋白酶原阳性率效果显著($P<0.05$).

结论

善胃系列方针对不同阶段的PLGC患者有临床疗效, 可不同程度的减轻病理改变, 改善中医症候, 降低复发率. 证实了分阶段合辨证论治PLGC的必要性, 该方的进一步研究及推广应用对临床治疗PLGC有积极意义.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 胃癌前病变; 善胃系列方; 中医药; 临床试验

核心提要: 近年来, 中医药逐渐成为治疗胃癌前病变的重要手段, 但多从主观症状入手, 缺乏科学性依据, 本文基于胃镜精检技术与中医分阶段辨治相结合, 探究善胃系列方的临床疗效, 为中医分阶段辨治胃癌前病变探索客观化临床依据.

文献来源: 张月林, 苗嘉萌, 张泽, 袁红霞. 善胃系列方分阶段辨治胃癌前病变的临床疗效观察. 世界华人消化杂志 2021; 29(8): 413-420
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i8/413.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i8.413

0 引言

慢性萎缩性胃炎(chronic atrophic gastritis, CAG)是指以胃黏膜的慢性炎症和固有腺体萎缩为病理改变, 为胃部疾病炎-癌转换中重要的一环[1]. 胃癌前病变(precancerous lesion of gastric cancer, PLGC)是一种具有恶性转化倾向的胃黏膜病理改变, 包括肠上皮化生(metaplasia, IM)和异型增生(Dys), 异型增生, 又称上皮内变(neoplasia, IN)[2]. PLGC常在慢性萎缩性胃炎的基础上发展变化而来, 因此CAG与PLGC均是目前公认的胃癌前期状态. 由慢性浅表性胃炎→胃黏膜萎缩→肠上皮化生→异型增生→胃癌的发病模式已得到学术界广泛认可[3-6].

袁红霞[7-10]提出PLGC中医症候演变理论, 根据正、邪、虚、实的相互关性, 将本病分为三期分阶段论治, 并创立了对应的善胃Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ方. 袁红霞临床结合患者症状与胃镜病理诊断, 以分期论治理论为指导, 应用善胃系列方治疗PLGC收效显著. 此外, 根据前期实验研究, 善胃Ⅰ号方[7]可通过抑制NHE1蛋白在胃黏膜的表达, 降低PCNA的表达, 调节细胞的分裂周期, 抑制细胞增殖; 同时能降低胃液pH值, 有效维持胃内酸性环境, 保持胃内环境的稳定[11]; 还能促使Bax蛋白的表达, 降低Bcl-2蛋白的表达, 在一定程度上诱导增殖细胞的凋亡[12]. 从而有效抑制PLGC的细胞增殖与扩散, 起到阻断或逆转PLGC进展的作用; 善胃Ⅱ号方能提高胃黏膜组织中P16蛋白含量、抑制rasP21蛋白的活性, 提示善胃Ⅱ号方可能存在调控抑癌基因及原癌基因的靶点; 同时, 善胃Ⅱ号方可能具有逆转胃黏膜肠化或异型增生的作用, 抑制胃黏膜过度增殖, 防止细胞失控性生长的作用[9]. 善胃Ⅲ号方可能通过调控Bcl-2蛋白的表达, 促进Bax蛋白的生成, 预防和抑制肿瘤细胞增殖与扩散, 从而起到阻断或逆转PLGC进展的目的[8,13]. 善胃Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ方均能在不同程度上降低PLGC患者胃黏膜的EGF、EGFR、TGF-α的表达水平[14,15], 从而起到阻断或逆转PLGC进展的作用. 在前期实验和临床研究的基础上, 本研究通过分期分组, 以胃镜及病理结果、临床症状改善情况、胃蛋白酶原的表达情况等为观察指标, 从更全面、更科学的角度评价善胃系列方的临床疗效, 为PLGC的中医药临床治疗提供新的思路.

1 材料和方法

1.1 材料 收录2018-01/2019-06就诊于天津中医药大学附属保康医院、天津市南开医院消化科、名中医工作室确诊为PLGC的患者. 本研究为多中心临床试验, 考虑研究病例纳入、研究周期、经费等问题, 结合“优效性临床试验”要求, 最终确定纳入受试者150例. 受试者按中医辨证分型与疾病分期标准分为三组(三期), 每组50例, 运用SPSS 22.0统计软件, 按照病例分配数及1: 1分配比例生成随机数字分组表, 按预期病例数进行分配, 其中治疗组25例, 对照组25例. 该表由独立于本研究的研究人员进行妥善保管, 临床研究者负责试验过程中申请随机号. 临床医生根据随机号发放受试药物(药物号与随机号统一), 准确记录患者的随机号.

本研究基于天津市科委课题, 立项已经专家论证, 并通过天津市南开医院伦理委员会审查(批件号: B2017-231-7).

1.1.1 诊断标准: 主要从临床症状、胃镜、病理三方面联合诊断. 以消化道内镜病理组织检查为诊断金标准, 将5个组织变量(黏膜炎症、活动度、萎缩、肠化生、异型增生)分别量化为4个等级(无、轻、中、重度)进行考量.

1.1.2 中医四诊信息采集: 采集患者临床信息, 基本内容包括: 一般情况; 西医内镜、病理检查; 中医四诊, 其中有关中医症候描述共计120项; 中医诊断. 调查人员均为中医内科学脾胃病专业研究生, 且经过统一培训, 指导患者填写PLGC中医门诊问卷, 收集信息, 最终在两名主治以上职称中医师指导下诊断中医证型.

1.1.3 中医诊断分期分型: 各证型确诊标准为: 具备至少三项主症, 舌脉基本符合; 具备主症两项和次症至少两项, 舌脉基本符合; 以上条件具备任意一条即可.

PLGC分期: 袁红霞在前期临床实践基础上, 总结出本病病证演变规律, 将PLGC分为三期: 早期病性属实属热, 病机关键为血瘀热毒, 胃镜(病理)表现为炎症细胞浸润, 腺体萎缩及伴轻度肠化/异型增生病变程度较轻; 中期病性属虚实错杂, 病机关键为阴虚有热, 胃镜(病理)常表现为腺体萎缩及伴中度肠化/异型增生病变; 后期病程迁延, 病情发展, 瘀热留滞日久, 耗伤正气, 因实致虚, 以虚为主, 病机关键为气阴两虚夹瘀, 胃镜(病理)常表现为腺体萎缩及伴重度肠化/异型增生病变. 即为: 热毒血瘀型(早期)、阴虚内热型(中期)、气阴两虚型(后期).

1.1.4 纳入及排除标准: 纳入标准: 符合上述PLGC诊断标准者; 年龄在30岁-75岁之间, 性别不限. 依从性好, 签署知情同意书. 排除标准: 合并消化道溃疡, 药物性食管炎等消化道器质性疾病者; 可能伴有其他对试验药物有禁忌或影响疗效观察的疾病者; 具有严重的原发性疾病或其他影响生存的重大疾病者; 妊娠和哺乳期妇女. 精神或法律认定的残疾患者; 怀疑或确有酗酒、药物滥用史; 依据研究人员的专业判断, 具有降低入组可能性的不确定因素或使入组复杂化的其他病变, 如工作环境经常变动等易造成失访情况者; 已知对该类药物或其组成成份过敏及过敏体质者.

表 1 各组患者胃镜疗效评价(n = 25)

	痊愈	显效	有效	无效
早期治疗组	11(45.8%)[a]	7(29.2%)	4(16.7%)	2(8.3%)
早期对照组	0(0)[a]	7(29.2%)	12(50.0%)	5(20.8%)
中期治疗组	13(54.2%)[a]	6(25.0%)	4(16.7%)	2(8.3%)
中期对照组	0(0)[a]	6(26.1%)	14(60.9%)	5(21.7%)
后期治疗组	11(45.8%)[a]	7(29.2%)	3(12.5%)	3(12.5%)
后期对照组	0(0)[a]	6(26.1%)	13(56.5%)	6(26.1%)

治疗后, 各治疗组与对照组比较, [a]P < 0.05. 总有效率 = (痊愈人数+显效人数+有效人数)/总人数.

1.1.5 剔除及脱落标准: 剔除标准: 未按照标准服药或服用其他影响疗效评价者; 发生严重并发症或特殊情况不宜继续接受试验者. 脱落标准: 自行退出试验者.

1.2 方法 本研究分组主要依据中医证型, 以胃镜、病理作为参考, 以探究PLGC病理分级与中医症候的相关性.

1.2.1 治疗组: (1)早期组: 予善胃Ⅰ号方(丹参20 g, 三棱10 g, 莪术15 g, 片姜黄10 g, 土鳖虫10 g, 半枝莲30 g, 白花蛇舌草30 g); (2)中期组: 予善胃Ⅱ号方(天花粉20 g, 玉竹20 g, 女贞子15 g, 墨旱莲30 g, 芍药15 g, 重楼10 g, 蒲公英30 g, 夏枯草30 g); (3)后期组: 予善胃Ⅲ号方(白人参5 g, 太子参 20 g, 黄精20 g, 生黄芪 30 g, 石斛 10 g, 鳖甲10 g, 玄参15 g, 莪术 20 g, 仙鹤草 30 g). 日1剂, 分早晚各一次服用, 每次100-200 mL. (药物制备: 本研究所用善胃系列方中药颗粒剂统一委托四川新绿色药业科技发展股份有限公司制备).

1.2.2 对照组: 各期对照组分别予以胃复春片联合叶酸片治疗. 胃复春片(胡庆余堂药厂生产)每次4片, 每日三次; 叶酸片5 mg/次, 3次/日. 服法: 饭前口服, 温水送服. 两种药物服药间隔30 min. 疗程共计24 wk. 受试者纳入本次研究观察前, 必须停服其他治疗慢性胃炎的药物1 mo. 研究期间不得长期合并服用可能对本次治疗有影响的药物.

1.2.3 评价指标: (1)一般资料; (2)胃镜积分、病理积分、血清蛋白酶原检测、症状积分、安全性检测(入组前4 wk内记录一次, 治疗24 wk后记录一次), 开始治疗后第7、14、28、56、84、112、140、168天分别对受试者的中医症候、不良反应、合并用药等进行记录; (3)症状学疗效评价标准: 以胃痛、胃痞、嘈杂为主要观察指标, 从4个维度进行积分统计, 以打嗝嗳气、烧心反酸、口渴咽干、纳呆食少、大便情况(便干、便溏、便黏、正常便)为次要观察指标. 统计得分: ①临床痊愈: 主要症状、体征消失或基本消失, 疗效指数≥95%; ②显效: 主要症状、体征明显改善, 70%≤疗效指数＜95%; ③有效: 主要症状、体征明显好转, 30%≤疗效指数＜70%; ④无效: 主要症状、体征无明显改善, 甚或加重, 疗效指数＜30%. 总有效率 = (痊愈人数+显效人数+有效人数)/总人数(注: 尼莫地平法计算: 疗效指数 = [(治疗前积分-治疗后积分)/治疗前积分] ×100%).

统计学处理 使用SPSS 22.0统计软件进行数据处理. 计数资料采用χ^2检验. 计量资料符合正态分布的采用t检验, 用mean±SD描述; 不符合正态分布的用非参数检验. 等级资料用秩和检验. P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

各期各组受试者的性别、年龄、病程分布结果均无统计学意义, 具有可比性.

2.1 胃镜疗效评价 同期两组患者比较, 各期治疗组临床痊愈率及总有效率均优于对照组(P<0.05), 说明治疗组药物可明显改善患者中医临床症状, 见表1.

2.2 病理积分比较 病理积分各期各组比较结果差异不同(按中医症候分组), 三期治疗组前后自身比较均具有统计学意义(P<0.05), 分别见表2-4. 治疗前后病理图片见图1.

2.3 PGⅠ、PGⅠ/PGⅡ结果比较 本试验使用双抗体夹心免疫检测法检测血清PGⅠ、PGⅡ的水平. 各期各组组间比较PGⅠ水平均升高(P<0.05); PGⅠ/PGⅡ水平各期各组治疗前后自身比较有统计学差异(P<0.05), 治疗后治疗组与对照组比较有统计学意义(P<0.05), 见表5. 各治疗组治疗前后PGⅠ/PGⅡ结果阳性率比较, 治疗后治疗组和对照组比较有统计学意义(P<0.05), 见表6.

2.4 中医症状疗效比较 中医症状疗效比较治疗组优于对照组(P<0.05), 同期各组自身比较(P<0.05), 见表7.

2.5 治疗全程疗效比较 (1)早期组治疗前和治疗后第7天疗效, 治疗组与对照组疗效无明显差别; 治疗后第14、28、56、84、112、140、168天, 疗效差别明显, 治疗组疗效较对照组明显. 总体观察治疗组曲线下降趋势较对照组明显. (2)中期组治疗前和治疗后第7天疗效, 治疗组

表 2　早期组治疗前后病理积分比较(分, mean ± SD)

	治疗前		治疗后	
	早期治疗组	早期对照组	早期治疗组	早期对照组
病理总积分	11.32 ± 2.25[ab]	11.48 ± 2.31	7.34 ± 2.01[ab]	10.22 ± 2.64
炎症	4.15 ± 0.94[ab]	4.61 ± 0.87	2.56 ± 0.88[ab]	3.87 ± 0.91
活动度	3.11 ± 0.68[b]	3.08 ± 0.71	2.07 ± 0.84[b]	2.48 ± 0.89
萎缩	1.87 ± 0.77[b]	1.79 ± 0.75	1.12 ± 0.67[b]	1.24 ± 0.65
肠化生	1.94 ± 1.07[b]	1.91 ± 0.89	1.27 ± 0.78[b]	1.47 ± 0.86
异型增生	1.12 ± 0.61[ab]	1.04 ± 0.41	0.11 ± 0.34a[b]	0.85 ± 0.55

各治疗组和对照组比较, [a]P<0.05; 各治疗组前后自身比较, [b]P<0.05.

表 3　中期组治疗前后病理积分比较(分, mean ± SD)

	治疗前		治疗后	
	中期治疗组	中期对照组	中期治疗组	中期对照组
病理总积分	12.12 ± 2.87[ab]	12.18 ± 2.59	7.21 ± 2.24[ab]	9.85 ± 2.11
炎症	4.54 ± 0.89[ab]	4.84 ± 0.97	2.77 ± 0.84[ab]	3.97 ± 0.91
活动度	3.44 ± 0.71[ab]	3.61 ± 0.84	1.77 ± 0.67[ab]	3.08 ± 0.81
萎缩	2.07 ± 0.68[b]	1.94 ± 0.61	1.34 ± 0.71[b]	1.55 ± 0.69
肠化生	2.31 ± 1.02[b]	2.24 ± 1.10	1.14 ± 0.87[b]	1.22 ± 0.94
异型增生	1.34 ± 0.61[ab]	1.31 ± 0.55	0.12 ± 0.27[ab]	0.91 ± 0.66

各治疗组和对照组比较, [a]P<0.05; 各治疗组前后自身比较, [b]P<0.05.

表 4　后期组治疗前后病理积分比较(分, mean ± SD)

	治疗前		治疗后	
	后期治疗组	后期对照组	后期治疗组	后期对照组
病理总积分	11.12 ± 2.54[ab]	10.98 ± 2.42	7.41 ± 2.11[ab]	9.91 ± 2.26
炎症	4.63 ± 0.94[b]	4.47 ± 0.87	2.77 ± 0.77[b]	2.98 ± 0.79
活动度	3.54 ± 0.86[ab]	3.51 ± 0.85	1.87 ± 0.97[ab]	3.18 ± 0.83
萎缩	2.14 ± 0.74[ab]	1.97 ± 0.74	1.04 ± 0.82[ab]	1.47 ± 0.57
肠化生	2.42 ± 1.13[b]	2.35 ± 1.21	1.25 ± 0.98[b]	1.31 ± 0.88
异型增生	1.41 ± 0.72[ab]	1.45 ± 0.65	0.22 ± 0.35[ab]	0.95 ± 0.74

各治疗组和对照组比较, [a]P<0.05; 各治疗组前后自身比较, [b]P<0.05.

与对照组疗效无明显差别; 治疗后第14、28、56、84、112、140、168天, 疗效差别明显, 观察组疗效较对照组明显. 总体观察治疗组曲线下降趋势较对照组明显. (3)中期组治疗前和治疗后第7、14天疗效, 善胃Ⅲ号方与胃复春联合叶酸组疗效无明显差别, 疗效相当; 治疗后第28、56、84、112、140、168天, 疗效差别明显, 观察组疗效较对照组明显. 总体观察治疗组曲线下降趋势较对照组明显. 见图2.

2.6 安全性观察 患者在服药期间, 无一例出现过敏反应, 后期治疗组与对照组有1人出现轻度偏头痛及腹泻, 未做处理, 后自行缓解. 两组患者治疗前后血、尿、便常规、心电图、肝肾功能检查均未出现明显异常.

3 讨论

PLGC病因病机复杂, 病程较长, 缠绵不愈, 癌变率高达2%-7.3%[16], 严重影响了患者的工作和生存质量, 也给患者带来了巨大的精神压力和经济负担. 如何延缓PLGC的病理学进展、逆转胃黏膜萎缩、预防其向胃癌发展成为临床治疗本病的重点和难点[17].

目前普遍认为, PLGC的病因主要包括感受外邪、

表 5　各组治疗前后PG Ⅰ、PG Ⅰ/PG Ⅱ结果(mean ± SD)

	PG Ⅰ (μg/L)		PG Ⅰ/PG Ⅱ	
	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
早期治疗组	48.61 ± 12.94	58.78 ± 14.51[ab]	4.67 ± 1.67	5.68 ± 1.57[ab]
早期对照组	49.11 ± 11.74	56.74 ± 13.94[a]	4.61 ± 1.84	5.35 ± 1.56[a]
中期治疗组	50.15 ± 12.64	59.61 ± 12.54[a]	4.57 ± 1.54	5.77 ± 1.49[a]
中期对照组	49.44 ± 12.51	57.44 ± 14.67[a]	4.48 ± 1.61	5.24 ± 1.62[a]
后期治疗组	47.66 ± 14.31	58.14 ± 12.68[ab]	4.58 ± 1.63	5.64 ± 1.62[ab]
后期对照组	47.51 ± 12.64	56.11 ± 13.64[a]	4.41 ± 1.67	5.11 ± 1.44[a]

各期各组治疗前后比较, [a]P<0.05; 治疗后治疗组与对照组比较, [b]P<0.05.

表 6　治疗前后PG Ⅰ/PG Ⅱ阳性检出率情况(n = 25)

	治疗前		治疗后	
	阳性	阴性	阳性	阴性
早期治疗组	6	18	3[a]	21[a]
早期对照组	7	17	6	18
中期治疗组	6	18	4[a]	20[a]
中期对照组	6	17	5	18
后期治疗组	8	16	5[a]	19[a]
后期对照组	6	17	5	18

阳性标准为: PG Ⅰ < 70 μg/L且PG Ⅰ/PG Ⅱ < 3. 各治疗组前后自身比较, [a]P<0.05.

表 7　中医症状疗效比较(n = 50)

痊愈		显效	有效	无效	显效率
早期治疗组	8(33.3%)	10(41.2%)	6(25%)	0(0)	18(74.5%)[ab]
早期对照组	2(8.3%)	7(29.2%)	13(54.2%)	3(12.5%)	9(37.5%)[a]
中期治疗组	9(37.5%)	10(41.7%)	5(20.8%)	0(0)	19(79.2%)[ab]
中期对照组	0(0)	6(26.1%)	14(60.9%)	3(13.0%)	6(26.1%)[a]
后期治疗组	8(33.3%)	10(41.7%)	6(25%)	0(0)	18(75.0%)[ab]
后期对照组	0(0)	7(30.4%)	13(56.5%)	4(17.4%)	7(30.4%)[a]

各期各组治疗前后自身比较, [a]P<0.05; 治疗组与对照组比较, [b]P<0.05.

饮食不节(洁)、情志失调、禀赋不足等, 主要的病理产物为热毒、痰湿、气滞、瘀血等, 发病关键在于病理产物互结积聚中焦, 致使脾胃失养、胃络受损, 进而诱发胃黏膜肿胀、组织增生而发为本病. 疾病属性为本虚标实, 本虚以脾胃气虚和/或阴虚为主, 标实则有热毒、痰湿、气滞、血瘀等, 且多呈夹杂之势. 在PLGC中医药治疗上, 医家学者多以辨证分型为基础, 以基本方对症加减治疗, 目前尚未有分阶段与辨证论治结合的报道出现, 缺少对本病进展过程的线性认识. 袁教授认为PLGC的演变规律为: 早期以血瘀热毒为主, 胃镜显示有炎症细胞浸润, 肠化和/或异型增生程度较轻; 中期以阴虚内热为主, 胃镜提示萎缩性胃炎, 伴轻、中度肠化和/或异型增生; 后期以气阴两虚为主, 多夹瘀, 胃镜提示腺体萎缩及肠化和/或异型增生程度较重. 并总结运用善胃系列方分期论治PLGC在临床上取得了确切的疗效. 通过研究结果可以看出, 善胃系列方在改善患者病理总积分和异型增生较对照组(胃复春合叶酸)效果显著, 说明善胃系列方分阶段合辨证论治PLGC较单纯辨证治疗PLGC效果显著. 善胃Ⅰ、Ⅱ号分别针对早、中期组在缓解炎症方面均较对照组显效良好; 善胃Ⅱ、Ⅲ号分别对中、后期组活动度方面较对照组疗效显著, 差异均具有统计学意义(P<0.05), 这与PLGC的病情演变规律恰相

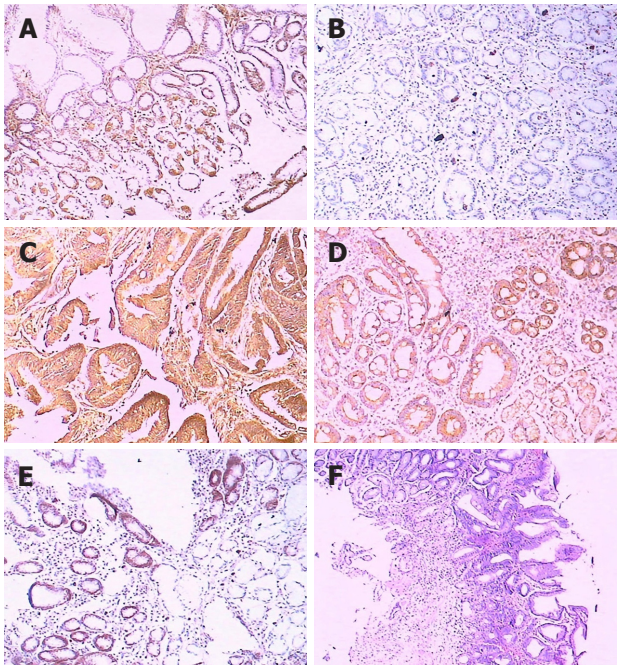


图 1　食管黏膜病理图. A, B: 早期组治疗前、后; C, D: 中期组治疗前、后; E, F: 后期组治疗前、后.

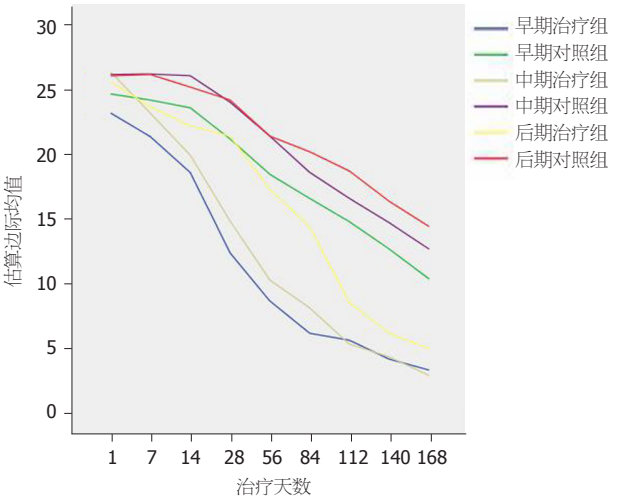


图 2　治疗后各组症候积分趋势图.

一致, 证明了善胃系列方分期辨治PLGC的有效性. 但在肠化生方面治疗组与对照组比较无明显差异, 但均有改善, 可能仍需加大样本量, 进行深入研究.

善胃Ⅰ号由丹参、三棱、莪术、片姜黄、土鳖虫、半枝莲、白花蛇舌草组成, 能活血化瘀, 清热解毒而不伤正, 消肿散结, 驱邪而固本, 可有效预防胃癌的发生; 善胃Ⅱ号由天花粉, 玉竹, 女贞子, 墨旱莲, 芍药, 重楼, 蒲公英, 夏枯草组成, 方中重用甘润之药, 滋养胃阴以治其本“虚”, 又有活血化瘀药以清其“实”, 同时佐以辛苦寒之夏枯草, 清热散结, 如此则虚实同调, 补泻兼施, 养阴清热而不伤正, 扶正以驱邪; 善胃Ⅲ号由白人参、太子参、黄精、生黄芪、石斛、鳖甲、玄参、莪术、仙鹤草组成, 用药以益气养阴而补“本虚”, 又兼活血解毒、清热消痈以治“标实”, 补虚为主, 泻实为辅, 虚实并调, 标本兼顾.

胃蛋白酶原(pepsinogen, PG)是胃蛋白酶的前体[18], 根据其生化性质和免疫原性将其分成胃蛋白酶原Ⅰ(PGⅠ)和胃蛋白酶原Ⅱ(PGⅡ)两型, PG水平反映了不同部位胃黏膜的形态和功能: PGⅠ是检测胃泌酸腺细胞功能的指针, 胃酸分泌增多PGⅠ升高, 分泌减少或胃黏膜腺体萎缩PGⅠ降低; PGⅡ与胃底黏膜病变的相关性较大(相对于胃窦黏膜), 其升高与胃底腺管萎缩、胃上皮化生或假幽门腺化生、异型增生有关; PGⅠ/Ⅱ比值进行性降低与胃黏膜萎缩进展相关. 因此, 联合测定PGⅠ和PGⅡ比值可起到胃底腺黏膜“血清学活检”的作用[19]. 通过其血清测量值的不同, 在各胃部疾病中均有不同程度的改变, 为临床提供可靠的诊断价值. 本次研究发现, 患者入组时的PGⅠ、PGⅠ/PGⅡ结果均有不同程度下降, 阳性率为分别为24.11%和35.13%, 略高于文献报道血清胃蛋白酶降低趋势, 提示黏膜腺体分泌功能下降. 部分样本阳性率差异不显著, 可能是与样本量少, 病变情况局限有关, 后期可加大样本量, 将血清PG作为PLGC随诊的一个辅助检测指标, 可控性较强.

4 结论

综上研究结果, 充分证实了运用善胃系列方分期分型论治PLGC有显著的临床疗效, 可不同程度的减轻病理改变, 改善中医症候, 降低复发率, 值得进一步研究及推广应用. 分阶段合辨证论治PLGC在临床诊疗中有一定的必要性和可行性, 但仍需大量的临床及实验研究.

文章亮点

实验背景

胃癌前病变(precancerous lesion of gastric cancer, PLGC)是临床上常见的消化系统疾病, 中西医结合治疗时目前的发展趋势, 但没有形成西医精准诊断和中医分阶段治疗的协作方案. 通过二者结合, 探索它们之间的相关性, 为临床诊疗提供客观依据.

实验动机

通过现代医学精准诊断技术与中医分阶段治疗相结合, 探究善胃系列方治疗PLGC的临床有效性, 以探究分阶段辨治PLGC的必要性, 同时为临床诊疗提供参考.

实验目标

通过结合胃镜精检技术, 运用善胃系列方分阶段辨治

PLGC, 发现其较单纯治疗效果好, 这为临床医师诊治PLGC提供了新的思路和方法.

实验方法

临床收治150例PLGC患者, 按其疾病分期和中医辨证分型标准, 分层随机分为治疗组和对照组各25人, 分别予善胃系列方、胃复春联合叶酸治疗24 wk. 从治疗前后的相关指标比较其疗效. 目前未见其他类似报道, 有创新性.

实验结果

经治24 wk后, 三期治疗组胃镜下显效率均高于对照组($P<0.05$); 同期组间对比, 在不同维度存在统计学差异. 三期治疗前后组间比较, 在病理总积分、炎症、异型增生三方面差异均具有统计学意义($P<0.05$). 治疗后各组PGⅠ值均有不同程度的升高. 各组治疗前后自身对照, 结果均具有统计学差异($P<0.05$). 治疗前, 三组PGⅠ/PGⅡ结果组间比较, 差异无统计学意义($P>0.05$), 治疗后, 各组 PGⅠ/PGⅡ结果不同程度升高, 早期组、后期组存在统计学差异($P<0.05$), 各组治疗前后自身比较, 差异均具有统计学意义($P<0.05$). 各治疗组改善血清胃蛋白酶原阳性率效果显著($P<0.05$).

实验结论

善胃系列方针对不同阶段的PLGC患者有临床疗效, 证实了分阶段合辨证论治PLGC的必要性和可行性.

展望前景

分阶段合辨证论治PLGC具有积极意义, 善胃系列方分阶段辨治PLGC有临床疗效, 我们下一步的方向是将该方进一步研究及推广应用.

5 参考文献

1 李春颖. 中医药治疗慢性萎缩性胃炎的研究进展. 临床医学研究与实践 2020; 5: 192-193+196 [DOI: 10.19347/j.cnki.2096-1413.202031068]
2 夏聪, 杨枭楠, 许军, 黄山, 吴伟旋, 林沅锜. 大学生亚健康评定量表的测评及应用分析. 重庆医学2018; 47: 1012-1015 [DOI: 10.3969/j.issn.1671-8348.2018.08.002]
3 张声生, 唐旭东, 黄穗平, 卞立群. 慢性胃炎中医诊疗专家共识意见(2017). 中华中医药杂志 2017; 32: 3060-3064
4 张声生, 李乾构, 唐旭东, 王萍, 李振华. 慢性萎缩性胃炎中医诊疗共识意见. 中医杂志2010; 51: 749-753
5 李军祥, 陈誩, 吕宾, 王彦刚. 慢性萎缩性胃炎中西医结合诊疗共识意见(2017年). 中国中西医结合消化杂志 2018; 26: 121-131
6 张声生. 中医治疗慢性萎缩性胃炎及胃癌前病变的思路. 江苏中医药 2007; 8: 3-4
7 韩慧, 袁红霞. 善胃Ⅰ号方对血瘀热毒型胃癌前病变PCNA的影响. 辽宁中医杂志 2013; 40: 87-88 [DOI: 10.13192/j.ljtcm.2013.01.93.hanh.028]
8 杜昕. 善胃Ⅲ号方对气阴两虚型胃癌前病变大鼠胃黏膜rasp21和血管内皮抑素表达的影响. 中华中医药学会脾胃病分会.中华中医药学会脾胃病分会第二十四次全国脾胃病学术交流会论文汇编. 中华中医药学会脾胃病分会: 中华中医药学会 2012; 204-208
9 唐丽明, 高世全, 施伟东, 李东华, 袁红霞. 善胃Ⅱ号方对大鼠胃癌前病变的抑制作用及其机制研究. 时珍国医国药 2010; 21: 1453-1455 [DOI: 10.3969/j.issn.1008-0805.2010.06.075]
10 袁红霞, 唐丽明, 赵强, 袁红梅, 王洪俊, 王学. 善胃系列方治疗胃癌前期病变的临床及基础研究. 中国中西医结合消化杂志 2006; 4: 222-226 [DOI: 10.3969/j.issn.1671-038X.2006.04.004]
11 刘清君, 刘彩梅, 袁红霞, 施伟东, 宋宁. 善胃Ⅰ号方对胃癌前病变大鼠胃粘膜NHE1蛋白及胃内pH值的影响. 中国现代中药 2009; 11: 34-36 [DOI: 10.13313/j.issn.1673-4890.2009.10.004]
12 袁红霞, 刘彩梅, 刘清君, 施伟东, 史业骞. 善胃Ⅰ号方对胃癌前病变大鼠胃粘膜Bcl-2和Bax蛋白表达的影响. 中国现代中药 2009; 11: 36-38 [DOI: 10.13313/j.issn.1673-4890.2009.09.002]
13 刘清君, 刘彩梅, 袁红霞, 施伟东, 梁新生. 善胃Ⅲ号方对胃癌前病变大鼠胃黏膜Bcl-2和Bax蛋白表达的影响. 汕头大学医学院学报2009; 22: 133-134+137+126
14 杨幼新, 袁红霞, 代二庆, 赵强, 马艳. 慢性萎缩性胃炎癌前病变中医证型与 EGF、EGFR、TGF-α 表达的相关性初探. 上海中医药杂志 2008; 7: 5-7 [DOI: 10.16305/j.1007-1334.2008.07.005]
15 代二庆, 赵占考, 袁红霞, 任万英, 李华. 善胃Ⅰ-Ⅲ号方治疗慢性萎缩性胃炎胃癌前病变的临床研究. 中医药学刊 2004; 04: 606-607 [DOI: 10.3969/j.issn.1673-7717.2004.04.017]
16 Li WQ, Zhang JY, Ma JL, Li ZX, Zhang L, Zhang Y, Guo Y, Zhou T, Li JY, Shen L, Liu WD, Han ZX, Blot WJ, Gail MH, Pan KF, You WC. Effects of Helicobacter pylori treatment and vitamin and garlic supplementation on gastric cancer incidence and mortality: follow-up of a randomized intervention trial. *BMJ* 2019; 366: l5016 [PMID: 31511230 DOI: 10.1136/bmj.l5016]
17 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]
18 李紫昕. 益气化瘀解毒方治疗萎缩性胃炎伴癌前病变临床研究. 广州中医药大学 2017
19 周陆艳. 血清胃蛋白酶原I、II在慢性萎缩性胃炎筛查中的应用价值分析. 现代诊断与治疗 2015; 26: 4484-4485

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: https://www.baishideng.com

世界华人消化杂志 2021年4月28日; 29(8): 421-434

DOI: 10.11569/wcjd.v29.i8.421

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

文献综述 REVIEW

胰腺癌细胞外吉西他滨耐药机制的研究进展

顾宗廷, 李宗泽, 王成锋

顾宗廷, 李宗泽, 王成锋, 国家癌症中心/国家肿瘤临床医学研究中心/中国医学科学院北京协和医学院肿瘤医院分子肿瘤学国家重点实验室/胰胃外科 北京市 100021

顾宗廷, 主治医师, 在读博士, 主要从事胰腺癌的基础及临床研究.

基金项目: 国家自然科学基金面上项目, No. 81972314; 中国医学科学院医学与健康科技创新工程, No. 2016-I2M-1-001.

作者贡献分布: 本文综述由顾宗廷与李宗泽共同完成; 王成锋修改及审校.

通讯作者: 王成锋, 主任医师, 教授, 100021, 北京市朝阳区潘家园南里17号, 国家癌症中心/国家肿瘤临床医学研究中心/中国医学科学院北京协和医学院肿瘤医院分子肿瘤学国家重点实验室/胰胃外科. wangchengfeng62@163.com

收稿日期: 2021-02-05
修回日期: 2021-03-13
接受日期: 2021-03-26
在线出版日期: 2021-04-28

Advances in research of extracellular mechanisms underlying gemcitabine resistance in pancreatic cancer

Zong-Ting Gu, Zong-Ze Li, Cheng-feng Wang

Zong-Ting Gu, Zong-Ze Li, Cheng-Feng Wang, State Key Laboratory of Molecular Oncology & Department of Pancreatic and Gastric Surgery, National Cancer Center/Cancer Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100021, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81972314; CAMS Innovation Fund for Medical Sciences, No. 2016-I2M-1-001.

Corresponding author: Cheng-Feng Wang, Chief physician, Professor, State Key Laboratory of Molecular Oncology & Department of Pancreatic and Gastric Surgery, National Cancer Center/ Cancer Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, No. 17 Panjiayuan Nanli, Chaoyang District, Beijing 100021, China. wangchengfeng62@163.com

Received: 2021-02-05
Revised: 2021-03-13
Accepted: 2021-03-26
Published online: 2021-04-28

Abstract

Pancreatic cancer is a solid malignant tumor with the worst prognosis worldwide, and about 90% of cases are pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC). Although surgical resection is the only potential way to cure PDAC, the overall survival rate after surgery is still not optimistic. Consequently, gemcitabine (GEM)-based chemotherapy is still one of the most important treatment options for PDAC. However, the survival improvement by GEM monotherapy for advanced PDAC is very limited, and GEM resistance is the key reason. The mechanism underlying gemcitabine resistance is complex and still unclear in PDAC. The extensive and dense fibrous mesenchyme in the tumor microenvironment (TME) is an important feature of PDAC. More and more evidence has shown that TME is not only an active participant in tumor growth and spread, but also a contributor to the induction of GEM resistance. This article will review the recent advances in the understanding of the cellular and molecular mechanisms underlying GEM resistance in PDAC, and discuss potential GEM chemosensitization strategies, in order to improve the effective rate of chemotherapy and the outcome.

© **The Author(s) 2021.** Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Pancreatic cancer; Pancreatic ductal adenocarcinoma; Gemcitabine; Tumor microenvironment;

Chemoresistance

Citation: Gu ZT, Li ZZ, Wang CF. Advances in research of extracellular mechanisms underlying gemcitabine resistance in pancreatic cancer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2021; 29(8): 421-434
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i8/421.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i8.421

摘要

胰腺癌是预后最差的实体恶性肿瘤, 其中约90%是胰腺导管腺癌(pancreatic ductal adenocarcinoma, PDAC). 尽管手术切除是唯一可能治愈PDAC的手段, 但术后总体生存率不容乐观. 因此, 以吉西他滨(gemcitabine, GEM)为基础的化疗仍是PDAC最重要的治疗选择之一. 然而, GEM单药治疗晚期PDAC的生存期改善十分有限, 其关键原因在于GEM耐药. GEM耐药的机制复杂且不明确. 肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME)中广泛而致密的纤维间质是PDAC的重要特征. 越来越多的证据显示, 纤维化TME不仅是肿瘤生长、扩散的积极参与者, 更是诱导GEM耐药的贡献者. 本文将重点从PDAC细胞外途径对GEM化疗耐药的主要细胞和分子机制研究进展进行综述, 讨论潜在的GEM化疗增敏策略, 以期提高化疗有效率, 改善PDAC的总体预后.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 胰腺癌; 胰腺导管腺癌; 吉西他滨; 肿瘤微环境; 化疗耐药

核心提要: 吉西他滨(gemcitabine, GEM)耐药是影响胰腺癌化疗疗效的关键原因. GEM耐药的机制复杂且不明确, 近年来细胞外调控机制的研究取得众多新进展, 这将为GEM化疗增敏策略提供了新的潜在靶点, 对进一步提高化疗有效率, 改善胰腺癌的总体预后具有重要意义.

文献来源: 顾宗廷, 李宗泽, 王成锋. 胰腺癌细胞外吉西他滨耐药机制的研究进展. 世界华人消化杂志 2021; 29(8): 421-434
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i8/421.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i8.421

0 前言

胰腺癌是目前人类预后最差的实体恶性肿瘤, 其中约90%是胰腺导管腺癌(pancreatic ductal adenocarcinoma, PDAC). 在中国, PDAC的5年生存率仅为7.2%, 且无明显改善趋势[1]. 尽管手术切除是唯一可能治愈PDAC的手段, 但术后5年生存率也仅为10%-25%, 且有手术指征的患者仅占15%-20%[2]. 因此, 化疗仍是PDAC最重要的治疗选择之一. 改良FOLFIRINOX方案(奥沙利铂、伊立替康、5-FU和亚叶酸钙)对PDAC的疗效已证实优于吉西他滨(gemcitabine, GEM), 但更高的毒性作用发生率限制了其应用[3]. 因此, GEM仍是目前PDAC化疗的基石. GEM是一种脱氧胞苷核苷类似物, 可作为竞争性底物掺入DNA链并终止其复制, 最终导致细胞死亡[4]. 然而, GEM单药治疗晚期PDAC的中位无进展生存期仅为3.7个月[5], GEM耐药是其中的关键原因. 与其他恶性肿瘤相比, 广泛而致密的纤维间质是PDAC的重要特征, PDAC细胞周围的增生结缔组织约占肿瘤总体积的90%, 严重扭曲了正常的胰腺结构[6]. 增生结缔组织主要由间质细胞成分、细胞外基质(extracellular matrix, ECM)、血管和淋巴管组成, 共同构建成肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME)(图1). PDAC细胞与TME之间的相互作用是刺激广泛纤维增生的主要原因[7]. TME不仅是PDAC生长、扩散的积极参与者, 更是诱导GEM耐药的贡献者[8]. TME通过ECM的物理屏障作用和改变细胞外信号调节激酶(extracellular regulated protein kinases, ERK)、丝/苏氨酸蛋白激酶(serine/threonine protein kinases, Akt)、转录激活因子3(signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)等通路活化状态, 影响PDAC细胞中相关基因的表达, 诱导GEM抵抗[9]. 因此, PDAC细胞外途径并非孤立事件, 而是与PDAC细胞共同促进GEM耐药的发生. 本文将重点从PDAC细胞外途径讨论GEM化疗耐药的主要细胞和分子机制研究进展(表1). 细胞外TME各组分与PDAC细胞间相互作用机制的进一步研究, 有助于发现GEM耐药的潜在治疗靶点, 为化疗增敏和改善PDAC总体预后提供新的策略.

1 GEM与乏氧

纤维结缔组织增生和供血血管减少削弱了PDAC的组织灌注, 造成了乏氧的TME[10](图1). 低氧通过缺氧诱导因子-1α(hypoxia-inducible factor-1α, HIF-1α)介导上皮-间充质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)、糖酵解通路的活化, 导致GEM耐药[11,12]. 体外试验亦证实, 下调HIF-1α可增加GEM的敏感性[11,13]. 另外, 低氧也可通过Akt/Notch1信号通路增强GEM诱导的细胞干性并促进化疗抵抗[14]. 因此, 缺氧赋予肿瘤组织对GEM的抵抗力. 但遗憾的是, 一项关于GEM联合靶向低氧TME的细胞毒性药(TH-302)治疗晚期PDAC的III期临床试验(NCT01746979)结果并未显示出总生存期(overall survival, OS)的统计学差异[15]. PDAC自身及所属TME的异质性增加了缺氧诱发GEM耐药机制的复杂性, 这可能是临床试验失败的原因之一. 酸中毒是TME的另一重要特征. HIF-1α介导的糖酵解乳酸生成和碳酸酐酶(carbonic anhydrase, CA)介导的碳酸生成, 是PDAC细

胞外H^+的主要来源[16]. 一项最新的研究显示, 缺氧诱导HIF-1α通过上调CA9的表达, 介导PDAC糖酵解增加和细胞内、外pH的变化, 增加GEM抵抗. 相反, 沉默或抑制CA9则可逆转这一过程[17]. 此外, 酸性TME也可能通过诱导EMT介导GEM抵抗[18]. 因此, 靶向改变细胞外pH值有望成为GEM增敏的新策略. 另外, TME应激也参与了细胞代谢的重塑, 但其代谢影响与GEM耐药的直接关系仍待进一步明确[19].

2 GEM与ECM

PDAC的TME中存在大量致密的基质成分(图1), 一方面致密的纤维组织压迫肿瘤组织内的血管, 阻止GEM进入组织, 另一方面基质成分与PDAC细胞间相互作用, 共同促进了GEM耐药.

2.1 胶原蛋白 PDAC的基质主要由I型胶原蛋白组成, 其正常亚型是一种可被胶原酶降解的异型三聚体, 但PDAC细胞可分泌特有的同型三聚体, 后者对所有胶原溶解性基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)均具有抗性[20]. 临床前研究证实, 基质胶原蛋白可形成物理屏障影响GEM渗透和治疗反应[8]. 此外, 胶原蛋白通过上调PDAC中膜型1-基质金属蛋白酶(membrane type 1-matrix metalloproteinase , MT1-MMP)的表达, 增加ERK1/2磷酸化, 并进一步上调高迁移率族蛋白A2(high mobility group A2, HMGA2)的表达[21]. HMGA2是DNA碱基末端连接修复机制的一部分, 可从DNA中去除小的受损碱基, 并具有嘌呤/嘧啶裂解酶活性, 可削弱GEM在富含胶原的TME中的作用[22]. 另外, HMGA2过表达还促进PDAC细胞组蛋白乙酰转移酶(histone acetyltransferases, HATs)上调, 增加组蛋白H3K9和H3K27乙酰化, 促进染色质松弛和最终的DNA修复, 介导GEM抗性[23]. 由此可见, 靶向MT1-MMP/HMGA2/HATs信号通路可能是新的GEM增敏策略. 遗憾的是, 针对MMPs广谱抑制剂的所有临床试验, 与单独使用GEM相比均未显示临床优势, 缺乏选择性地MMPs抑制剂一度被认为是试验失败的原因之一[24]. 但有趣的是, 一项最新的研究显示, MMP1组织抑制剂(tissue inhibitor of metalloproteinases 1, TIMP1)可通过激活PI3K/Akt促生存信号通路参与GEM抵抗, 下调TIMP1表达则可逆转这一过程[25]. 因此, PDAC基质胶原蛋白在GEM耐药机制中可能发挥双重作用, 同时也提示TIMP1可能是潜在的GEM增敏靶点.

2.2 透明质酸 透明质酸(hyaluronic acid, HA)是一种非硫酸化糖胺聚糖, 组织中HA在生理状态下受到合成和降解动态平衡的调节[9]. HA在PDAC基质成分中含量最高, HA高表达是PDAC患者的独立预后因素, 并在GEM抵抗中发挥关键作用[26]. 高吸水特性的HA累积导致肿瘤中的间质液压力(interstitial fluid pressure, IFP)显著增加, 后者限制了对流, 从而降低了灌注血管的溶质通量, 并最终导致肿瘤的低灌注, 这是GEM抵抗的流体力学机制[27]. 除此之外, HA与CD44等细胞表面受体结合, 通过酪氨酸激酶受体诱导的重要信号通路介导化疗抵抗, 下调 CD44可逆转GEM耐药[28]. 另外, HA-CD44轴亦可通过增加肿瘤干细胞(cancer stem cells, CSCs)标记分子Nanog的磷酸化, 促进多药耐药蛋白1(multidrug resistance protein 1, MDR1)的上调, 增加GEM外排, 或通过β-连环蛋白(β-catenin)的Wnt信号通路诱导EMT, 介导GEM耐药[29,30]. 因此, 靶向HA-CD44信号轴可能是有希望的GEM增敏策略. 对此, 一项最新的研究设计了一种靶向CD44的新型纳米GEM载药脂质体, 并在体外实验中证实了疗效[31]. PEGPH20是一种新型聚乙二醇重组透明质酸酶, 能够有效清除基质HA, 且在PDAC动物模型中可有效增敏GEM[32]. 目前, PEGPH20联合GEM治疗晚期PDAC的部分临床试验(NCT01839487, NCT02715804)已获得积极的结果[33,34]. 遗憾的是, 最近一项有关转移性PDAC的III期临床试验(HALO 109-301)则提示, PEGPH20联合GEM并未显示额外的优势, 且毒副作用明显增加[35]. 值得一提的是, 最近两项研究表明, 动态增强(dynamic contrast-enhanced, DCE)-MRI可用于识别肿瘤微血管的灌注变化[36], SPECT/CT可用于识别新型荧光分子标记的HA-CD44肿瘤细胞[37] , 这便为PDAC靶向HA治疗反应评价提供了可能.

2.3 层粘连蛋白 层粘连蛋白(laminin, LN)是肿瘤ECM组成蛋白中的另一关键成分, 其与整联蛋白结合组成PDAC细胞黏附分子, 并与不良预后显著相关[38]. PDAC细胞与LN的粘附以及随后信号通路的激活参与了GEM抵抗. 局灶性粘附激酶(focal adhesion kinase, FAK)是ECM向细胞传递信号的关键细胞内分子, LN通过诱导FAK/Akt磷酸化, 促进生存蛋白(survivin)的表达, 抵抗GEM诱导的细胞毒性和凋亡[39]. 另外, 一项最近的异种移植模型研究显示, PDAC细胞分泌的组织转谷氨酰胺酶2(transglutaminase 2, TG2)可刺激间质肿瘤相关成纤维细胞(cancer-associated fibroblasts, CAFs)分泌LN-1, 进而增加GEM抵抗, 下调TG2则可逆转这一趋势[40]. 除了诱导LN分泌构成基质物理屏障之外, TG2也可通过激活细胞内FAK/PI3K/Akt和NF-κB促生存通路参与GEM抵抗[41]. 因此, TG2/LN/FAK可能是GEM增敏的潜在靶点, 但由于缺少特异性抑制剂, 目前相关的研究仍十分有限.

2.4 纤连蛋白 纤连蛋白(fibronectin, FN)也是ECM的主要组成成分之一, 可与PDAC细胞表面的黏附受体整联蛋白结合, 参与细胞内外的信号传递, 并在GEM抵抗中

发挥重要作用[42]. FN除了与其他基质蛋白一样参与形成基质物理屏障之外, 还可通过诱导ERK1/2磷酸化抵抗GEM诱导的细胞凋亡, 介导GEM耐药. 体外抑制ERK则可恢复GEM的敏感性[43]. 因此, 靶向FN/ERK有望成为PDAC克服GEM耐药的潜在策略.

2.5 细胞因子和趋化因子 细胞因子和趋化因子是PDAC细胞与ECM之间的调节介质, 同样在GEM抵抗中发挥关键作用. 其中, 结缔组织生长因子(connective tissue growth factor, CTGF)可介导间质纤维形成并在PDAC中过表达[44]. CTGF还可通过诱导细胞凋亡抑制蛋白(X-linked inhibitor of apoptosis protein, XIAP)磷酸化, 直接抑制caspase-3/7/9介导的凋亡小体形成, 参与GEM抵抗[45]. 体外和异种模型研究表明, 靶向抑制CTGF(FG-3019)或XIAP(AZD5582)可通过诱导PDAC凋亡进一步逆转GEM耐药[45,46]. 因此, CTGF/XIAP轴是抗GEM耐药的潜在靶点. 目前, 靶向阻断CTGF的单克隆抗体(pamrevlumab)联合GEM治疗局部晚期PDAC的新辅助方案正在进行临床试验(NCT02210559), 初步结果显示联合方案可增加R0切除率且耐受性良好[47]. 此外, 转化生长因子-β(transforming growth factor β, TGF-β)也在PDAC中过表达, 其通过经典的TGF-β/ALK5/Smad2/3信号通路诱导CYR61表达, 后者负调控核苷转运蛋白hENT1和hCNT3, 增加吉西他滨的细胞摄取. 最新的多项研究证实, PDAC中TGF-β信号的激活或CYR61的上调促进了GEM耐药, 靶向抑制TGF-β/CYR61则可实现GEM增敏[48-50]. 另外, TGF-β还通过调控VAV1基因甲基化来促进EMT并介导GEM耐药, 靶向抑制TGF-β/VAV1轴则可显著增强GEM的疗效[51]. 因此, 靶向TGF-β/CYR61/VAV1也是GEM增敏的潜在策略.

众所周知, 表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)和血管内皮生长因子受体(vascular endothelial growth factor receptor, VEGFR)通路在癌症的发生发展中具有关键作用, 其表达与不良预后密切相关[52]. 其中, EGFR是生长因子受体酪氨酸激酶ErbB的家族成员, 可在40%-60%的PDAC中表达. 临床前研究显示, GEM可通过激活HAb18G(CD147)/EGFR/STAT3促生存信号通路, 诱导PDAC对GEM获得性耐药[53,54]. 靶向抑制HAb18G(CD147)或EGFR/STAT3信号则可逆转GEM抗性[54,55]. 因此, HAb18G(CD147)/EGFR/STAT3轴是克服GEM耐药的潜在靶点. 遗憾的是, EGFR-酪氨酸激酶抑制剂(EGFR-tyrosine kinase inhibitors, EGFR-TKIs)联合GEM较GEM单药治疗可切除或晚期PDAC的临床试验均未显示无病生存期(disease-free survival, DFS)或OS的改善[56-58], VEGFR-TKIs联合GEM的III期临床试验(NCT00471146)也宣告失败[59]. TKIs诱导的细胞快速反馈代偿机制可能是试验失败的原因之一[60].

此外, 胰岛素样生长因子-1(insulin-like growth factor 1, IGF-1)与其受体IGF-1R的结合可激活PI3K/Akt/mTOR、MEK/ERK通路, 促进PDAC增殖并诱导GEM耐药[61]. 靶向抑制IGF-1R可增强GEM在PDAC异种移植物的抗肿瘤效果[62]. 目前, 人源IGF-1R单克隆抗体已经在几种癌症中应用, 但针对转移性PDAC联合GEM治疗的III期临床试验(NCT01231347)并未取得成功[63]. 令人振奋的是, 最近一项针对进展期PDAC的I/II期临床试验(NCT00769483)显示, IGF-1R抑制剂联合GEM+EGFR-TKIs较GEM+EGFR-TKIs可显著改善OS[64]. 另外, 血小板衍生生长因子-D(platelet-derived growth factor-D, PDGF-D)是诱导PDAC间质纤维化和IFP递增并参与GEM耐药的关键因子, 这一过程可能是通过PI3K/Akt、mTOR、NF-κB、ERK、MAPK、Notch通路触发EMT实现的[65]. 虽然PDGFR抑制剂联合GEM在临床前研究中可显示疗效[66], 但遗憾的是, 最近完成的临床试验均宣告失败[67-69].

除了细胞因子之外, 趋化因子配体(CXC ligand, CXCL)与其受体(CXC chemokine receptor, CXCR)结合通过PDAC间质细胞的旁分泌和癌细胞自分泌信号传导参与GEM抵抗, 其中一个关键的轴心是CXCL12/CXCR4[70]. CXCR4是细胞表面G蛋白偶联受体家族成员, 其在PDAC中高表达且与不良预后密切相关[71]. CXCL12/CXCR4轴可激活FAK、ERK和Akt促生存通路, 增强β-catenin和NF-κB的转录活性, 促进Survivin的表达, 诱导GEM耐药[72]. 临床前研究显示, CXCR4拮抗剂可显著增强GEM的疗效[72-74]. 近年来, 不断有新的CXCR通路被揭示, 并且相关通路的体外抑制亦显示了类似的效果[75,76]. 可以预见, 靶向CXCR将是未来GEM增敏研究的热点之一.

3 GEM与间质细胞

间质细胞是TME的重要成员(图1), 其通过直接细胞间接触和细胞旁分泌(ECM蛋白)途径与PDAC细胞相互作用, 共同参与GEM耐药.

3.1 胰腺星状细胞和CAFs 胰腺星状细胞(pancreatic stellate cells, PSCs)是PDAC中最重要间质细胞成分之一, 其可被TNF-α、TGF-β、IL-1、IL-2、IL-10和PDGF激活从静止的表型转变成CAFs, 后者通过分泌ECM蛋白构建纤维化间质和乏氧的TME, 促进GEM耐药[77,78]. PSCs除了参与构建GEM耐药的物理屏障之外, 还可通过与PDAC细胞直接接触和旁分泌细胞因子途径诱导GEM抗性. 体外共培养研究证实, PSCs可通过增加PDAC细胞Hes1(Notch信号通路组成部分)的表达激活

Notch信号通路, 后者通过增强EMT和CSCs表型诱导GEM耐药. 当抑制Hes1基因表达或Notch通路时, PSCs诱导的化疗耐药被有效地逆转[79]. 因此, 靶向Hes1/Notch信号通路可能是逆转GEM耐药的策略之一. 体外三维(three-dimensional, 3D)共培养研究显示, PSCs可通过分泌肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)与PDAC细胞受体酪氨酸激酶c-Met结合并诱导其磷酸化, 后者通过PI3K/Akt/mTOR促生存通路的激活诱导GEM抗性[80]. 临床前c-Met靶向抑制剂联合GEM可显著增强其疗效[80,81], Ⅰ期临床试验(NCT00874042)亦证实两者联合应用有良好的安全性和耐受性[82]. 因此, 靶向抑制HGF/c-Met通路将是有希望的GEM增敏策略. 此外, PSCs分泌的骨膜蛋白(Periostin)赋予GEM抵抗力, 沉默其表达可逆转GEM抗性, 这一过程可能与GEM诱导凋亡的抑制有关[83]. 最近一项研究显示, PSCs可通过分泌脱氧胞苷(deoxycytidine, dC)保护PDAC免受GEM的毒性, 但具体机制仍不清楚, 可能与GEM细胞内代谢的脱氧胞苷激酶(deoxycytidine kinase, dCK)竞争作用有关[84]. 因此, Periostin或基质dC也可能是GEM增敏的潜在靶点. 在PDAC中, CAFs主要来源于PSCs的活化, 少部分由静止的成纤维细胞、间充质干细胞或肿瘤细胞EMT衍生而来[85]. 以α-平滑肌肌动蛋白(α-smooth muscle actin, α-SMA)、成纤维细胞活化蛋白(fibroblast activation protein, FAP)和成纤维细胞特异性蛋白1(fibroblast specific protein 1, FSP1)表达为特征表型的活化CAFs对GEM天然耐药, 并可通过多种机制诱导获得性耐药[86]. 遗憾的是, 转基因小鼠模型研究显示, 靶向耗竭α-SMA表型的CAFs并未增加GEM对PDAC的疗效, 但却上调了细胞毒性T淋巴细胞相关抗原-4(cytotoxic T lymphocyte associated antigen-4, CTLA-4)的表达, 且靶向CTLA-4的抗体疗法可提高整体生存率[87]. 有趣的是, 最近的一项研究亦显示, 预先GEM处理可促进程序性细胞死亡蛋白-1(programmed death-1, PD-1)的表达, 并随后对联合PD-1免疫疗法敏感[88]. 因此, GEM可能通过重塑PDAC的TME增加了免疫靶点的表达, 联合免疫疗法可能是GEM耐药二线治疗的潜在策略. 尽管在临床前模型中, 靶向抑制FAP可提高化疗疗效[89], 但较早的一项II期临床试验却显示, FAP抑制剂与GEM联合对转移性PDAC的疗效改善仍十分有限[90]. 此外, Hedgehog(HH)信号通路及其配体之一Sonic Hedgehog(SHH)是CAFs活化的有效调节因子, 参与PDAC的增殖和损伤修复, 但其在诱导GEM耐药中的作用仍存有争议[24]. 尽管临床前研究显示, 小分子抑制剂阻断SHH通路可提高GEM敏感性[91,92], 但随后与GEM联合治疗晚期PDAC的II期临床试验却均告失败[93,94]. 另外, 基因组分析表明, 白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)等炎症介质在耐GEM的CAFs中过表达且耐药性与IL-6水平呈正相关[95], 这提示CAFs诱导的GEM抗性可能有促炎症通路的参与[96]. 有趣的是, 一项表征CAFs的3D共培养研究揭示了在PDAC中两种α-SMA、IL-6表达程度高低不同且作用相反的CAFs亚型存在, 该研究强调了间质CAFs的异质性[97], 这也可能是上述临床试验失败的原因之一[86]. 最近一项研究显示, 耐GEM的CAFs细胞外囊泡即外泌体(exosomes)的释放显著增加, 这些外泌体通过激活间充质转录因子Snail, 促进EMT并最终诱导GEM抗性[98]. 其中, 外泌体中的miRNA-106b可能在这一过程中起重要作用[99]. 用外泌体释放抑制剂或miRNA-106b抑制剂处理耐GEM的CAFs显著降低了共培养的PDAC细胞存活率[98,99], 这表明外泌体可能是克服GEM耐药的潜在靶点.

3.2 CSCs CSCs是PDAC中一类具有干细胞特征的特殊细胞群, 维持肿瘤的形成和生长. CSCs在GEM耐药中的作用逐渐引发关注, 但确切的细胞和分子机制尚未完全阐明[100]. 体外研究显示, CSCs可通过EMT表型转化逃避GEM细胞毒性作用[101]. HOX转录反义RNA(HOX transcript antisense RNA, HOTAIR)是一类由GEM诱导CSCs产生的长非编码RNA(long non-coding RNAs, lncRNA), 其可通过促进增殖和抑制凋亡, 诱导GEM抗性[102]. 最近一项研究亦显示, CSCs可上调非编码微小RNA(microRNA, miRNA)中的miR-210表达并增加外泌体miR-210的释放, 进一步通过PI3K/Akt/mTOR促生存通路活化, 促进PDAC细胞的GEM抵抗[103]. 因此, 靶向CSCs及相关非编码RNA(non-coding RNA, ncRNA)有望成为新的GEM增敏策略.

4 免疫细胞

炎症细胞浸润和免疫抑制是PDAC的特征之一[104], 参与的免疫细胞包括肿瘤相关巨噬细胞(tumor-associated macrophages, TAMs)、肿瘤相关嗜中性粒细胞(tumor-associated neutrophils, TANs)、骨髓来源抑制细胞(myeloid-derived suppressor cells, MDSCs)、肿瘤浸润T淋巴细胞(tumor infiltrating lymphocytes, TILs)和血小板(platelets, PLTs)(图1). PDAC中的免疫细胞并非GEM耐药的孤立观察者, 而是这一过程的重要参与者.

4.1 TAMs 消除凋亡细胞是TAMs最重要的功能之一, M2型极化的TAMs可通过激活转录因子STAT3直接增强CSCs的肿瘤起始能力[105], 并通过下调caspase-3通路活化抑制GEM诱导的细胞凋亡[106], 促进GEM抵抗. 体外试验显示, 靶向抑制集落刺激因子-1受体(colony stimulating factor-1 receptor,CSF-1R)或趋化因子(CC基

表 1 PDAC细胞外GEM耐药的潜在靶点和机制

潜在靶点	耐药机制	临床试验	文献
Hypoxia/HIF-1α	诱导EMT; 增加Glycolysis, 提高dCTP水平; 活化Akt/Notch1通路, 诱导CSCs表型	NCT01746979	[11-15]
CA9/Acidosis	增加Glycolysis, 改变细胞内、外PH; 诱导EMT		[17,18]
MT1-MMP/HMGA2/HATs	基质物理屏障; 增加H3K9、H3K27乙酰化, 修复受损DNA		[8,21-24]
TIMP1	活化PI3K/Akt促生存通路		[25]
HA/CD44	增加IFP; 上调MDR1表达; 诱导EMT	NCT01839487; NCT02715804; HALO109-301	[27-35]
TG2/LN/FAK	基质物理屏障; 活化PI3K/Akt、NF-κB促生存通路		[39-41]
FN/ERK	基质物理屏障; 活化ERK通路, 抑制Apoptosis		[43]
CTGF/XIAP	抑制Caspase-3/7/9介导的凋亡小体形成	NCT02210559	[45-47]
TGF-β/CYR61/VAV1	TGF-β/ALK5/Smad2/3通路活化, 下调 hENT1、hCNT3表达; 诱导EMT		[48-51]
HAb18G/EGFR/STAT3	活化EGFR/STAT3促生存通路	CONKO005; ISRCTN96397434; NCT00471146	[53-59]
IGF-1R	活化PI3K/Akt/mTOR、MEK/ERK促生存通路	NCT00769483; NCT01231347	[61-64]
PDGFR	增加IFP; 活化PI3K/Akt、mTOR、NF-κB、ERK、MAPK、Notch通路诱导EMT	BAYPAN	[65-69]
CXCL12/CXCR4	活化FAK、ERK、Akt促生存通路, 上调Survivin的表达		[72-74]
Hes1/Notch	基质物理屏障; 活化Notch通路, 诱导 EMT和CSCs表型		[77-79]
HGF/c-Met	活化PI3K/Akt/mTOR促生存通路	NCT00874042	[80-82]
Periostin	抑制Apoptosis		[83]
dC	细胞内dCK竞争作用		[84]
α-SMA-CAFs	增加Hypoxia; 诱导EMT和CSCs表型; 基质物理屏障		[86,87]
FAP-CAFs	重塑ECM, 基质物理屏障		[89,90]
SHH	活化HH促生存通路	NCT01064622; NCT01088815	[91-94]
IL-6	活化促炎症通路		[95,96]
Exosome	激活Snail, 诱导EMT		[98,99]
CSCs/ncRNA	诱导EMT; 抑制Apoptosis; 活化PI3K/Akt/mTOR促生存通路		[101-103]
TAMs/STAT3	活化STAT3, 诱导 CSCs表型; 抑制Apoptosis; 上调CDA表达; M2型极化		[105-112]
GM-CSF	活化MAPK、NF-κB促生存通路, 促MDSCs的分化	ISRCTN4382138	[120,122]
PD-1/L1, CTLA-4	抑制CTLs毒性作用		[126,127]
HEATR1/Nrf2	负性调控Akt促生存通路, 活化效应CTLs; 负性调控下游抗氧化和细胞保护基因转录		[128,129]
ADP-P2Y12	上调Slug、ZEB1的表达,诱导EMT; 下调hENT1、 CDA的表达; 活化EGFR通路	NCT02404363	[133-135]

Hypoxia: 低氧; HIF-1α: 缺氧诱导因子-1α; EMT: 上皮-间充质转化; Glycolysis:糖酵解; dCTP: 三磷酸脱氧胞苷; CSCs: 肿瘤干细胞; CA9:碳酸酐酶-9; Acidosis:酸中毒; MT1-MMP: 膜型1-基质金属蛋白酶; HMGA2: 高迁移率族蛋白A2; HATs: 组蛋白乙酰转移酶; TIMP1: 基质金属蛋白酶1组织抑制剂; HA: 透明质酸; IFP: 间质液压力; MDR1: 多药耐药蛋白1; TG2: 组织转谷氨酰胺酶2; LN: 层粘连蛋白; FAK: 局灶性粘附激酶; FN: 纤连蛋白; ERK: 细胞外信号调节激酶; Apoptosis: 细胞凋亡; CTGF: 结缔组织生长因子; XIAP: 细胞凋亡抑制蛋白; TGF-β: 转化生长因子-β; CYR61: 富半胱氨酸蛋白61; VAV1: VAV1基因; hENT1: 平衡核苷转运体1; hCNT3: 浓缩核苷转运体3; HAb18G: 即CD147,一类免疫球蛋白超家族黏附分子; EGFR: 表皮生长因子受体; STAT3: 信号传导与转录激活因子3; IGF-1R: 胰岛素样生长因子-1受体; PDGFR: 血小板衍生生长因子受体; CXCL12: 趋化因子配体12; CXCR4: 趋化因子受体4; Hes1: Notch信号通路组成蛋白; HGF: 肝细胞生长因子; c-Met: 一类受体酪氨酸激酶; Periostin: 骨膜蛋白; dC: 脱氧胞苷; dCK: 脱氧胞苷激酶; α-SMA: α-平滑肌肌动蛋白; CAFs: 肿瘤相关成纤维细胞; FAP: 成纤维细胞活化蛋白; ECM: 细胞外基质; HH: Hedgehog通路; SHH: Hedgehog通路配体之一; IL-6: 白细胞介素-6; Exosome: 外泌体; ncRNA: 非编码RNA; TAMs: 肿瘤相关巨噬细胞; CDA: 胞苷脱氨酶; GM-CSF: 粒细胞巨噬细胞集落刺激因子; MDSCs: 骨髓来源抑制细胞; PD-1/L1: 程序性细胞死亡蛋白-1/配体; CTLA-4: 细胞毒性T淋巴细胞相关抗原-4; CTLs: 细胞毒性T淋巴细胞; HEATR1: HEAT重复序列的蛋白1; Nrf2: 核因子E2相关因子2; ADP: 二磷酸腺苷; P2Y12: 一类以ADP为配体的G蛋白偶联受体.

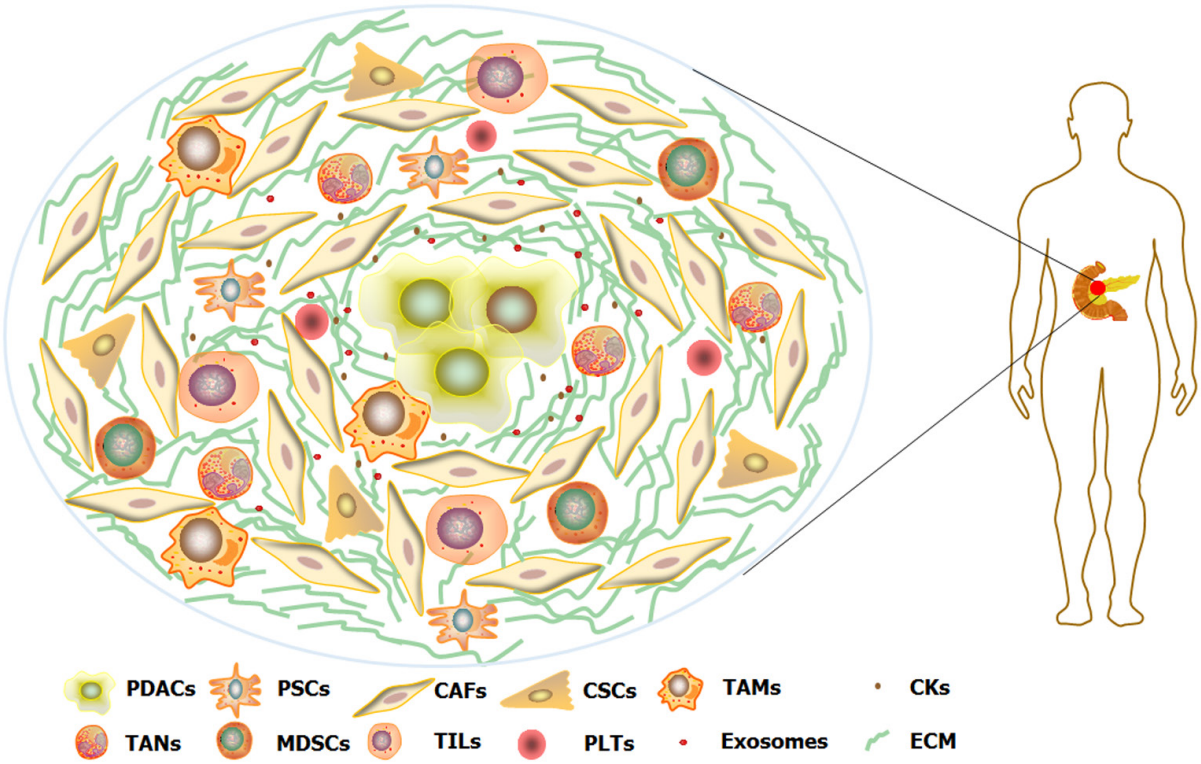


图 1　PDAC细胞与细胞外TME各组分的结构分布与关系. PDACs: 胰腺导管腺癌细胞; PSCs: 胰腺星状细胞; CAFs: 肿瘤相关成纤维细胞; CSCs: 肿瘤干细胞; TAMs: 肿瘤相关巨噬细胞; CKs: 细胞因子/趋化因子; TANs: 肿瘤相关嗜中性粒细胞; MDSCs: 骨髓来源抑制细胞; TILs: 肿瘤浸润T淋巴细胞; PLTs: 血小板; Exosomes: 外泌体; ECM: 细胞外基质.

序)受体2(C-C motif chemokine receptor 2, CCR2)可选择性清除TAMs, 进一步提高GEM的疗效[105,106]. 此外, 活化的STAT3还可通过上调胞苷脱氨酶(cytidine deaminase, CDA; 一种可将GEM由活性形式代谢为非活性的酶)的表达和基质重塑促进GEM耐药[106,107]. 动物模型研究显示, 联合STAT3靶向抑制剂可明显提高GEM的疗效[107]. 因此, 靶向TAMs/STAT3可能是有潜力的GEM增敏策略[108,109]. 值得关注的是, TAMs具有高度可塑性, 既可以极化成致瘤且对化疗耐药的M2型, 也可以极化成抗瘤且对化疗敏感的M1型[110]. 因此, TAMs定向转化将是除TAMs耗竭之外另一重要的GEM增敏路径[111,112].

4.2 TANs与MDSCs TANs是炎症和免疫状态的关键调节剂, 在PDAC的发生发展中起重要作用[113]. 同TAMs类似, TANs亦可由TME中不同的趋化因子诱导极化成抗瘤(N1)或促瘤(N2)表型[114]. 尽管TANs的数量和比例是包括PDAC在内的实体肿瘤公认的预后生物标志物[115], 但TANs与GEM耐药的关系目前仍知之甚少. 尽管如此, TANs的可塑性研究已逐渐成为热点领域之一[116], 并可能成为GEM增敏的潜在靶点. MDSCs是源自骨髓祖细胞的异质免疫细胞群, 以粒细胞样MDSCs(granulocytic myeloid de-rived suppressor cells, G-MDSCs)亚型在肿瘤中分布最为广泛[117], 其可通过抑制T细胞免疫和促进血管生成加速肿瘤进展[118]. 因此, MDSCs又被称为抑制T细胞的嗜中性粒细胞. 同样, 循环中的MDSCs水平已证实与PDAC的不良预后密切相关[119]. 一项最近的体外研究显示, GEM通过诱导MAPK信号通路的活化和NF-κB启动子活性, 进一步增加与KRAS突变相关的主要细胞因子-粒细胞巨噬细胞集落刺激因子(granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, GM-CSF)的释放, 进而增强PDAC中MDSCs的分化并促进其耐药. 用抗体靶向中和GM-CSF可以有效降低MDSCs的比例, 并有助于T细胞功能的恢复, 逆转GEM耐药[120]. 但值得注意的是, GM-CSF还可通过刺激树突状细胞来诱导或激活抗肿瘤的T细胞免疫, 并基于这一原理设计了GM-CSF基因转染的胰腺肿瘤疫苗(GVAX)[121], 这表明GM-CSF在PDAC的TME中可能发挥双向的作用. 这或许是一项针对GM-CSF+端粒酶疫苗GV1001联合/不联合GEM治疗晚期PDAC的III期临床试验(ISRCTN4382138)失败的原因之一[122]. 遗憾的是, 由于缺乏特异性的表型标志, 目前还无法有效的区分TANs和MDSCs, 因此相关研究之间的可比性和可靠性尚待进一步确认[116,117].

4.3 TILs TILs包含细胞毒性T淋巴细胞(cytotoxic T lymphocytes , CTLs)、辅助T细胞(helper T cell, Th)、调节T细胞(regulatory T cells, Tregs)等多种亚型, 是参与抗

肿瘤免疫和调控免疫检查点的关键介质. 其中, PD-1和CTLA-4是TILs备受关注的抑制性免疫检查点受体, 可负性调控其抗肿瘤免疫[123]. 研究证实, CTLs的高浸润水平与PDAC良好预后呈正相关[124], 这也是目前免疫检查点靶向阻断治疗的理论基础. 遗憾的是, 目前针对PD-1/L1和CTLA-4免疫检查点的单一抑制剂疗法均未显示对PDAC有效[125]. 一项新的异种模型研究表明, GEM可通过诱导T细胞免疫增加对PD-1和CTLA-4抑制剂的敏感性, GEM联合免疫检查点抑制剂可提高PDAC的生存率[126], 但实际疗效仍需临床试验进一步验证[127]. 此外, HEAT重复序列的蛋白1(HEAT repeat-containing protein 1, HEATR1)可负性调控Akt信号通路诱导效应CTLs发挥抗肿瘤免疫效应, 但其在PDAC中普遍下调且与GEM耐药密切相关[128]. 一项最新的研究显示, HEATR1下调还能通过激活核因子E2相关因子2(nuclear factor erythroid-2-related factor 2, Nrf2)信号传导, 后者进一步促进其下游抗氧化和细胞保护性基因的转录, 最终导致GEM耐药[128,129]. 因此, HEATR1/Nrf2可能是GEM化疗增敏的潜在靶点.

4.4 PLTs 血液高凝和静脉血栓栓塞(venous thromboembolism, VTE)风险是PDAC的特征之一, 这提示PDAC发生发展与PLTs密切相关[130]. PDAC细胞可以诱导PLTs活化和聚集, PDGF有助于肿瘤进展和GEM耐药[131-134]. 对具有缺氧特征TME的PDAC, 二磷酸腺苷(adenosine diphosphate, ADP)是重要的PLT激动剂. 最近, 靶向PLT的ADP-P2Y12受体逐渐引发了研究人员的兴趣[135]. P2Y12属于嘌呤能P2(purinergic receptor P2)G蛋白偶联受体(G protein-coupled receptors, GPCRs), ADP与P2Y12受体结合可激活PLT, 进一步上调EMT相关转录因子Slug、ZEB1的表达, 并下调GEM转运蛋白hENT1和GEM代谢酶CDA的表达, 诱导GEM耐药[133,134]. 临床前研究证实, ADP–P2Y12轴抑制剂(ticagrelor)联合GEM治疗PDAC有明显的协同作用, 但单一使用则未显示疗效[134]. 最近, 一项氯吡格雷(P2Y12抑制剂)联合GEM治疗PDAC的临床试验(NCT02404363)正在进行, 结果令人期待. 此外, 由于P2Y12-EGFR的信号串扰, 抑制P2Y12信号还可显著增强抗EGFR治疗的疗效[134], 但具体机制尚不明确, 这提示P2Y12抑制剂+GEM联合EGFR-TKIs可能是治疗PDAC的潜在策略.

5 结论

随着研究的不断深入, 以结缔组织广泛增生为特征的PDAC细胞外TME在GEM耐药中的关键作用逐渐被揭示(表1). 但遗憾的是, 针对TME相关分子途径的靶向治疗并未取得令人满意的结果, 甚至基质的物理屏障作用也受到质疑[136]. 其中, 关键的原因包括: PDAC自身及所属TME的异质性; TME成分可能的双向作用; 缺乏有效的选择性抑制剂, 以及替代代偿途径的快速上调. 此外, 目前多数的研究证据均来自体外试验模型, PDAC细胞与TME间复杂生物学行为仍不能在临床前模型中完全重现, 这一原因同样不可忽视[137]. 因此, 要提高GEM化疗有效率, 改善PDAC的总体预后, 上述原因都将是未来要迫切解决的关键问题. 值得关注的是, GEM对TME重塑作用的深入研究也有望指导多靶点的联合治疗, 最终可能改变未来PDAC的治疗格局.

6 参考文献

1 Zeng H, Chen W, Zheng R, Zhang S, Ji JS, Zou X, Xia C, Sun K, Yang Z, Li H, Wang N, Han R, Liu S, Li H, Mu H, He Y, Xu Y, Fu Z, Zhou Y, Jiang J, Yang Y, Chen J, Wei K, Fan D, Wang J, Fu F, Zhao D, Song G, Chen J, Jiang C, Zhou X, Gu X, Jin F, Li Q, Li Y, Wu T, Yan C, Dong J, Hua Z, Baade P, Bray F, Jemal A, Yu XQ, He J. Changing cancer survival in China during 2003-15: a pooled analysis of 17 population-based cancer registries. *Lancet Glob Health* 2018; 6: e555-e567 [PMID: 29653628 DOI: 10.1016/S2214-109X(18)30127-X]

2 Mizrahi JD, Surana R, Valle JW, Shroff RT. Pancreatic cancer. *Lancet* 2020; 395: 2008-2020 [PMID: 32593337 DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30974-0]

3 Conroy T, Hammel P, Hebbar M, Ben Abdelghani M, Wei AC, Raoul JL, Choné L, Francois E, Artru P, Biagi JJ, Lecomte T, Assenat E, Faroux R, Ychou M, Volet J, Sauvanet A, Breysacher G, Di Fiore F, Cripps C, Kavan P, Texereau P, Bouhier-Leporrier K, Khemissa-Akouz F, Legoux JL, Juzyna B, Gourgou S, O'Callaghan CJ, Jouffroy-Zeller C, Rat P, Malka D, Castan F, Bachet JB; Canadian Cancer Trials Group and the Unicancer-GI–PRODIGE Group. FOLFIRINOX or Gemcitabine as Adjuvant Therapy for Pancreatic Cancer. *N Engl J Med* 2018; 379: 2395-2406 [PMID: 30575490 DOI: 10.1056/NEJMoa1809775]

4 Saif MW, Lee Y, Kim R. Harnessing gemcitabine metabolism: a step towards personalized medicine for pancreatic cancer. *Ther Adv Med Oncol* 2012; 4: 341-346 [PMID: 23118809 DOI: 10.1177/1758834012453755]

5 Von Hoff DD, Ervin T, Arena FP, Chiorean EG, Infante J, Moore M, Seay T, Tjulandin SA, Ma WW, Saleh MN, Harris M, Reni M, Dowden S, Laheru D, Bahary N, Ramanathan RK, Tabernero J, Hidalgo M, Goldstein D, Van Cutsem E, Wei X, Iglesias J, Renschler MF. Increased survival in pancreatic cancer with nab-paclitaxel plus gemcitabine. *N Engl J Med* 2013; 369: 1691-1703 [PMID: 24131140 DOI: 10.1056/NEJMoa1304369]

6 Apte MV, Park S, Phillips PA, Santucci N, Goldstein D, Kumar RK, Ramm GA, Buchler M, Friess H, McCarroll JA, Keogh G, Merrett N, Pirola R, Wilson JS. Desmoplastic reaction in pancreatic cancer: role of pancreatic stellate cells. *Pancreas* 2004; 29: 179-187 [PMID: 15367883 DOI: 10.1097/00006676-200410000-00002]

7 Neesse A, Algül H, Tuveson DA, Gress TM. Stromal biology and therapy in pancreatic cancer: a changing paradigm. *Gut* 2015; 64: 1476-1484 [PMID: 25994217 DOI: 10.1136/gutjnl-2015-309304]

8 Neesse A, Bauer CA, Öhlund D, Lauth M, Buchholz M, Michl P, Tuveson DA, Gress TM. Stromal biology and therapy in pancreatic cancer: ready for clinical translation? *Gut* 2019; 68: 159-171 [PMID: 30177543 DOI: 10.1136/gutjnl-2018-316451]

9 Liang C, Shi S, Meng Q, Liang D, Ji S, Zhang B, Qin Y, Xu J, Ni Q,

Yu X. Complex roles of the stroma in the intrinsic resistance to gemcitabine in pancreatic cancer: where we are and where we are going. *Exp Mol Med* 2017; 49: e406 [PMID: 29611542 DOI: 10.1038/emm.2017.255]
10 Lohse I, Lourenco C, Ibrahimov E, Pintilie M, Tsao MS, Hedley DW. Assessment of hypoxia in the stroma of patient-derived pancreatic tumor xenografts. *Cancers (Basel)* 2014; 6: 459-471 [PMID: 24577243 DOI: 10.3390/cancers6010459]
11 Wang R, Cheng L, Xia J, Wang Z, Wu Q, Wang Z. Gemcitabine resistance is associated with epithelial-mesenchymal transition and induction of HIF-1α in pancreatic cancer cells. *Curr Cancer Drug Targets* 2014; 14: 407-417 [PMID: 24575976 DOI: 10.2174/1568009614666140226114015]
12 Shukla SK, Purohit V, Mehla K, Gunda V, Chaika NV, Vernucci E, King RJ, Abrego J, Goode GD, Dasgupta A, Illies AL, Gebregiworgis T, Dai B, Augustine JJ, Murthy D, Attri KS, Mashadova O, Grandgenett PM, Powers R, Ly QP, Lazenby AJ, Grem JL, Yu F, Matés JM, Asara JM, Kim JW, Hankins JH, Weekes C, Hollingsworth MA, Serkova NJ, Sasson AR, Fleming JB, Oliveto JM, Lyssiotis CA, Cantley LC, Berim L, Singh PK. MUC1 and HIF-1alpha Signaling Crosstalk Induces Anabolic Glucose Metabolism to Impart Gemcitabine Resistance to Pancreatic Cancer. *Cancer Cell* 2017; 32: 71-87.e7 [PMID: 28697344 DOI: 10.1016/j.ccell.2017.06.004]
13 Hou XF, Li S, Wu C, Li K, Xu SN, Wang JF. Effects of obatoclax combined with gemcitabine on the biological activity of pancreatic cancer cells under hypoxic conditions. *Mol Med Rep* 2018; 18: 495-501 [PMID: 29749486 DOI: 10.3892/mmr.2018.8932]
14 Zhang Z, Han H, Rong Y, Zhu K, Zhu Z, Tang Z, Xiong C, Tao J. Hypoxia potentiates gemcitabine-induced stemness in pancreatic cancer cells through AKT/Notch1 signaling. *J Exp Clin Cancer Res* 2018; 37: 291 [PMID: 30486896 DOI: 10.1186/s13046-018-0972-3]
15 Cutsem EV, Lenz HJ, Furuse J, Tabernero J, Heinemann V, Ioka T, Bazin I, Ueno M, Csõszi T, Wasan H, Melichar B, Karasek P, Macarulla TM, Guillen C, Kalinka-Warzocha E, Horvath Z, Prenen H, Schlichting M, Ibrahim A, Bendell JC. MAESTRO: A randomized, double-blind phase III study of evofosfamide (Evo) in combination with gemcitabine (Gem) in previously untreated patients (pts) with metastatic or locally advanced unresectable pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC). *J Clin Oncol* 2016; 34(15_suppl): 4007-4007 [DOI: 10.1200/JCO.2016.34.15_suppl.4007]
16 Corbet C, Feron O. Tumour acidosis: from the passenger to the driver's seat. *Nat Rev Cancer* 2017; 17: 577-593 [PMID: 28912578 DOI: 10.1038/nrc.2017.77]
17 McDonald PC, Chafe SC, Brown WS, Saberi S, Swayampakula M, Venkateswaran G, Nemirovsky O, Gillespie JA, Karasinska JM, Kalloger SE, Supuran CT, Schaeffer DF, Bashashati A, Shah SP, Topham JT, Yapp DT, Li J, Renouf DJ, Stanger BZ, Dedhar S. Regulation of pH by Carbonic Anhydrase 9 Mediates Survival of Pancreatic Cancer Cells With Activated KRAS in Response to Hypoxia. *Gastroenterology* 2019; 157: 823-837 [PMID: 31078621 DOI: 10.1053/j.gastro.2019.05.004]
18 Riemann A, Rauschner M, Gießelmann M, Reime S, Haupt V, Thews O. Extracellular Acidosis Modulates the Expression of Epithelial-Mesenchymal Transition (EMT) Markers and Adhesion of Epithelial and Tumor Cells. *Neoplasia* 2019; 21: 450-458 [PMID: 30953950 DOI: 10.1016/j.neo.2019.03.004]
19 Qin C, Yang G, Yang J, Ren B, Wang H, Chen G, Zhao F, You L, Wang W, Zhao Y. Metabolism of pancreatic cancer: paving the way to better anticancer strategies. *Mol Cancer* 2020; 19: 50 [PMID: 32122374 DOI: 10.1186/s12943-020-01169-7]
20 Makareeva E, Han S, Vera JC, Sackett DL, Holmbeck K, Phillips CL, Visse R, Nagase H, Leikin S. Carcinomas contain a matrix metalloproteinase-resistant isoform of type I collagen exerting selective support to invasion. *Cancer Res* 2010; 70: 4366-4374 [PMID: 20460529 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-09-4057]
21 Dangi-Garimella S, Krantz SB, Barron MR, Shields MA, Heiferman MJ, Grippo PJ, Bentrem DJ, Munshi HG. Three-dimensional collagen I promotes gemcitabine resistance in pancreatic cancer through MT1-MMP-mediated expression of HMGA2. *Cancer Res* 2011; 71: 1019-1028 [PMID: 21148071 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-10-1855]
22 Summer H, Li O, Bao Q, Zhan L, Peter S, Sathiyanathan P, Henderson D, Klonisch T, Goodman SD, Dröge P. HMGA2 exhibits dRP/AP site cleavage activity and protects cancer cells from DNA-damage-induced cytotoxicity during chemotherapy. *Nucleic Acids Res* 2009; 37: 4371-4384 [PMID: 19465398 DOI: 10.1093/nar/gkp375]
23 Dangi-Garimella S, Sahai V, Ebine K, Kumar K, Munshi HG. Three-dimensional collagen I promotes gemcitabine resistance in vitro in pancreatic cancer cells through HMGA2-dependent histone acetyltransferase expression. *PLoS One* 2013; 8: e64566 [PMID: 23696899 DOI: 10.1371/journal.pone.0064566]
24 Ho WJ, Jaffee EM, Zheng L. The tumour microenvironment in pancreatic cancer - clinical challenges and opportunities. *Nat Rev Clin Oncol* 2020; 17: 527-540 [PMID: 32398706 DOI: 10.1038/s41571-020-0363-5]
25 D'Costa Z, Jones K, Azad A, van Stiphout R, Lim SY, Gomes AL, Kinchesh P, Smart SC, Gillies McKenna W, Buffa FM, Sansom OJ, Muschel RJ, O'Neill E, Fokas E. Gemcitabine-Induced TIMP1 Attenuates Therapy Response and Promotes Tumor Growth and Liver Metastasis in Pancreatic Cancer. *Cancer Res* 2017; 77: 5952-5962 [PMID: 28765154 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-16-2833]
26 Nakazawa H, Yoshihara S, Kudo D, Morohashi H, Kakizaki I, Kon A, Takagaki K, Sasaki M. 4-methylumbelliferone, a hyaluronan synthase suppressor, enhances the anticancer activity of gemcitabine in human pancreatic cancer cells. *Cancer Chemother Pharmacol* 2006; 57: 165-170 [PMID: 16341905 DOI: 10.1007/s00280-005-0016-5]
27 Provenzano PP, Hingorani SR. Hyaluronan, fluid pressure, and stromal resistance in pancreas cancer. *Br J Cancer* 2013; 108: 1-8 [PMID: 23299539 DOI: 10.1038/bjc.2012.569]
28 Zhao S, Chen C, Chang K, Karnad A, Jagirdar J, Kumar AP, Freeman JW. CD44 Expression Level and Isoform Contributes to Pancreatic Cancer Cell Plasticity, Invasiveness, and Response to Therapy. *Clin Cancer Res* 2016; 22: 5592-5604 [PMID: 27267855 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-15-3115]
29 Hong SP, Wen J, Bang S, Park S, Song SY. CD44-positive cells are responsible for gemcitabine resistance in pancreatic cancer cells. *Int J Cancer* 2009; 125: 2323-2331 [PMID: 19598259 DOI: 10.1002/ijc.24573]
30 Skandalis SS, Karalis TT, Chatzopoulos A, Karamanos NK. Hyaluronan-CD44 axis orchestrates cancer stem cell functions. *Cell Signal* 2019; 63: 109377 [PMID: 31362044 DOI: 10.1016/j.cellsig.2019.109377]
31 Serri C, Quagliariello V, Iaffaioli RV, Fusco S, Botti G, Mayol L, Biondi M. Combination therapy for the treatment of pancreatic cancer through hyaluronic acid-decorated nanoparticles loaded with quercetin and gemcitabine: A preliminary in vitro study. *J Cell Physiol* 2019; 234: 4959-4969 [PMID: 30334571 DOI: 10.1002/jcp.27297]
32 Wong KM, Horton KJ, Coveler AL, Hingorani SR, Harris WP. Targeting the Tumor Stroma: the Biology and Clinical Development of Pegylated Recombinant Human Hyaluronidase (PEGPH20). *Curr Oncol Rep* 2017; 19: 47 [PMID: 28589527 DOI: 10.1007/s11912-017-0608-3]
33 Thompson B, Lee J, Clift R, Taverna D, Garrovillo S, Blouw B, Kang D, Thompson C, Maneval D. PO-262 Remodelling of

the tumour microenvironment by pegvorhyalurondiase alfa (PEGPH20): a novel, first-in-class biologic that enzymatically degrades tumour hyaluronan (HA) to improve anti-tumour efficacy. *ESMO Open* 2018; 3(Suppl 2): A329-A330 [DOI: 10.1136/esmoopen-2018-EACR25.777]

34 Hingorani SR, Zheng L, Bullock AJ, Seery TE, Harris WP, Sigal DS, Braiteh F, Ritch PS, Zalupski MM, Bahary N, Oberstein PE, Wang-Gillam A, Wu W, Chondros D, Jiang P, Khelifa S, Pu J, Aldrich C, Hendifar AE. HALO 202: Randomized Phase II Study of PEGPH20 Plus Nab-Paclitaxel/Gemcitabine Versus Nab-Paclitaxel/Gemcitabine in Patients With Untreated, Metastatic Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *J Clin Oncol* 2018; 36: 359-366 [PMID: 29232172 DOI: 10.1200/JCO.2017.74.9564]

35 Van Cutsem E, Tempero MA, Sigal D, Oh DY, Fazio N, Macarulla T, Hitre E, Hammel P, Hendifar AE, Bates SE, Li CP, Hingorani SR, de la Fouchardiere C, Kasi A, Heinemann V, Maraveyas A, Bahary N, Layos L, Sahai V, Zheng L, Lacy J, Park JO, Portales F, Oberstein P, Wu W, Chondros D, Bullock AJ; HALO 109-301 Investigators. Randomized Phase III Trial of Pegvorhyaluronidase Alfa With Nab-Paclitaxel Plus Gemcitabine for Patients With Hyaluronan-High Metastatic Pancreatic Adenocarcinoma. *J Clin Oncol* 2020; 38: 3185-3194 [PMID: 32706635 DOI: 10.1200/JCO.20.00590]

36 Cao J, Pickup S, Clendenin C, Blouw B, Choi H, Kang D, Rosen M, O'Dwyer PJ, Zhou R. Dynamic Contrast-enhanced MRI Detects Responses to Stroma-directed Therapy in Mouse Models of Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *Clin Cancer Res* 2019; 25: 2314-2322 [PMID: 30587546 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-18-2276]

37 Dubey RD, Klippstein R, Wang JT, Hodgins N, Mei KC, Sosabowski J, Hider RC, Abbate V, Gupta PN, Al-Jamal KT. Novel Hyaluronic Acid Conjugates for Dual Nuclear Imaging and Therapy in CD44-Expressing Tumors in Mice In Vivo. *Nanotheranostics* 2017; 1: 59-79 [PMID: 29071179 DOI: 10.7150/ntno.17896]

38 Takahashi S, Hasebe T, Oda T, Sasaki S, Kinoshita T, Konishi M, Ochiai T, Ochiai A. Cytoplasmic expression of laminin gamma2 chain correlates with postoperative hepatic metastasis and poor prognosis in patients with pancreatic ductal adenocarcinoma. *Cancer* 2002; 94: 1894-1901 [PMID: 11920553 DOI: 10.1002/cncr.10395]

39 Huanwen W, Zhiyong L, Xiaohua S, Xinyu R, Kai W, Tonghua L. Intrinsic chemoresistance to gemcitabine is associated with constitutive and laminin-induced phosphorylation of FAK in pancreatic cancer cell lines. *Mol Cancer* 2009; 8: 125 [PMID: 20021699 DOI: 10.1186/1476-4598-8-125]

40 Lee J, Yakubov B, Ivan C, Jones DR, Caperell-Grant A, Fishel M, Cardenas H, Matei D. Tissue Transglutaminase Activates Cancer-Associated Fibroblasts and Contributes to Gemcitabine Resistance in Pancreatic Cancer. *Neoplasia* 2016; 18: 689-698 [PMID: 27792935 DOI: 10.1016/j.neo.2016.09.003]

41 Verma A, Mehta K. Tissue transglutaminase-mediated chemoresistance in cancer cells. *Drug Resist Updat* 2007; 10: 144-151 [PMID: 17662645 DOI: 10.1016/j.drup.2007.06.002]

42 Topalovski M, Brekken RA. Matrix control of pancreatic cancer: New insights into fibronectin signaling. *Cancer Lett* 2016; 381: 252-258 [PMID: 26742464 DOI: 10.1016/j.canlet.2015.12.027]

43 Amrutkar M, Aasrum M, Verbeke CS, Gladhaug IP. Secretion of fibronectin by human pancreatic stellate cells promotes chemoresistance to gemcitabine in pancreatic cancer cells. *BMC Cancer* 2019; 19: 596 [PMID: 31208372 DOI: 10.1186/s12885-019-5803-1]

44 Wenger C, Ellenrieder V, Alber B, Lacher U, Menke A, Hameister H, Wilda M, Iwamura T, Beger HG, Adler G, Gress TM. Expression and differential regulation of connective tissue growth factor in pancreatic cancer cells. *Oncogene* 1999; 18: 1073-1080 [PMID: 10023684 DOI: 10.1038/sj.onc.1202395]

45 Neesse A, Frese KK, Bapiro TE, Nakagawa T, Sternlicht MD, Seeley TW, Pilarsky C, Jodrell DI, Spong SM, Tuveson DA. CTGF antagonism with mAb FG-3019 enhances chemotherapy response without increasing drug delivery in murine ductal pancreas cancer. *Proc Natl Acad Sci USA* 2013; 110: 12325-12330 [PMID: 23836645 DOI: 10.1073/pnas.1300415110]

46 Moon JH, Shin JS, Hong SW, Jung SA, Hwang IY, Kim JH, Choi EK, Ha SH, Kim JS, Kim KM, Hong DW, Kim D, Kim YS, Kim JE, Kim KP, Hong YS, Choi EK, Lee JS, Hattersley M, Jin DH, Kim TW. A novel small-molecule IAP antagonist, AZD5582, draws Mcl-1 down-regulation for induction of apoptosis through targeting of cIAP1 and XIAP in human pancreatic cancer. *Oncotarget* 2015; 6: 26895-26908 [PMID: 26314849 DOI: 10.18632/oncotarget.4822]

47 Picozzi V, Alseidi A, Winter J, Pishvaian M, Mody K, Glaspy J, Larson T, Matrana M, Carney M, Porter S, Kouchakji E, Rocha F, Carrier E. Gemcitabine/nab-paclitaxel with pamrevlumab: a novel drug combination and trial design for the treatment of locally advanced pancreatic cancer. *ESMO Open* 2020; 5 [PMID: 32817130 DOI: 10.1200/JCO.2017.35.4_suppl.365]

48 Hesler RA, Huang JJ, Starr MD, Treboschi VM, Bernanke AG, Nixon AB, McCall SJ, White RR, Blobe GC. TGF-β-induced stromal CYR61 promotes resistance to gemcitabine in pancreatic ductal adenocarcinoma through downregulation of the nucleoside transporters hENT1 and hCNT3. *Carcinogenesis* 2016; 37: 1041-1051 [PMID: 27604902 DOI: 10.1093/carcin/bgw093]

49 Xian G, Zhao J, Qin C, Zhang Z, Lin Y, Su Z. Simvastatin attenuates macrophage-mediated gemcitabine resistance of pancreatic ductal adenocarcinoma by regulating the TGF-β1/Gfi-1 axis. *Cancer Lett* 2017; 385: 65-74 [PMID: 27840243 DOI: 10.1016/j.canlet.2016.11.006]

50 Pei Y, Chen L, Huang Y, Wang J, Feng J, Xu M, Chen Y, Song Q, Jiang G, Gu X, Zhang Q, Gao X, Chen J. Sequential Targeting TGF-β Signaling and KRAS Mutation Increases Therapeutic Efficacy in Pancreatic Cancer. *Small* 2019; 15: e1900631 [PMID: 31033217 DOI: 10.1002/smll.201900631]

51 Huang PH, Lu PJ, Ding LY, Chu PC, Hsu WY, Chen CS, Tsao CC, Chen BH, Lee CT, Shan YS, Chen CS. TGFβ promotes mesenchymal phenotype of pancreatic cancer cells, in part, through epigenetic activation of VAV1. *Oncogene* 2017; 36: 2202-2214 [PMID: 27893715 DOI: 10.1038/onc.2016.378]

52 Tortora G, Ciardiello F, Gasparini G. Combined targeting of EGFR-dependent and VEGF-dependent pathways: rationale, preclinical studies and clinical applications. *Nat Clin Pract Oncol* 2008; 5: 521-530 [PMID: 18594498 DOI: 10.1038/ncponc1161]

53 Dosch AR, Dai X, Reyzer ML, Mehra S, Srinivasan S, Willobee BA, Kwon D, Kashikar N, Caprioli R, Merchant NB, Nagathihalli NS. Combined Src/EGFR Inhibition Targets STAT3 Signaling and Induces Stromal Remodeling to Improve Survival in Pancreatic Cancer. *Mol Cancer Res* 2020; 18: 623-631 [PMID: 31949002 DOI: 10.1158/1541-7786.MCR-19-0741]

54 Xu BQ, Fu ZG, Meng Y, Wu XQ, Wu B, Xu L, Jiang JL, Li L, Chen ZN. Gemcitabine enhances cell invasion via activating HAb18G/CD147-EGFR-pSTAT3 signaling. *Oncotarget* 2016; 7: 62177-62193 [PMID: 27556697 DOI: 10.18632/oncotarget.11405]

55 Venkatasubbarao K, Peterson L, Zhao S, Hill P, Cao L, Zhou Q, Nawrocki ST, Freeman JW. Inhibiting signal transducer and activator of transcription-3 increases response to gemcitabine and delays progression of pancreatic cancer. *Mol Cancer* 2013; 12: 104 [PMID: 24025152 DOI: 10.1186/1476-4598-12-104]

56 Sinn M, Bahra M, Liersch T, Gellert K, Messmann H, Bechstein W, Waldschmidt D, Jacobasch L, Wilhelm M, Rau BM, Grützmann R, Weinmann A, Maschmeyer G, Pelzer U, Stieler

JM, Striefler JK, Ghadimi M, Bischoff S, Dörken B, Oettle H, Riess H. CONKO-005: Adjuvant Chemotherapy With Gemcitabine Plus Erlotinib Versus Gemcitabine Alone in Patients After R0 Resection of Pancreatic Cancer: A Multicenter Randomized Phase III Trial. *J Clin Oncol* 2017; 35: 3330-3337 [PMID: 28817370 DOI: 10.1200/JCO.2017.72.6463]

57 Evans TRJ, Van Cutsem E, Moore MJ, Bazin IS, Rosemurgy A, Bodoky G, Deplanque G, Harrison M, Melichar B, Pezet D, Elekes A, Rock E, Lin C, Strauss L, O'Dwyer PJ. Phase 2 placebo-controlled, double-blind trial of dasatinib added to gemcitabine for patients with locally-advanced pancreatic cancer. *Ann Oncol* 2017; 28: 354-361 [PMID: 27998964 DOI: 10.1093/annonc/mdw607]

58 Middleton G, Palmer DH, Greenhalf W, Ghaneh P, Jackson R, Cox T, Evans A, Shaw VE, Wadsley J, Valle JW, Propper D, Wasan H, Falk S, Cunningham D, Coxon F, Ross P, Madhusudan S, Wadd N, Corrie P, Hickish T, Costello E, Campbell F, Rawcliffe C, Neoptolemos JP. Vandetanib plus gemcitabine versus placebo plus gemcitabine in locally advanced or metastatic pancreatic carcinoma (ViP): a prospective, randomised, double-blind, multicentre phase 2 trial. *Lancet Oncol* 2017; 18: 486-499 [PMID: 28259610 DOI: 10.1016/S1470-2045(17)30084-0]

59 Kindler HL, Ioka T, Richel DJ, Bennouna J, Létourneau R, Okusaka T, Funakoshi A, Furuse J, Park YS, Ohkawa S, Springett GM, Wasan HS, Trask PC, Bycott P, Ricart AD, Kim S, Van Cutsem E. Axitinib plus gemcitabine versus placebo plus gemcitabine in patients with advanced pancreatic adenocarcinoma: a double-blind randomised phase 3 study. *Lancet Oncol* 2011; 12: 256-262 [PMID: 21306953 DOI: 10.1016/S1470-2045(11)70004-3]

60 Lakkakula BVKS, Farran B, Lakkakula S, Peela S, Yarla NS, Bramhachari PV, Kamal MA, Saddala MS, Nagaraju GP. Small molecule tyrosine kinase inhibitors and pancreatic cancer-Trials and troubles. *Semin Cancer Biol* 2019; 56: 149-167 [PMID: 30314681 DOI: 10.1016/j.semcancer.2018.09.011]

61 Steelman LS, Chappell WH, Abrams SL, Kempf RC, Long J, Laidler P, Mijatovic S, Maksimovic-Ivanic D, Stivala F, Mazzarino MC, Donia M, Fagone P, Malaponte G, Nicoletti F, Libra M, Milella M, Tafuri A, Bonati A, Bäsecke J, Cocco L, Evangelisti C, Martelli AM, Montalto G, Cervello M, McCubrey JA. Roles of the Raf/MEK/ERK and PI3K/PTEN/Akt/mTOR pathways in controlling growth and sensitivity to therapy-implications for cancer and aging. *Aging (Albany NY)* 2011; 3: 192-222 [PMID: 21422497 DOI: 10.18632/aging.100296]

62 Camblin AJ, Pace EA, Adams S, Curley MD, Rimkunas V, Nie L, Tan G, Bloom T, Iadevaia S, Baum J, Minx C, Czibere A, Louis CU, Drummond DC, Nielsen UB, Schoeberl B, Pipas JM, Straubinger RM, Askoxylakis V, Lugovskoy AA. Dual Inhibition of IGF-1R and ErbB3 Enhances the Activity of Gemcitabine and Nab-Paclitaxel in Preclinical Models of Pancreatic Cancer. *Clin Cancer Res* 2018; 24: 2873-2885 [PMID: 29549161 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-17-2262]

63 Fuchs CS, Azevedo S, Okusaka T, Van Laethem JL, Lipton LR, Riess H, Szczylik C, Moore MJ, Peeters M, Bodoky G, Ikeda M, Melichar B, Nemecek R, Ohkawa S, Świeboda-Sadlej A, Tjulandin SA, Van Cutsem E, Loberg R, Haddad V, Gansert JL, Bach BA, Carrato A. A phase 3 randomized, double-blind, placebo-controlled trial of ganitumab or placebo in combination with gemcitabine as first-line therapy for metastatic adenocarcinoma of the pancreas: the GAMMA trial. *Ann Oncol* 2015; 26: 921-927 [PMID: 25609246 DOI: 10.1093/annonc/mdv027]

64 Abdel-Wahab R, Varadhachary GR, Bhosale PR, Wang X, Fogelman DR, Shroff RT, Overman MJ, Wolff RA, Javle M. Randomized, phase I/II study of gemcitabine plus IGF-1R antagonist (MK-0646) versus gemcitabine plus erlotinib with and without MK-0646 for advanced pancreatic adenocarcinoma. *J Hematol Oncol* 2018; 11: 71 [PMID: 29843755 DOI: 10.1186/s13045-018-0616-2]

65 Wu Q, Hou X, Xia J, Qian X, Miele L, Sarkar FH, Wang Z. Emerging roles of PDGF-D in EMT progression during tumorigenesis. *Cancer Treat Rev* 2013; 39: 640-646 [PMID: 23261166 DOI: 10.1016/j.ctrv.2012.11.006]

66 Kozono S, Ohuchida K, Eguchi D, Ikenaga N, Fujiwara K, Cui L, Mizumoto K, Tanaka M. Pirfenidone inhibits pancreatic cancer desmoplasia by regulating stellate cells. *Cancer Res* 2013; 73: 2345-2356 [PMID: 23348422 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-12-3180]

67 Gonçalves A, Gilabert M, François E, Dahan L, Perrier H, Lamy R, Re D, Largillier R, Gasmi M, Tchiknavorian X, Esterni B, Genre D, Moureau-Zabotto L, Giovannini M, Seitz JF, Delpero JR, Turrini O, Viens P, Raoul JL. BAYPAN study: a double-blind phase III randomized trial comparing gemcitabine plus sorafenib and gemcitabine plus placebo in patients with advanced pancreatic cancer. *Ann Oncol* 2012; 23: 2799-2805 [PMID: 22771827 DOI: 10.1093/annonc/mds135]

68 Moss RA, Moore D, Mulcahy MF, Nahum K, Saraiya B, Eddy S, Kleber M, Poplin EA. A Multi-institutional Phase 2 Study of Imatinib Mesylate and Gemcitabine for First-Line Treatment of Advanced Pancreatic Cancer. *Gastrointest Cancer Res* 2012; 5: 77-83 [PMID: 22888387]

69 Kindler HL, Wroblewski K, Wallace JA, Hall MJ, Locker G, Nattam S, Agamah E, Stadler WM, Vokes EE. Gemcitabine plus sorafenib in patients with advanced pancreatic cancer: a phase II trial of the University of Chicago Phase II Consortium. *Invest New Drugs* 2012; 30: 382-386 [PMID: 20803052 DOI: 10.1007/s10637-010-9526-z]

70 Sleightholm RL, Neilsen BK, Li J, Steele MM, Singh RK, Hollingsworth MA, Oupicky D. Emerging roles of the CXCL12/CXCR4 axis in pancreatic cancer progression and therapy. *Pharmacol Ther* 2017; 179: 158-170 [PMID: 28549596 DOI: 10.1016/j.pharmthera.2017.05.012]

71 Maréchal R, Demetter P, Nagy N, Berton A, Decaestecker C, Polus M, Closset J, Devière J, Salmon I, Van Laethem JL. High expression of CXCR4 may predict poor survival in resected pancreatic adenocarcinoma. *Br J Cancer* 2009; 100: 1444-1451 [PMID: 19352387 DOI: 10.1038/sj.bjc.6605020]

72 Singh S, Srivastava SK, Bhardwaj A, Owen LB, Singh AP. CXCL12-CXCR4 signalling axis confers gemcitabine resistance to pancreatic cancer cells: a novel target for therapy. *Br J Cancer* 2010; 103: 1671-1679 [PMID: 21045835 DOI: 10.1038/sj.bjc.6605968]

73 Morimoto M, Matsuo Y, Koide S, Tsuboi K, Shamoto T, Sato T, Saito K, Takahashi H, Takeyama H. Enhancement of the CXCL12/CXCR4 axis due to acquisition of gemcitabine resistance in pancreatic cancer: effect of CXCR4 antagonists. *BMC Cancer* 2016; 16: 305 [PMID: 27175473 DOI: 10.1186/s12885-016-2340-z]

74 Costa MJ, Kudaravalli J, Ma JT, Ho WH, Delaria K, Holz C, Stauffer A, Chunyk AG, Zong Q, Blasi E, Buetow B, Tran TT, Lindquist K, Dorywalska M, Rajpal A, Shelton DL, Strop P, Liu SH. Optimal design, anti-tumour efficacy and tolerability of anti-CXCR4 antibody drug conjugates. *Sci Rep* 2019; 9: 2443 [PMID: 30792442 DOI: 10.1038/s41598-019-38745-x]

75 Lee S, Heinrich EL, Li L, Lu J, Choi AH, Levy RA, Wagner JE, Yip ML, Vaidehi N, Kim J. CCR9-mediated signaling through β-catenin and identification of a novel CCR9 antagonist. *Mol Oncol* 2015; 9: 1599-1611 [PMID: 26003048 DOI: 10.1016/j.molonc.2015.04.012]

76 Timaner M, Letko-Khait N, Kotsofruk R, Benguigui M, Beyar-Katz O, Rachman-Tzemah C, Raviv Z, Bronshtein T, Machluf

M, Shaked Y. Therapy-Educated Mesenchymal Stem Cells Enrich for Tumor-Initiating Cells. *Cancer Res* 2018; 78: 1253-1265 [PMID: 29301792 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-17-1547]
77 Nielsen MF, Mortensen MB, Detlefsen S. Key players in pancreatic cancer-stroma interaction: Cancer-associated fibroblasts, endothelial and inflammatory cells. *World J Gastroenterol* 2016; 22: 2678-2700 [PMID: 26973408 DOI: 10.3748/wjg.v22.i9.2678]
78 Liu SL, Cao SG, Li Y, Sun B, Chen D, Wang DS, Zhou YB. Pancreatic stellate cells facilitate pancreatic cancer cell viability and invasion. *Oncol Lett* 2019; 17: 2057-2062 [PMID: 30675272 DOI: 10.3892/ol.2018.9816]
79 Cao F, Li J, Sun H, Liu S, Cui Y, Li F. HES 1 is essential for chemoresistance induced by stellate cells and is associated with poor prognosis in pancreatic cancer. *Oncol Rep* 2015; 33: 1883-1889 [PMID: 25672829 DOI: 10.3892/or.2015.3789]
80 Firuzi O, Che PP, El Hassouni B, Buijs M, Coppola S, Löhr M, Funel N, Heuchel R, Carnevale I, Schmidt T, Mantini G, Avan A, Saso L, Peters GJ, Giovannetti E. Role of c-MET Inhibitors in Overcoming Drug Resistance in Spheroid Models of Primary Human Pancreatic Cancer and Stellate Cells. *Cancers (Basel)* 2019; 11 [PMID: 31072019 DOI: 10.3390/cancers11050638]
81 Xu Z, Pang TCY, Liu AC, Pothula SP, Mekapogu AR, Perera CJ, Murakami T, Goldstein D, Pirola RC, Wilson JS, Apte MV. Targeting the HGF/c-MET pathway in advanced pancreatic cancer: a key element of treatment that limits primary tumour growth and eliminates metastasis. *Br J Cancer* 2020; 122: 1486-1495 [PMID: 32203220 DOI: 10.1038/s41416-020-0782-1]
82 Pant S, Saleh M, Bendell J, Infante JR, Jones S, Kurkjian CD, Moore KM, Kazakin J, Abbadessa G, Wang Y, Chen Y, Schwartz B, Camacho LH. A phase I dose escalation study of oral c-MET inhibitor tivantinib (ARQ 197) in combination with gemcitabine in patients with solid tumors. *Ann Oncol* 2014; 25: 1416-1421 [PMID: 24737778 DOI: 10.1093/annonc/mdu157]
83 Liu Y, Li F, Gao F, Xing L, Qin P, Liang X, Zhang J, Qiao X, Lin L, Zhao Q, Du L. Periostin promotes the chemotherapy resistance to gemcitabine in pancreatic cancer. *Tumour Biol* 2016; 37: 15283-15291 [PMID: 27696296 DOI: 10.1007/s13277-016-5321-6]
84 Dalin S, Sullivan MR, Lau AN, Grauman-Boss B, Mueller HS, Kreidl E, Fenoglio S, Luengo A, Lees JA, Vander Heiden MG, Lauffenburger DA, Hemann MT. Deoxycytidine Release from Pancreatic Stellate Cells Promotes Gemcitabine Resistance. *Cancer Res* 2019; 79: 5723-5733 [PMID: 31484670 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-19-0960]
85 Nair N, Calle AS, Zahra MH, Prieto-Vila M, Oo AKK, Hurley L, Vaidyanath A, Seno A, Masuda J, Iwasaki Y, Tanaka H, Kasai T, Seno M. A cancer stem cell model as the point of origin of cancer-associated fibroblasts in tumor microenvironment. *Sci Rep* 2017; 7: 6838 [PMID: 28754894 DOI: 10.1038/s41598-017-07144-5]
86 Huang H, Brekken RA. Recent advances in understanding cancer-associated fibroblasts in pancreatic cancer. *Am J Physiol Cell Physiol* 2020; 319: C233-C243 [PMID: 32432930 DOI: 10.1152/ajpcell.00079.2020]
87 Özdemir BC, Pentcheva-Hoang T, Carstens JL, Zheng X, Wu CC, Simpson TR, Laklai H, Sugimoto H, Kahlert C, Novitskiy SV, De Jesus-Acosta A, Sharma P, Heidari P, Mahmood U, Chin L, Moses HL, Weaver VM, Maitra A, Allison JP, LeBleu VS, Kalluri R. Depletion of Carcinoma-Associated Fibroblasts and Fibrosis Induces Immunosuppression and Accelerates Pancreas Cancer with Reduced Survival. *Cancer Cell* 2015; 28: 831-833 [PMID: 28843279 DOI: 10.1016/j.ccell.2015.11.002]
88 Principe DR, Narbutis M, Kumar S, Park A, Viswakarma N, Dorman MJ, Kamath SD, Grippo PJ, Fishel ML, Hwang RF, Thummuri D, Underwood PW, Munshi HG, Trevino JG, Rana A. Long-Term Gemcitabine Treatment Reshapes the Pancreatic Tumor Microenvironment and Sensitizes Murine Carcinoma to Combination Immunotherapy. *Cancer Res* 2020; 80: 3101-3115 [PMID: 32238357 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-19-2959]
89 Li M, Li M, Yin T, Shi H, Wen Y, Zhang B, Chen M, Xu G, Ren K, Wei Y. Targeting of cancer-associated fibroblasts enhances the efficacy of cancer chemotherapy by regulating the tumor microenvironment. *Mol Med Rep* 2016; 13: 2476-2484 [PMID: 26846566 DOI: 10.3892/mmr.2016.4868]
90 Nugent FW, Cunningham C, Barve MA, Fisher W, Patel H, Meiri E, Oza YV, Yang Z, Jurkowski EC, Uprichard MJ. Phase 2 study of talabostat/gemcitabine in Stage IV pancreatic cancer. *J Clin Oncol* 2007; 25: 4616-4616 [DOI: 10.1200/jco.2007.25.18_suppl.4616]
91 Chun SG, Zhou W, Yee NS. Combined targeting of histone deacetylases and hedgehog signaling enhances cytoxicity in pancreatic cancer. *Cancer Biol Ther* 2009; 8: 1328-1339 [PMID: 19421011 DOI: 10.4161/cbt.8.14.8633]
92 Khan MA, Srivastava SK, Zubair H, Patel GK, Arora S, Khushman M, Carter JE, Gorman GS, Singh S, Singh AP. Co-targeting of CXCR4 and hedgehog pathways disrupts tumor-stromal crosstalk and improves chemotherapeutic efficacy in pancreatic cancer. *J Biol Chem* 2020; 295: 8413-8424 [PMID: 32358063 DOI: 10.1074/jbc.RA119.011748]
93 Catenacci DV, Junttila MR, Karrison T, Bahary N, Horiba MN, Nattam SR, Marsh R, Wallace J, Kozloff M, Rajdev L, Cohen D, Wade J, Sleckman B, Lenz HJ, Stiff P, Kumar P, Xu P, Henderson L, Takebe N, Salgia R, Wang X, Stadler WM, de Sauvage FJ, Kindler HL. Randomized Phase Ib/II Study of Gemcitabine Plus Placebo or Vismodegib, a Hedgehog Pathway Inhibitor, in Patients With Metastatic Pancreatic Cancer. *J Clin Oncol* 2015; 33: 4284-4292 [PMID: 26527777 DOI: 10.1200/JCO.2015.62.8719]
94 De Jesus-Acosta A, Sugar EA, O'Dwyer PJ, Ramanathan RK, Von Hoff DD, Rasheed Z, Zheng L, Begum A, Anders R, Maitra A, McAllister F, Rajeshkumar NV, Yabuuchi S, de Wilde RF, Batukbhai B, Sahin I, Laheru DA. Phase 2 study of vismodegib, a hedgehog inhibitor, combined with gemcitabine and nab-paclitaxel in patients with untreated metastatic pancreatic adenocarcinoma. *Br J Cancer* 2020; 122: 498-505 [PMID: 31857726 DOI: 10.1038/s41416-019-0683-3]
95 Neumann CCM, von Hörschelmann E, Reutzel-Selke A, Seidel E, Sauer IM, Pratschke J, Bahra M, Schmuck RB. Tumor-stromal cross-talk modulating the therapeutic response in pancreatic cancer. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2018; 17: 461-472 [PMID: 30243879 DOI: 10.1016/j.hbpd.2018.09.004]
96 Toste PA, Nguyen AH, Kadera BE, Duong M, Wu N, Gawlas I, Tran LM, Bikhchandani M, Li L, Patel SG, Dawson DW, Donahue TR. Chemotherapy-Induced Inflammatory Gene Signature and Protumorigenic Phenotype in Pancreatic CAFs via Stress-Associated MAPK. *Mol Cancer Res* 2016; 14: 437-447 [PMID: 26979711 DOI: 10.1158/1541-7786.MCR-15-0348]
97 Öhlund D, Handly-Santana A, Biffi G, Elyada E, Almeida AS, Ponz-Sarvise M, Corbo V, Oni TE, Hearn SA, Lee EJ, Chio II, Hwang CI, Tiriac H, Baker LA, Engle DD, Feig C, Kultti A, Egeblad M, Fearon DT, Crawford JM, Clevers H, Park Y, Tuveson DA. Distinct populations of inflammatory fibroblasts and myofibroblasts in pancreatic cancer. *J Exp Med* 2017; 214: 579-596 [PMID: 28232471 DOI: 10.1084/jem.20162024]
98 Richards KE, Zeleniak AE, Fishel ML, Wu J, Littlepage LE, Hill R. Cancer-associated fibroblast exosomes regulate survival and proliferation of pancreatic cancer cells. *Oncogene* 2017; 36: 1770-1778 [PMID: 27669441 DOI: 10.1038/onc.2016.353]
99 Fang Y, Zhou W, Rong Y, Kuang T, Xu X, Wu W, Wang D, Lou W. Exosomal miRNA-106b from cancer-associated fibroblast promotes gemcitabine resistance in pancreatic cancer. *Exp Cell Res* 2019; 383: 111543 [PMID: 31374207 DOI: 10.1016/

j.yexcr.2019.111543]
100 Gzil A, Zarębska I, Bursiewicz W, Antosik P, Grzanka D, Szylberg Ł. Markers of pancreatic cancer stem cells and their clinical and therapeutic implications. *Mol Biol Rep* 2019; 46: 6629-6645 [PMID: 31486978 DOI: 10.1007/s11033-019-05058-1]
101 Yin T, Wei H, Gou S, Shi P, Yang Z, Zhao G, Wang C. Cancer stem-like cells enriched in Panc-1 spheres possess increased migration ability and resistance to gemcitabine. *Int J Mol Sci* 2011; 12: 1595-1604 [PMID: 21673909 DOI: 10.3390/ijms12031595]
102 Wang L, Dong P, Wang W, Huang M, Tian B. Gemcitabine treatment causes resistance and malignancy of pancreatic cancer stem-like cells via induction of lncRNA HOTAIR. *Exp Ther Med* 2017; 14: 4773-4780 [PMID: 29201179 DOI: 10.3892/etm.2017.5151]
103 Yang Z, Zhao N, Cui J, Wu H, Xiong J, Peng T. Exosomes derived from cancer stem cells of gemcitabine-resistant pancreatic cancer cells enhance drug resistance by delivering miR-210. *Cell Oncol (Dordr)* 2020; 43: 123-136 [PMID: 31713003 DOI: 10.1007/s13402-019-00476-6]
104 Grivennikov SI, Greten FR, Karin M. Immunity, inflammation, and cancer. *Cell* 2010; 140: 883-899 [PMID: 20303878 DOI: 10.1016/j.cell.2010.01.025]
105 Mitchem JB, Brennan DJ, Knolhoff BL, Belt BA, Zhu Y, Sanford DE, Belaygorod L, Carpenter D, Collins L, Piwnica-Worms D, Hewitt S, Udupi GM, Gallagher WM, Wegner C, West BL, Wang-Gillam A, Goedegebuure P, Linehan DC, DeNardo DG. Targeting tumor-infiltrating macrophages decreases tumor-initiating cells, relieves immunosuppression, and improves chemotherapeutic responses. *Cancer Res* 2013; 73: 1128-1141 [PMID: 23221383 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-12-2731]
106 Weizman N, Krelin Y, Shabtay-Orbach A, Amit M, Binenbaum Y, Wong RJ, Gil Z. Macrophages mediate gemcitabine resistance of pancreatic adenocarcinoma by upregulating cytidine deaminase. *Oncogene* 2014; 33: 3812-3819 [PMID: 23995783 DOI: 10.1038/onc.2013.357]
107 Nagathihalli NS, Castellanos JA, Shi C, Beesetty Y, Reyzer ML, Caprioli R, Chen X, Walsh AJ, Skala MC, Moses HL, Merchant NB. Signal Transducer and Activator of Transcription 3, Mediated Remodeling of the Tumor Microenvironment Results in Enhanced Tumor Drug Delivery in a Mouse Model of Pancreatic Cancer. *Gastroenterology* 2015; 149: 1932-1943.e9 [PMID: 26255562 DOI: 10.1053/j.gastro.2015.07.058]
108 Beltraminelli T, De Palma M. Biology and therapeutic targeting of tumour-associated macrophages. *J Pathol* 2020; 250: 573-592 [PMID: 32086811 DOI: 10.1002/path.5403]
109 Zou S, Tong Q, Liu B, Huang W, Tian Y, Fu X. Targeting STAT3 in Cancer Immunotherapy. *Mol Cancer* 2020; 19: 145 [PMID: 32972405 DOI: 10.1186/s12943-020-01258-7]
110 Ireland L, Santos A, Ahmed MS, Rainer C, Nielsen SR, Quaranta V, Weyer-Czernilofsky U, Engle DD, Perez-Mancera PA, Coupland SE, Taktak A, Bogenrieder T, Tuveson DA, Campbell F, Schmid MC, Mielgo A. Chemoresistance in Pancreatic Cancer Is Driven by Stroma-Derived Insulin-Like Growth Factors. *Cancer Res* 2016; 76: 6851-6863 [PMID: 27742686 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-16-1201]
111 Bulle A, Dekervel J, Deschuttere L, Nittner D, Libbrecht L, Janky R, Plaisance S, Topal B, Coosemans A, Lambrechts D, Van Cutsem E, Verslype C, van Pelt J. Gemcitabine Recruits M2-Type Tumor-Associated Macrophages into the Stroma of Pancreatic Cancer. *Transl Oncol* 2020; 13: 100743 [PMID: 32145636 DOI: 10.1016/j.tranon.2020.01.004]
112 Yao L, Wang M, Niu Z, Liu Q, Gao X, Zhou L, Liao Q, Zhao Y. Interleukin-27 inhibits malignant behaviors of pancreatic cancer cells by targeting M2 polarized tumor associated macrophages. *Cytokine* 2017; 89: 194-200 [PMID: 26868086 DOI: 10.1016/j.cyto.2015.12.003]
113 Lianyuan T, Gang L, Ming T, Dianrong X, Chunhui Y, Zhaolai M, Bin J. Tumor associated neutrophils promote the metastasis of pancreatic ductal adenocarcinoma. *Cancer Biol Ther* 2020; 21: 937-945 [PMID: 32835587 DOI: 10.1080/15384047.2020.1807250]
114 Fridlender ZG, Sun J, Kim S, Kapoor V, Cheng G, Ling L, Worthen GS, Albelda SM. Polarization of tumor-associated neutrophil phenotype by TGF-beta: "N1" versus "N2" TAN. *Cancer Cell* 2009; 16: 183-194 [PMID: 19732719 DOI: 10.1016/j.ccr.2009.06.017]
115 Shen M, Hu P, Donskov F, Wang G, Liu Q, Du J. Tumor-associated neutrophils as a new prognostic factor in cancer: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One* 2014; 9: e98259 [PMID: 24906014 DOI: 10.1371/journal.pone.0098259]
116 Moses K, Brandau S. Human neutrophils: Their role in cancer and relation to myeloid-derived suppressor cells. *Semin Immunol* 2016; 28: 187-196 [PMID: 27067179 DOI: 10.1016/j.smim.2016.03.018]
117 Bergenfelz C, Leandersson K. The Generation and Identity of Human Myeloid-Derived Suppressor Cells. *Front Oncol* 2020; 10: 109 [PMID: 32117758 DOI: 10.3389/fonc.2020.00109]
118 Gabrilovich DI, Nagaraj S. Myeloid-derived suppressor cells as regulators of the immune system. *Nat Rev Immunol* 2009; 9: 162-174 [PMID: 19197294 DOI: 10.1038/nri2506]
119 Gabitass RF, Annels NE, Stocken DD, Pandha HA, Middleton GW. Elevated myeloid-derived suppressor cells in pancreatic, esophageal and gastric cancer are an independent prognostic factor and are associated with significant elevation of the Th2 cytokine interleukin-13. *Cancer Immunol Immunother* 2011; 60: 1419-1430 [PMID: 21644036 DOI: 10.1007/s00262-011-1028-0]
120 Takeuchi S, Baghdadi M, Tsuchikawa T, Wada H, Nakamura T, Abe H, Nakanishi S, Usui Y, Higuchi K, Takahashi M, Inoko K, Sato S, Takano H, Shichinohe T, Seino K, Hirano S. Chemotherapy-Derived Inflammatory Responses Accelerate the Formation of Immunosuppressive Myeloid Cells in the Tissue Microenvironment of Human Pancreatic Cancer. *Cancer Res* 2015; 75: 2629-2640 [PMID: 25952647 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-14-2921]
121 Nemunaitis J. Vaccines in cancer: GVAX, a GM-CSF gene vaccine. *Expert Rev Vaccines* 2005; 4: 259-274 [PMID: 16026242 DOI: 10.1586/14760584.4.3.259]
122 Middleton G, Silcocks P, Cox T, Valle J, Wadsley J, Propper D, Coxon F, Ross P, Madhusudan S, Roques T, Cunningham D, Falk S, Wadd N, Harrison M, Corrie P, Iveson T, Robinson A, McAdam K, Eatock M, Evans J, Archer C, Hickish T, Garcia-Alonso A, Nicolson M, Steward W, Anthoney A, Greenhalf W, Shaw V, Costello E, Naisbitt D, Rawcliffe C, Nanson G, Neoptolemos J. Gemcitabine and capecitabine with or without telomerase peptide vaccine GV1001 in patients with locally advanced or metastatic pancreatic cancer (TeloVac): An open-label, randomised, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2014; 15(8): 829-840 [PMID: 24954781 DOI: 10.1016/S1470-2045(14)70236-0]
123 Zhou Q, Tao X, Xia S, Guo F, Pan C, Xiang H, Shang D. T Lymphocytes: A Promising Immunotherapeutic Target for Pancreatitis and Pancreatic Cancer? *Front Oncol* 2020; 10: 382 [PMID: 32266154 DOI: 10.3389/fonc.2020.00382]
124 Ino Y, Yamazaki-Itoh R, Shimada K, Iwasaki M, Kosuge T, Kanai Y, Hiraoka N. Immune cell infiltration as an indicator of the immune microenvironment of pancreatic cancer. *Br J Cancer* 2013; 108: 914-923 [PMID: 23385730 DOI: 10.1158/1538-7445.TUMIMM2012-B75]
125 Gong J, Hendifar A, Tuli R, Chuang J, Cho M, Chung V, Li D, Salgia R. Combination systemic therapies with immune checkpoint inhibitors in pancreatic cancer: overcoming resistance to single-agent checkpoint blockade. *Clin Transl Med* 2018; 7: 32 [PMID: 30294755 DOI: 10.1186/s40169-018-0210-9]

126 Winograd R, Byrne KT, Evans RA, Odorizzi PM, Meyer AR, Bajor DL, Clendenin C, Stanger BZ, Furth EE, Wherry EJ, Vonderheide RH. Induction of T-cell Immunity Overcomes Complete Resistance to PD-1 and CTLA-4 Blockade and Improves Survival in Pancreatic Carcinoma. *Cancer Immunol Res* 2015; 3: 399-411 [PMID: 25678581 DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-14-0215]
127 Kamath SD, Kalyan A, Kircher S, Nimeiri H, Fought AJ, Benson A 3rd, Mulcahy M. Ipilimumab and Gemcitabine for Advanced Pancreatic Cancer: A Phase Ib Study. *Oncologist* 2020; 25: e808-e815 [PMID: 31740568 DOI: 10.1634/theoncologist.2019-0473]
128 Liu T, Fang Y, Zhang H, Deng M, Gao B, Niu N, Yu J, Lee S, Kim J, Qin B, Xie F, Evans D, Wang L, Lou W, Lou Z. HEATR1 Negatively Regulates Akt to Help Sensitize Pancreatic Cancer Cells to Chemotherapy. *Cancer Res* 2016; 76: 572-581 [PMID: 26676747 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-15-0671]
129 Zhou Y, Wang K, Zhou Y, Li T, Yang M, Wang R, Chen Y, Cao M, Hu R. HEATR1 deficiency promotes pancreatic cancer proliferation and gemcitabine resistance by up-regulating Nrf2 signaling. *Redox Biol* 2020; 29: 101390 [PMID: 31785531 DOI: 10.1016/j.redox.2019.101390]
130 Delluc A, Rousseau A, Delluc C, Le Moigne E, Le Gal G, Mottier D, Van Dreden P, Lacut K. Venous thromboembolism in patients with pancreatic cancer: implications of circulating tissue factor. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2011; 22: 295-300 [PMID: 21372691 DOI: 10.1097/MBC.0b013e32834512f4]
131 Kopp HG, Placke T, Salih HR. Platelet-derived transforming growth factor-beta down-regulates NKG2D thereby inhibiting natural killer cell antitumor reactivity. *Cancer Res* 2009; 69: 7775-7783 [PMID: 19738039 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-09-2123]
132 Battinelli EM, Markens BA, Italiano JE Jr. Release of angiogenesis regulatory proteins from platelet alpha granules: modulation of physiologic and pathologic angiogenesis. *Blood* 2011; 118: 1359-1369 [PMID: 21680800 DOI: 10.1182/blood-2011-02-334524]
133 Elaskalani O, Falasca M, Moran N, Berndt MC, Metharom P. The Role of Platelet-Derived ADP and ATP in Promoting Pancreatic Cancer Cell Survival and Gemcitabine Resistance. *Cancers (Basel)* 2017; 9 [PMID: 29064388 DOI: 10.3390/cancers9100142]
134 Elaskalani O, Domenichini A, Abdol Razak NB, E Dye D, Falasca M, Metharom P. Antiplatelet Drug Ticagrelor Enhances Chemotherapeutic Efficacy by Targeting the Novel P2Y12-AKT Pathway in Pancreatic Cancer Cells. *Cancers (Basel)* 2020; 12 [PMID: 31968611 DOI: 10.3390/cancers12010250]
135 Ballerini P, Dovizio M, Bruno A, Tacconelli S, Patrignani P. $P2Y_{12}$ Receptors in Tumorigenesis and Metastasis. *Front Pharmacol* 2018; 9: 66 [PMID: 29456511 DOI: 10.3389/fphar.2018.00066]
136 Ramu I, Buchholz SM, Patzak MS, Goetze RG, Singh SK, Richards FM, Jodrell DI, Sipos B, Ströbel P, Ellenrieder V, Hessmann E, Neesse A. SPARC dependent collagen deposition and gemcitabine delivery in a genetically engineered mouse model of pancreas cancer. *EBioMedicine* 2019; 48: 161-168 [PMID: 31597597 DOI: 10.1016/j.ebiom.2019.09.024]
137 Frappart PO, Hofmann TG. Pancreatic Ductal Adenocarcinoma (PDAC) Organoids: The Shining Light at the End of the Tunnel for Drug Response Prediction and Personalized Medicine. *Cancers (Basel)* 2020; 12 [PMID: 32987786 DOI: 10.3390/cancers12102750]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 © 2021 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

• 消息 •

《世界华人消化杂志》栏目设置

本刊讯 本刊栏目设置包括述评, 基础研究, 临床研究, 文献综述, 研究快报, 临床实践, 病例报告, 会议跟踪. 文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确.

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: https://www.baishideng.com

世界华人消化杂志 2021年4月28日; 29(8): 435-442

DOI: 10.11569/wcjd.v29.i8.435

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

临床实践 CLINICAL PRACTICE

酪酸梭菌活菌片对结直肠癌术后FOLFOX4方案化疗肠道菌群平衡、毒副反应及免疫炎症指标的影响

王 沁, 龚黎明, 郑 惠

王沁, 金华市第二医院检验科 浙江省金华市 321000

龚黎明, 郑惠, 兰溪市人民医院检验科 浙江省兰溪市 321100

王沁, 主管检验师, 研究方向为临床检验医学, 微生物, 临床生化, 临床免疫, 临床血液学.

作者贡献分布: 此课题由王沁设计; 研究过程由王沁, 龚黎明操作完成; 数据分析由王沁,郑惠完成; 本论文写作由王沁完成.

通讯作者: 王沁, 主管检验师, 321000, 浙江省金华市婺城区方岩街158号, 浙江省金华市第二医院检验科. thhpfh@163.com

收稿日期: 2021–01–20
修回日期: 2021–02–24
接受日期: 2021–03–15
在线出版日期: 2021–04–28

Effects of live *Clostridium butyricum* tablets on intestinal flora balance, toxic and side effects, and immune inflammatory indexes in colorectal cancer patients on postoperative FOLFOX4 chemotherapy

Qin Wang, Li-Ming Gong, Hui Zheng

Qin Wang, Clinical Laboratory of Jinhua Second Hospital, Jinhua 321000, Zhejiang Province, China

Li-Ming Gong, Hui Zheng, Clinical Laboratory of Lanxi People's Hospital, Lanxi 321100, Zhejiang Province, China

Corresponding author: Qin Wang, Chief Inspector, Clinical Laboratory of Jinhua Second Hospital, No. 158 Fangyan Street, Wucheng District, Jinhua 321000, Zhejiang Province, China. thhpfh@163.com

Received: 2021-01-20
Revised: 2021-02-24
Accepted: 2021-03-15
Published online: 2021-04-28

Abstract

BACKGROUND

Postoperative chemotherapy with FOLFOX4 regimen in patients with colorectal cancer destroys the normal digestion and metabolism of the body and reduces the immune capacity while removing and inhibiting cancer cells. As a beneficial bacterium, *Clostridium butyricum* can regulate the intestinal flora and enhance the immune function of the body, and can therefore be used to regulate the adverse reactions caused by chemotherapy to some extent.

AIM

To investigate the effect of live *Clostridium butyricum* tablets on intestinal flora balance, toxic and side effects, and immune inflammatory indexes in colorectal cancer patients on postoperative FOLFOX4 chemotherapy.

METHODS

From April 2017 to May 2020, 92 postoperative colorectal cancer patients treated at our hospital were selected and divided into a study group (n = 46) and a control group (n = 46) using simple randomization method. Both groups received FOLFOX4 chemotherapy after surgery, and the study group additionally received live *Clostridium butyricum* tablets. Each cycle of treatment was 2 weeks, and the treatment lasted for 8 weeks. Serum tumor markers [carbohydrate antigen 724 (CA724), carbohydrate antigen 199 (CA199), and carcinoembryonic antigen (CEA)], immune function indexes ($CD4^+$ T cells, $CD8^+$ T cells, and $CD4^+/CD8^+$ ratio), inflammatory response indexes [tumor necrosis factor-α (TNF-α), C-reactive protein (CRP), and interleukin-6 (IL-6)], intestinal flora indicators (*Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Lactobacillus*, and *Bifidobacterium*), and intestinal mucosal barrier function indicators [D-lactic acid

and fecal secretory immunoglobulin A (S-IgA)] were compared between the two groups before treatment and after 8 weeks of treatment. The incidence of side effects during treatment in the two groups was calculated.

RESULTS

After 8 weeks of treatment, serum CA724, CA199, and CEA levels were significantly lower in the study group than in the control group ($P < 0.05$); $CD4^+$ T cells and $CD4^+/CD8^+$ ratio were significantly higher and $CD8^+$ T cells were significantly lower than those of the control group ($P < 0.05$); serum levels of TNF-α, CRP, and IL-6 were significantly lower than those of the control group ($P < 0.05$); the numbers of *Enterococcus faecalis*, *Lactobacillus*, and *Bifidobacterium* were significantly higher and the number of *Escherichia coli* were significantly lower than those of the control group ($P < 0.05$); and plasma D lactic acid level was significantly lower and fecal S-IgA level was significantly higher than those of the control group ($P < 0.05$). The incidence of nausea and vomiting, numbness, leukopenia, and abnormal liver function in the study group was significantly lower than that of the control group ($P < 0.05$).

CONCLUSION

Live *Clostridium butyricum* tablets can correct intestinal flora disorders, repair the damaged intestinal mucosal barrier function, help regulate the immune inflammatory response, reduce the level of serum tumor markers, and reduce toxic and side effects in colorectal cancer patients on postoperative FOLFOX4 chemotherapy.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Live *Clostridium butyricum* tablets; FOLFOX4 chemotherapy; Colorectal cancer; Intestinal flora; Toxic and side effects; Immune inflammation

Citation: Wang Q, Gong LM, Zheng H. Effects of live *Clostridium butyricum* tablets on intestinal flora balance, toxic and side effects, and immune inflammatory indexes in colorectal cancer patients on postoperative FOLFOX4 chemotherapy. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2021; 29(8): 435-442
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i8/435.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i8.435

摘要

背景

结直肠癌术后亚叶酸钙+氟尿嘧啶+奥沙利铂(folinate 5-fluorouracil oxaliplatin, FOLFOX4)方案的化疗在清除和抑制癌细胞的同时, 也破坏了身体正常的消化代谢, 降低了免疫能力. 酪酸梭菌作为有益菌, 可以调节肠道菌群系统, 增强机体免疫功能, 因此从某种程度上可以用来调节化疗带来的负反应.

目的

探讨酪酸梭菌活菌片对结直肠癌术后FOLFOX4方案化疗肠道菌群平衡、毒副反应及免疫炎症指标的影响.

方法

选取2017-04/2020-05我院结直肠癌术后患者92例, 简单随机化法分为研究组(n＝46)、对照组(n ＝46). 对照组术后予以FOLFOX4方案化疗, 研究组在对照组基础上予以酪酸梭菌活菌片, 1个疗程为2 wk, 持续治疗8 wk. 比较两组治疗前、治疗8 wk后血清肿瘤标志物［糖类抗原724(carbohydrate antigen, CA724)、糖类抗原199(carbohydrate antigen199, CA199)、癌胚抗原(carcino-embryonic antigen, CEA)］、免疫功能指标($CD4^+$、$CD8^+$、$CD4^+/CD8^+$)、炎症反应指标［肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)、C反应蛋白(C-reactive protein, CRP)、白细胞介素-6(interleukin, IL-6)］、肠道菌群指标(粪肠球菌、大肠杆菌、乳酸杆菌、双歧杆菌)、肠黏膜屏障功能指标［D乳酸、粪便分泌型免疫球蛋白A(S-IgA)］水平, 统计两组治疗期间毒副反应发生率.

结果

研究组治疗8 wk后: 血清CA724、CA199、CEA水平低于对照组($P<0.05$); 血清$CD4^+$、$CD4^+/CD8^+$水平高于对照组, $CD8^+$水平低于对照组($P<0.05$); 血清TNF-α、CRP、IL-6水平低于对照组($P<0.05$); 粪肠球菌、乳酸杆菌、双歧杆菌数量高于对照组, 大肠杆菌数量低于对照组($P<0.05$); 血浆D乳酸水平低于对照组, 粪便S-IgA水平高于对照组($P<0.05$); 恶心呕吐、肢端麻木、白细胞减少、肝功能异常发生率低于对照组($P<0.05$).

结论

酪酸梭菌活菌片联合FOLFOX4方案化疗通过纠正肠道菌群紊乱, 修复受损肠黏膜屏障功能, 有助于调节结直肠癌术后患者免疫炎症反应, 降低血清肿瘤标志物水平, 减少毒副反应.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 酪酸梭菌活菌片; FOLFOX4方案化疗; 结直肠癌; 肠道菌群; 毒副反应; 免疫炎症

核心提要: 酪酸梭菌活菌片通过外源性补充益生菌, 刺激肠道局部免疫反应, 增强机体抗感染能力, 从而减轻炎症反应. 进一步研究还发现, 还能有效降低化疗后的恶心呕吐、肢端麻木、白细胞减少、肝功能异常发生率.

文献来源: 王沁, 龚黎明, 郑惠. 酪酸梭菌活菌片对结直肠癌术后FOLFOX4方案化疗肠道菌群平衡、毒副反应及免疫炎症指标的影响. 世界华人消化杂志 2021; 29(8): 435-442
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i8/435.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i8.435

0 引言

流行病学调查显示, 结直肠癌发病率居我国全身恶性肿瘤的第4位, 并随生活水平提高、饮食结构改变逐渐增长与年轻化[1,2]. 手术切除是结直肠癌主要治疗手段, 但Ⅱ-Ⅲ期患者手术切除后仍存在较大复发或转移风险, 故术后实施辅助化疗十分必要[3]. 然而相关研究显示[4,5], 结直肠癌手术可破坏正常肠道菌群, 诱导肠道菌群易位, 进而增加术后全身炎症反应综合征发生率, 且化疗药物在杀伤肿瘤细胞的同时会对正常组织细胞造成不同程度损害, 进而增加毒副反应发生率. 有学者指出, 酪酸梭菌活菌片属益生菌, 可直接补充因化疗或手术所致机体欠缺的生理细菌, 调节肠道菌群系统, 增强机体免疫功能[6,7], 但关于其与FOLFOX4方案化疗联合对结直肠癌免疫炎症、肠道菌群的影响缺乏相关研究. 基于此, 本研究首次尝试分析酪酸梭菌活菌片联合亚叶酸钙+氟尿嘧啶+奥沙利铂(folinate 5-fluorouracil oxaliplatin, FOLFOX4)方案化疗对结直肠癌术后肠道菌群平衡、毒副反应及免疫炎症指标的影响.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2017-04/2020-05我院结直肠癌术后患者92例, 纳入标准: (1)结直肠癌诊断标准均参照《2016 USPSTF建议声明: 结直肠癌筛查》[8], 并均经肠镜、腹部CT或病理组织学检查确诊; (2)均符合手术适应证; (3)预计生存期>3 mo; 排除标准: (1)存在手术禁忌证者; (2)合并原发性慢性肠炎、炎症性肠病及肠易激综合征等疾病者; (3)伴有急性肠梗阻、穿孔者; (4)术中发现肿瘤广泛转移、浸润, 无法实施手术切除者; (5)近4 wk内有微生态制剂、免疫抑制剂等药物使用史者; (6)合并肝肾等其他重要脏器器质性功能损害者; (7)处于妊娠期、产褥期或哺乳期等特殊时期者; (8)患有慢性炎症感染性疾病者; (9)意识不清或精神欠佳者. 简单随机化法分为研究组(n = 46)、对照组(n = 46). 本研究经我院医学伦理委员会批准, 所有研究对象均签署知情同意书.

1.2 方法 两组均实施手术治疗, 术后均密切观察患者生命体征, 并予以营养支持、抗感染、镇痛等对症处理.

1.2.1 对照组: 根据患者病情恢复情况在术后14 d内采用FOLFOX4方案化疗治疗, 即d1, 静脉滴注奥沙利铂(正大天晴药业集团股份有限公司, 国药准字H20143263, 规格: 50 mg)85 mg/m^2, 时间为120 min; d1-2, 静脉滴注亚叶酸钙[江苏奥赛康药业有限公司, 国药准字H20060197, 规格: 100 mg(按亚叶酸计)]200 mg/m^2, 时间为120 min, 静脉滴注完毕后, 静脉注射5-氟尿嘧啶(吉林通化茂祥制药有限公司, 国药准字H22023469, 规格: 10 mL: 0.25g)400 mg/m^2, 后改为静脉滴注600 mg/m^2, 时间为4 h.

1.2.2 研究组: 在对照组基础上术后第1 d起口服酪酸梭菌活菌片(青岛东海药业有限公司, 国药准字S20040083, 规格: 每片350 mg, 含酪酸梭菌活菌片数不低于1.5×10^7 CFU/g), 700 mg/次, 3次/d. 两组均以2 wk为1个疗程, 持续治疗8 wk.

1.2.3 检测方法: (1)空腹取9 mL肘静脉血: ①通过流式细胞仪检测CD4$^+$、CD8$^+$、CD4$^+$/CD8$^+$水平, 严格参照常州必达科生物科技有限公司提供的仪器说明书操作; ②加入8%高氯酸(2 mL)混匀, 采用酶学分光光度法测定血浆D乳酸, 严格参照上海必优生物科技有限公司提供的试剂盒说明书操作; ③1000×g离心15 min(离心半径8 cm), 分离取血清, 置于-20 ℃低温保存, 利用酶联免疫吸附试验检测血清糖类抗原724(carbohydrate antigen724, CA724)、糖类抗原199(carbohydrate antigen199, CA199)、癌胚抗原(carcino-embryonic antigen, CEA)、肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)、白细胞介素-6(interleukin, IL-6)水平, 运用免疫比浊法测定血清C反应蛋白(CRP)水平, 严格参照南京泽维尔生物科技有限公司提供的试剂盒说明书操作. (2)取0.5 g新鲜粪便, 添加生理盐水(0.9%), 持续稀释10倍至10^{-9}, 分别取0.5 mL 10^{-1}、10^{-3}、10^{-5}、10^{-7}、10^{-9}稀释液, 对粪肠球菌、大肠杆菌、乳酸杆菌、双歧杆菌进行培养, 分别接种于羊血平板培养基、兰琼脂平板培养基、MRS营养琼脂平板培养基与BS血琼脂平板培养基, 其中粪肠球菌、大肠杆菌放置于35 ℃孵箱培养1 d, 乳酸杆菌、双歧杆菌以抽气换气培养法培养2 d, 计算每克粪便湿重中菌落形成单位(CFU)的对数值[9]. (3)取新鲜粪便0.5 g, 根据1:3比例稀释混匀生理盐水, 2500 r/min离心15 min, 去上清液过滤, 运用透射比浊法测定粪便分泌型免疫球蛋白A(S-IgA)水平, 严格参照上海名典生物工程有限公司提供的试剂盒说明书进行操作.

1.3 观察指标 (1)比较两组一般资料; (2)比较两组治疗前、治疗8 wk后血清肿瘤标志物, 即CA724、CA199、CEA水平; (3)比较两组治疗前、治疗8 wk后免疫功能指标, 即CD4$^+$、CD8$^+$、CD4$^+$/CD8$^+$水平; (4)比较两组治疗前、治疗8 wk后血清炎症反应指标, 即TNF-α、CRP、IL-6水平; (5)比较两组治疗前、治疗8 wk后肠道菌群指标, 包括粪肠球菌、大肠杆菌、乳酸杆菌、双歧杆菌

数量; (6)比较两组治疗前、治疗8周后肠道屏障功能指标, 即血浆D乳酸、粪便S-IgA水平; (7)统计两组毒副反应, 包括恶心呕吐、肢端麻木、白细胞减少、肝功能异常、血小板减少.

统计学处理 采用SPSS22.0统计学软件处理数据, 计量资料采取巴特利(Bartlett)方差齐性检验与科尔莫戈罗夫·斯米尔诺夫(Kolmogorov-Smirnov)正态性检验, 均确认具备方差齐性且近似服从正态布, 以mean±SD描述, t检验, 计数资料用n(%)表示、χ^2检验. $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 一般资料 两组性别、年龄、体质量指数、病程、肿瘤部位、Dukes分期、分化程度、手术方式比较, 差异无统计学意义, 见表1.

2.2 血清肿瘤标志物水平 两组治疗前血清CA724、CA199、CEA水平相比, 差异无统计学意义; 两组治疗8 wk后血清CA724、CA199、CEA水平较治疗前降低, 且研究组低于对照组($P<0.05$). 见表2.

2.3 免疫功能指标 两组治疗前$CD4^+$、$CD8^+$、$CD4^+/CD8^+$水平相比, 差异无统计学意义; 研究组治疗8 wk后$CD4^+$、$CD8^+$、$CD4^+/CD8^+$水平与治疗前相比, 差异无统计学意义, 研究组治疗8 wk后$CD4^+$、$CD4^+/CD8^+$水平高于对照组, $CD8^+$水平低于对照组($P<0.05$). 见表3.

2.4 血清炎症反应指标 两组治疗前血清TNF-α、CRP、IL-6水平相比, 差异无统计学意义; 两组治疗8 wk后血清TNF-α、CRP、IL-6水平较治疗前降低, 且研究组低于对照组($P<0.05$). 见表4.

2.5 肠道菌群指标 两组治疗前粪肠球菌、大肠杆菌、乳酸杆菌、双歧杆菌数量相比, 差异无统计学意义; 两组治疗8 wk后粪肠球菌、乳酸杆菌、双歧杆菌数量较治疗前提高, 且研究组高于对照组, 大肠杆菌数量较治疗前降低, 且研究组低于对照组($P<0.05$). 见表5.

2.6 肠道屏障功能指标 两组治疗前血浆D乳酸、粪便S-IgA水平相比, 差异无统计学意义; 两组治疗8 wk后血浆D乳酸水平较治疗前降低, 且研究组低于对照组, 粪便S-IgA水平较治疗前提高, 且研究组高于对照组($P<0.05$). 见表6.

2.7 毒副反应 研究组恶心呕吐、肢端麻木、白细胞减少、肝功能异常发生率低于对照组($P<0.05$); 两组血小板减少发生率相比, 差异无统计学意义. 见表7.

3 讨论

FOLFOX4方案化疗是结直肠癌术后常用化疗方案, 可有效抑制机体癌细胞增殖、浸润、转移, 减轻患者临床症状, 延长患者生存周期[10], 但其易引发恶心呕吐、肝功能异常、免疫功能低下等毒副反应, 影响患者生存质量. 因此, 如何增强结直肠癌术后化疗患者抗肿瘤免疫应答水平、降低毒副反应发生率是目前临床亟需解决的问题.

CA724、CA199、CEA是临床常用肿瘤标志物, 其在结直肠癌患者中过度高表达, 与疗效、肿瘤临床分期、复发存在相关性[11-13]. 迪米拉·阿里根等[14]研究发现, 在XELOX方案化疗治疗的同时联合双歧杆菌三联活菌, 能有效降低结直肠癌术后肿瘤标志物水平, 增强化疗抗肿瘤疗效. 在此基础上, 本研究首次于结直肠癌术后采用酪酸梭菌活菌片联合FOLFOX4方案化疗治疗, 结果显示, 二者联合能有效减少患者血清CA724、CA199、CEA水平, 这可能是由于二者联合能发挥良好协同增效减毒作用, 刺激T淋巴细胞和B淋巴细胞成熟, 双向调节免疫应答, 增强免疫系统功能, 抑制肿瘤细胞生长, 诱导肿瘤细胞凋亡, 从而降低血清肿瘤标志物水平, 实现抗肿瘤作用.

同时, 有学者指出[15,16], 结直肠癌术后大肠杆菌数量明显增加, 双歧杆菌与大肠杆菌比例下调, 易破坏肠道原有肠黏膜生物屏障功能, 明显改变肠道通透性, 而肠黏膜屏障损坏则会进一步加重原有肠道微生态紊乱, 最终形成恶性循环, 加重患者病情. 血浆D乳酸、粪便S-lgA是评估肠道黏膜屏障功能常用指标, 其中血浆D乳酸是肠道固有细菌代谢物, 随肠道黏膜屏障损伤程度加重, 其含量明显增加[17]; 粪便S-lgA是肠黏膜主要免疫球蛋白, 也是肠黏膜防御的重要组成部分[18]. 另外, 一项大鼠实验表明[19], 高剂量复合益生菌可增加肠道乳杆菌、双歧杆菌含量, 调节肠道菌群. 本研究数据表明, 酪酸梭菌活菌片联合FOLFOX4方案化疗对纠正结直肠癌术后患者肠道菌群紊乱、修复受损肠黏膜屏障功能具有一定积极效应, 与李灼非等[20]研究相似, 这可能是由于酪酸梭菌活菌片剂量大, 可提供充足有益菌, 有效防止致病菌繁殖, 恢复肠道菌群平衡, 并可促进酪酸分解, 分泌抗氧化、抗癌化合物短链脂肪酸, 为肠道黏膜修复提供能量[21], 与FOLFOX4方案化疗联合, 通过生物夺氧功能, 不仅能降低肠道定植部位氧浓度, 调节厌氧菌群生长环境, 维持肠道菌群平衡, 还能改善肠道通透性, 抑制D乳酸渗透入血及S-IgA流失, 从而有效保护肠道黏膜屏障功能.

受手术治疗创伤、术中失血及麻醉等因素影响, 结直肠癌患者术后处于应激状态, 可能影响细胞免疫功能, 引发继发性免疫功能缺陷, 加之结直肠癌患者肠道菌群紊乱, 肠道黏膜屏障功能损害, 进一步抑制机体免疫应答[22,23]. 本研究通过对比研究可知, 研究组治疗

表 1　两组一般资料比较

一般资料	研究组(n = 46)	对照组(n = 46)	$u/t/\chi^2$	P
性别(男/女)	25/21	28/18	0.401	0.527
年龄(岁)	43.89 ± 8.25	44.21 ± 10.48	0.163	0.871
体质量指数(kg/m^2)	21.46 ± 2.03	20.72 ± 3.18	1.330	0.187
病程(mo)	4.72 ± 2.54	5.33 ± 4.21	0.841	0.403
肿瘤部位				
结肠	31(67.39)	34(73.91)	0.472	0.492
直肠	15(32.61)	12(26.09)		
手术方式				
腹腔镜手术	33(71.74)	35(76.09)	0.226	0.635
开腹手术	13(28.26)	11(23.91)		
Dukes分期				
A期	15(32.61)	18(39.13)		
B期	26(56.52)	24(52.17)	0.605	0.546
C期	5(10.87)	4(8.70)		
分化程度				
中分化	17(36.96)	14(30.43)	0.438	0.508
高分化	29(63.04)	32(69.57)		

表 2　两组血清肿瘤标志物水平比较(mean ± SD)

时间	组别	例数	CA724(U/mL)	CA199(U/mL)	CEA(μg/L)
治疗前	研究组	46	9.86 ± 3.21	57.26 ± 19.34	12.73 ± 4.28
	对照组	46	10.02 ± 2.83	59.05 ± 21.40	13.42 ± 4.69
	t		0.254	0.421	0.737
	P		0.800	0.675	0.463
治疗8 wk后	研究组	46	4.70 ± 1.18[a]	22.43 ± 8.02[a]	6.09 ± 2.12[a]
	对照组	46	6.19 ± 1.40[a]	26.15 ± 9.36[a]	8.16 ± 2.57[a]
	t		5.519	2.047	4.214
	P		< 0.001	0.044	< 0.001

[a]P < 0.05, 与本组治疗前相比.

表 3　两组免疫功能指标比较(mean ± SD)

时间	组别	例数	CD4$^+$(%)	CD8$^+$(%)	CD4$^+$/CD8$^+$
治疗前	研究组	46	32.09 ± 2.70	25.83 ± 2.37	1.24 ± 0.29
	对照组	46	31.57 ± 3.18	26.42 ± 2.59	1.19 ± 0.25
	t		0.845	1.140	0.886
	P		0.400	0.257	0.378
治疗8 wk后	研究组	46	30.84 ± 2.26	27.06 ± 2.84	1.14 ± 0.21
	对照组	46	25.96 ± 2.52[a]	29.91 ± 3.13[a]	0.87 ± 0.16[a]
	t		9.778	4.574	6.936
	P		< 0.001	< 0.001	< 0.001

[a]P < 0.05, 与本组治疗前相比.

8 wk后CD4$^+$、CD4$^+$/CD8$^+$水平高于对照组, CD8$^+$水平低于对照组, 提示酪酸梭菌活菌片联合FOLFOX4方案化疗能有效调节结直肠癌术后患者免疫功能, 结合既往研究[24]分析可能与酪酸梭菌活菌片能纠正肠道菌群紊

表 4　两组血清炎症反应指标比较(mean ± SD)

时间	组别	例数	TNF-α(ng/L)	CRP(mg/L)	IL-6(ng/L)
治疗前	研究组	46	33.78 ± 3.58	81.48 ± 16.15	197.35 ± 41.21
	对照组	46	34.64 ± 3.70	83.92 ± 17.69	202.58 ± 44.37
	t		1.133	0.691	0.586
	P		0.260	0.491	0.560
治疗8 wk后	研究组	46	15.82 ± 2.64[a]	23.94 ± 9.24[a]	71.74 ± 14.05[a]
	对照组	46	23.05 ± 3.29[a]	41.25 ± 11.16[a]	90.27 ± 18.83[a]
	t		11.625	8.103	5.349
	P		< 0.001	< 0.001	< 0.001

[a]*P* < 0.05, 与本组治疗前相比.

表 5　两组肠道菌群指标比较(mean ± SD, lg CFU/g)

时间	组别	例数	粪肠球菌	大肠杆菌	乳酸杆菌	双歧杆菌
治疗前	研究组	46	6.42 ± 0.59	10.38 ± 0.95	6.19 ± 0.52	7.68 ± 0.57
	对照组	46	6.26 ± 0.47	10.71 ± 0.84	6.06 ± 0.47	7.55 ± 0.49
	t		1.439	1.765	1.258	1.173
	P		0.154	0.081	0.212	0.244
治疗8 wk后	研究组	46	8.35 ± 0.72[a]	8.41 ± 0.58[a]	7.58 ± 0.70[a]	9.35 ± 0.74[a]
	对照组	46	7.08 ± 0.61[a]	9.15 ± 0.70[a]	6.81 ± 0.61[a]	8.29 ± 0.65[a]
	t		9.128	5.521	5.625	7.299
	P		< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001

[a]*P* < 0.05, 与本组治疗前相比.

表 6　两组肠道屏障功能指标比较(mean ± SD)

组别	例数	D乳酸(μg/mL)		粪便S-IgA(g/L)	
		治疗前	治疗8 wk后	治疗前	治疗8 wk后
研究组	46	11.24 ± 2.51	5.29 ± 0.95[a]	1.09 ± 0.27	1.65 ± 0.43[a]
对照组	46	11.83 ± 2.83	7.57 ± 1.34[a]	1.13 ± 0.30	1.32 ± 0.36[a]
t		1.058	9.414	0.672	3.991
P		0.293	< 0.001	0.503	< 0.001

[a]*P* < 0.05, 与本组治疗前相比.

表 7　两组毒副反应比较*n*(%)

组别	例数	恶心呕吐	肢端麻木	血小板减少	白细胞减少	肝功能异常
研究组	46	10(21.74)	7(15.22)	13(28.26)	8(17.39)	6(13.04)
对照组	46	21(45.65)	16(34.78)	19(41.30)	18(39.13)	15(32.61)
χ^2		5.887	4.696	1.725	5.361	4.998
P		0.015	0.030	0.189	0.021	0.025

乱, 维持肠黏膜屏障功能完整性有关. 同时, 结直肠癌患者大肠杆菌等致病菌异常增殖, 会释放大量内毒素及细菌毒素, 刺激肝巨噬细胞及其他相关炎症细胞, 进而持续分泌TNF-α、CRP、IL-6等炎症因子, 提高感染并发症发生率[25]. 本研究数据表明, 酪酸梭菌活菌片联合FOLFOX4方案化疗在降低结直肠癌术后患者炎症反应

方面优于单纯FOLFOX4方案化疗治疗, 这可能是由于酪酸梭菌活菌片通过外源性补充双歧杆菌、乳酸杆菌等益生菌, 减少肠内细菌和内毒素移位, 抑制炎症因子分泌, 与FOLFOX4方案化疗联合, 可激活吞噬细胞活性, 刺激肠道局部免疫反应, 增强机体抗感染能力, 从而减轻炎症反应. 进一步研究还发现, 酪酸梭菌活菌片联合FOLFOX4方案化疗能有效降低恶心呕吐、肢端麻木、白细胞减少、肝功能异常发生率, 可能与酪酸梭菌活菌片能保护神经细胞, 减轻神经系统毒性, 调节免疫炎症反应有关.

4 结论

综上可知, 酪酸梭菌活菌片联合FOLFOX4方案化疗通过纠正肠道菌群紊乱, 修复受损肠黏膜屏障功能, 有助于调节结直肠癌术后患者免疫炎症反应, 降低血清肿瘤标志物水平, 减少毒副反应. 但本研究也存在一定不足, 如涉及样本量较小, 所得结论仅是初步的; 未探讨其他益生菌是否有类似作用; 缺少肠道菌群测序等, 应进一步扩大样本量, 采取多中心、深层次研究方法从微生物组学角度进行深度且全面分析, 以便为研究结果提供理论与数据支撑.

文章亮点

实验背景

结直肠癌患者一旦进入中晚期, 除了手术治疗外, 还需要化疗药物进行术后的辅助治疗, 化疗药物对身体免疫系统的破坏是比较明显的, 且本身结直肠癌患者的消化功能也较差, 因此能够增强肠道的吸收, 进而增强机体免疫的辅助治疗就显得尤为重要.

实验动机

本研究从化疗药物对身体的影响和结直肠癌患者肠道吸收能力较差的角度出发, 拟减轻化疗对身体免疫系统的破坏, 同时能够增强肠道的吸收能力, 保证机体能够正常运转, 对结直肠癌患者的术后的恢复起到积极的作用.

实验目标

本研究旨在利用酪酸梭菌活菌片中有益菌改善肠道微生态条件改善由于结直肠癌的影响较差的肠道吸收功能, 同时改善由于化疗药物的影响而造成的免疫功能的下降, 为结直肠癌术后治疗提供有益于机体健康, 毒副作用小的微生物疗法.

实验方法

本研究主要采用了用药后对各个指标检测、观察和分析的方法, 通过对肠道菌群的检测, 和对免疫相关指标的分析, 从微环境和蛋白分子水平来判断酪酸梭菌活菌片对术后患者的作用效果.

实验结果

治疗后, 与对照组相比, 研究组的血清CA724、CA199、CEA、$CD8^+$、TNF-α、CRP、IL-6水平、大肠杆菌数量、血浆D乳酸水平更低, $CD4^+$、$CD4^+/CD8^+$水平、粪肠球菌、乳酸杆菌、双歧杆菌数量、粪便S-IgA水平更高. 研究组的不良事件发生率低于对照组.

实验结论

酪酸梭菌活菌片改善了结直肠癌患者肠道菌群的结构, 增加了有益菌群的数量, 降低了炎症因子的表达, 促进了免疫功能的提升且无毒副作用, 为进一步改善患者的生活质量提供了一种健康价廉的高效治疗方案.

展望前景

本研究样本仅限于我院收集的, 多为本地区及周围的人群, 数量相对较少, 是否能够涵盖更广的人群还有待于进一步收集更多更广的样本量. 肠道菌群较为复杂多样, 其他相关菌群是否有影响没有探讨, 后续将采用高通量测序等技术从微生物组学角度进行全面的分析, 为研究结果提供更可靠的理论与数据支撑.

5 参考文献

1 冷霞, 刘菲, 杨志文, 朱康健, 史玉雪, 余祖红, 陈卫昌. 外周血甲基化胞裂蛋白9基因甲基化检测在结直肠癌和腺瘤诊断中的临床意义. 中华消化杂志 2018; 38: 405-407 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-1432.2018.06.009]

2 Patel SG, Ahnen DJ. Colorectal Cancer in the Young. *Curr Gastroenterol Rep* 2018; 20: 15 [PMID: 29616330 DOI: 10.1007/s11894-018-0618-9]

3 杨飘, 宋纯, 杜涛, 韩俊毅. 结肠癌根治术后患者胸腺肽静滴辅助FOLFOX4方案化疗前后外周血单个核细胞中Treg比例表达观察. 山东医药 2018; 58: 70-72 [DOI: 10.3969/j.issn.1002-266X.2018.40.020]

4 王家欢, 吴艳烈. 腹腔镜手术联合微生态制剂对结直肠癌患者肠道菌群和肠道屏障功能的影响. 中国微生态学杂志 2020; 32: 298-301+305 [DOI: 10.13381/j.cnki.cjm.202003012]

5 缪娴, 陶玉华, 顾小侠, 沈水杰. 济生散联合术后辅助化疗对Ⅱ期结直肠癌的疗效及对肠道菌群的影响. 中国肿瘤外科杂志 2019; 11: 346-349 [DOI: 10.3969/j.issn.1674-4136.2019.05.010]

6 程海霞, 贾增增, 徐月姣, 范国权, 何若冲. 益生菌应用于结直肠癌三级预防中的研究进展. 中华实验外科杂志 2018; 35: 1373-1375 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-9030.2018.07.064]

7 Górska A, Przystupski D, Niemczura MJ, Kulbacka J. Probiotic Bacteria: A Promising Tool in Cancer Prevention and Therapy. *Curr Microbiol* 2019; 76: 939-949 [PMID: 30949803 DOI: 10.1007/s00284-019-01679-8]

8 US Preventive Services Task Force, Bibbins-Domingo K, Grossman DC, Curry SJ, Davidson KW, Epling JW Jr, García FAR, Gillman MW, Harper DM, Kemper AR, Krist AH, Kurth AE, Landefeld CS, Mangione CM, Owens DK, Phillips WR, Phipps MG, Pignone MP, Siu AL. Screening for Colorectal

Cancer: US Preventive Services Task Force Recommendation Statement. *JAMA* 2016; 315: 2564-2575 [PMID: 27304597 DOI: 10.1001/jama.2016.5989.]
9 戴安友. 双歧三联活菌胶囊对结直肠癌术后肠道菌群及肠黏膜通透性的影响.中国微生态学杂志 2016; 28: 425-428 [DOI:10.13381/j.cnki.cjm.201604013]
10 高宗跃, 周晓丽. XELOX与FOLFOX4治疗方案对老年转移性结直肠癌序贯化疗的效果. 中国老年学杂志 2018; 38: 3641-3643 [DOI: 10.3969/j.issn.1005-9202.2018.15.024]
11 Gao Y, Wang J, Zhou Y, Sheng S, Qian SY, Huo X. Evaluation of Serum CEA, CA19-9, CA72-4, CA125 and Ferritin as Diagnostic Markers and Factors of Clinical Parameters for Colorectal Cancer. *Sci Rep* 2018; 8: 2732 [PMID: 29426902 DOI: 10.1038/s41598-018-21048-y]
12 Sun ZQ, Ma S, Zhou QB, Yang SX, Chang Y, Zeng XY, Ren WG, Han FH, Xie X, Zeng FY, Sun XT, Wang GX, Li Z, Zhang ZY, Song JM, Liu JB, Yuan WT. Prognostic value of lymph node metastasis in patients with T1-stage colorectal cancer from multiple centers in China. *World J Gastroenterol* 2017; 23: 8582-8590 [PMID: 29358866 DOI: 10.3748/wjg.v23.i48.8582]
13 张鑫东, 葛晓蕾, 刘省存, 郑维清, 沈彤. 血清CA199和CEA对结直肠癌转移和预后预测的价值. 中华疾病控制杂志 2018; 22: 57-61 [DOI: 10.16462/j.cnki.zhjbkz.2018.01.013]
14 迪米拉•阿里根, 帕尔哈提•阿布都热衣木, 张丽博. 双歧杆菌三联活菌辅助XELOX方案对结直肠癌术后抗肿瘤免疫应答和肿瘤标志物的影响. 中国临床研究 2019; 32: 516-519 [DOI: 10.13429/j.cnki.cjcr.2019.04.020]
15 刘杰锋, 何苗, 曾心雨, 龚煜靖. 老年结直肠癌患者术后早期微生态肠内营养对肠道菌群及免疫功能的影响. 中华老年医学杂志 2020; 39: 435-438 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-9026.2020.04.015]
16 Wong SH, Yu J. Gut microbiota in colorectal cancer: mechanisms of action and clinical applications. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2019; 16: 690-704 [PMID: 31554963 DOI: 10.1038/s41575-019-0209-8]
17 郭云童, 刘炜, 黄河. 腹腔镜与开腹结直肠癌手术对肠道屏障功能影响的比较研究.中华临床营养杂志 2020; 28: 27-31 [DOI: 10.3760/cma.j.cn115822-20190114-00003]
18 董建华, 程先硕, 杨之斌, 栗明, 余昆. 双歧杆菌三联活菌胶囊联合奥沙利铂对结直肠癌术后的疗效及对肠道菌群与免疫功能的影响. 西部医学 2019; 31: 403-407 [DOI: 10.3969/j.issn.1672-3511.2019.03.016]
19 孙昕, 加勒哈斯别克•塞力克, 王艳明, 吴禹澈, 新华•那比. 乳源性复合益生菌对2型糖尿病大鼠GLP-1的影响及调控机制. 中国微生态学杂志 2020; 32: 384-391 [DOI:10.13381/j.cnki.cjm.202004003]
20 李灼非, 邓兴明, 李粤, 吕国庆. 益生菌对结肠癌化疗及术后肠道菌群变化的影响以及与免疫功能下降的关系的研究. 贵州医药 2018; 42: 1478-1480 [DOI: 10.3969/j.issn.1000-744X.2018.12.036]
21 韦德芳. 酪酸梭菌肠球菌三联活菌片联合莫沙必利治疗便秘型肠易激综合征的临床疗效观察. 国际消化病杂志 2018; 38: 344-347 [DOI: 10.3969/j.issn.1673-534X.2018.05.015]
22 Temraz S, Nassar F, Nasr R, Charafeddine M, Mukherji D, Shamseddine A. Gut Microbiome:A Promising Biomarker for Immunotherapy in Colorectal Cancer. *Int J Mol Sci* 2019; 20: 4155 [PMID: 31450712 DOI: 10.3390/ijms20174155]
23 陈高瀚, 金冬春. 腹腔镜根治术对老年结直肠癌患者应激反应、炎症反应和细胞免疫功能的影响. 中国老年学杂志 2020; 40: 1177-1180 [DOI: 10.3969/j.issn.1005-9202.2020.06.019]
24 王木勇, 唐灵辉, 吴青梅. 酪酸梭菌活菌片口服联合早期肠内营养支持对腹腔镜结肠癌根治术后患者肠道功能的影响. 岭南急诊医学杂志 2020; 25: 490-492 [DOI: 10.3969/j.issn.1671-301X.2020.05.018]
25 Lucas C, Barnich N, Nguyen HTT. Microbiota, Inflammation and Colorectal Cancer. *Int J Mol Sci* 2017; 18 [PMID: 28632155 DOI: 10.3390/ijms18061310]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: https://www.baishideng.com

世界华人消化杂志 2021年4月28日; 29(8): 443-448

DOI: 10.11569/wcjd.v29.i8.443

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

病例报告 CASE REPORT

以肝占位为首发表现的非霍奇金淋巴瘤1例

徐国峰, 刘 威, 陈 华

徐国峰, 刘威, 赣南医学院第一附属医院消化内科 江西省赣州市 341000

陈华, 赣州市人民医院核医学科PET/CT影像中心 江西省赣州市 341000

徐国峰, 主治医师, 主要从事消化系统疾病方面的研究.

作者贡献分布: 徐国峰负责论文书写; 刘威负责收集病例资料; 陈华负责提供PET/CT影像学图片资料.

通讯作者: 徐国峰, 主治医师, 341000, 江西省赣州市章贡区金岭大道128号, 赣南医学院第一附属医院消化内科. xugf2019@gmu.edu.cn

收稿日期: 2021-01-28
修回日期: 2021-02-17
接受日期: 2021-03-15
在线出版日期: 2021-04-28

Non-Hodgkin's lymphoma with hepatic space occupying lesion as first manifestation: A case report

Guo-Feng Xu, Wei Liu, Hua Chen

Guo-Feng Xu, Wei Liu, Department of Gastroenterology, The First Affiliated Hospital of Gannan Medical University, Ganzhou 341000, Jiangxi Province, China

Hua Chen, PET/CT Imaging Center of Nuclear Medicine Department, Ganzhou People's Hospital, Ganzhou 341000, Jiangxi Province, China

Corresponding author: Guo-Feng Xu, Attending Doctor, Department of Gastroenterology, The First Affiliated Hospital of Gannan Medical University, Ganzhou 341000, Jiangxi Province, China. xugf2019@gmu.edu.cn

Received: 2021-01-28
Revised: 2021-02-17
Accepted: 2021-03-15
Published online: 2021-04-28

Abstract

BACKGROUND

Lymphoma originating from lymph nodes and lymphoid tissue, is one of the earliest discovered hematological malignancies.

CASE SUMMARY

The main manifestations of the disease in our patient were lymphadenopathy and extranodal organ involvement, accompanied by fever, emaciation, and other systemic symptoms.

CONCLUSION

A case of non-Hodgkin's lymphoma with hepatic space occupying lesion as the first manifestation is reported.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Lymphoma; Hepatic space occupying lesion; First manifestation

Citation: Xu GF, Liu W, Chen H. Non-Hodgkin's lymphoma with hepatic space occupying lesion as first manifestation: A case report. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2021; 29(8): 443-448
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i8/443.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i8.443

摘要

背景

淋巴瘤起源于淋巴结和淋巴组织, 是最早发现的血液系统恶性肿瘤之一.

病例简介

该病主要以淋巴结肿大及淋巴结外脏器受累为主要表现, 同时合并发热、消瘦等全身症状表现.

结论

现报道以肝占位为首发表现的非霍奇金淋巴瘤1例.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 淋巴瘤; 肝占位; 首发表现

核心提要: 淋巴瘤常常以高热或各系统脏器症状为主要表现, 累及消化系统主要以回肠及胃常见, 该患者起病时无发热表现, 以肝占位为首发症状, 易漏诊.

文献来源: 徐国峰, 刘威, 陈华. 以肝占位为首发表现的非霍奇金淋巴瘤1例. 世界华人消化杂志 2021; 29(8): 443-448
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i8/443.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i8.443

0 引言

淋巴瘤起源于淋巴结和淋巴组织, 按组织病理学改变, 可分为霍奇金淋巴瘤和非霍奇金淋巴瘤. 无痛性进行性淋巴结肿大或局部肿块是淋巴瘤共同的临床表现. 其次为淋巴结外器官受累, 因受压迫或浸润的脏器不同, 引起的症状也不同. 累及消化系统主要以回肠及胃常见, 肝占位合并腹水表现较为少见. 现将我院1例以肝占位为首发症状的非霍奇金淋巴瘤病例报道如下.

1 病例简介

患者男性, 57岁, 主诉“反复腹痛3年, 再发7 d”. 患者缘于3年前无明显诱因出现上腹部隐痛, 持续约20 min可稍缓解, 进食后加重, 与体位及活动无关, 无向其他部位放射. 无恶心、呕吐, 无呕血、解黑便, 无腹泻, 无发热、盗汗, 无胸闷、胸痛, 无咳嗽、咯血. 患者未重视, 曾反复就诊于当地诊所, 诊断为胃炎, 予以药物治疗, 具体用药不详. 症状反复发作. 7 d前上述症状再发, 性质同前, 无恶心、呕吐, 无呕血、解黑便, 无腹泻, 无发热、盗汗, 无胸闷、胸痛, 无咳嗽、咯血, 患者未重视遂到当地县医院就诊, 行腹部CT: 肝占位, 建议转上级医院继续治疗. 遂于2020-12-25入我院消化内科. 患者无肝炎病史, 无饮酒史. 入院查体: T36.6 ℃, P94次/分, R20次/分, BP154/94 mmHg. 腹部膨隆, 腹肌软, 上腹压痛, 无反跳痛, 肝脏肋下未触及, 脾脏肋下未触及, 移动性浊音阳性, 肠鸣音正常, 双侧肾区无叩痛. 入院后完善检查, 血常规: 白细胞8.44×10^9/L, 红细胞 4.41×10^{12}/L, 血小板391×10^9/L, 中性粒细胞比率64.9%, 淋巴细胞比率13.7%; 血生化: 谷草转氨酶55U/L, 白蛋白36.1g/L, 总胆红素20.2 μmol/L, 碱性磷酸酶133 U/L, 乳酸脱氢酶1467 U/L, 尿酸607 μmol/L, 肌酸激酶、肌酸激酶同工酶正常, 肾功能、电解质正常; 乙肝五项提示乙肝表面抗原、乙肝e抗体、乙肝核心抗体阳性. 肿瘤全套提示CA125 2135 U/mL, CA 153 51.4 U/mL, CA199 52.5 U/mL, 神经元特异性烯醇化酶35.6 ng/mL, 甲胎蛋白、癌胚抗原、肿瘤相关抗原72-4、前列腺特异性抗原、非小细胞肺癌相关抗原、胃泌素释放肽前体均正常. 2020-12-26胸部CT: 双肺感染/左肺上叶微小结节, 左肺上叶小钙化灶, 双侧胸膜增厚, 左侧胸腔积液; 所示腹腔积液, 腹膜增厚; 2020-12-27腹部增强CT: 腹膜及网膜弥漫不规则增厚/强化, 考虑腹膜转移瘤可能; 肝多发占位, 考虑转移瘤可能(图1); 胃幽门区胃壁可疑增厚, 建议结合内镜检查; 腹膜后(左肾上极水平)稍大淋巴结显示; 十二指肠降段憩室. 2020-12-28胃镜: 出血糜烂性胃炎, 胃窦/胃体为主; 2020-12-29肠镜: 直肠多发息肉; 2020-12-30病理提示增生性息肉. 入院后予以对症支持治疗, 为进一步明确诊断, 行腹腔穿刺腹水化验. 2020-12-30腹水脱落细胞学检查: 镜下见大量淋巴细胞及间皮细胞; 2020-12-31腹水常规示黄色浑浊液体, 细胞总数8363×10^6/L, 白细胞3363×10^6/L, 红细胞5000×10^6/L, 单个核细胞3289×10^6/L, 单个核细胞百分比97.8%, 李凡它试验阳性(图2). 2020-12-31腹水生化: 总蛋白33.1 g/L, 乳酸脱氢酶2330 U/L, 腺苷脱氨酶69 U/L, 葡萄糖3.53 mmol/L. 2021-1-2腹水生化: 总蛋白21.3 g/L, 乳酸脱氢酶1868 U/L, 腺苷脱氨酶 68 U/L, 葡萄糖4.46 mmol/L. 2021-1-4腹水细胞蜡块: 镜下见淋巴细胞及间皮细胞. 2021-1-5腹水常规: 黄色浑浊液体, 细胞总数6504×10^6/L, 白细胞3504×10^6/L, 红细胞3000×10^6/L, 单个核细胞3382×10^6/L, 单个核细胞百分比96.6%, 李凡它试验阳性. 2021-1-5腹水脱落细胞学检查: 镜下见大量淋巴细胞, 较多量巨嗜细胞, 少量间皮细胞及中性粒细胞, 未见明显异型细胞. 2021-1-4患者外院完善PET/CT检查: 肝包膜、腹膜、网膜、肠系膜广泛弥漫增厚, FDG代谢异常增高, 需考虑肿瘤和结核性病变, 以恶性肿瘤转移可能, 建议腹股沟区淋巴结穿刺活检; 密度稍高的腹水(假性粘液瘤?); 肝脏多发稍低密度结节影, FDG代谢异常增高, 多考虑转移瘤; 胸骨左旁/膈上、下、腹膜后、双侧腹股沟多发淋巴结肿大, FDG代谢异常增高; 左肺上叶多发结节状、索条状影, 考虑良性病灶; 纵隔4组、5组、7组、10组炎性小淋巴结; 颅脑未见占位及异常放射性浓聚; 全身其他骨骼及关节形态、密度及放射性分布未见明显异常. 2021-1-7右侧腹股沟淋巴结恶性肿瘤, 建议切除送检(图3). 为进一步明确诊断, 请肿瘤科、胃肠外科、病理科、影像科、肝胆外科、呼吸科、血液科行扩大会诊. 经讨论后一致行右侧腹股沟淋巴结切除, 送病理. 2021-1-14病理: 右侧腹股沟淋巴结考虑为非霍奇金淋巴瘤(图4). 2021-1-18病理: (右腹股沟淋巴结)送检淋巴结结构破坏, 可见中等大小的细胞弥漫浸润, 其中可见少量多核的大细胞, 肿瘤细胞胞浆中等, 淡红染至半透亮, 细胞核较大, 约为组织细胞核大小, 核膜可见, 可见小核仁, 可见较多肿瘤细胞凋亡及核碎片, 核分裂可见, 结

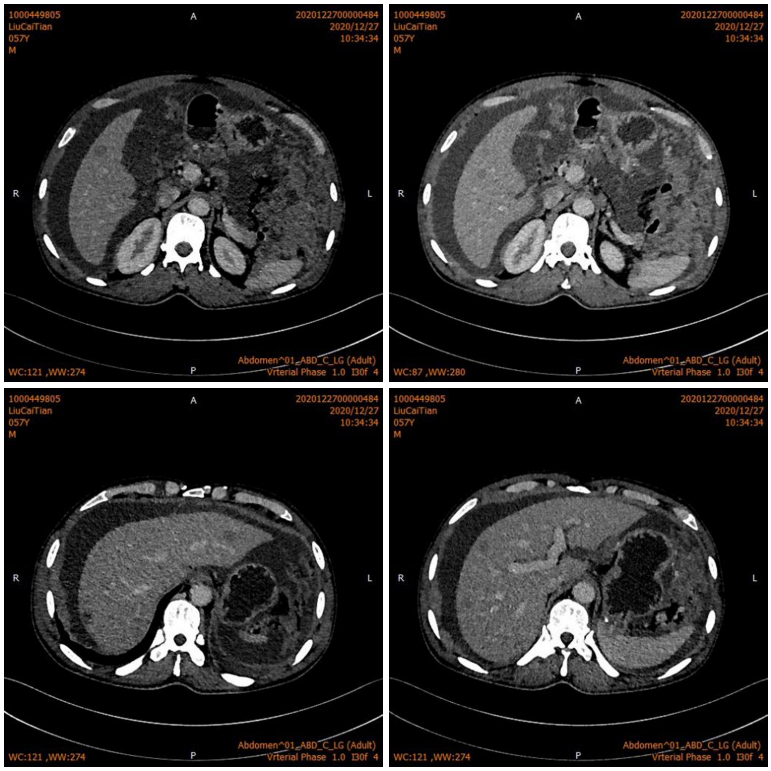


图 1　患者腹部CT结果提示肝多发占位.

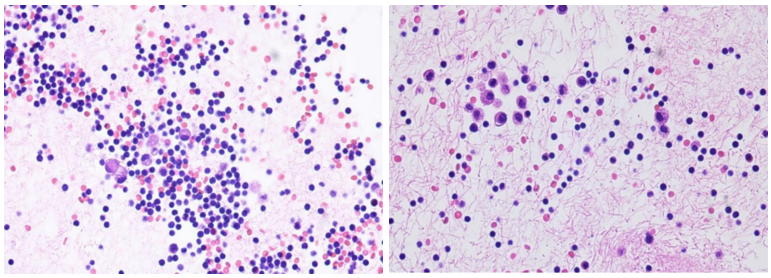


图 2　腹水脱落细胞学结果.

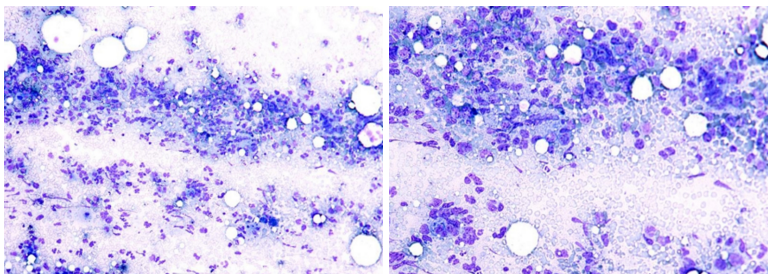


图 3　患者右侧腹股沟淋巴结穿刺活检结果.

合形态及免疫组化符合伴有BCL-2、BCL-6和C-myc表达的高级别B细胞淋巴瘤, 建议行分子学检测(图5). 免疫组化: 2100394-A02#: CD20(-)、CD79a弱阳(+)、PAX-5(+)、Bcl-2(部分膜+)、Bcl-6(+)、CD10(+)、CD21(-)、CD23(膜+)、C-myc约70%(+)、MUM-1(-)、CyclinD1 (散在+)、CXCL-13(-)、CD5(-)、CD7(-)、CD43(-)、Ki-67(约95%+)、CD3(-)、CD19(+)、CD99(+)、CD31(+)、TDT(-)、CD34(-)、CD117(-)、CD15(-)、MPO(-).

2 最终诊断

非霍奇金淋巴瘤、腹腔积液、胸腔积液、肺部感染、

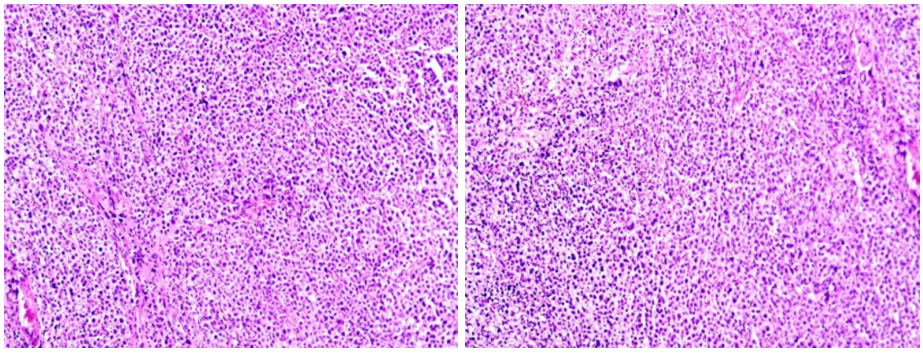
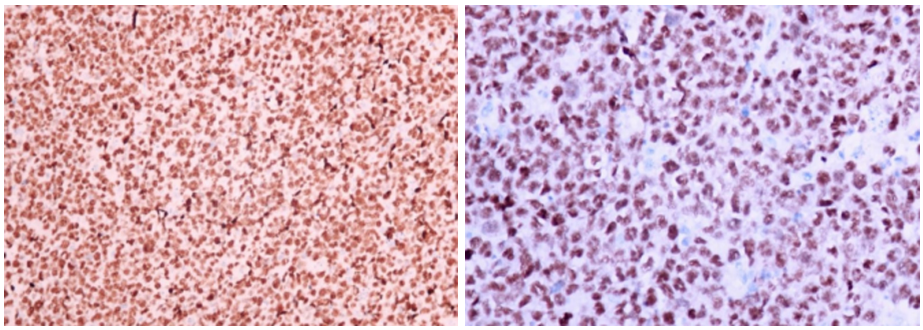


图 4　患者右侧腹股沟淋巴结切除后活检结果.



Ki-67　　PAX-5

图 5　患者右侧腹股沟淋巴结免疫组化结果.

直肠息肉、糜烂性胃炎.

3 治疗

该患者病理考虑淋巴瘤后转入肿瘤科拟行进一步治疗. 然而, 在等待免疫组化的期间, 患者及家属要求放弃治疗, 自动出院.

4 结果和随访

经电话随访, 该患者已于出院后1 mo内死亡.

5 讨论

淋巴瘤起源于发生突变的单个淋巴细胞, 其发生大多与免疫应答过程中淋巴细胞增殖分化产生的某种免疫细胞恶变有关, 是免疫系统的恶性肿瘤. 非霍奇金淋巴瘤是一组具有不同组织学特点和起病部位的淋巴瘤, 易发生早期远处扩散. 男性较女性常见, 淋巴结、扁桃体、脾及骨髓是最容易受累及的部位. 常常以高热或各系统脏器症状为主要表现[1]. 在消化系统中, 以回肠及胃较为常见. 本病以肝脏累及为首发表现, 较少见.

该患者行CT检查提示肝脏及腹膜多发转移瘤, 仅提示腹膜后稍大淋巴结显示. 说明常规影像学检查有时难以发现淋巴结病灶. PET/CT可以显示淋巴瘤病灶及部位, 必要时需考虑PET/CT检查[2]. 肝转移瘤常见的原发灶来源如肺部、胃肠道, 经过CT及胃肠镜检查, 均未发现阳性病灶, 此时应考虑更多的原发灶来源. 患者腹膜有转移, 但腹水脱落细胞学多次检查均未能找到癌细胞, 说明腹水脱落细胞学检查阳性率低, 腹膜活检或许更为直接有效. 最后外院行PET/CT提示腹股沟淋巴结肿大, 建议行穿刺活检. 说明前期体格检查对淋巴结肿大有遗漏或者忽视. 我科行穿刺活检后, 病理结果提示淋巴结恶性肿瘤, 此时, 该病的诊断才有了进一步的头绪. 最后, 经多学科会诊, 将淋巴结切除送检, 病理结果才最终显示为非霍奇金淋巴瘤(图6).

6 结论

(1)本例患者入院后按肝占位查因完善相关检查, 体检时对浅表淋巴结肿大有遗漏. 在临床中, 仔细全面的体格检查尤为重要, 作为临床医生的一项基本功, 仔细的问诊及体格检查水平, 仍然要不断地提高; (2)常规无创性影像学检查及有创内窥镜检查均未能发现原发病灶时, 可以考虑PET-CT检查; (3)腹水脱落细胞检查阳性率较低, 必要时腹膜活检. 腹膜活检有超声引导下穿刺活检、CT引导下穿刺活检以及腹腔镜下穿刺活检. 其中, 以腹腔镜下穿刺活检或者内镜下NOTES术穿刺活检结

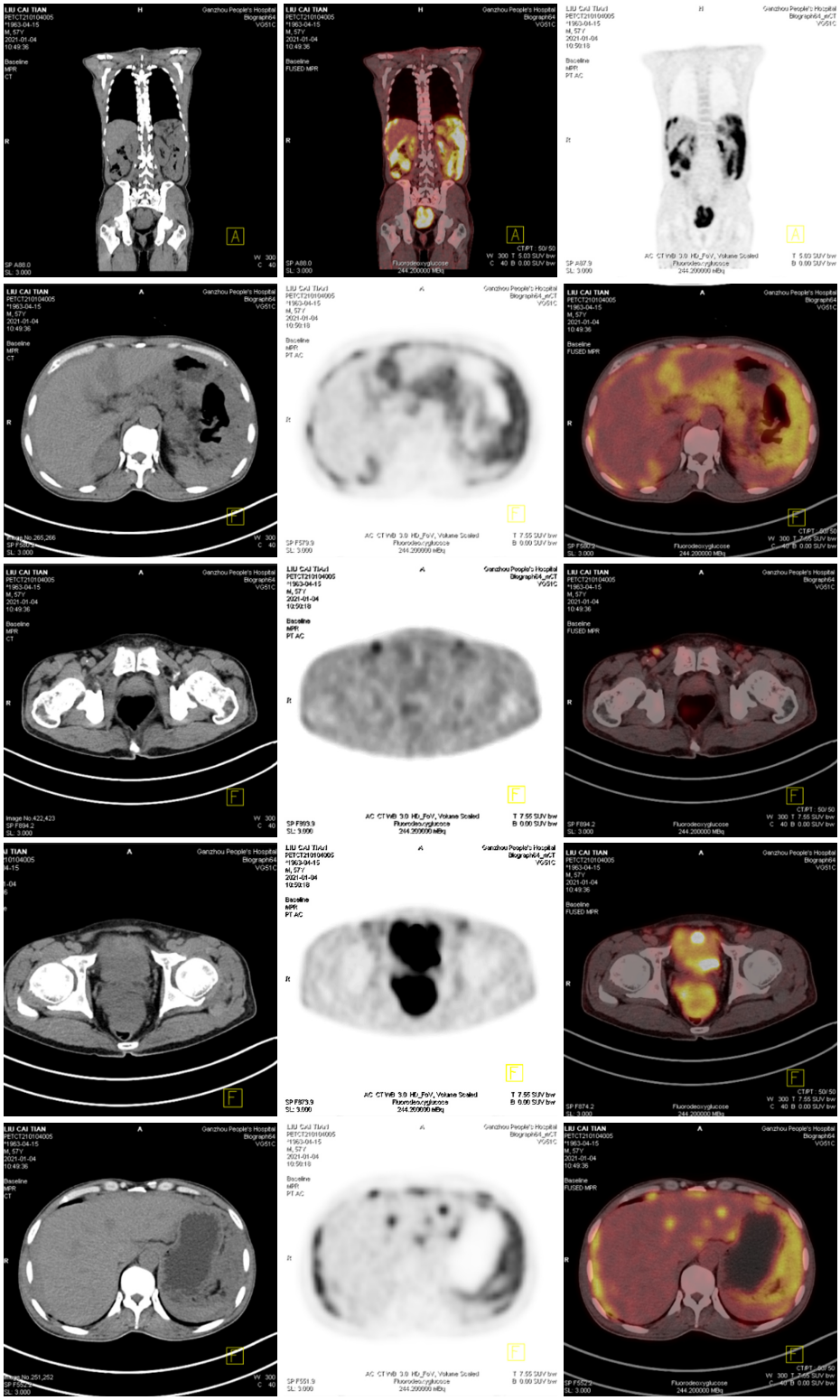


图 6　患者PET/CT结果提示肝包膜、腹膜、网膜、肠系膜广泛增厚, 肝脏多发低密度结节影, 双侧腹股沟淋巴结肿大, FDG代谢异常增高.

果更为有效[3]; (4)患者体表发现淋巴结肿大, 体表淋巴结活检相对更简易, 因此选择淋巴结活检. 由于针吸穿刺所取组织太少, 不利于淋巴瘤的完整诊断. 故本案例前期行淋巴结穿刺活检未能确诊. 如发现淋巴结肿大, 建议完整切除送活检, 更利于疾病的诊断.

7　参考文献

1　林果为, 王吉耀, 葛均波. 实用内科学(下册). 第15版. 北京: 人民

卫生出版社 2017; 1793-1808
2 Perry C, Herishanu Y, Metzer U, Bairey O, Ruchlemer R, Trejo L, Naparstek E, Sapir EE, Polliack A. Diagnostic accuracy of PET/CT in patients with extranodal marginal zone MALT lymphoma. *Eur J Haematol* 2007; 79: 205-209 [PMID: 17662066 DOI: 10.1111/j.1600-0609.2007.00895.x]
3 沈文拥, 吴涛, 唐静, 卢丹萍, 魏莎, 刘爱民. 腹腔镜和经胃的自然腔道内镜手术在不明原因腹水诊断中的临床应用比较. 中国内镜杂志 2017; 23: 56-60 [DOI: 10.3969/j.issn.1007-1989.2017.01.011]

科学编辑: 刘继红 制作编辑: 张砚梁

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 © 2021 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: $^{a}P<0.05$, $^{b}P<0.01$($P>0.05$不注). 如同一表中另有一套P值, 则$^{c}P<0.05$, $^{d}P<0.01$; 第3套为$^{e}P<0.05$, $^{f}P<0.01$. 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/min, c/(mol/L), p/kPa, V/mL, t/℃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 cm×4.5 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.

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: https://www.baishideng.com
www.wjgnet.com

世界华人消化杂志 2021年4月28日; 29(8): I-V
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

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学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学事业的发展, 提高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:
7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA
E-mail: wcjd@wjgnet.com
Help Desk: https://www.baishideng.com/helpdesk
https://www.wjgnet.com
Telephone: +1-925-3991568

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
E-mail: 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》编辑部主任王金磊, 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
E-mail: j.l.wang@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, *T*1/2不能写成tl/2或T, *V*max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, 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, ℃), *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), *j* (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*max, *C*max, *V*d, *T*1/2 *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 kD改为*M*r 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*r (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+、一及-后列出, 在±前后均要列出, 如37.6 ℃±1.2 ℃, 45.6岁±24岁, 56.4 d±0.5 d. 3.56±0.27 pg/ml应为3.56 ng/L±0.27 ng/L. BP用kPa (mmHg), RBC数用1×10^{12}/L, WBC数用1×10^{9}/L, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L. *M*r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_2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、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸用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1×10^{-3} g与5×10^{-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_2应为50 mL/L CO_2; 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 = 45×10^{-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χ^2; (4)样本的相关系数用英文小写*r*; (5)自由度用希文小写υ; (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$^aP<0.05$或$^bP<0.01$($P>0.05$不注). 如同一表中另有一套*P*值, 则用$^cP<0.05$和$^dP<0.01$; 第三套为$^eP<0.05$和$^fP<0.01$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 ofMedical 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志谢中. 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^{a}P<0.05或^{b}P<0.01(*P*>0.05不注). 如同一表中另有一套*P*值, 则用^{c}P<0.05和^{d}P<0.01; 第3套为^{e}P<0.05和^{f}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*/min, *c*/(mol/L), *p*/kPa, *V*/mL, *t*/℃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[2-5]认为……; PCR方法敏感性高[6-7]. 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**
7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton,
CA 94566, USA
Telephone: +1-925-3991568
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
https://www.wjgnet.com

ISSN 1009-3079

© 2021 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

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

2021 年 5 月 8 日　　第 29 卷　　第 9 期　　(Volume 29 Number 9)



9/2021

《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.

ISSN 1009-3079
09>

世界华人消化杂志 https://www.wjgnet.com 二零二一年五月八日 第二十九卷 第九期

WCJD 世界华人消化杂志®

目　次

2021年5月8日 第29卷 第9期 (总第677期)

述评

449 中医药对肠道微生态的影响
朱佳源, 肖嫩群, 谭周进

基础研究

455 基于全基因组测序对双重耐药幽门螺杆菌外排泵基因变异的研究
叶淑芳, 张剑美, 代飞, 蓝陈菊, 章小君, 周丽珍, 汤清清, 孟飞

临床研究

461 影响原发性腹膜后肿瘤手术患者预后的危险因素分析
郭丽娜, 李云超, 孙占峰, 闫海洋, 李辉, 王月明
467 老年非酒精性脂肪性肝病的营养状况及能量代谢特点
刘芳, 叶青, 梁静, 曹影影, 史利利, 赵雪, 向慧玲
474 直肠癌动态增强磁共振成像定量灌注参数与血管内皮生长因子、微血管密度的相关性
陈抚标, 唐鸿, 张心荣

文献综述

479 中医药调节肠道微生态研究技术进展
李小雅, 谭周进

临床实践

488 结肠癌患者谷胱甘肽巯基转移酶P1(GSTP1)基因多态性与奥沙利铂敏感性和中医证型的相关性研究
查华英, 吴岩, 尚洛南, 孙方

病例报告

496 经内镜下分次黏膜切除术诊断结肠子宫内膜异位症1例并文献复习
王超, 郑末, 李甜甜, 王珏磊, 孙光斌

消　　息

460　《世界华人消化杂志》栏目设置
487　《腹痛的诊断、鉴别诊断与治疗》书讯
495　《世界华人消化杂志》参考文献要求
500　《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标

封面故事

张力为, 主任医师, 教授, 医学博士, 硕士/博士研究生导师, 新疆医科大学第一附属医院, 主持国家及省部级自然基金课题4项, 参与国家及自治区自然基金4项; 近5年发表中文核心50余篇、SCI 3篇、获得省部级科技一等奖、二等奖; 参编教材3部; 任新疆食管癌研究所所长, 新疆抗癌协会副理事长, 新疆医科大学一附院器官移植中心副主任. 还担任新疆医学会胸心外血管外科学专业委员会主任委员, 新疆抗癌协会食管癌专业委员会主任委员, 中华医学会胸心血管外科专业委员会第八、九届青年委员, 中华医学会气管纵隔学组委员会委员, 中华医学会胸腔镜学组委员会委员, 中国抗癌协会食管癌专业委员会委员, 中国医师协会胸外科专业委员会委员等协会职务.

本期责任人

编务 张砚梁; 送审编辑 张砚梁; 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 李香; 最终清样审核总编辑 马连生

世界華人消化杂志

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 2021-05-08
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
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
王金磊, 主任
《世界华人消化杂志》编辑部
Baishideng Publishing Group Inc
7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA
Telephone: +1-925-3991568
E-mail: wcjd@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com

出版
百世登出版集团有限公司
Baishideng Publishing Group Inc
7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA
Telephone: +1-925-3991568
E-mail: 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: +86-10-85381892

《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

© 2021 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

WCJD 世界华人消化杂志®

Contents

Volume 29 Number 9 May 8, 2021

EDITORIAL

449 Research progress on intestinal mucosal injury induced by traditional Chinese medicine
Zhu JY, Xiao NQ, Tan ZJ

BASIC RESEARCH

455 Investigation of mutation of multidrug resistant *Helicobacter pylori* efflux pump gene based on whole genome sequencing
Ye SF, Zhang JM, Dai F, Lan CJ, Zhang XJ, Zhou LZ, Tang QQ, Meng F

CLINICAL RESEARCH

461 Risk factors influencing prognosis of patients undergoing primary retroperitoneal tumor surgery
Guo LN, Li YC, Sun ZF, Yan HY, Li H, Wang YM

467 Nutritional status and energy metabolism in elderly patients with nonalcoholic fatty liver disease
Liu F, Ye Q, Liang J, Cao YY, Shi LL, Zhao X, Xiang HL

474 Correlation of dynamic contrast-enhanced magnetic resonance quantitative perfusion parameters with vascular endothelial growth factor and microvessel density in rectal cancer
Chen FB, Tang H, Zhang XR

REVIEW

479 Advances in research technology of regulation of intestinal microecology by traditional Chinese medicine
Li XY, Tan ZJ

CLINICAL PRACTICE

488 Association of glutathione thioltransferase P1 (*GSTP1*) gene polymorphism with sensitivity to oxaliplatin and traditional Chinese medicine syndrome types in colon cancer patients
Cha HY, Wu Y, Shang LN, Sun F

CASE REPORT

496 Colonic endometriosis diagnosed by endoscopic piecemeal mucosal resection: A case report and literature review
Wang C, Zheng M, Li TT, Wang JL, Sun GB

Contents

World Chinese Journal of Digestology
Volume 29 Number 9 May 8, 2021

COVER

Editorial Board Member of *World Chinese Journal of Digestology*, Li-Wei Zhang, Chief Physician, Professor, Doctor of Medicine, Master and Doctoral Supervisor, The First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, No. 137 Liyushan South Road, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. zhangliweixj@163.com

Indexed/Abstracted by

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

RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE

Assistant Editor: *Yan-Liang Zhang*
Review Editor: *Yan-Liang Zhang*
Production Editor: *Yan-Liang Zhang*
English Language Editor: *Tian-Qi Wang*
Proof Editor: *Xiang Li*
Layout Reviewer: *Lian-Sheng Ma*

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993
Renamed on January 25, 1998
Publication date May 8, 2021

NAME OF JOURNAL
World Chinese Journal of Digestology

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

EDITOR-IN-CHIEF

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
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
Jin-Lei Wang, Director
World Chinese Journal of Digestology
Baishideng Publishing Group Inc
7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA
Telephone: +1-925-3991568
E-mail: wcjd@wjgnet.com
https://www.wjgnet.com

PUBLISHER
Baishideng Publishing Group Inc
7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA
Telephone: +1-925-3991568
E-mail: 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

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

COPYRIGHT
© 2021 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.

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: https://www.baishideng.com

世界华人消化杂志 2021年5月8日; 29(9): 449-454

DOI: 10.11569/wcjd.v29.i9.449

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

述评 EDITORIAL

中药对肠道黏膜损伤的研究进展

朱佳源, 肖嫩群, 谭周进

朱佳源, 肖嫩群, 谭周进, 湖南中医药大学微生物教研室 湖南省长沙市 410208

朱佳源, 硕士研究生, 主要从事微生态学的研究.

基金项目: 湖南省自然科学基金, No. 2020JJ4468.

作者贡献分布: 本文综述由朱佳源完成; 谭周进和肖嫩群审校.

通讯作者: 谭周进, 教授, 410208, 湖南省长沙市岳麓区学士路300号, 湖南中医药大学微生物教研室. tanzhjin@sohu.com

收稿日期: 2021-01-26
修回日期: 2021-02-18
接受日期: 2021-04-02
在线出版日期: 2021-05-08

Research progress on intestinal mucosal injury induced by traditional Chinese medicine

Jia-Yuan Zhu, Nen-Qun Xiao, Zhou-Jin Tan

Jia-Yuan Zhu, Nen-Qun Xiao, Zhou-Jin Tan, School of Medicine, College of Pharmacy, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, Hunan Province, China

Supported by: Hunan Natural Science Foundation, No. 2020JJ4468.

Corresponding author: Zhou-Jin Tan, Professor, School of Medicine, Hunan University of Chinese Medicine, No.300 Xueshi Road, Yuelu District, Changsha 410208, Hunan Province, China. tanzhjin@sohu.com

Received: 2021-01-26
Revised: 2021-02-18
Accepted: 2021-04-02
Published online: 2021-05-08

Abstract

The intestinal mucosa is the largest mucosal surface of the human body and contains a large number of immune cells, which can resist the invasion of foreign antigens, toxins, pathogens, and bacteria while allowing the absorption of nutrients. Numerous studies have shown that intestinal mucosal injury is associated with many diseases. The active ingredients of traditional Chinese medicine are complex and diverse, and new active metabolites are generated after metabolic transformation by intestinal bacteria in the intestine, which in turn exert different biological effects. Many Chinese herbal ingredients can cause damage to the intestinal mucosa. This article discusses the intestinal mucosal injury caused by traditional Chinese medicine by affecting the mechanical barrier of the intestinal mucosa, intestinal mucosal immunity, and biological barrier, and the possible mechanism of intestinal mucosal injury by traditional Chinese medicine and how to reduce the toxic and side effects of traditional Chinese medicine on the intestinal mucosa, with an aim to provide a more scientific basis for the treatment of intestinal diseases by traditional Chinese medicine.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Traditional Chinese medicine; Intestinal mucosal mechanical barrier; Biological barrier; Immunity

Citation: Zhu JY, Xiao NQ, Tan ZJ. Research progress on intestinal mucosal injury induced by traditional Chinese medicine. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2021; 29(9): 449-454
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i9/449.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i9.449

摘要

肠黏膜是人体最大的黏膜表面, 含有大量的免疫细胞, 在可抵御外来抗原、毒素、病原体和细菌入侵的同时, 允许吸收营养物质. 大量研究表明, 肠黏膜损伤与许多疾病相关. 中药有效成分复杂多样, 在肠道内经肠道菌群代谢转化后生成新的活性代谢产物, 进而发挥不同的生物学效应. 许多中药成分可以引

起肠黏膜受损. 本文讨论了中药通过影响肠道黏膜机械屏障、肠黏膜免疫和生物屏障引起肠黏膜损伤, 并从中药损伤肠黏膜的可能机制以及如何降低中药对肠黏膜的毒副作用进行了思考, 以期为中药治疗肠道疾病提供更加科学的依据.

© **The Author(s) 2021.** Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 中药; 肠黏膜机械屏障; 生物屏障; 免疫

核心提要: 中药可通过影响肠道黏膜机械屏障、肠黏膜免疫和生物屏障引起肠黏膜损伤, 但可通过设计合理的配伍及用量或改变中药的处理的方式降低中药对肠黏膜损伤, 但其具体机制有待进一步研究.

文献来源: 朱佳源, 肖嫩群, 谭周进. 中医药对肠道微生态的影响. 世界华人消化杂志 2021; 29(9): 449-454
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i9/449.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i9.449

0 引言

肠黏膜的表面积约为400 m^2, 是一种高度动态结构, 同时是多个应激源的部位, 并形成了内部环境与外部环境之间的一道屏障, 一方面, 完整的肠黏膜可保护人体免受微生物和毒素的侵袭, 防止水和电解质损失, 另一方面, 允许机体与外部环境进行分子交换, 选择性渗透性, 能够吸收营养物质、电解质和水(图1)[1]. 肠黏膜由黏膜上皮细胞(epithelial cell, IEC)、细胞间紧密连接和菌膜三者构成, 其中IEC与粘液层一起形成主要的物理和生化屏障, 此外, 肠黏膜还聚集了大量的免疫细胞, 包括T细胞, B细胞, 巨噬细胞和树突状细胞与带有共生肠道菌群的外粘液层、抗菌蛋白(antimicrobial peptides, AMP)和分泌性免疫球蛋白(secretory Immunoglobulin A, sIgA)分子共同形成了强大的黏膜免疫屏障[2,3]. 微生物群、肠上皮屏障和局部免疫系统之间的复杂相互作用帮助机体维持体内平衡并促进肠道的健康发展[1,4]. 而当机体肠黏膜结构和功能受损, 引起抗原和细菌发生渗漏, 全身炎症并激活免疫细胞触发免疫反应, 导致人体患自身免疫性疾病的风险增加, 此外许多肠道疾病与胃肠道发生渗漏有关, 例如炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)[5]. 肠道黏膜受损, 肠道免疫功能也受到不同程度的抑制, 主要表现为肠道sIgA产生含量减少, 肠道抗定植力下降, 促进肠内细菌和内毒素移位等[6].

近年来, 应用西药治疗肠道疾病虽然起效快, 但复发率高, 而中药在很大程度上克服了这一点, 主要通过调节肠道菌群和胃肠代谢水平, 维持肠黏膜完整性和恢复肠道屏障功能[2]. 但服用过量的缓泻剂和苦寒类中药可以通过影响肠道菌群结构及其物质和能量代谢, 引起肠道微生态失衡, 或破坏肠黏膜机械和免疫屏障, 加重肠黏膜损伤[7]. 本文讨论了中药对肠黏膜损伤的主要方式, 包括中药对肠黏膜机械、生物、免疫屏障的损伤, 并对中药损伤肠黏膜的机制以及如何降低中药的毒副作用进行了思考, 以期为中药治疗肠道疾病提供更加科学的依据.

1 中药对黏膜损伤的方式

中医药可通过健脾、运脾、补脾、疏肝治疗肠道疾病, 此外中药可以通过改善肠道菌群失调、调节肠黏膜免疫、维持肠黏膜组织的完整性、降低肠黏膜通透性、促进肠蠕动和增加肠黏膜的血流量来实现对肠黏膜的保护[2,8,9]. 然而近年来有研究表明, 中药亦可通过影响肠道菌群或破坏肠黏膜机械和免疫屏障来损伤肠黏膜, 其可能机制如下(图2).

1.1 中药对肠黏膜机械屏障的损伤 肠黏膜屏障以机械屏障最为重要, 主要由共生肠道菌群的外黏液层、单层的柱状上皮细胞(IECs)及其紧密连接、固有层组成.黏液层覆盖在肠上皮细胞, 是外部分子到达肠腔的第一道物理防线, 主要组成部分是高度糖基化的粘蛋白, 与肠道杯状细胞形成疏水的弹性凝胶层, 保护上皮绒毛免受物理性摩擦、化学消化和细菌粘附[3]. IECs是肠屏障的决定因素, 与黏液层一起形成主要的物理和生化屏障, 肠上皮细胞之间的增殖与凋亡平衡是维持黏膜上皮稳定的关键, 凋亡过度可能会抑制黏膜上皮细胞的再生与修复, 凋亡不足可能导致黏膜上皮细胞的增生或肥厚, 引起肠道黏膜屏障受损[2]. 单层IECs之间通过紧密连接的复合物: 紧密连接(tight junction, TJ)、粘附连接(adherens junctions, AJ)和桥粒进一步将肠上皮细胞紧密连接起来, 帮助维持肠黏膜屏障的完整性[3]. 此外, 由毛细血管网、毛细淋巴管、神经、分散平滑肌、免疫细胞等组成固有层对各种分子的的筛选起到限制作用[3]. 引起肠黏膜机械屏障受损的原因很多, 例如肠黏膜缺血及再灌注损伤、炎症介质、细菌易位及内毒素合成增加等皆可引起肠黏膜机械屏障受损[10]. 许多中药对肠黏膜机械屏障损伤的治疗有着很好的疗效, 可通过降低TNF-α、IL-6等炎症因子水平来缓解肠道炎症、减轻肠道上皮细胞的损伤, 亦可增强紧密连接作用、减少内毒素吸收, 从而促进肠黏膜机械屏障修复[2,11]. 而当过量服用一些缓泻剂或使用一些存在配伍禁忌的复方时, 可能引起一些肠道内毒素合成增加, 或直接引起肠道炎症而损伤肠黏膜, 从而破坏肠黏膜机械屏障.

据《本草纲目》记载: “续随子与大戟、泽漆、甘

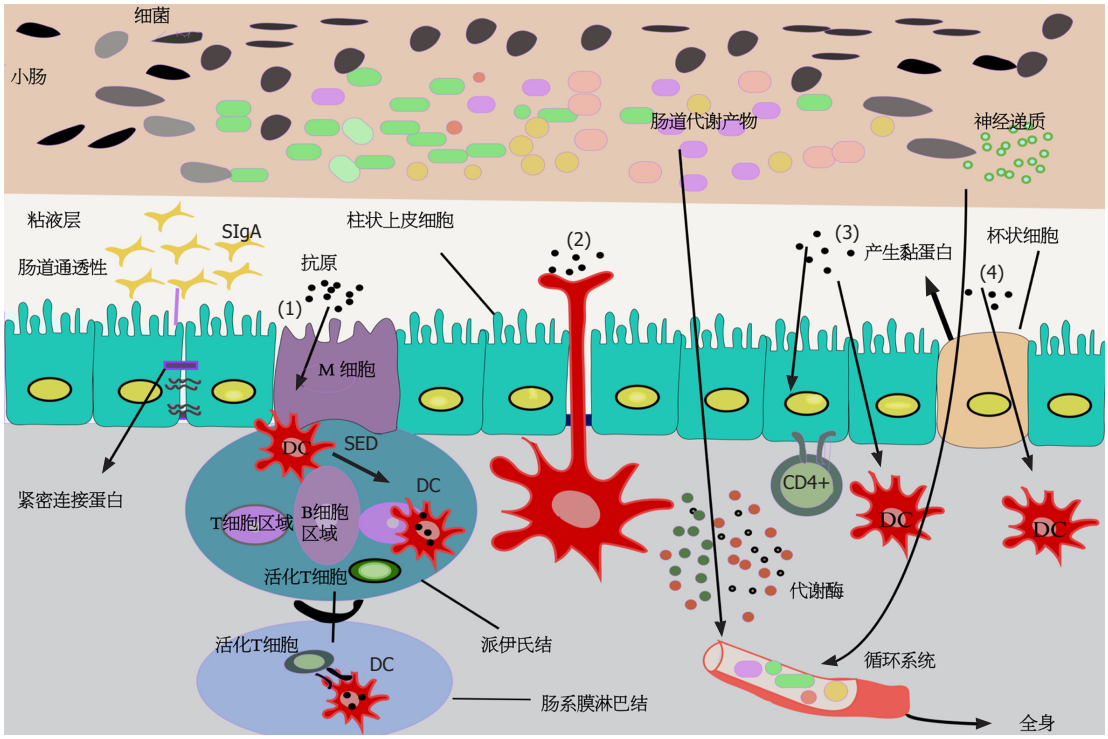


图 1　肠黏膜与免疫、营养吸收功能关系. SIgA: 分泌性免疫球蛋白. DC: 树突状细胞; CD4+: T细胞; SED: 上皮下圆顶.

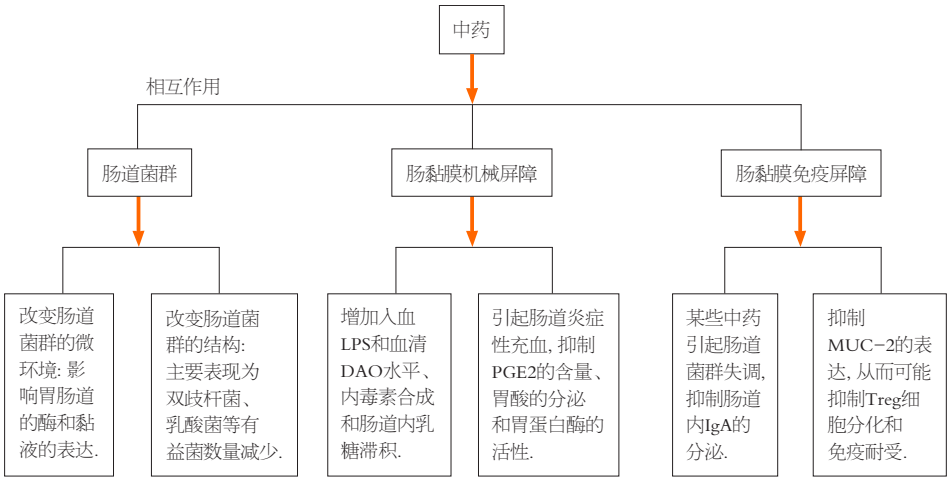


图 2　中药引起肠黏膜损伤的机制. LPS: 脂多糖; DAO: 血清二胺氧化酶; PGE2: 前列腺素E2; MUC-2: 黏蛋白2; Treg: 调节性T细胞.

遂茎叶相似, 主疗亦类同, 其功皆长于利水, 惟在用之得法, 亦皆要药也." 说明自古以来千金子就与京大戟、甘遂、甘草等同列为利水要药. 有研究表明[12]脂多糖(LPS)可诱导肠道炎症的发生, 可引起肠道黏膜水肿, 肠通透性增加, 肠黏膜损伤, 从而破坏肠黏膜机械屏障. 陶伟伟等人[13]用甘草水提物、千金子醇提物水混悬液作为供试药品, 对小鼠分别进行灌胃处理, 发现甘草可通过轻度增加入血LPS含量, 轻微损伤肠黏膜, 千金子能明显升高血清二胺氧化酶(serum diamine oxidase, DAO)和入血LPS水平, 导致肠黏膜受损. 且经研究证实, 源自于大戟科大戟属植物的大戟、甘遂、千金子等均含有化学结构相似的二萜类化学成分, 具有相似的药性与功效取向, 当与甘草合用时可能存在共性的禁忌规律, 千金子与甘草合用升高LPS与DAO水平的同时, 肠道黏液降解功能增强, 加重肠黏膜损伤[13]. 番泻叶作为一种含蒽醌类衍生物的缓泻剂, 可以直接刺激肠壁, 增加肠道的水分, 引起腹泻, 而服用过量的番泻叶, 可致肠道炎症性充血, 损伤肠道黏膜, 同时降低肠道乳糖酶活性, 引起肠道内乳糖的滞积, 加重腹泻而引起肠道发生弥漫性损伤[14]. 有研究表明[15]生半夏对胃肠黏膜具有明显的刺激

毒性, 可显著促进大鼠胃肠的运动并降低胃液中前列腺素E2(prostaglandin E2, PGE2)的含量、胃酸的分泌和胃蛋白酶的活性, 从而导致胃肠黏膜的损伤.

1.2 中药对肠黏膜生物屏障的损伤 肠黏膜的生物屏障主要由正常的肠道菌群构成, 健康成人肠道菌群以拟杆菌门 和厚壁壁菌门为主, 但也包括较少的放线菌门、变形杆菌门、梭菌门和疣微菌门, 这些菌群维持相对平衡, 帮助机体抵御外来病原体的感染和促进人体免疫器官的发育成熟, 亦可作为广谱抗原激活肠道免疫系统[11]. 此外还有促进药物代谢、激素分泌、维生素合成及血管重塑等功能[16-18]. 而当机体肠道菌群失调时, 可促进儿茶酚胺的释放或直接刺激大量致病菌的生长, 从而引起肠黏膜损伤, 加重炎性肠病的发生与发展.

绝大多数中药给药途径以口服为主, 中药中很多有效成分必须经过肠道菌群产生的特定代谢酶代谢转化后生成新的活性代谢产物才能被吸收而发挥药理作用, 进而对机体产生不同的生物学效应, 参与肠肝循环的药物可能再次被肠道菌群代谢转化[19,20]. 因此, 肠道菌群在中药的代谢转化过程中具有非常重要的作用. 肠道菌群代谢某些中药成分能够改变肠道菌群的结构和代谢, 例如高剂量黄芩苷(苦寒类中药黄芩的提取物)长期使用可使小鼠肠道菌群失调, 出现类似于林可霉素的破坏作用[21]. 长期服用高剂量黄连解毒汤(组方为黄连、黄芩、黄柏和栀子)时, 小鼠肠道益生菌(双歧杆菌和乳酸杆菌)数量减少, 机体定植抗性下降, 引起肠道微生态失衡[22]. 进一步研究发现[23], 给予高剂量黄连解毒组方颗粒剂一段时间后, 小鼠肠道菌群也明显失衡. 研究发现甘草中的甘草酸苷衍生物可改变胃肠道的酶和黏液表达, 并可能改变肠道菌群的微环境, 甘遂中的二萜具有细胞毒性和肝毒性, 可刺激胃肠道, 引起黏膜细胞和细菌细胞的代谢发生改变[24,25]. 余金高等人[25]对正常小鼠分别用甘草提取物、甘遂提取物和甘草-甘遂联合提取物处理7 d, 发现甘草-甘遂联合使用影响肠道菌群多样性及脂质、H2S代谢, 引起肠道微生态失衡. 因此可通过肠道菌群了解某些含有草药组合中药方剂的缺点.

1.3 中药对肠黏膜免疫屏障和免疫系统的损伤 肠黏膜免疫屏障主要由肠道相关淋巴组织(gut associated lymphoid tissue, GALT)和弥散免疫细胞(主要指固有层淋巴细胞和上皮内淋巴细胞)构成及其分泌的免疫介质: 抗菌肽(antimicrobial peptides, AMP)、lgA等构成[11]. 其中上皮内淋巴细胞(intraepithelial lymphocytes, IEL)与上皮细胞形成了抵抗入侵病原体的免疫防线, IEL受刺激后迅速增殖, 并能通过释放IL-2、IFN-γ、TNF-α等多种细胞因子, 有效抵御肠道病原体入侵, 还有抗黏膜过敏反应、抑制免疫应答、消除损伤上皮细胞和促进SIgA发育等功能[26,27]. 黏蛋白(MUC)是肠上皮杯状细胞产生的黏液中的重要大分子, MUC-2对杯状细胞和CD103+树突状细胞之间的协同作用可导致Treg细胞分化和免疫耐受[28]. 固有层淋巴细胞主要产生聚合IgA能防止病原体穿过肠黏膜, 抑制病原体的扩散以及在能侵袭的情况下破坏病原体[29,30]. GALT是黏膜免疫系统的传入诱导和活化部分, 诱导部位包括派尔集合淋巴结(peyer's patch, PP)和肠系膜淋巴结(mesenteric lymph nodes, MLNs), 能够区分有害和无害抗原[31]. GALT的免疫细胞由T、B细胞和树突状细胞(DCs)组成, 其独特的结构内还包括微皱襞细胞、潘氏细胞等[32]. PPs可以收集胃肠道上皮表面的抗原, MLN主要功能是过滤来自肠道的淋巴液, 并对游离的抗原和由固有层巨噬细胞迁移到MLNs的抗原作出免疫应答[30,33].

大多数中药可以增强肠黏膜免疫屏障, 可激活巨噬细胞、T淋巴细胞、B淋巴细胞和血液补体蛋白来实现其免疫调节作用, 可通过促进上皮细胞修护及杯状细胞分泌黏液, 促进固有层浆细胞分泌IgA的合成来改善肠免疫屏障功能[2,11].有关中药损伤肠黏膜免疫屏障的相关研究很少, 但一些治疗便秘的中药可以引起肠道菌群失调, 菌群失调可以导致肠道内IgA的分泌减少, 进而诱发肠道炎症, 从而影响肠道黏膜免疫屏障功能[25,34]. 且有研究表明[17]肠道菌群紊乱可使肠黏膜免疫系统发育受损, 肠道内环境生态失调, 进而引起免疫介导的相关疾病发生. 这提示我们肠道菌群可能有助于维护肠道黏膜免疫. 元华是一类具有肠毒性的中药, 服用普通剂量相对安全, 但与甘草合用其毒性显著增加, 能明显抑制MUC-2的表达, 从而可能抑制Treg细胞分化和免疫耐受[35]. 肠黏膜免疫系统十分复杂, 目前对于其结构和功能都有了较深入的了解, 关于中药通过肠道黏膜免疫系统发挥治疗作用的设想和研究的报道日益增多, 传统中药汤剂中水溶性成分相对较多与中药活性成分大多为极性较小的脂溶性成分形成明显反差[28]. 因此, 肠道黏膜免疫系统很可能在中药发挥作用的过程中扮演着重要角色, 值得我们深入探讨.

2 中药对肠黏膜损伤的思考

多年来中医药的安全性和有效性受到质疑, 仍是中医药发展的主要障碍. 如今, 随着中药方剂的现代化, 科学家和医生越来越意识到草药组合可能诱发副作用或毒性的风险. 源自《神农本草经》的“十八反”、“十九畏”是中药禁忌配伍的重要依据, 然而许多汤剂中仍然存在一些存在配伍禁忌的组合, 常见的有甘遂半夏汤, 海枣玉虎汤, 肝枣汤等[35]. “甘遂-半夏”汤是一种含有甘草-甘遂组合的汤剂, 在中医汤剂发展已有数千年的

历史, 如今仍被广泛用于临床治疗各种腹水. 研究发现当甘草和甘遂一起提取时, 可加速甘遂中二萜的溶解, 并可能增加这种草药的毒性, 然而当二者分开提取后再联合使用仍能引起肠道菌群失调, 这表明二者副作用或毒性可由联合用药本身直接诱导的[36]. 海枣玉虎汤配方中存在海藻和甘草被认为是不利组合, 然而其在治疗甲状腺相关疾病功效显著[37]. 传统汤剂的联合是复杂的, 且现在的许多汤剂没有考虑疾病的本身去进行剂量上的合理设计, 而是严格按照国家药典计量比设定, 药物的毒副作用也因人而异, 相关临床研究又十分的少[25]. 因此, 需要结合大量临床实践和动物实验来正确评估含有甘草和甘遂或存在其他配伍禁忌的中药汤剂的利弊, 探讨联合用药是否以及如何引起毒性作用.

如何降低中药对肠黏膜损伤的毒副作用以及了解相关机制, 也值得我们深入研究, 尽管不相容草药对的数量以及中药对肠黏膜损伤的相关研究有限, 但这些草药对的不相容机制、不相容的发生条件以及如何引起肠黏膜损伤的原因非常复杂, 几乎涉及体内药物处置过程的每个阶段[35]. 例如甘遂-半夏汤虽然含有甘草-甘遂这两种存在配伍禁忌的草药, 但是该汤剂中的芍药可以促进甘草的吸收, 甚至减弱甘遂对甘草的抑制作用, 此外还通过磷脂代谢、脂肪酸代谢、苯丙氨酸代谢、色氨酸代谢等多种代谢途径减弱其配伍毒性[38,39]. 甘遂还可以通过用醋炒的方式降低中药毒性, 其可能机制是由于其增加了肠道有益菌的比例, 潜在致病菌的数量下降, 从而起到降低其胃肠道毒性的作用[40]. 大黄是常用的蒽醌类泻药, 治疗慢性肾脏病也极为普遍, 经发现其过量有胃肠道毒性, 而经炮制后所得熟大黄、酒大黄、醋大黄, 大大减轻其苦寒之性及泻下的副作用, 与土茯苓配伍或经醋炒皆可减轻胃肠道反应[41]. 不同提取组分的半夏其毒性存在差异, 半夏醇提组分的毒性大于全组分和水提组分, 说明半夏的毒性成分主要存在于醇溶部位, 水溶部位仅存在少量毒性成分, 但是其产生毒性的具体成分是否仅为半夏草酸钙针晶和凝集素蛋白及毒性机制仍需进一步深入的研究证实[15]. 黄连解毒汤在低剂量应用时不会引起肠道菌群失调, 甚至减少条件致病菌(肠球菌、大肠埃希菌)的数量, 提示我们黄连解毒汤或许在更低剂量应用时可以作为肠道菌群调节剂[22]. 因此, 我们可通过设计合理的配伍及用量或改变中药的处理的方式来降低中药对肠黏膜损伤.

3 结论

肠黏膜是一个复杂多样的动态结构, 涉及多个组分之间的相互作用, 共同形成完整的肠黏膜屏障, 允许吸收营养物质的同时并能够起到保护人体免受微生物和毒素的侵袭, 防止水和电解质损失的作用. 一旦这种屏障遭到破坏, 可能会引发一系列肠道和全身疾病. 近年来, 应用中医药修复肠黏膜损伤越来越受到关注, 许多中药成分能促进益生菌的繁殖而抑制有害菌的生长而恢复肠道菌群失调, 增强黏膜免疫和缓解肠道炎症而促进黏膜损伤修护[2,19]. 然而, 近年来有不少研究发现, 服用一些存在配伍禁忌的中药或过量使用一些缓泻剂、苦寒类的中药可以通过影响肠道菌群的结构和代谢、肠黏膜机械和肠黏膜免疫引起肠黏膜受损. 虽然这些损伤大多是可避免的, 但是为什么一些存在配伍禁忌的复方仍然广泛应用, 这是值得我们深入探讨的, 以及寻找降低这些中药对肠道的毒副作用的方法并深入了解相关机制, 能帮助我们更好的促进中医药事业的发展与传承.

4 参考文献

1 Bischoff SC, Barbara G, Buurman W, Ockhuizen T, Schulzke JD, Serino M, Tilg H, Watson A, Wells JM. Intestinal permeability--a new target for disease prevention and therapy. *BMC Gastroenterol* 2014; 14: 189 [PMID: 25407511 DOI: 10.1186/s12876-014-0189-7]

2 龙承星, 郭艳芳, 刘娅薇, 彭昕欣, 谭周进. 中药对肠道黏膜免疫保护的影响及其意义. 世界华人消化杂志 2017; 25: 3115-3122 [DOI: 10.11569/wcjd.v25.i35.3115]

3 Vancamelbeke M, Vermeire S. The intestinal barrier: a fundamental role in health and disease. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2017; 11: 821-834 [PMID: 28650209 DOI: 10.1080/17474124.2017.1343143]

4 Haq S, Grondin J, Banskota S, Khan WI. Autophagy: roles in intestinal mucosal homeostasis and inflammation. *J Biomed Sci* 2019; 26: 19 [PMID: 30764829 DOI: 10.1186/s12929-019-0512-2]

5 Fasano A, Shea-Donohue T. Mechanisms of disease: the role of intestinal barrier function in the pathogenesis of gastrointestinal autoimmune diseases. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 2005; 2: 416-422 [PMID: 16265432 DOI: 10.1038/ncpgasthep0259]

6 石刚. 肠道粘膜屏障的损伤与保护. 肠外与肠内营养 2004; 1: 61-63

7 赓迪, 方明月, 李德利, 郑时奇, 乔姗姗, 王如峰, 杜力军. 中药与肠道微环境相互作用研究进展.中国科学: 生命科学 2018; 48: 379-389 [DOI: 10.1360/n052017-00213]

8 欧燕. 中医治疗肠易激综合征的研究进展. 黑龙江中医药 2016; 5: 69-70

9 袁榴翼, 李小锦, 尹清晟, 许梦习, 韩娟, 张艳军, 庄朋伟. 中药干预肠道菌群改善肠黏膜屏障功能的研究进展. 中草药 2018; 49: 1932-1938 [DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.08.030]

10 孔静, 王猛, 张玉华, 杨莹莹, 刘路路, 张云杰. 肠黏膜机械屏障的中西医结合研究进展. 中国中西医结合外科杂志 2020; 26: 1001-1004

11 刘雷蕾. 中药治疗肠黏膜屏障损伤研究进展. 中国中医药科技 2019; 53: 1689-1699

12 Zhang L, Wei X, Zhang R, Si D, Petitte JN, Ahmad B, Zhang M. A Novel Peptide Ameliorates LPS-Induced Intestinal Inflammation and Mucosal Barrier Damage via Its Antioxidant and Antiendotoxin Effects. *Int J Mol Sci* 2019; 20 [PMID: 31443263 DOI: 10.3390/ijms20163974]

13 陶伟伟, 于金高, 陈艳琰, 肖东, 郭建明, 刘培, 段金廒. 基于千金子与甘草对肠道菌群/屏障系统的影响探讨其配伍禁忌机制. 中国中药杂志 2018; 43: 369-376 [DOI: 10.19540/j.cnki.cjcmm.20171027.021]

14 徐琦, 刘又嘉, 邓艳玲, 肖新云, 谭周进, 舒兰. 番泻叶对腹泻小鼠肠道乳糖酶活性的影响. 湖南中医杂志 2016; 32: 189-191 [DOI: 10.16808/j.cnki.issn1003-7705.2016.08.089]

15 黄凤英, 高健美, 龚其海. 半夏药理作用及其毒性研究进展. 天然产物研究与开发 2020; 32: 1773-1781 [DOI: 10.16333/j.1001-6880.2020.10.020]
16 Jourova L, Anzenbacher P, Anzenbacherova E. Human gut microbiota plays a role in the metabolism of drugs. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub* 2016; 160: 317-326 [PMID: 27485182 DOI: 10.5507/bp.2016.039]
17 李亚齐, 李明美, 周艳. 肠道菌群对肠粘膜免疫系统影响的研究进展. 生命的化学 2017; 37: 895-900 [DOI: 10.13488/j.smhx.20170603]
18 Reinhardt C, Bergentall M, Greiner TU, Schaffner F, Ostergren-Lundén G, Petersen LC, Ruf W, Bäckhed F. Tissue factor and PAR1 promote microbiota-induced intestinal vascular remodelling. *Nature* 2012; 483: 627-631 [PMID: 22407318 DOI: 10.1038/nature10893]
19 Sousa T, Paterson R, Moore V, Carlsson A, Abrahamsson B, Basit AW. The gastrointestinal microbiota as a site for the biotransformation of drugs. *Int J Pharm* 2008; 363: 1-25 [PMID: 18682282 DOI: 10.1016/j.ijpharm.2008.07.009]
20 祖先鹏, 林璋, 谢海胜, 杨鸟, 刘心如, 张卫东. 中药有效成分与肠道菌群相互作用的研究进展. 中国中药杂志 2016; 41: 1766-1772 [DOI: 10.4268/cjcmm20161002]
21 宋姗姗. 黄芩苷对小鼠肠道菌群的影响. 广州中医药大学 2010
22 罗海华, 董姝, 张晟, 李达, 时权, 周红, 邝枣园. 黄连解毒汤对小鼠肠道菌群的影响. 热带医学杂志 2009; 9: 369-371
23 毛江洪, 谭俊青, 潘慧娟, 钟力, 李前宁, 钮心怡. 黄连解毒组方颗粒剂对小鼠肠道菌群的影响. 江西中医学院学报 2012; 24: 69-73
24 Wang X, Zhang H, Chen L, Shan L, Fan G, Gao X. Liquorice, a unique "guide drug" of traditional Chinese medicine: a review of its role in drug interactions. *J Ethnopharmacol* 2013; 150: 781-790 [PMID: 24201019 DOI: 10.1016/j.jep.2013.09.055]
25 Yu J, Guo J, Tao W, Liu P, Shang E, Zhu Z, Fan X, Shen J, Hua Y, Zhu KY, Tang Y, Duan JA. Gancao-Gansui combination impacts gut microbiota diversity and related metabolic functions. *J Ethnopharmacol* 2018; 214: 71-82 [PMID: 29198875 DOI: 10.1016/j.jep.2017.11.031]
26 Cepek KL, Shaw SK, Parker CM, Russell GJ, Morrow JS, Rimm DL, Brenner MB. Adhesion between epithelial cells and T lymphocytes mediated by E-cadherin and the alpha E beta 7 integrin. *Nature* 1994; 372: 190-193 [PMID: 7969453 DOI: 10.1038/372190a0]
27 刘端勇, 赵海梅, 周枫, 黄小英, 吕爱平, 罗晓建. 黄芪多糖调节小鼠小肠黏膜淋巴细胞因子的表达. 中国中医基础医学杂志 2008; 14: 692-693 [DOI: 10.3969/j.issn.1006-3250.2008.09.022]
28 周联, 黄绍伟, 罗霞. 肠道黏膜免疫进展为中药免疫研究提供的机遇. 中国免疫学杂志 2019: 2945–2952 [DOI: 10.3969 / j.issn.1000-484X]
29 Acheson DW, Luccioli S. Microbial-gut interactions in health and disease. Mucosal immune responses. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2004; 18: 387-404 [PMID: 15123077 DOI: 10.1016/j.bpg.2003.11.002]
30 Ahluwalia B, Magnusson MK, Öhman L. Mucosal immune system of the gastrointestinal tract: maintaining balance between the good and the bad. *Scand J Gastroenterol* 2017; 52: 1185-1193 [PMID: 28697651 DOI: 10.1080/00365521.2017.1349173]
31 Mason KL, Huffnagle GB, Noverr MC, Kao JY. Overview of gut immunology. *Adv Exp Med Biol* 2008; 635: 1-14 [PMID: 18841699 DOI: 10.1007/978-0-387-09550-9_1]
32 Wershil BK, Furuta GT. 4. Gastrointestinal mucosal immunity. *J Allergy Clin Immunol* 2008; 121: S380-3; quiz S415 [PMID: 18241686 DOI: 10.1016/j.jaci.2007.10.023]
33 Tlaskalová-Hogenová H, Stepánková R, Hudcovic T, Tucková L, Cukrowska B, Lodinová-Zádníková R, Kozáková H, Rossmann P, Bártová J, Sokol D, Funda DP, Borovská D, Reháková Z, Sinkora J, Hofman J, Drastich P, Kokesová A. Commensal bacteria (normal microflora), mucosal immunity and chronic inflammatory and autoimmune diseases. *Immunol Lett* 2004; 93: 97-108 [PMID: 15158604 DOI: 10.1016/j.imlet.2004.02.005]
34 Moon C, Baldridge MT, Wallace MA, D CA, Burnham, Virgin HW, Stappenbeck TS. Vertically transmitted faecal IgA levels determine extra-chromosomal phenotypic variation. *Nature* 2015; 521: 90-93 [PMID: 25686606 DOI: 10.1038/nature14139]
35 Yu J, Zhang D, Liang Y, Zhang Z, Guo J, Chen Y, Yan Y, Liu H, Lei L, Wang Z, Tang Z, Tang Y, Duan JA. Licorice-Yuanhua Herbal Pair Induces Ileum Injuries Through Weakening Epithelial and Mucous Barrier Functions: Saponins, Flavonoids, and Di-Terpenes All Involved. *Front Pharmacol* 2020; 11: 869 [PMID: 32765254 DOI: 10.3389/fphar.2020.00869]
36 Shen J, Kai J, Tang Y, Zhang L, Su S, Duan JA. The Chemical and Biological Properties of Euphorbia kansui. *Am J Chin Med* 2016; 44: 253-273 [PMID: 27080940 DOI: 10.1142/S0192415X16500154]
37 Ma Y, Zhang Y, Zhai Y, Zhu Z, Pan Y, Qian D, Su S, Fan X, Duan J. Development of a UPLC-TQ/MS Approach for the Determination of Eleven Bioactive Components in Haizao Yuhu Decoction Plus-Minus Haizao and Gancao Drug Combination after Oral Administration in a Rat Model of Hypothyroidism. *Molecules* 2016; 22 [PMID: 28025523 DOI: 10.3390/molecules22010007]
38 Cui Y, Liu T, Zhang Y, Wang R, Liu X, Zhang Q, Yu P, Zhao Y, Yu Z. Simultaneous determination of five bioactive components of Gancao in rat plasma by UHPLC-MS/MS and its application to comparative pharmacokinetic study of incompatible herb pair Gansui-Gancao and Gansuibanxia Decoction. *J Pharm Biomed Anal* 2018; 159: 318-325 [PMID: 30015102 DOI: 10.1016/j.jpba.2018.07.014]
39 Cui Y, Wang R, Zhang Y, Liu T, Han F, Li R, Zhang N, Zhao Y, Yu Z. Investigation of the mechanism of incompatible herb pair gansui-gancao-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity and the attenuated effect of gansuibanxia decoction by UHPLC-FT-ICR-MS-based plasma metabonomic analysis. *J Pharm Biomed Anal* 2019; 173: 176-182 [PMID: 31146173 DOI: 10.1016/j.jpba.2019.05.034]
40 Jiang D, Kang A, Yao W, Lou J, Zhang Q, Bao B, Cao Y, Yu S, Guo S, Zhang Y, Tang Y, Zhang L. Euphorbia kansui fry-baked with vinegar modulates gut microbiota and reduces intestinal toxicity in rats. *J Ethnopharmacol* 2018; 226: 26-35 [PMID: 30059729 DOI: 10.1016/j.jep.2018.07.029]
41 魏连波, 刘玲玉. 大黄的毒副作用及在肾病中的合理应用. 中华肾病研究电子杂志 2018; 7: 13–16

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: https://www.baishideng.com

世界华人消化杂志 2021年5月8日; 29(9): 455-460

DOI: 10.11569/wcjd.v29.i9.455

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

基础研究 BASIC RESEARCH

基于全基因组测序对双重耐药幽门螺杆菌外排泵基因变异的研究

叶淑芳, 张剑美, 代 飞, 蓝陈菊, 章小君, 周丽珍, 汤清清, 孟 飞

叶淑芳, 张剑美, 代飞, 蓝陈菊, 章小君, 周丽珍, 丽水市人民医院消化内科, 浙江省丽水市 323000

汤清清, 孟飞, 杭州致远医学检验所有限公司, 浙江省杭州市 310000

叶淑芳, 主任医师, 研究方向为消化系统疾病.

基金项目: 浙江省科学技术厅2020年省公益技术研究项目, No. LGF20H030005; 丽水市消化内镜临床医学研究科技创新团队, No. 2018cxtd05.

作者贡献分布: 此课题由叶淑芳设计; 研究过程由叶淑芳、张剑美、代飞、蓝陈菊、章小君、周丽珍、汤清清操作完成; 数据分析由叶淑芳、孟飞完成; 本论文写作由叶淑芳完成.

通讯作者: 叶淑芳, 主任医师, 323000, 浙江省丽水市莲都区大众街15号, 丽水市人民医院消化内科. 13735951698@163.com

收稿日期: 2021-01-29
修回日期: 2021-03-16
接受日期: 2021-03-28
在线出版日期: 2021-05-08

Investigation of mutation of multidrug resistant *Helicobacter pylori* efflux pump gene based on whole genome sequencing

Shu-Fang Ye, Jian-Mei Zhang, Fei Dai, Chen-Ju Lan, Xiao-Jun Zhang, Li-Zhen Zhou, Qing-Qing Tang, Fei Meng

Shu-Fang Ye, Jian-Mei Zhang, Fei Dai, Chen-Ju Lan, Xiao-Jun Zhang, Li-Zhen Zhou, Department of Gastroenterology, Lishui City People's Hospital, Lishui 323000, Zhejiang Province, China

Qing-Qing Tang, Fei Meng, Zhiyuan Inspection Medical Institute, Hangzhou 310000, Zhejiang Province, China

Supported by: Zhejiang Provincial Science and Technology Department 2020 Provincial Public Welfare Technology Research Project, No. LGF20H030005; Lishui City Digestive Endoscopy Clinical Medicine Research Technology Innovation Team, No. 2018cxtd05.

Corresponding author: Shu-Fang Ye, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Lishui City People's Hospital, No.15 Dazhong Street, Liandu District, Lishui 323000, Zhejiang Province, China. 13735951698@163.com

Received: 2021-01-29
Revised: 2021-03-16
Accepted: 2021-03-28
Published online: 2021-05-08

Abstract

BACKGROUND

More than 50% of the world's population are infected with *Helicobacter pylori* (*H. pylori*). With the widespread use of antibiotics, antibiotic resistance has become the main reason for the failure of *H. pylori* eradication. At present, many studies have reported that the overexpression of efflux pump genes is related to the development of drug resistance.

AIM

To explore the internal connection between the mutation of efflux pump gene and the resistance of double drug resistant strains.

METHODS

^{13}C-breath test and drug susceptibility test were used to screen double drug resistant strains and sensitive strains, and conventional methods of specific PCR were used to verify the mutation sites of drug resistance related genes. Based on the MiSeq platform, the whole genome sequence of ten clinical strains was performed. The single nucleotide variants (SNV) of the efflux pump gene of the double drug resistant phenotype and the sensitive phenotype were then identified and analyzed. The reference strain was ATCC26695.

RESULTS

The results of the *H. pylori* susceptibility test showed that *H. pylori* in Lishui area had a high resistance rate to clarithromycin and levofloxacin. Specific PCR detected *23S rRNA* gene and *gyrA* point mutations in five clinically double drug resistant strains, but not in the five clinically sensitive strains. Whole genome sequencing detected the genetic variation of four gene clusters (*HP0605-HP0607*, *HP0971-HP0969*, *HP1327-HP1329*, and *HP1489-HP1487*) involved in multi-drug resistance TolC homologs. A mutant SNV was found in double drug resistant *H. pylori* strains.

CONCLUSION

The use of antibiotics in Lishui area should be strictly monitored to avoid abuse. The gene cluster of TolC homologous genes is related to the antibiotic resistance of *H. pylori* strains. Whole genome sequencing can help provide a new understanding of the relationship between genotype and phenotype.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Multi-drug resistant strains; *Helicobacter pylori*; Whole genome sequencing; Drug resistance; Efflux pump genes

Citation: Ye SF, Zhang JM, Dai F, Lan CJ, Zhang XJ, Zhou LZ, Tang QQ, Meng F. Investigation of mutation of multidrug resistant *Helicobacter pylori* efflux pump gene based on whole genome sequencing. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2021; 29(9): 455-460
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i9/455.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i9.455

摘要

背景

世界上50%以上的人口感染幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*). 随着抗生素的广泛使用, 抗生素耐药成为*H. pylori*感染患者根除失败的主要原因. 目前有不少研究报道外排泵基因过表达和耐药的产生相关.

目的

为了未来的*H. pylori*感染治疗有更多方法, 探索外排泵基因的变异与双重耐药菌株耐药性产生的内在联系.

方法

使用^{13}C呼气试验及药物敏感试验进行双重耐药菌株及敏感菌株的筛选, 用特异性PCR的常规方法进行耐药基因突变位点的验证, 基于MiSeq平台, 对10例临床菌株进行全基因组测序, 以鉴定双重耐药表型与敏感表型的外排泵基因的单核苷酸变体(single nucleotide variants, SNV)并分析, 参考菌株使用ATCC26695.

结果

*H. pylori*药敏试验结果显示, 丽水地区*H. pylori*对克拉霉素及左氧氟沙星都具有较高的耐药率. 采用特异性PCR法在5株临床双重耐药菌株中检测到23S rRNA基因及gyrA的点突变, 在5株临床敏感菌株中未检测到. 全基因测序检测了涉及多耐药性的TolC同源物的四个基因簇(HP0605-HP0607, HP0971-HP0969, HP1327-HP1329和HP1489-HP1487)的遗传变异. 在双重耐药性*H. pylori*菌株中发现一个突变的SNV.

结论

丽水地区抗生素使用应严格监控, 避免滥用. TolC同源基因的基因簇与*H. pylori*菌株的抗生素耐药性相关. 全基因组测序对基因型与表型的关系有了新的认识.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 双重耐药菌株; 幽门螺杆菌; 全基因组测序; 耐药性; 外排泵基因

核心提要: 本研究利用全基因组测序对幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)外排泵基因进行研究, 发现双重耐药菌株的外排泵系统的中存在一个*C111T*位点突变, 而敏感菌株中没有. 表明外排泵基因可能与*H.pylori*菌株的抗生素耐药性相关. 对未来关于幽门螺杆菌耐药机制的研究起到一定的数据支持作用.

文献来源: 叶淑芳, 张剑美, 代飞, 蓝陈菊, 章小君, 周丽珍, 汤清清, 孟飞. 基于全基因组测序对双重耐药幽门螺杆菌外排泵基因变异的研究. 世界华人消化杂志 2021; 29(9): 455-460
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i9/455.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i9.455

0 引言

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染存在于50%以上的世界人口, 并已证实它与慢性胃炎、消化性溃疡等多种上消化道疾病相关[1]. 克拉霉素和左氧氟沙星是*H. pylori*根除治疗的常用药物, 但是随着抗生素的广泛使用, 克拉霉素及左氧氟沙星等的耐药率越来越高, 抗生素耐药成为*H. pylori*感染患者根除失败的主要原因[2].

*H. pylori*对克拉霉素耐药已经证实与23S rRNA的结构域V区肽基转移酶中的点突变相关[3], 最常见的突变是位置*A2142G*和*A2143G*. *H. pylori*对喹诺酮耐药主要是由于*gyrA*喹诺酮类药物耐药决定区基因发生突变, *gyrA*基因主要有下列两种突变(*Asn87*, *Asp91*)[4]. 此外, 目前有不少研究报道外排泵基因过表达可以增加

菌株的耐药性的[5,6]. 在肠杆菌科细菌中, 最常见的外排泵为耐药结节化细胞分化家族(resistance nodulation cell division family, RND), 而该家族中研究较深入的就是AcrAB-外膜蛋白(outer membrane proteins, OMP)ToIC参与的外排泵系统. ToIC可以与许多内膜转运体结合, 参与几乎所有的抗生素外排过程, 因此对细菌的耐药性及临床治疗都有重要影响[7,8].

与常规方法相比, 二代测序可提供有关细菌基因组信息的深入信息. 这些技术全面追踪抗生素耐药性菌株的基因组信息, 能促进临床对感染患者进行特异性和合理治疗.

在本研究中, 我们首先通过呼气试验及药敏试验筛选出10例*H. pylori*菌株, 包括5例双重耐药菌株和5例全敏感菌株, 用PCR方法进行验证并进行全基因组测序. 我们着眼于双重耐药外排泵的变异, 这些变异对内在和获得性抗生素耐药性都有贡献, 阐明耐药新机制.

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 样本收集: 选取因胃部疾病至丽水市人民医院就诊的胃镜检查患者, 于胃镜下采集胃黏膜标本一份, 置于组织保存管中, 低温运输送检. 该研究已通过丽水市人民医院伦理委员会审核. 所有患者均同意在本研究中使用其样品, 并签署了知情同意书.

1.1.2 病例入选标准: (1)年龄18-70岁, 男女不限; (2)呼气试验结果为*H. pylori*阳性; (3)近2 wk内未使用抗生素、铋剂、H2受体拮抗剂或PPI制剂. 病例排除标准: (1)严重心、肝、肾功能损害者; (2)妊娠或哺乳期妇女; (3)有食管、胃肠手术史者; (4)患者不能正确表达自己的主诉, 如精神病、严重神经官能症者; (5)患者同时服用非甾体抗炎药或酗酒.

1.2 方法

1.2.1 *H. pylori*培养及药敏: 胃粘膜标本经过研磨后接种于含5%羊血的哥伦比亚培养基, 37 ℃微需氧培养(5% O_2、10% CO_2、85% N_2)2-3 d, 观察菌落的生长情况, 经生化反应(尿素酶、氧化酶、过氧化氢酶)试验和镜检鉴定, 确定为*H. pylori*菌株后保存菌株.

采用琼脂稀释法进行药敏检测: 将生长出的*H. pylori*菌株分别收集于生理盐水中, 配制成吸光度2-3麦氏的菌悬液, 滴加于抗生素平板上, 每滴2-3 μL, 每个平板滴数在15-25滴之间. 建立平行一组, 空白对照一组. 于37 ℃微需氧培养(5% O_2、10% CO_2、85% N_2)的条件下培养2-3 d, 判读药敏结果, 若有*H. pylori*菌株生长则为耐药, 无*H. pylori*菌株生长为敏感. 其中克拉霉素及左氧氟沙星的耐药临界值分别为1 μg/mL和2 μg/mL. 质控菌株为*H. pylori* ATCC26695.

1.2.2 *23S rRNA*及*gyrA*基因突变的特异性PCR: PCR体系包含2×Mix(杭州擎科生物技术有限公司)15 μL, 5×Enhancer buffer 6 μL, dd H_2O 5 μL, 引物Forward和Reverse各1 μL和2 μL DNA模板. 引物序列如下: *23S rRNA* Forward: ATGAATGGCGTAACGAGATG; *23S rRNA* Reverse: ACACTCAACTTGCGATTTCC; *gyrA* Forward: GATCATAGGGCGCGCTTTACC; *gyrA* Reverse: AAGTCGCCATCCCTACAGCGA. PCR条件如下: 94 ℃ 2 min; 94 ℃ 10 s, 60 ℃ 10 s和72 ℃ 10 s, 30个循环; 72 ℃ 5 min. PCR产物通过1%琼脂糖凝胶电泳确定大小.

1.2.3 基因组DNA提取和全基因组的制备: 用Qiagen细菌基因组提取试剂盒提取*H. pylori*基因组DNA. 用Qubit检测试剂盒(Invitrogen公司, 美国)测量每个样品的DNA浓度. 通过使用Nextera XT DNA样品制备试剂盒(Illumina公司, 美国)进行*H. pylori*菌株文库的构建. 根据试剂盒说明书将DNA均匀剪切成500 bp左右的片段, 并加上接头序列构成DNA文库, 然后在Illumina MiSeq测序仪上运行. 使用MiSeq控制软件分析荧光图像, 并使用MiSeq Reporter Analysis创建FASTQ格式的序列数据.

1.2.4 序列读取和单核苷酸变体(single nucleotide variants, SNV)检测: 重测序下机数据经过处理后获得原始数据, 为了降低突变的错误率, 过滤掉起始的10个碱基, 并截断了每个>Q20读数的末端30个碱基, 然后利用BWA[2] (version 0.7.12)比对软件, 将clean data比对到参考基因组序列上, 统计比对结果, 包括比对参考序列reads数, 平均深度及覆盖率等. 参考基因组选用ATCC26695. 通过比对结果, 去除出每个文库中由于PCR扩增引起的重复序列, 然后使用SAMTOOLS(version 1.1)软件进行SNV/InDel鉴定, 通过SAMTOOLS的Mpileup模块和Bcftools分析每个位点具体的测序信息等.

1.2.5 临床*H. pylori*菌株中的双重耐药外排泵的变异: 为了鉴定这些临床分离菌株中的其他可能变异, 我们接下来检查了与TolC同源物的四个基因簇的遗传变异. 将不同来源的*H. pylori*耐药基因与参考菌株26695(GenBank登录号: NZ CP010436)进行比对, 并结合耐药实验结果, 分析耐药机制间的关系.

统计学处理 通过独立*t*检验分析了外排泵基因的遗传变异与耐药性表型之间的关联. 使用95%置信区间, $P<0.05$被认为具有统计学意义. 所有统计分析软件采用SPSS 24.0.

2 结果

2.1 患者收集情况 2014-06至2015-06, 共入选患者60名, 入选患者年龄在18-70岁之间, 平均年龄为46.93岁, 男女

比例为1.4:1. 男女间年龄不存在统计学差异.

2.2 *H. pylori*培养及药敏结果 本实验共分离获得*H. pylori*菌株51例. 药物敏感实验结果见表1. 其中克拉霉素和左氧氟沙星都耐药的有5例, 克拉霉素与左氧氟沙星都敏感的有13例. 克拉霉素耐药率达到43.1%, 左氧氟沙星耐药率达到41.2%.

2.3 PCR分析结果 选取对克拉霉素及左氧氟沙星都耐药的*H. pylori*菌株5例及对克拉霉素及左氧氟沙星均敏感的菌株5例进行特异性PCR扩增.

两种不同抗性的菌株测序结果如图1所示. 在对两种抗生素都耐药的菌株中*23S rRNA*基因中2143位均具有A>G变异, *gyrA*基因中有4例在87位变异, 1例在91位变异. 而在5个克拉霉素及左氧氟沙星敏感株的*23S rRNA*及*gyrA*基因的相同位置上没有有义变异. 因此, PCR结果与药敏结果一致.

2.4 外排泵基因中编码序列(coding sequence, CDS)变异分析 临床分离株中外排泵基因CDS变异数见表2. 对TolC同源物的四个基因簇SNV与临床分离株耐药性相关性分析, 没有发现外排泵中SNV总数与敏感和耐药菌株之间存在显着差异.

我们对外排泵编码基因簇中的SNV进行了更详细的分析, 在双重耐药性*H. pylori*菌株中发现一个突变的SNV. 在5株克拉霉素及左氧氟沙星耐药的菌株中, HP0970中存在C111T突变而在5株敏感菌株中未发现该突变. 没有发现敏感菌株中突变而双重耐药菌株中不突变的位点. 这些结果表明外排泵基因中的突变SNV可能有助于菌株对抗生素的耐药性分布.

3 讨论

目前*H. pylori*感染的治疗方法主要基于质子泵抑制剂与阿莫西林和克拉霉素等抗生素联用[9], 但标准的三联疗法的治愈率已逐渐降低到不可接受的水平[10]. 共识指出[11], 当克拉霉耐药率高于15%-20%时, 不应使用三联疗法来治疗*H. pylori*感染, 应考虑其他治疗方案. 克拉霉素及左氧氟沙星是根除*H. pylori*感染的常用药物, 然而这两种药物的广泛使用导致*H. pylori*原发性耐药的增加. 一项研究表明, *H. pylori*对常用抗生素的三重耐药率达到了7.8%[12].

本研究药敏试验表明, 丽水地区克拉霉素及左氧氟沙星的耐药率都达到了40%以上, 高于浙江省地区的平均水平(克拉霉素16.1%, 左氧氟沙星19.5%)[13]. 说明近些年这两种抗生素在丽水地区一直在广泛使用, 应高度重视抗生素的应用, 防止滥用.

*H. pylori*菌株中*23S rRNA*基因及*gyrA*基因位点突变与菌株对克拉霉素及左氧氟沙星产生耐药是目前的已知机制, 此外, *H. pylori*对抗生素耐药性似乎与其他因素有关, 例如对克拉霉素产生耐药性还与菌株*rRNA*甲基化酶的产生[14], 大环内酯灭活酶的作用以及主动外排泵基因突变有关[15], 这些在多种细菌中都有描述, 但缺乏其他遗传机制的证据. 还有一些研究表明, 其他细菌遗传因素也可能导致耐药性增加[16]. 但是, 尚无有关*H. pylori*其他细菌因素的遗传证据.

表 1 *H.pylori*临床分离菌株药敏结果

		左氧氟沙星	
		耐药	敏感
克拉霉素	耐药	5	17
	敏感	16	13

H.pylori: 幽门螺杆菌.

应用PCR方法检测*H. pylori 23S rRNA*及*gyrA*基因中的突变, 确认了这些突变结果与药敏结果相同. PCR利用特异性引物测定突变基因的方法已经比较完善, 可以明确鉴定*H. pylori*菌株对克拉霉素或左氧氟沙星相关耐药基因的突变. PCR是用于鉴定一个碱基对基因变异的有效方法, 但全基因组测序可以同时检测多个碱基对变异. 我们通过基于大规模Illumina的平台对*H. pylori*分离株的整个基因组进行全基因组重测序. 测序结果可以清楚地区分*H. pylori*基因组中的*23S rRNA*及*gyrA*基因中的点突变. 为了未来的*H. pylori*感染治疗有更多方法, 我们需要知道双重耐药菌株外排泵基因的变异是否是菌株耐药性产生的内在因素. RND家族转运蛋白是微生物外排系统中的重要组成部分. RND类外排泵是革兰氏阴性菌产生多重耐药的重要原因[17]. 在*H. pylori 26695*基因组中, 存在编码RND类外排泵的基因, 包括TolC同源物的四个基因簇*HP0605-HP0607*(*hefABC*), *HP0971-HP0969*(*hefDEF*), *HP1327-HP1329*(*hefGHI*)和*HP1489-HP1487*[18]. 本研究发现在双重耐药菌株中的*H.pylori*外排泵系统的四个基因簇(*HP0605-HP0607*, *HP0971-HP0969*, *HP1327-HP1329*和*HP1489-HP1487*)中存在一个位点突变, 而敏感菌株中没有. 这表明外排泵基因可能有助于微生物耐药性的产生, 这与其他研究结果类似.

本研究探索了双重耐药*H. pylori*的外排泵的重要性. 外排泵基因的特定变异与克拉霉素和左氧氟沙星耐药表型之间存在联系[5,6]. 这些基因突变的确切机制尚不清楚. 内在耐药性的可能机制包括减少药物吸收或增加药物外排. 本研究结果表明外排泵基因的变异可能与临床分离物中的药物敏感性相关, 药物耐药的相关基因突变可能引导外排泵基因同时突变. 全基因组测序数据包括目前无法从小规模分析中获得的大量其他信息.

表 2　临床分离株中外排泵基因编码序列变异数

	HP0605	*HP0606*	*HP0607*	*HP0969*	*HP0970*	*HP0971*	*HP1327*	*HP1328*	*HP1329*	*HP1487*	*HP1488*	*HP1489*
A1	17	6	38	26	7	11	22	15	28	22	7	25
A2	19	7	32	25	11	12	21	15	36	15	3	23
A3	20	2	32	25	7	11	24	14	30	20	6	22
A4	17	3	27	24	9	10	23	12	32	17	4	25
A5	20	9	36	23	7	11	22	14	30	16	5	19
B2	20	8	30	25	9	15	22	14	30	18	4	25
B3	16	6	22	26	14	14	21	13	33	16	5	19
B4	20	8	32	23	8	9	23	11	38	16	4	29
B5	17	9	32	26	14	8	23	15	26	18	5	24

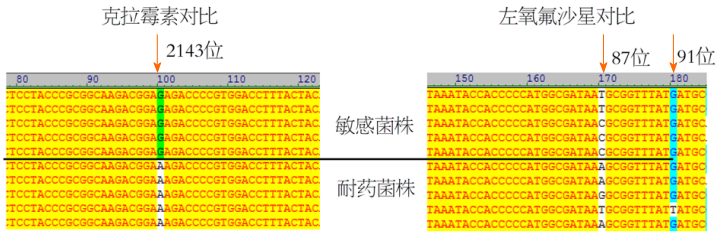


图 1　耐药基因突变位点分析.

4 结论

我们通过PCR的方法验证了*H. pylori*耐药性的基因型, 并揭示了全基因组测序在*H. pylori*耐药分析中的潜力. 研究结果表明了克拉霉素及左氧氟沙星耐药性菌株中外排泵基因变异的重要作用. 由于我们入组患者数据量较小, 结果还需进一步验证. 因此可以使用全基因组方法进行进一步分析大数据的双重耐药*H. pylori*临床分离菌株以获得更准确的数据.

文章亮点

实验背景

目前抗生素耐药已经成为幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori, H. pylori*)感染患者根除失败的主要原因. 外排泵基因与抗生素耐药存在一定的关联性, 先前的不少研究已证实外排泵基因过表达可以增加菌株的耐药性的.

实验动机

外排泵基因的研究可以解决当前*H. pylori*耐药基因研究不足的缺点, 研究结果对未来幽门螺杆菌耐药机制起到一定的数据支持作用.

实验目标

本实验将找出双重耐药菌株与敏感菌株外排泵基因存在的变异, 探索外排泵基因的变异与双重耐药菌株耐药性产生的内在联系.

实验方法

用^{13}C呼气试验及药敏试验筛选出双重耐药菌株及敏感菌株, 用特异性PCR的常规方法进行耐药基因突变位点的验证, 基于MiSeq平台, 分别对双重耐药菌株及敏感菌株进行全基因组测序, 以鉴定双重耐药表型与敏感表型的外排泵基因的单核苷酸变体(SNV)并进行分析.

实验结果

筛选出双重耐药菌株5株, 特异性PCR耐药基因突变位点验证发现5株临床双重耐药菌株中检测到23S rRNA基因及gyrA的点突变, 而在5株临床敏感菌株中未检测到. 在5株克拉霉素及左氧氟沙星耐药的菌株中, *HP0970*中存在*C111T*突变而在5株敏感菌株中未发现该突变.

实验结论

本研究发现在双重耐药菌株中的*H.pylori*外排泵系统的四个基因簇中存在一个*C111T*位点突变, 而敏感菌株中没有. 这表明外排泵基因可能有助于微生物耐药性的产生.

展望前景

利用全基因组测序对*H. pylori*外排泵基因进行研究, 揭示了全基因组测序在*H. pylori*耐药分析中的潜力, 对于*H. pylori*基因型与表型的关系有了新的认识, 对未来关于*H. pylori*耐药机制的研究起到一定的数据支持作用.

5 参考文献

1 Hooi JKY, Lai WY, Ng WK, Suen MMY, Underwood FE, Tanyingoh D, Malfertheiner P, Graham DY, Wong VWS, Wu JCY, Chan FKL, Sung JJY, Kaplan GG, Ng SC. Global Prevalence of Helicobacter pylori Infection: Systematic Review and Meta-Analysis. *Gastroenterology* 2017; 153: 420-429 [PMID: 28456631 DOI: 10.1053/j.gastro.2017.04.022]

2 谢晶日, 孙涛, 张冰. 根除幽门螺杆菌失败原因分析及新的治疗对策探讨. 中国中西医结合学会 2017

3 胡美莲, 高阳, 李晓露, 王丽波. 幽门螺杆菌对克拉霉素耐药性检测研究进展. 中国实验诊断学 2018; 22: 1474-1476

4 Lee JW, Kim N, Nam RH, Park JH, Kim JM, Jung HC, Song IS. Mutations of Helicobacter pylori associated with fluoroquinolone resistance in Korea. *Helicobacter* 2011; 16: 301-310 [PMID: 21762270 DOI: 10.1111/j.1523-5378.2011.00840.x]

5 Hashemi SJ, Sheikh AF, Goodarzi H, Yadyad MJ, Seyedian SS, Aslani S, Assarzadegan MA. Genetic basis for metronidazole and clarithromycin resistance in Helicobacter pylori strains isolated from patients with gastroduodenal disorders. *Infect Drug Resist* 2019; 12: 535-543 [PMID: 30881059 DOI: 10.2147/IDR.S192942]

6 Liu ZQ, Zheng PY, Yang PC. Efflux pump gene hefA of Helicobacter pylori plays an important role in multidrug resistance. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 5217-5222 [PMID: 18777600 DOI: 10.3748/wjg.14.5217]

7 Blair JM, Piddock LJ. Structure, function and inhibition of RND efflux pumps in Gram-negative bacteria: an update. *Curr Opin Microbiol* 2009; 12: 512-519 [PMID: 19664953 DOI: 10.1016/j.mib.2009.07.003]

8 Rosner JL, Martin RG. Reduction of cellular stress by TolC-dependent efflux pumps in Escherichia coli indicated by BaeSR and CpxARP activation of spy in efflux mutants. *J Bacteriol* 2013; 195: 1042-1050 [PMID: 23264577 DOI: 10.1128/JB.01996-12]

9 Cuesta Hernández M, Pérez Peña C, Matía Martín P, Cabrerizo García L, Pérez-Ferre N, Sánchez-Pernaute A, Torres García A, Rubio Herrera MÁ. Helicobacter pylori (hp) infection in obese patients undergoing rouxen- y gastric bypass; efficacy of two different treatment regimens in hp eradication. *Nutr Hosp* 2015; 32: 600-605 [PMID: 26268087 DOI: 10.3305/nh.2015.32.2.9177]

10 施杨利, 陈耀明. 含铋剂的四联用药方案治疗老年幽门螺杆菌相关性消化性溃疡的疗效分析. 山西医药杂志 2017; 46: 682-684 [DOI: 10.3969/j.issn.0253-9926.2017.06.028]

11 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; 56: 532-545 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.0578-1426.2017.07.014]

12 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.12046]

13 周晴接, 潘杰. 浙江地区幽门螺杆菌临床分离株的耐药性. 世界华人消化杂志 2014: 3552-3556

14 Nash KA, Brown-Elliott BA, Wallace RJ Jr. A novel gene, erm(41), confers inducible macrolide resistance to clinical isolates of Mycobacterium abscessus but is absent from Mycobacterium chelonae. *Antimicrob Agents Chemother* 2009; 53: 1367-1376 [PMID: 19171799 DOI: 10.1128/AAC.01275-08]

15 Roberts MC. Update on macrolide-lincosamide-streptogramin, ketolide, and oxazolidinone resistance genes. *FEMS Microbiol Lett* 2008; 282: 147-159 [PMID: 18399991 DOI: 10.1111/j.1574-6968.2008.01145.x]

16 Tanuma M, Rimbara E, Noguchi N, Boonyaritichaikij S, Kuwabara K, Fukunaga Y, Sasatsu M. Analysis of clarithromycin resistance and CagA status in Helicobacter pylori by use of feces from children in Thailand. *J Clin Microbiol* 2009; 47: 4144-4145 [PMID: 19794037 DOI: 10.1128/JCM.00786-09]

17 程国军, 罗莎, 谢婧, 吴和涛. 豌豆根瘤菌RND外排转运基因tpaA的功能研究. 中南民族大学学报: 自然科学版 2019; 38: 199-203

18 吴明慧, 黄赞松, 黄衍强. 幽门螺杆菌外排泵的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21: 1630-1635 [DOI: 10.11569/wcjd.v21.i17.1630]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 © 2021 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

• 消息 •

《世界华人消化杂志》栏目设置

本刊讯 本刊栏目设置包括述评, 基础研究, 临床研究, 文献综述, 研究快报, 临床实践, 病例报告, 会议跟踪. 文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确.

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: https://www.baishideng.com

世界华人消化杂志 2021年5月8日; 29(9): 461-466

DOI: 10.11569/wcjd.v29.i9.461

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

临床研究 CLINICAL RESEARCH

影响原发性腹膜后肿瘤手术患者预后的危险因素分析

郭丽娜, 李云超, 孙占峰, 闫海洋, 李 辉, 王月明

郭丽娜, 天津医科大学第二医院肝胆胰外科 天津市 300211

李云超, 孙占峰, 王月明, 天津市宁河区医院普外科 天津市 301500

闫海洋, 李辉, 武警后勤学院附属医院救援研究所 天津市 300162

郭丽娜, 研究方向为腹腔肿瘤.

基金项目: 天津市科技支撑计划项目, No. 15ZXLCSY00040; 武警后勤学院基础研究项目, No. WHJ201721.

作者贡献分布: 主要实验、数据分析和文章起草由郭丽娜, 李云超完成; 病例选择和临床资料整理由孙占峰, 闫海洋和李辉完成; 课题设计、文章修改和审阅由王月明完成.

通讯作者: 王月明, 主任医师, 301500, 天津市宁河区芦台镇沿河路23号, 宁河区医院普外科. 1601638258@qq.com

收稿日期: 2021-01-28
修回日期: 2021-02-16
接受日期: 2021-03-15
在线出版日期: 2021-05-08

Risk factors influencing prognosis of patients undergoing primary retroperitoneal tumor surgery

Li-Na Guo, Yun-Chao Li, Zhan-Feng Sun, Hai-Yang Yan, Hui Li, Yue-Ming Wang

Li-Na Guo, Department of Hepatobiliary and Pancreatic Surgery, Second Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300211, China

Yun-Chao Li, Zhan-Feng Sun, Yue-Ming Wang, Department of General Surgery, Tianjin Ninghe District Hospital, Tianjin 301500, China

Hai-Yang Yan, Hui Li, Rescue Research Institute of Affiliated Hospital of Logistical College of Armed Police, Tianjin 300162, China

Supported by: Tianjin Science and Technology Support Plan Project, No. 15ZXLCSY00040; Basic Research Project of Logistical Institute of Armed Police, No. WHJ201721.

Corresponding Author: Yue-Ming Wang, Chief Physician, Department of General Surgery, Ninghe District Hospital, No. 23 Yanhe Road, Lutai Town, Ninghe District, Tianjin 301500, China. 1601638258@qq.com

Received: 2021-01-28
Revised: 2021-02-16
Accepted: 2021-03-15
Published online: 2021-05-08

Abstract

BACKGROUND

Primary retroperitoneal tumors are mostly malignancies with a variety of etiologies. Parameters such as tumor grade, range of resection, and tumor integrity have been shown to influence prognosis.

AIM

To identify the risk factors for postoperative survival in patients undergoing primary retroperitoneal tumor surgery.

METHODS

Seventy-three patients undergoing radical retroperitoneal tumor surgery were divided into a tumor-free survival group (47 cases) and a recurrence-caused death group (26 cases). Factors affecting patients' tumor-free survival after surgery were collected and analyzed, including age, tumor long diameter, lymph node metastasis, first symptom, tumor type, tumor differentiation degree, and complication with other systemic diseases.

RESULTS

The 5-year tumor-free survival rate for primary retroperitoneal tumors was 64.4% (47/73). Single factor analysis showed that age ($P < 0.05$), tumor long diameter ($P < 0.05$), lymph node metastasis ($P < 0.05$), first symptom ($P < 0.05$), tumor type ($P < 0.05$), and tumor differentiation

degree (P < 0.05) were significantly associated with retroperitoneal tumor surgery disease-free survival rate. Multivariate Cox regression analysis indicated that first symptom (P < 0.05) and tumor type (P < 0.05) were independent risk factors affecting postoperative tumor-free survival in retroperitoneal tumor patients.

CONCLUSION

First symptom and tumor type are the key factors affecting the postoperative tumor-free survival of retroperitoneal tumor patients.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Primary retroperitoneal tumor; Prognosis; Survival rates; Risk factors; First symptoms; Tumor differentiation

Citation: Guo LN, Li YC, Sun ZF, Yan HY, Li H, Wang YM. Risk factors influencing prognosis of patients undergoing primary retroperitoneal tumor surgery. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2021; 29(9): 461-466
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i9/461.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i9.461

摘要

背景

原发性腹膜后肿瘤多为恶性肿瘤, 其病因多种多样. 分级、切除范围和肿瘤完整性等参数已被证明影响预后.

目的

探索影响原发性腹膜后肿瘤手术患者术后生存的危险因素.

方法

73例腹膜后肿瘤根治性手术的患者分为无瘤生存组(47例)、复发死亡组(26例). 收集并分析影响患者术后无瘤生存的因素, 包括年龄、肿瘤长径、淋巴结转移、首发症状、肿瘤类型、肿瘤分化程度以及是否合并其他系统疾病等.

结果

原发性腹膜后肿瘤术后5年无瘤生存率为64.4%(47/73). 对影响原发性腹膜后肿瘤术后无瘤生存率的因素进行单因素分析结果显示: 年龄(P<0.05), 肿瘤长径(P<0.05), 淋巴结转移(P<0.05), 首发症状(P<0.05), 肿瘤类型(P<0.05), 肿瘤分化程度(P<0.05)共6项因素与腹膜后肿瘤术后无瘤生存率相关. 多因素Cox回归分析结果提示首发症状(P<0.05)以及肿瘤类型(P<0.05)影响腹膜后肿瘤患者术后无瘤生存率的独立危险因素.

结论

首发症状以及肿瘤类型是影响腹膜后肿瘤患者术后无瘤生存率的关键.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 原发性腹膜后肿瘤; 预后; 生存率; 危险因素; 首发症状; 肿瘤分化

核心提要: 由于腹膜后肿瘤发病率低, 临床症状不典型, 术后5年存活率低, 在疾病诊断及治疗上均有一定的困难. 为此, 本研究总结了影响PRT手术患者生存率的危险因素以期为临床治疗提供指导意义.

文献来源: 郭丽娜, 李云超, 孙占峰, 闫海洋, 李辉, 王月明. 影响原发性腹膜后肿瘤手术患者预后的危险因素分析. 世界华人消化杂志 2021; 29(9): 461-466
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i9/461.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i9.461

0 引言

原发性腹膜后肿瘤(primary retroperitoneal tumor, PRT)主要来源于腹膜后间隙的脂肪、疏松结缔组织、筋膜、肌肉、血管、神经、淋巴组织以及胚胎残留组织. PRT组织学类型繁多, 按组织学来源可分为: (1)间叶组织肿瘤; (2)神经原性肿瘤; (3)泌尿生殖脊残余囊癌; (4)胚胎残余组织; (5)来源不明或不能分类. PRT以恶性肿瘤为主, 约占80%. PRT中儿童以畸胎瘤和神经母细胞癌多见, 成人以神经源性良性肿瘤、平滑肌肉瘤多见[1]. 由于腹膜后解剖位置的特殊性, 腹膜后肿瘤患者的临床表现多不典型, 不易早期明确诊断. 手术完全切除肿瘤是PRT的唯一有可能根治的治疗方法, 包括开腹手术和腹腔镜手术. 由于PRT发病率低, 临床症状不典型, 术后5年存活率低, 在疾病诊断及治疗上均有一定的困难. 为此, 本研究总结了影响PRT手术患者生存率的危险因素以期为临床治疗提供指导意义.

1 材料和方法

1.1 材料 2010-10/2015-10期间, 根据纳入和排除标准筛选出本院PRT住院行根治性手术的患者73例. 纳入标准: 入院时明确腹膜后肿瘤诊断, 手术根治性切除, 术后病理明确为原发性腹膜后肿瘤, 非腹膜后器官来源或转移至腹膜后的肿瘤, 全部病例无手术禁忌症行开腹或腹腔镜手术治疗, 全部病例住院病历资料完整, 全部术后73例完成随访并取得知情同意. 排除标准: 术后病理为腹膜后器官来源, 术后病理为转移至腹膜后的肿瘤, 既

往长期心肺慢性疾病, 不能耐受手术, 在随访过程中失访、退出或更改治疗方案的患者. 根据随访将5年内没有肿瘤复发和死亡的患者分为无瘤生存组(47例), 将5年内出现复发、二次手术和死亡的患者分为复发死亡组(26例).

1.2 方法 73例PRT根治手术患者术前诊断通过影像学检查明确, 并由术中所见和术后病理证实. 所有两组病例资料经详细统计并行标准化后录入电子计算机数据库. 以PRT术后结局(生存或复发死亡)为因变量. 以对结局可能影响因素包括性别, 年龄, BMI, 手术方式, 肿瘤部位, 肿瘤分化程度, 肿瘤病理类型, 肿瘤分期, 手术时间, 肿瘤长径, CEA, CA19-9, 吸烟史, 饮酒史, 是否合并其他系统疾病, 是否淋巴结转移, 是否远处转移, 手术类型(开放手术或者腹腔镜手术)等18项为自变量. 其中包括术前影响因素及术后影响因素. 术前影响因素主要根据病例病史, 体格检查及辅助检查等统计得到, 包括年龄, BMI指数, 吸烟史, 饮酒史及合并其他系统疾病等因素. 术后影响因素主要依据患者术中所见, 手术记录和肿瘤病理等资料统计得到等因素.

统计学处理 采用SPSS 17.0软件进行统计学分析. 患者生存分析采用Kaplan-Meier法及Log Rank检验, 计量数据用均数±标准差(mean±SD)表示, 采用单因素分析方法, 计数资料用百分比表示, 行χ^2检验, 将单因素分析有统计学意义(P<0.05)的因素进行多因素Cox回归分析, 分析得出影响腹膜后肿瘤术后无瘤生存率的独立危险因素.

2 结果

2.1 PRT患者术后无瘤生存率分析 通过5年的术后随访, 73例PRT患者术后平均生存(50±17)个月, 其中1年生存率为93.2% (68/73), 3年生存率为78.1% (57/73), 5年生存率为64.4% (47/73) (图1).

2.2 两组患者一般情况比较 根据PRT患者术后5年随访一般资料(表2, 表3), 无瘤生存组中男性22例, 女性28例; 年龄21-79岁, 平均年龄(55.9±10.5)岁; 术后病理诊断结果显示良性肿瘤患者26例, 恶性肿瘤患者21例. 复发死亡组PTH正常组中男性15例, 女性16例; 年龄 20-78岁, 平均年龄(50.6±11.9)岁; 术后病理诊断结果显示良性肿瘤患者2例, 恶性肿瘤患者24例. 全组资料中良性肿瘤(神经鞘瘤8/28、浆液性囊腺瘤3/28、囊肿3/28等)28例, 恶性肿瘤(脂肪肉瘤17/45、平滑肌肉瘤4/45、粘液肉瘤4/45等)45例. 具体病理类型见表1. 通过组间比较, 两组患者在性别、体重指数、吸烟史、饮酒史、CEA、CA19-9、是否远处转移、手术类型、合并其他疾病之间比较有差异(P>0.05) (见表2). 而两组患者在年龄、肿瘤长径、淋巴结转移、首发症状、肿瘤分化程度和肿瘤类型之间存在差异(P<0.05) (表3).

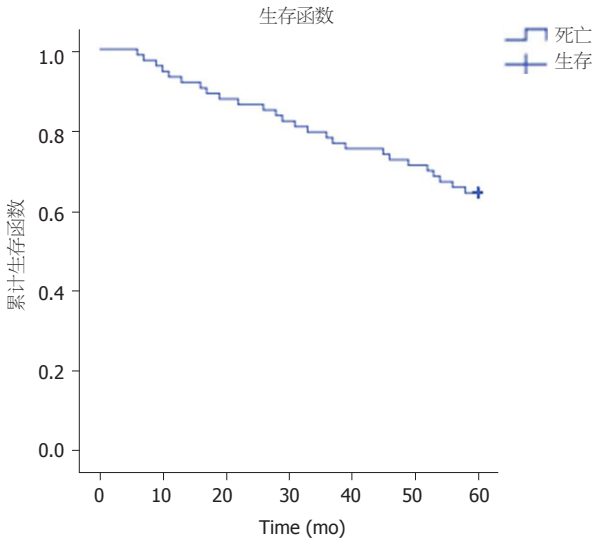


图 1 PRT患者术后Kaplan生存曲线. PRT: 原发性腹膜后肿瘤.

2.3 影响PRT术后无瘤生存率的多因素分析结果 将上述单因素分析得到的年龄、肿瘤长径、淋巴结转移、首发症状、肿瘤类型、肿瘤分化共6项有统计学意义的因素作为自变量进行多因素Cox回归分析结果首发症状及肿瘤类型为影响PRT术后无瘤生存率的独立危险因素(表4).

3 讨论

在本研究中, 通过随访原发性腹膜后肿瘤术后患者的生存情况, 无瘤生存组与复发死亡组相比, 首发症状, 淋巴结转移以及肿瘤类型是影响腹膜后肿瘤患者术后无瘤生存率的关键. 由于腹膜后间隙位置较深, 缺乏骨性结构及实质性的边缘, 空间的可扩张性使得腹膜后肿瘤患者临床表现多不典型. 腹膜后肿瘤多生长缓慢, 发生远处转移者极少, 这种特性决定了腹膜后肿瘤在长大到一定程度时方出现临床症状[2]. 辅助检查对腹膜后肿瘤的患者诊断有很大帮助, 随着人们健康意识的上升以及体格检查的普遍性, 往往能及早发现肿瘤, 这对腹膜后肿瘤的初步诊断以及决定手术方式具有重要意义[3]. 本研究体检发现患者19例(26%), 且体检发现肿瘤的患者比出现疾病症状就诊的患者表现出更高的生存率(95% *vs* 53%).

由于腹膜后组织的组成繁杂, 导致腹膜后肿瘤病理类型的多样性, 大体上可分为来源于间叶组织、神经组织、生殖胚胎源性组织以及来源不明的肿瘤四类[4]. 按照生物学行为分为良性肿瘤、恶性肿瘤和交界性肿瘤, 以恶性肿瘤居多, 82%的原发性腹膜后肿瘤为恶性, 18%为良性; 大多数腹膜后肿瘤为恶性, 本组恶性肿瘤占

表 1　原发性腹膜后肿瘤患者术后病理结果

良性肿瘤	例数	恶性肿瘤	例数
神经鞘瘤	8	脂肪肉瘤	17
节细胞神经瘤	2	平滑肌肉瘤	5
副神经节瘤	1	血管肉瘤	1
神经纤维瘤	2	纤维肉瘤	2
脂肪瘤	2	粘液肉瘤	4
Castleman病	2	滑膜肉瘤	1
特发性纤维化	1	横纹肌肉瘤	1
浆液性囊腺瘤	3	混合脂肪肉瘤	3
腺肌病	1	多形性肉瘤	2
孤立性纤维性肿瘤	1	淋巴瘤	2
梭形细胞肿瘤	2	恶性纤维母细胞瘤	4
囊肿	3	粘液囊腺癌	3

表 2　PRT术后无瘤生存率无关联的因素的单因素分析结果

因素	无瘤生存组(47)	复发死亡组(26)	t/χ^2值	P值
性别(n)			$\chi^2 = 0.15$	0.7
男	22	15		
女	28	16		
BMI (n)			$\chi^2 = 2.477$	0.29
≥24	15	7		
18.5≤BMI<24	15	13		
<18.5	17	6		
吸烟史(n)			$\chi^2 = 0.003$	0.956
有	25	14		
无	22	12		
饮酒史(n)			$\chi^2 = 1.537$	0.215
有	27	11		
无	20	15		
CEA (ng/mL)	10.17 ± 2.16	11.19 ± 2.78	$t = 1.741$	0.086
CA19–9 (U/mL)	80.33 ± 17.57	88.07 ± 16.15	$t = 1.854$	0.068
远处转移(n)			$\chi^2 = 2.024$	0.155
是	5	6		
否	42	20		
手术类型(n)			$\chi^2 = 1.217$	0.27
开放手术	19	14		
腹腔镜手术	28	12		
合并其他疾病(n)	无瘤生存组	复发死亡组	$\chi^2 = 2.321$	0.128
有	22	17		
无	25	9		

PRT: 原发性腹膜后肿瘤.

62%, 低于国外文献报道水平[5]. 原发性腹膜后肿瘤种类繁多, 文献报道以脂肪组织肿瘤、恶性纤维组织细胞瘤及神经源性肿瘤最常见[6]. 本研究统计结果依次是脂肪源性肿瘤、神经源性肿瘤、平滑肌肉瘤, 与文献报道基本相同. 腹膜后肉瘤的患者大部分都会复发, 因肿瘤死亡患者中, 75%都与复发有关[7]. 有研究表明, 局部复发灶的大小、病灶生长速度以及原发灶的病理类型、病理学级别是影响腹膜后肉瘤局部复发患者预后的独立因素[8].

原发性腹膜后肿瘤诊治专家共识中指出, 目前尚无

表 3　影响PRT术后无瘤生存率的单因素分析结果

组别	无瘤生存组47	复发死亡组26	t/χ^2值	*P*
年龄(岁)	55.9 ± 10.5	50.6 ± 11.9	2.148	0.032
肿瘤长径(cm)			11.123	0.001
≥5 cm	17	20		
<5 cm	30	6		
淋巴转移(*n*)			9.842	0.002
是	13	17		
否	34	9		
首发症状(*n*)			11.414	0.003
腹部肿块	16	13		
腹痛腹胀	12	12		
体检发现	19	1		
肿瘤分化程度(*n*)			13.277	<0.05
高–中分化	28	4		
低–差分化	19	22		
肿瘤类型(*n*)			16.059	<0.05
良性肿瘤	26	2		
恶性肿瘤	21	24		

PRT: 原发性腹膜后肿瘤.

表 4　73例PRT患者临床病理特征多因素Cox回归分析结果

变量	偏回归系数	标准误	相对危险度	*P*值
年龄	0.005	0.021	0.067	0.796
肿瘤直径	–1.518	1.136	1.787	0.181
淋巴结转移	–0.710	0.980	0.526	0.000
首发症状	–2.565	0.689	13.867	0.000
肿瘤类型	6.424	1.486	18.867	0.000
肿瘤分化	0.995	0.905	1.210	0.271

PRT: 原发性腹膜后肿瘤.

证据证实辅助化疗对完整切除的腹膜后肉瘤患者有益. 但在晚期或转移性软组织肉瘤的姑息性治疗方法中, 化疗的作用也越来越受临床医师重视. 随着对脂肪肉瘤分子学突变机制的不断研究, 新型的靶向药物逐渐走入人们的视野. 与传统非特异性细胞毒性化疗相反, 这些新疗法大部分是针对特定的、异常遗传和分子途径的靶向药物. 如与DNA小沟结合, 针对FUS-CHOP基因融合型黏液性脂肪肉瘤的曲贝替定, 微管抑制剂甲磺酸艾瑞布林, p53-MDM2抑制剂RG7112、RG7388等靶向药物的出现为RPLPS患者摆脱反复外科手术的疾苦带来希望[9-11].

4 结论

综上所述, 原发性腹膜后肿瘤因其腹膜后间隙位置特殊、临床表现不典型, 体检及早发现腹膜后肿瘤对患者预后有重要意义. 治疗以外科手术切除治疗为主, 肿瘤的病理类型是指导手术方案的关键.

文章亮点

实验背景

Cox回归分析了73例原发性腹膜后肿瘤(primary retroperitoneal tumor, PRT)患者的各项因素, 结果得出首发症状及肿瘤类型为影响PRT术后无瘤生存率的独立危险因素. 首发症状的出现意味着更低的生存率, 因此, 本研究体现了体检对PRT患者预后的重要意义. 由于腹膜后肿瘤发病率低, 临床症状不典型, 术后5年存活率低, 在疾病诊断及治疗上均有一定的困难.

实验动机

本研究总结了影响PRT手术患者生存率的危险因素以期为临床治疗提供指导意义.

实验目标

探索影响PRT手术患者术后生存的危险因素.

实验方法

对在本院接受治疗并诊断为PRT并接受肿瘤切除的的73例患者进行回顾性研究,来评估患者术后无瘤生存的独立危险因素.

实验结果

PRT术后5年无瘤生存率为64.4% (47/73). 年龄、肿瘤长径、淋巴结转移、首发症状、肿瘤类型和肿瘤分化程度与PRT术后无瘤生存率相关, 并且, 首发症状和肿瘤类型是影响PRT术后无瘤生存率的独立危险因素.

实验结论

首发症状以及肿瘤类型是影响PRT患者术后无瘤生存率的关键.

展望前景

随着对PRT分子学突变机制的不断研究, 新型的靶向药物逐渐走入人们的视野.这些针对特定的、异常遗传和分子途径靶向药物的新疗法, 有望为PRT患者摆脱反复外科手术的疾苦带来希望.

5　参考文献

1　陈锐, 吴涵潇, 余永伟 吕晨, 孙颖浩, 冯翔. 腹膜后占位的病理诊断-单中心大样本腹膜后占位分析. 临床与实验病理学杂志 2020; 36: 842-844 [DOI: 10.13315/j.cnki.cjcep.2020.07.023]
2　Lou J, Moten AS, Reddy SS, Howell KJ, Movva S, von Mehren M,

Farma JM. Retroperitoneal Sarcomas: Does Laterality Matter? *J Surg Res* 2019; 244: 34-41 [PMID: 31279261 DOI: 10.1016/j.jss.2019.05.016]
3 辛星, 夏志军, 宋悦. 原发性盆腔腹膜后肿瘤的诊治进展. 国际妇产科学杂志 2013; 40: 160-163
4 Kim MK, Im CM, Oh SH, Kwon DD, Park K, Ryu SB. Unusual presentation of right-side accessory spleen mimicking a retroperitoneal tumor. *Int J Urol* 2008; 15: 739-740 [PMID: 18786195 DOI: 10.1111/j.1442-2042.2008.02078.x]
5 Garcia-Ortega DY, Villa-Zepeda O, Martinez-Said H, Cuellar-Hübbe M, Luna-Ortiz K. Oncology outcomes in Retroperitoneal sarcomas: Prognostic factors in a Retrospective Cohort study. *Int J Surg* 2016; 32: 45-49 [PMID: 27268726 DOI: 10.1016/j.ijsu.2016.06.001]
6 Leão P, Vilaça S, Oliveira M, Falcão J. Giant recurrent retroperitoneal liposarcoma initially presenting as inguinal hernia: Review of literature. *Int J Surg Case Rep* 2012; 3: 103-106 [PMID: 22288059 DOI: 10.1016/j.ijscr.2011.03.009]
7 Strauss DC, Hayes AJ, Thomas JM. Retroperitoneal tumours: review of management. *Ann R Coll Surg Engl* 2011; 93: 275-280 [PMID: 21944791 DOI: 10.1308/003588411X571944]
8 Park JO, Qin LX, Prete FP, Antonescu C, Brennan MF, Singer S. Predicting outcome by growth rate of locally recurrent retroperitoneal liposarcoma: the one centimeter per month rule. *Ann Surg* 2009; 250: 977-982 [PMID: 19953716 DOI: 10.1097/sla.0b013e3181b2468b]
9 Lewis JJ, Leung D, Woodruff JM, Brennan MF. Retroperitoneal soft-tissue sarcoma: analysis of 500 patients treated and followed at a single institution. *Ann Surg* 1998; 228: 355-365 [PMID: 9742918 DOI: 10.1097/00000658-199809000-00008]
10 Blay JY, Casali P, Nieto A, Tanović A, Le Cesne A. Efficacy and safety of trabectedin as an early treatment for advanced or metastatic liposarcoma and leiomyosarcoma. *Future Oncol* 2014; 10: 59-68 [PMID: 23987833 DOI: 10.2217/fon.13.163]
11 Ding Q, Zhang Z, Liu JJ, Jiang N, Zhang J, Ross TM, Chu XJ, Bartkovitz D, Podlaski F, Janson C, Tovar C, Filipovic ZM, Higgins B, Glenn K, Packman K, Vassilev LT, Graves B. Discovery of RG7388, a potent and selective p53-MDM2 inhibitor in clinical development. *J Med Chem* 2013; 56: 5979-5983 [PMID: 23808545 DOI: 10.1021/jm400487c]

科学编辑: 刘继红 制作编辑: 张砚梁



WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: https://www.baishideng.com

世界华人消化杂志 2021年5月8日; 29(9): 467-473

DOI: 10.11569/wcjd.v29.i9.467

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

临床研究 CLINICAL RESEARCH

老年非酒精性脂肪性肝病的营养状况及能量代谢特点

刘 芳, 叶 青, 梁 静, 曹影影, 史利利, 赵 雪, 向慧玲

刘芳, 叶青, 梁静, 曹影影, 史利利, 赵雪, 向慧玲, 天津市第三中心医院, 天津市肝胆疾病研究所, 天津市人工细胞工程技术研究中心 天津市 300170

刘芳, 副主任医师. 主要从事肝脏及消化系统疾病研究.

基金项目: 天津重大疾病防治科技重大专项项目, No.19ZXDBSY00030.

作者贡献分布: 刘芳与叶青对此文所作贡献均等; 此课题由刘芳、叶青、梁静、向慧玲设计; 研究过程由刘芳、叶青、梁静、曹影影、史利利、赵雪操作完成; 数据分析由刘芳、叶青、梁静、曹影影完成; 本论文写作由刘芳、叶青及梁静完成.

通讯作者: 向慧玲, 主任医师, 300170, 天津市河东区津塘路83号, 天津市第三中心医院消化肝病科, 天津市肝胆疾病研究所, 天津市人工细胞工程技术研究中心. llffyy213@sohu.com

收稿日期: 2021-01-28
修回日期: 2021-02-20
接受日期: 2021-03-26
在线出版日期: 2021-05-08

Nutritional status and energy metabolism in elderly patients with nonalcoholic fatty liver disease

Fang Liu, Qing Ye, Jing Liang, Ying-Ying Cao, Li-Li Shi, Xue Zhao, Hui-Ling Xiang

Fang Liu, Qing Ye, Jing Liang, Ying-Ying Cao, Li-Li Shi, Xue Zhao, Hui-Ling Xiang, Tianjin Third Central Hospital, Tianjin Institute of Hepatobiliary Disease, Artificial Cell Engineering Technology Research Center, Tianjin 300170, China

Supported by: Tianjin Science and Technology Plan Project, No.19ZXDBSY00030.

Corresponding author: Hui-Ling Xiang, Chief Physician, Tianjin Third Central Hospital, Tianjin Institute of Hepatobiliary Disease, Artificial Cell Engineering Technology Research Center, No. 83 Jintang Road, Hedong District, Tianjin 300170, China. llffyy213@sohu.com

Received: 2021-01-28
Revised: 2021-02-20
Accepted: 2021-03-26
Published online: 2021-05-08

Abstract

BACKGROUND

With the aging of global population and the increase in the incidence of NAFLD, the research of elderly NAFLD population is particularly important.

AIM

To study the nutritional status and energy metabolism in elderly patients with nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) to provide evidence for disease evaluation, clinical monitoring, and treatment intervention.

METHODS

One hundred and eighteen elderly patients (≥ 60 years) with NAFLD were enrolled at Department of Gastroenterology Tianjin Third Central Hospital from January 2017 to January 2019. A non-NAFLD group consisting of non-NAFLD volunteers ⩾ 60 years was also included. Nutritional status and energy metabolism were evaluated with a body composition analyzer and metabolic cart (anthropometric measurement, clinical biochemical examination, *etc.*).

RESULTS

Body composition analysis showed that the waist-to-hip fat ratio and body fat content of the NAFLD group were significantly higher (waist-to-hip fat ratio 0.95 *vs* 0.92, body fat 27.20 *vs* 19.60 kg, $P < 0.05$) compared with those of the non-NAFLD group. The results of metabolic vehicle showed that the resting energy expenditure (REE) of the NAFLD group was increased (1769.00 *vs* 1706.00 *vs* 1323.00). In elderly NAFLD patients, body fat, waist-to-hip fat ratio, basal metabolism, and REE in the mild fatty liver group were significantly lower than those in the

moderate-severe fatty liver group.

CONCLUSION

In elderly patients with NAFLD, there are nutritional imbalance and energy metabolism disorder. The nutritional status and energy metabolism of elderly NAFLD patients can be comprehensively evaluated and monitored with a body composition analyzer and metabolic vehicle, so as to provide evidence for disease intervention.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Nonalcoholic fatty liver disease; Elderly; Bioelectric impedance analysis; Resting energy expenditure; Nutritional and metabolic status

Citation: Liu F, Ye Q, Liang J, Cao YY, Shi LL, Zhao X, Xiang HL. Nutritional status and energy metabolism in elderly patients with nonalcoholic fatty liver disease. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2021; 29(9): 467-473
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i9/467.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i9.467

摘要

背景

随着全球人口老龄化和非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)增长, 老年NAFLD人群特点的研究尤为重要.

目的

观察老年NAFLD患者的营养状态和能量代谢特点.

方法

回顾性分析2017-01/2019-01天津市第三中心医院消化科就诊的NAFLD老年患者118例, 进行人体成分分析仪分析及应用代谢车评估营养及能量代谢指标, 与老年非脂肪肝组进行比较. 统计分析中正态分布计量资料采用独立样本*t*检验, 非正态分布计量资料采用Mann-Whitney *U*检验, 二元Logistic回归分析老年NAFLD发生的危险因素.

结果

人体成分分析显示老年NAFLD组腰臀脂肪比、体脂肪含量较老年非脂肪肝组明显增加(腰臀脂肪比0.95 *vs* 0.92, 体脂肪27.20 kg *vs* 19.60 kg, $P<0.005$); 代谢车测定结果显示老年NAFLD组静息能量消耗均高于老年非脂肪肝组(1769.00 kcal/d *vs* 1323.00 kcal/d, $P<0.05$); 进一步比较老年NAFLD患者轻度脂肪肝组与中重度脂肪肝组, 轻度脂肪肝组体脂肪、腰臀脂肪比、基础代谢、静息能量消耗明显低于中重度脂肪肝患者.

结论

在老年NAFLD患者中存在营养失衡和能量代谢紊乱, 随脂肪肝程度加重更为显著, 通过人体成分分析仪和代谢车以综合评价和监测老年NAFLD患者的营养及能量代谢状态, 为疾病干预治疗提供依据.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 非酒精性脂肪性肝病; 老年; 生物电阻抗分析; 静息能量消耗; 营养及能量代谢

核心提要: 随着全球人口老龄化和非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)增长, 老年NAFLD人群特点的研究尤为重要. 在老年NAFLD患者中存在营养失衡和能量代谢紊乱, 随脂肪肝程度加重更为显著, 通过人体成分分析仪和代谢车以综合评价和监测老年NAFLD患者的营养及能量代谢状态, 为疾病干预治疗提供依据.

文献来源: 刘芳, 叶青, 梁静, 曹影影, 史利利, 赵雪, 向慧玲. 老年非酒精性脂肪性肝病的营养状况及能量代谢特点. 世界华人消化杂志 2021; 29(9): 467-473
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i9/467.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i9.467

0 引言

目前非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)已成为全球普遍关注的医学问题和社会问题[1], NAFLD以营养过剩和代谢紊乱为特点, 与代谢综合征密切相关[2,3], 其发生率逐年增加, 部分患者可进展成为肝纤维化、肝硬化甚至肝癌, 尽管心血管疾病是NAFLD患者死亡的主要原因, 而肝脏相关死亡率呈明显增加趋势[4-6], 在未来几十年中, NAFLD可能会成为晚期肝病的主要病因[7]. 随着人口老龄化的加速, 未来老年NAFLD患者数量将继续增加, 因此对老年NAFLD人群特点的研究至关重要. 在本研究中着重探讨老年NAFLD人群的体脂肪相关指标、骨骼肌含量和基础代谢、静息能量消耗的变化, 为老年NAFLD的疾病评估和临床监测、干预治疗提供依据.

1 材料和方法

1.1 材料 以2017-01/2019-01天津市第三中心医院消化科就诊的B超符合脂肪肝的非酒精性脂肪性肝病(NAFLD)的老年患者为研究对象, 依腹部B超结果分为轻度脂肪肝组和中重度脂肪肝组.

纳入标准: (1)NAFLD入选对象诊断依据2018年中华医学会肝脏病学分会脂肪肝和酒精性肝病学组修订

的《非酒精性脂肪性肝病诊疗指南》[8]的诊断标准; (2)年龄≥60岁; (3)临床资料完整.

排除标准: (1)长期饮酒史, 酒精量男>30 g/d ,女>20 g/d, 连续5年以上; (2)合并有病毒性肝炎、药物性肝损伤、自身免疫性肝病、遗传性肝病; 肝硬化; (3)合并恶性肿瘤、其他严重心、肺、肾等重要脏器疾病、感染性疾病、甲状腺疾病、贫血; (4)失访或数据不完整的患者.

将同时期进行门诊检查的≥60岁老年非脂肪肝组作为对照组, 符合上述排除标准.

本研究获得天津市第三中心医院伦理委员会审查通过. 所有纳入人员均签署知情同意书.

1.2 方法

1.2.1 人体指标检测: 测量身高、体重、腰围(取通过腋中线肋弓最低点和髂前上嵴最高点的中点沿腰围一周的距离)、臀围(沿臀部最膨隆处测量的距离), 计算腰臀比及身体质量指数(body mass index, BMI).

1.2.2 临床生化学指标及无创肝脏脂肪含量检测: 取血前24 h内禁止服用降脂药物, 禁食高脂肪食物和酒类; 检测临床生化学指标, 如血糖(glucose, GLU)、糖化血红蛋白(hemoglobin A1c, HbA1c)、血脂分析、游离脂肪酸(free fat acid, FFA)、肝功能[包括丙氨酸基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)]、肾功能[包括肌酐(creatnine, Cr)], 其中血脂分析包括甘油三酯(triglyceride, TG)、总胆固醇(total cholesterol, TC)、高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDLC)、低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDLC)、极低密度脂蛋白胆固醇(very low density lipoprotein cholesterol, VLDLC). 无创肝脏脂肪评估(受控衰减参数controlled attenuation parameter, CAP)采用瞬时弹性成像技术进行肝脏脂肪含量检测(设备型号为Fibrotouch-B).

1.2.3 人体成分分析测定: 采用韩国产BiosPace Inbody 720型人体成分分析仪(多频生物电阻抗法)测定细胞内水、细胞外水、身体细胞量、骨矿物量、骨骼肌、蛋白质、脂肪、腰臀脂肪比含量等情况.

1.2.4 代谢车的测定: 采用美国SensorMedics公司生产的Vmax229全自动肺功能诊断及代谢检测系统(简称代谢车)进行基础代谢测定, 经气体分析装置分析吸进及呼出气体中O_2和CO_2浓度, 计算出该时间段内的耗氧量(VO_2)和产生的二氧化碳(VCO_2), 输入24 h尿总氮值(UN), 根据Weir公式: [3.941(VO_2)+1.11(VCO_2)]×1.44-2.17(UN), 计算出实测的静息能量消耗(rest energy expenditure, REE, Kcal/day).

统计学处理 采用SPSS 22.0统计软件进行统计分析. 计数资料采用构成比或率(%)进行统计描述, 组间比较采用χ^2检验; 正态分布的计量资料用(mean±SD)表示, 两组间比较采用独立样本t检验, 非正态分布的计量资料应用中位数M(P_{25}-P_{75})表示, 两组间比较采用非参数秩和检验(Mann-Whitney U检验), 采用二元Logistic回归分析老年NAFLD发生的危险因素. 所有的统计分析均基于双侧假设检验, P<0.05具有统计学意义.

2 结果

2.1 研究人群基本特征、临床生化学指标及无创肝脏脂肪含量检测比较 纳入118例老年NAFLD患者为研究对象, 其中男46例, 女72例, 年龄60-83岁, 平均71.35岁. 表1显示了研究人群的基本参数. 在老年NAFLD组及老年非脂肪肝组间性别均无统计学差异; 老年NAFLD组BMI及腰臀比、腰围、臀围均高于老年非脂肪肝组(P值均<0.05); 临床生化学指标及无创肝脏脂肪含量检测结果, 老年NAFLD组GLU、HbA1c、TG、VLDLC、CAP均高于老年非脂肪肝组(P<0.05).

2.2 研究人群的人体成分分析及代谢指标比较 表2中人体成分分析及代谢率指标结果显示, 老年NAFLD组细胞内水、细胞外水、身体细胞量、蛋白质、体脂肪、腰臀脂肪比、基础代谢、静息能量消耗均明显高于老年非脂肪肝组(P<0.05), 骨骼肌呈下降趋势(P = 0.058).

2.3 老年NAFLD发生的危险因素分析 在研究的老年人群中, 应用二元Logistic回归分析结果显示, 在校正性别、年龄、 生化学指标等变量后, BMI、腰围、体脂肪、腰臀脂肪比是老年NAFLD发生的危险因素, 结果见表3.

2.4 老年NAFLD人群中不同程度脂肪肝之间比较 本研究老年NAFLD患者中, 在轻度脂肪肝组及中重度脂肪肝组的年龄及性别均无统计学差异(年龄70岁 *vs* 73岁, P = 0.055; 男性比例37.21% *vs* 40.00%, P = 0.765); 轻度脂肪肝组BMI、腰臀比、腰围、臀围低于中重度脂肪肝组(P值均<0.05), 结果见图1; 两组生化学指标比较见图2, 其中TG、VLDLC明显低于中重度脂肪肝组(P值分别为0.001和0.006), HDLC则高于中重度脂肪肝组(P = 0.031); 表4显示在人体成分分析的指标中, 轻度脂肪肝组细胞内水、细胞外水、身体细胞量、蛋白质、基础代谢、体脂肪、腰臀脂肪比、基础代谢、静息能量消耗与中重度脂肪肝组比较, 则明显降低(P<0.05), 中重度老年脂肪肝组骨骼肌含量呈下降趋势 (P = 0.068).

表 1　研究人群的临床特征比较

	老年NAFLD组(*n* = 118)	老年非脂肪肝组(*n* = 40)	*t*/*Z*	*P*值
年龄(年)	71.00(65.00–76.00)	68.00(64.50–71.00)	–0.397	0.691
BMI(kg/m^2)	28.60(26.05–30.70)	24.90(23.40–26.35)	–5.025	0
腰臀比	0.95(0.90–0.99)	0.92(0.88–0.97)	–2.701	0.007
腰围(cm)	95.98 ± 10.42	85.00 ± 3.60	5.3	0
臀围(cm)	101.00(95.50–110.00)	90.00(88.00–91.50)	–3.644	0
GLU(mmol/L)	7.79(5.83–10.26)	5.21(5.04–5.80)	–1.95	0.049
HbA1c	8.30(7.45–10.90)	7.40(7.30–7.80)	–2.248	0.025
TG(mmol/L)	1.73(1.34–2.69)	1.07(1.05–1.56)	–2.213	0.027
TC(mmol/L)	4.84 ± 1.08	4.53 ± 1.00	1.334	0.184
HDLC(mmol/L)	0.91(0.83–1.09)	0.77(0.66–0.92)	–0.045	0.964
LDLC(mmol/L)	2.71 ± 1.25	2.02 ± 0.60	0.366	0.715
VLDLC(mmol/L)	1.11(0.78–1.43)	0.81(0.74–1.11)	–1.986	0.047
FFA(μmol/L)	527.80(430.35–663.80)	547.20(505.10–551.65)	–0.616	0.538
ALT(U/L)	21.00(14.50–36.50)	10.00(8.50–28.50)	–1.77	0.077
Cr(μmol/L)	65.00(51.00–80.50)	56.00(56.00–58.50)	–0.998	0.318
CAP(dB/m)	283.80 ± 35.75	249.33 ± 5.69	4.018	0

BMI: 身体质量指数; GLU: 血糖; HbA1c: 糖化血红蛋白; TG: 甘油三酯; TC:总胆固醇; HDLC: 高密度脂蛋白胆固醇; LDLC: 低密度脂蛋白胆固醇; VLDLC: 极低密度脂蛋白胆固醇; FFA: 游离脂肪酸; ALT: 丙氨酸基转移酶; Cr: 肌酐; CAP: 受控衰减参数; NAFLD: 非酒精性脂肪性肝病.

表 2　人体成分分析及代谢率指标比较

	老年NAFLD组	老年非脂肪肝组	*t*/*Z*	*P*值
细胞内水	21.19 ± 3.94	18.77 ± 1.47	3.363	0.001
细胞外水	13.58 ± 2.47	12.47 ± 1.53	3.518	0.001
身体细胞量(kg)	30.65 ± 5.89	26.83 ± 2.06	3.518	0.001
骨矿物量(kg)	2.66 ± 0.45	2.63 ± 0.26	1.851	0.066
骨骼肌(kg)	25.19 ± 5.55	26.02 ± 4.17	1.911	0.061
蛋白质(kg)	9.25 ± 1.78	8.10 ± 0.62	3.501	0.001
体脂肪(kg)	27.20(24.00–30.65)	19.60(19.30–23.90)	–4.448	0.000
腰臀脂肪比	0.95 ± 0.05	0.92 ± 0.03	3.002	0.003
基础代谢(kcal/d)	1395.41 ± 191.29	1286.67 ± 87.36	3.556	0.001
静息能量消耗(kcal/d)	1769.00(1546.00–2098.50)	1323.00(1255.00–1336.00)	–2.025	0.043

NAFLD: 非酒精性脂肪性肝病.

3 讨论

中国老龄化的挑战日益突显, 其中NAFLD问题更为普遍, NAFLD是遗传易感、环境因素和宿主代谢紊乱相互作用导致的复杂疾病, NAFLD发生与代谢综合征互为因果[9], 尽管NAFLD患者中存在非肥胖型NAFLD[10], 但是肥胖仍然是NAFLD发生的重要因素, 与NAFLD患病率及其严重程度密切相关. 在我们的研究老年NAFLD组肥胖型(BMI≥25 kg/m^2)[11]比例达90%, 提示肥胖型NAFLD为主导, 老年NAFLD患者BMI、腰围、臀围、腰臀比明显升高, 且与老年脂肪肝的严重程度相关, 多因素二元Logistic回归分析结果显示随BMI、腰围增加发生NAFLD的风险明显增加, 较臀围、腰臀比更能反映老年NAFLD发病风险.

BMI作为评估和诊断肥胖程度的关键指标, 但在人体肌肉及脂肪组织的成分分析却存在一定局限性, 而人体成分分析能够测量肌肉、蛋白、脂肪和细胞内外水分等不同成分的含量, 目前认为生物电阻抗法(bio-electrical impedance analysis, BIA)人体成分分析技术是一个可靠、简便、安全的营养状态及体型判断的无创评估手段[12]. 在我们的研究中, 老年NAFLD患者脂肪组织明显增加, 同时细胞内水、细胞外水、身体细胞量也增加, 其中体脂肪及腰臀脂肪比是老年NAFLD的独立危

表 3　老年NAFLD发生的危险因素分析

老年NAFLD(是/否)	OR (95%CI)	*P*值
BMI	1.531 (1.031–2.274)	0.035
腰围	1.129 (1.035–1.231)	0.006
体脂肪	1.363 (1.151–1.614)	0.000
腰臀脂肪比	1.172 (1.004–1.364)	0.044

BMI: 身体质量指数; NAFLD: 非酒精性脂肪性肝病.

表 4　老年脂肪肝人群中不同程度脂肪肝之间比较

	老年脂肪肝	老年脂肪肝	*t*/*Z*	*P*值
	轻度脂肪肝组(*n* = 47)	中重度脂肪肝组(*n* = 71)		
细胞内水	19.29 ± 3.06	22.74 ± 3.95	–3.604	0
细胞外水	12.36 ± 1.74	14.58 ± 2.55	–3.396	0.001
身体细胞量(kg)	27.63 ± 4.38	33.11 ± 5.87	–3.899	0
骨骼肌(kg)	25.91 ± 6.24	25.03 ± 5.11	1.852	0.068
蛋白质(kg)	8.33 ± 1.32	9.99 ± 1.78	–3.824	0
体脂肪(kg)	24.85(19.88–27.05)	28.70(26.20–33.80)	–5.191	0
腰臀脂肪比	0.92 ± 0.05	0.97 ± 0.04	–5.277	0
基础代谢(kcal/d)	1299.27 ± 140.81	1473.74 ± 193.25	–3.797	0
静息能量消耗(kcal/d)	1686.50(1504.50–1828.50)	1802.00(1663.00–2155.00)	–2.531	0.011

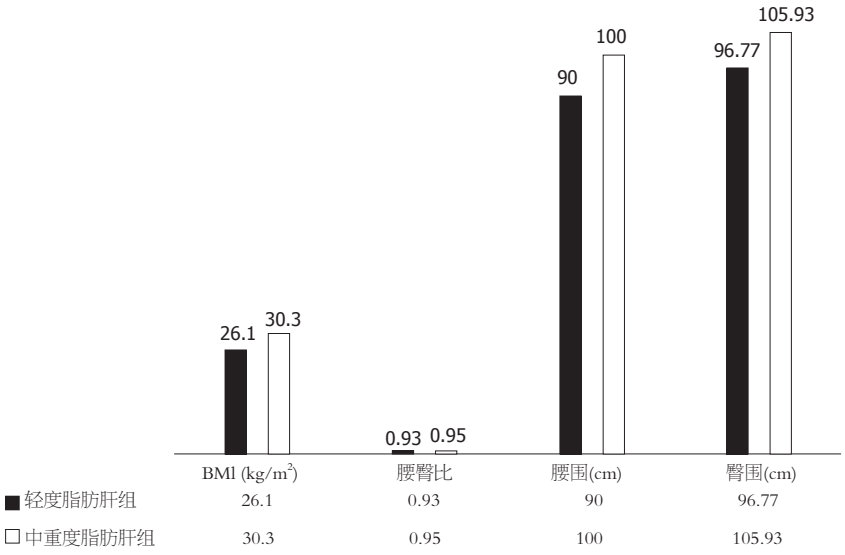


图 1　老年NAFLD人群中不同程度脂肪肝之间人体指标比较. NAFLD: 非酒精性脂肪性肝病.

险因素, 与老年NAFLD发生密切相关, 老年脂肪肝患者体脂分布异常, 随着体脂肪、腰臀脂肪比的增加, 脂肪肝程度明显加重. 先前有研究显示随BMI增加则机体具有更多的细胞(如脂肪细胞等), Balakrishnan等[13]针对48例NAFLD患者的研究也提出人体脂肪量与NAFLD发生风险显著相关, 每增加5 kg, NAFLD风险明显增加(OR: 1.27, 95%CI: 1.04-1.54), 我们的结果与这些研究一致.

衰老导致身体成分发生变化, 特别是肌肉含量的减少, 成为机体能量消耗随着年龄的增加而降低的重要因素[14]. 静息能量消耗(rest energy expenditure, REE)占人体总能量消耗的60%-70%, 略高于在更严格条件下测得的基础代谢率. 通过测量REE可以间接反映机体的能量需求, 以维持机体正常功能和人体觉醒状态, 目前这种间接量热法已经取代直接量热法成为临床工作中最常

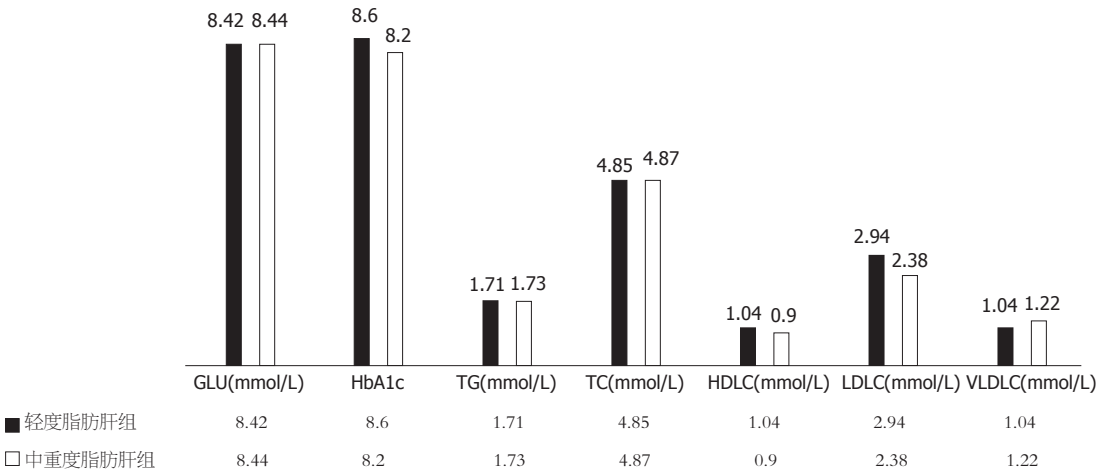


图 2　老年NAFLD人群中不同程度脂肪肝之间生化学指标比较. NAFLD: 非酒精性脂肪性肝病; GLU: 血糖; HbA1c: 糖化血红蛋白; TG: 甘油三酯; TC: 总胆固醇; HDLC: 高密度脂蛋白胆固醇; LDLC: 低密度脂蛋白胆固醇; VLDLC: 极低密度脂蛋白胆固醇.

用的测定人体能量消耗的一种方法[15]. 一项纳入301例NAFLD患者的研究[16]认为NAFLD患者的代谢消耗明显升高, 与对照组相比, NAFLD患者REE更高(1523 kcal *vs* 1464 kcal, $P = 0.005$),而且较高的脂肪变性水平与较高的代谢消耗显著相关. 我们针对老年NAFLD人群的研究也得出相同结论, 老年NAFLD患者REE明显升高, 在中重度脂肪肝患者尤为突出, 即老年NAFLD严重程度越高, 其REE值越高, 可能与体重增加、肥胖有关, 由于肥胖人群机体组织结构失衡和代谢紊乱[17], 具有更高的能量需求, 因此BMI不同则REE并不相同, 有研究提出REE在评估和管理肥胖相关的心脑血管疾病、糖尿病、代谢综合征等起着核心作用[18]. 有研究提出[16], 具有高REE患者体重下降更快, 消耗的蛋白质可能比碳水化合物多, 因此, NAFLD患者的治疗干预可以参考其人体成分分析的改变进行更精准研究, 为患者制定个体化方案.

本研究仍然存在一定的不足, 该研究为观察性研究, 且为单中心数据, 为减少可能存在的偏倚, 在今后的研究中, 尚需进一步开展多中心、大样本和前瞻性研究, 为老年NAFLD营养和代谢的临床特点提供数据支持.

4 结论

总之, 本研究探讨老年NAFLD患者人体结构方面改变, BMI、腰围、臀围、腰臀比增加, 体脂肪、腰臀脂肪比升高, 伴静息能量消耗增加, 同时合并血糖升高、血脂异常, 表现出明显的营养失衡和能量代谢紊乱, 在临床工作中可以综合人体成分分析来评估老年NAFLD患者的营养及能量代谢状态, 特别是超重、肥胖患者的身体评估至关重要, 及时发现潜在风险, 综合管理, 对预防和延缓老年NAFLD进展提供新的预警策略.

文章亮点

实验背景

由于非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)可能会成为晚期肝病的主要病因. 人口老龄化导致老年NAFLD患者数量增加, 因此对老年NAFLD人群特点的研究至关重要.

实验动机

运用人体成分分析仪及代谢车分析老年NAFLD的营养及能量代谢特点,以期为评估疾病状况及治疗提供参考.

实验目标

本篇论文研究的主要目标是探讨人体成分分析仪及代谢车的应用在老年NAFLD营养及能量代谢状况的评估作用. 结果显示老年NAFLD的营养状况和能量代谢特点, 为临床提供一种全新评估方法.

实验方法

本篇论文为了达到目标, 运用人体成分分析仪及代谢车对老年NAFLD及严重程度进行回顾性数据分析.

实验结果

本篇论文研究达到了实验目标, 研究结果显示老年NAFLD的腰臀脂肪比、体脂肪含量明显增加($P<0.005$), 静息能量消耗均高于老年非脂肪肝组($P<0.05$); 而且老年NAFLD随脂肪肝程度加重, 体脂肪、腰臀脂肪比、基础代谢、静息能量消耗的升高更为显著. 本研究结果说明应用人体成分分析仪及代谢车, 有助于临床上更全面准确的对老年NAFLD的疾病状况进行评估.

实验结论

老年NAFLD患者人体结构方面改变, 特别是体脂肪、腰臀脂肪比升高, 伴静息能量消耗增加, 表现出明显的营养失衡和能量代谢紊乱, 通过人体成分分析及及代谢车可以综合评估老年NAFLD患者的营养及能量代谢状态, 特别是超重、肥胖患者的身体评估至关重要, 对预防和延缓老年NAFLD进展提供新的预警策略.

展望前景

该研究为回顾性观察研究, 且为单中心数据, 未来研究的方向, 为减少可能存在的偏倚, 尚需进一步开展多中心、大样本和前瞻性研究.

5 参考文献

1 Kim SK, Kim KI, Kim SR. Overview of Nonalcoholic Fatty Liver Disease/Nonalcoholic Steatohepatitis Management. *Yakugaku Zasshi* 2019; 139: 1147-1153 [PMID: 31474630 DOI: 10.1248/yakushi.19-00011-1]

2 Sheka AC, Adeyi O, Thompson J, Hameed B, Crawford PA, Ikramuddin S. Nonalcoholic Steatohepatitis: A Review. *JAMA* 2020; 323: 1175-1183 [PMID: 32207804 DOI: 10.1001/jama.2020.2298]

3 Polyzos SA, Kountouras J, Mantzoros CS. Obesity and nonalcoholic fatty liver disease: From pathophysiology to therapeutics. *Metabolism* 2019; 92: 82-97 [PMID: 30502373 DOI: 10.1016/j.metabol.2018.11.014]

4 Wang XJ, Malhi H. Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Ann Intern Med* 2018; 169: ITC65-ITC80 [PMID: 30398639 DOI: 10.7326/AITC201811060]

5 Dhanasekaran R, Felsher DW. A Tale of Two Complications of Obesity: NASH and Hepatocellular Carcinoma. *Hepatology* 2019; 70: 1056-1058 [PMID: 30958566 DOI: 10.1002/hep.30649]

6 Ge X, Zheng L, Wang M, Du Y, Jiang J. Prevalence trends in non-alcoholic fatty liver disease at the global, regional and national levels, 1990-2017: a population-based observational study. *BMJ Open* 2020; 10: e036663 [PMID: 32747349 DOI: 10.1136/bmjopen-2019-036663]

7 Younossi Z, Anstee QM, Marietti M, Hardy T, Henry L, Eslam M, George J, Bugianesi E. Global burden of NAFLD and NASH: trends, predictions, risk factors and prevention. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2018; 15: 11-20 [PMID: 28930295 DOI: 10.1038/nrgastro.2017.109]

8 中华医学会肝病学分会脂肪肝和酒精性肝病学组. 非酒精性脂肪性肝病防治指南(2018年更新版). 中华肝脏病杂志 2018; 16: 195-203 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-3418.2018.03.008]

9 Kim D, Touros A, Kim WR. Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Metabolic Syndrome. *Clin Liver Dis* 2018; 22: 133-140 [PMID: 29128053 DOI: 10.1016/j.cld.2017.08.010]

10 Ye Q, Zou B, Yeo YH, Li J, Huang DQ, Wu Y, Yang H, Liu C, Kam LY, Tan XXE, Chien N, Trinh S, Henry L, Stave CD, Hosaka T, Cheung RC, Nguyen MH. Global prevalence, incidence, and outcomes of non-obese or lean non-alcoholic fatty liver disease: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Gastroenterol Hepatol* 2020; 5: 739-752 [PMID: 32413340 DOI: 10.1016/S2468-1253(20)30077-7]

11 Papatheodoridi M, Cholongitas E. Diagnosis of Non-alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD): Current Concepts. *Curr Pharm Des* 2018; 24: 4574-4586 [PMID: 30652642 DOI: 10.2174/1381612825666190117102111]

12 Kivimäki M, Kuosma E, Ferrie JE, Luukkonen R, Nyberg ST, Alfredsson L, Batty GD, Brunner EJ, Fransson E, Goldberg M, Knutsson A, Koskenvuo M, Nordin M, Oksanen T, Pentti J, Rugulies R, Shipley MJ, Singh-Manoux A, Steptoe A, Suominen SB, Theorell T, Vahtera J, Virtanen M, Westerholm P, Westerlund H, Zins M, Hamer M, Bell JA, Tabak AG, Jokela M. Overweight, obesity, and risk of cardiometabolic multimorbidity: pooled analysis of individual-level data for 120 813 adults from 16 cohort studies from the USA and Europe. *Lancet Public Health* 2017; 2: e277-e285 [PMID: 28626830 DOI: 10.1016/S2468-2667(17)30074-9]

13 Balakrishnan M, El-Serag HB, Nguyen T, Hilal J, Kanwal F, Thrift AP. Obesity and Risk of Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Comparison of Bioelectrical Impedance Analysis and Conventionally-Derived Anthropometric Measures. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2017; 15: 1965-1967 [PMID: 28642206 DOI: 10.1016/j.cgh.2017.06.030]

14 Kitazoe Y, Kishino H, Tanisawa K, Udaka K, Tanaka M. Renormalized basal metabolic rate describes the human aging process and longevity. *Aging Cell* 2019; 18: e12968 [PMID: 31187606 DOI: 10.1111/acel.12968]

15 Pisanu S, Deledda A, Loviselli A, Huybrechts I, Velluzzi F. Validity of Accelerometers for the Evaluation of Energy Expenditure in Obese and Overweight Individuals: A Systematic Review. *J Nutr Metab* 2020; 2020: 2327017 [PMID: 32832147 DOI: 10.1155/2020/2327017]

16 Reddavide R, Cisternino AM, Inguaggiato R, Rotolo O, Zinzi I, Veronese N, Guerra V, Fucilli F, Di Giovanni G, Leandro G, Giannico S, Caruso MG. Non-Alcoholic Fatty Liver Disease is Associated with Higher Metabolic Expenditure in Overweight and Obese Subjects: A Case-Control Study. *Nutrients* 2019; 11 [PMID: 31394881 DOI: 10.3390/nu11081830]

17 Smith RL, Soeters MR, Wüst RCI, Houtkooper RH. Metabolic Flexibility as an Adaptation to Energy Resources and Requirements in Health and Disease. *Endocr Rev* 2018; 39: 489-517 [PMID: 29697773 DOI: 10.1210/er.2017-00211]

18 Amaro-Gahete FJ, Jurado-Fasoli L, De-la-O A, Gutierrez Á, Castillo MJ, Ruiz JR. Accuracy and Validity of Resting Energy Expenditure Predictive Equations in Middle-Aged Adults. *Nutrients* 2018; 10 [PMID: 30400196 DOI: 10.3390/nu10111635]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: https://www.baishideng.com

世界华人消化杂志 2021年5月8日; 29(9): 474-478

DOI: 10.11569/wcjd.v29.i9.474

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

临床研究 CLINICAL RESEARCH

直肠癌动态增强磁共振成像定量灌注参数与血管内皮生长因子、微血管密度的相关性

陈抚标, 唐 鸿, 张心荣

陈抚标, 唐鸿, 浙江省德清县人民医院放射科(邵逸夫医院德清院区) 浙江省湖州市313200

张心荣, 浙江省德清县人民医院超声科(邵逸夫医院德清院区) 浙江省湖州市313200

陈抚标, 主治医师, 主要从事放射诊断工作.

作者贡献分布: 此课题由陈抚标设计, 研究过程由陈抚标, 唐鸿, 张心荣共同操作完成, 研究所用新试剂及分析工具由陈抚标提供, 数据分析及论文写作由陈抚标完成.

通讯作者: 张心荣, 主治医师, 313200, 浙江省湖州市德清县武康镇英溪南路120号, 浙江省德清县人民医院超声科. zhangxinrong2018@163.com

收稿日期: 2021-01-19
修回日期: 2021-02-15
接受日期: 2021-03-27
在线出版日期: 2021-05-08

Correlation of dynamic contrast-enhanced magnetic resonance quantitative perfusion parameters with vascular endothelial growth factor expression and microvessel density in rectal cancer

Fu-Biao Chen, Hong Tang, Xin-Rong Zhang

Fu-Biao Chen, Hong Tang, Department of Radiology, Deqing People's Hospital, Huzhou 313200, Zhejiang Province, China

Xin-Rong Zhang, Department of Ultrasonography, Deqing People's Hospital, Huzhou 313200, Zhejiang Province, China

Corresponding author: Xin-Rong Zhang, Chief Physician, Department of Ultrasonography, Deqing People's Hospital, No. 120 Yingxi South Road, Wukang, Deqing, Huzhou 313200, Zhejiang Province, China. zhangxinrong2018@163.com

Received: 2021-01-19
Revised: 2021-02-15
Accepted: 2021-03-27
Published online: 2021-05-08

Abstract

BACKGROUND

Dynamic contrast-enhanced magnetic resonance imaging (DCE-MRI) plays a very important role in assessing tumor nature, blood perfusion, prognosis, and so on. DCE-MRI can quantitatively analyze the blood perfusion state of tumor microcirculation, which can provide valuable hemodynamic information for clinical preoperative evaluation.

AIM

To investigate the correlation of quantitative perfusion parameters of DCE-MRI with vascular endothelial growth factor (VEGF) expression and microvessel density (MVD) in rectal cancer.

METHODS

Sixty-five patients with rectal cancer who were scheduled for surgical resection at our hospital were selected. All patients were examined by DCE-MRI before operation. The quantitative perfusion parameters including forward transport constant (K^{trans}), reverse transport constant (Kep), volume fraction (Ve), and area under the starting curve (iAUC) of the lesion and normal rectal wall were measured. The MVD and VEGF expression were measured by immunohistochemistry. The correlation of DCE-MRI quantitative perfusion parameters with VEGF expression and MVD in rectal cancer was then analyzed.

RESULTS

K^{trans}, Kep, Ve, and iAUC in rectal cancer lesions were significantly higher than those in the normal rectal wall ($P < 0.05$). MVD and VEGF expression in rectal cancer

lesions were significantly higher than those in the normal rectal wall (P < 0.05). K^{trans}, Kep, Ve, and iAUC were positively correlated with MVD (r = 0.76, 0.70, 0.46, and 0.68, respectively, P < 0.05) and VEGF expression (r = 0.72, 0.67, 0.41, and 0.64, respectively, P < 0.05).

CONCLUSION

DCE-MRI quantitative perfusion parameters in rectal cancer can effectively reflect the blood perfusion state of the lesions, and there is a high correlation between K^{trans} and MVD and VEGF expression, which can provide valuable reference for preoperative evaluation of this malignancy.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Rectal cancer; Magnetic resonance imaging; Perfusion; Microvessel density; Vascular endothelial growth factor

Citation: Chen FB, Tang H, Zhang XR. Correlation of dynamic contrast-enhanced magnetic resonance quantitative perfusion parameters with vascular endothelial growth factor and microvessel density in rectal cancer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2021; 29(9): 474-478

URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i9/474.htm

DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i9.474

摘要

背景

动态增强磁共振成像在肿瘤性质, 血流灌注, 预后评估等方面发挥着十分重要的作用. 动态增强磁共振成像能定量分析肿瘤组织微循环血流灌注状态, 可为临床术前评估提供有价值的血流动力学信息.

目的

探讨直肠癌动态增强磁共振成像(dynamic contrast-enhanced magnetic resonance image, DCE-MRI)定量灌注参数与血管内皮生长因子、微血管密度的相关性.

方法

选取在我院拟行手术切除治疗的65例直肠癌患者作为研究对象. 所有患者术前均行DCE-MRI检查, 测定病灶及其周围正常直肠壁的定量灌注参数: 正向转运常数(forward transport constant, K^{trans})、反向转运常数(reverse transport constant, Kep)、容积分数(volume fraction, Ve)和起始曲线下面积(area under the starting curve, iAUC). 采用免疫组织化学方法测定术后标本的血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)表达水平、微血管密度(microvessel density, MVD), 分析DCE-MRI定量灌注参数与VEGF、MVD的相关性.

结果

直肠癌病灶的K^{trans}、Kep、Ve和iAUC均明显高于正常直肠壁, 差异均有统计学意义(均P<0.05); 直肠癌病灶的MVD和VEGF表达水平均明显高于正常直肠壁, 差异均有统计学意义(均P<0.05); K^{trans}、Kep、Ve和iAUC与MVD均呈正相关, 相关系数分别为r = 0.76、r = 0.70、r = 0.46、r = 0.68(均P<0.05); 与VEGF表达水平均呈正相关, 相关系数分别为r = 0.72、r = 0.67、r = 0.41、r = 0.64(均P<0.05).

结论

直肠癌DCE-MRI定量灌注参数能有效反映病灶的血流灌注状态, 其中K^{trans}与MVD、VEGF表达水平具有较好相关性, 可为术前评估提供有价值的参考.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 直肠癌; 磁共振成像; 灌注; 微血管密度; 血管内皮生长因子

核心提要: 直肠癌动态增强磁共振成像(dynamic contrast-enhanced magnetic resonance image, DCE-MRI)能准确反映肿瘤组织的血流灌注分布. 运用DCE-MRI定量分析直肠癌组织的微循环血流灌注, 为术前评估病灶新生血管状态提供参考.

文献来源: 陈抚标, 唐鸿, 张心荣. 直肠癌动态增强磁共振成像定量灌注参数与血管内皮生长因子、微血管密度的相关性. 世界华人消化杂志 2021; 29(9): 474-478

URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i9/474.htm

DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i9.474

0 引言

血管生成对于肿瘤的生长和发展是必不可少的[1]. 在直肠癌中, 血管生成与跨壁扩散、淋巴转移和远处血行转移密切相关[2]. 血管生成状态的评估方法有直接法和间接法. 直接法一直被认为是评价的“金标准”, 如检测组织标本的微血管密度(microvessel density, MVD)和血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)等, 但存在耗时长、侵入性强、重复性差等缺点[3]. 直肠癌动态增强磁共振成像(dynamic contrast-enhanced magnetic resonance image, DCE-MRI)可通过对比剂在肿瘤组织中的分布状态分析肿瘤组织的血管灌注变化, 从而间接反映其血管形成及生物学行为. 本研究旨在探讨DCE-MRI定量灌注参数与VEGF、MVD的相关性, 以期为临床诊治提供有价值的参考.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2018-05/2020-11期间, 在我院拟行手术切除治疗的65例直肠癌患者作为研究对象. 其中男42例, 女23例, 平均年龄(53.5±13.4)岁. 纳入标准: (1)均经肠

表 1 DCE-MRI定量灌注参数比较

组别/参数	K^{trans}(min^{-1})	Kep(min^{-1})	Ve	iAUC(mmol × L^{-1} × s)
直肠癌	0.23 ± 0.05[b]	0.92 ± 0.3[b]	0.41 ± 0.25[b]	4.68 ± 1.73[b]
正常直肠壁	0.09 ± 0.02	0.57 ± 0.21	0.25 ± 0.11	2.07 ± 0.71
T/*P*值	22.391/0.000	7.711/0.000	4.913/0.000	11.157/0.000

[b]*P*<0.01, 与正常直肠壁比较. DCE-MRI: 直肠癌动态增强磁共振成像; K^{trans}: 正向转运常数; Kep: 反向转运常数; Ve: 容积分数; iAUC: 起始曲线下面积.

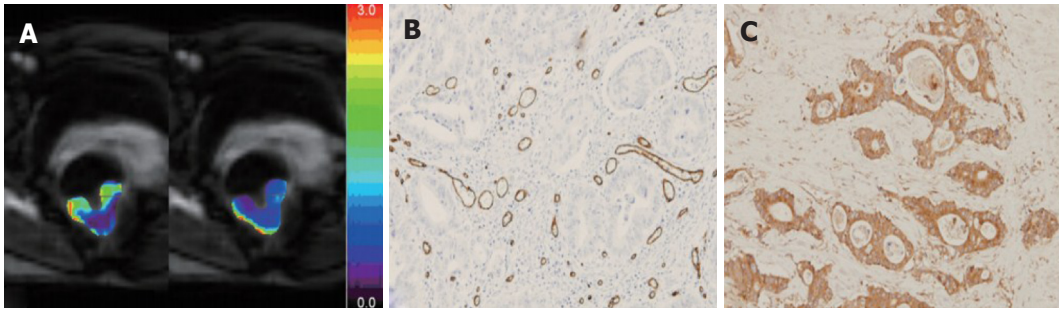


图 1 直肠癌DCE-MRI及术后病理检查. A: 描绘感兴趣区, 测定DCE-MRI定量灌注参数; B: 术后标本病理显示: 热点MVD中血管内皮细胞呈棕黄色; C: VEGF呈强表达, 胞浆内呈棕黄色阳性表达. DCE-MRI: 直肠癌动态增强磁共振成像; MVD: 微血管密度; VEGF: 血管内皮生长因子.

镜病理活检证实为直肠癌; (2)术前均未曾行放疗、化疗等任何治疗.

排除标准: (1)DCE-MRI检查禁忌证; (2)无法配合检查; (3)对比剂过敏. 所有患者均于术前1 wk内行直肠DCE-MRI检查并签署知情同意书. 本研究经本院医学伦理委员会审批通过(批件号: 20180012).

1.2 方法

1.2.1 DCE-MRI检查: 采用3.0 T磁共振成像仪行扫描检查, 对比剂采用钆-喷酸葡胺, 注射剂量为0.1 mmol / kg, 注射流速为1.5 mL/ s . 以体部相控阵表面线圈行全直肠常规平扫和增强扫描. 检查前, 患者接受充分肠道准备, 常规平扫包括T1WI、T2WI、DWI; 增强扫描为T1WI. 由一名经验丰富的高年放射专业副主任医师, 采用盲法在DWI图像上描绘感兴趣区(避开囊变和坏死区域), 测定病灶及其周围正常直肠壁(距离肿瘤边缘至少2 cm以外的肠壁)的DCE-MRI定量灌注参数: 正向转运常数(forward transport constant, K^{trans})、反向转运常数(reverse transport constant, Kep)、容积分数(volume fraction, Ve)和起始曲线下面积(area under the starting curve, iAUC). 见图1A.

1.2.2 MVD及VEGF表达水平测定[4]: 对术后标本组织行CD34和VEGF免疫组织化学染色. MVD测定: 在低倍放大镜下确定3个肿瘤“热点”(肿瘤内高血管化区域), 采用Weidner N计数法, 在200倍放大镜下计数每个“热点”中最多微血管数目, 取平均值. VEGF染色采用染色强度(1, 否; 2, 弱; 3, 中等; 4, 强染色), 200倍放大时肿瘤面积百分比(1, <5%; 2, 5-20%; 3, 21-50%; 4, >50%), 这两个评分的总和作为VEGF表达水平的评分值, 范围为2-8分. 见图1B和C.

统计学处理 采用SPSS 20.0统计学软件对数据进行分析. 计量资料采用mean±SD表示, 对符合正态性分布的数据采用配对*t*检验. 相关性分析采用Spearman相关分析. *P*<0.05认为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 术后病理结果情况 65例病理确诊的直肠癌均行根治性手术, 其中Miles手术6例, 低位切除术51例, 超低位切除术8例. 肿瘤大小2-6 cm, 平均3.42 cm±1.16 cm. 肿瘤类型: 上段19例, 中段38例, 下段8例. 组织病理学分期: T1期5例, T2期10例, T3期41例, T4期9例. 肿瘤分化程度: 高分化者6例, 中分化者58例, 低分化者1例.

2.2 DCE-MRI定量灌注参数情况 直肠癌病灶的K^{trans}、Kep、Ve和iAUC均明显高于正常直肠壁, 差异均有统计学意义(均*P*<0.05). 见表1.

2.3 术后组织标本MVD及VEGF表达水平测定情况 直肠癌病灶的MVD明显高于正常直肠壁, 差异有统计学意义(*P*<0.05); 直肠癌病灶的VEGF表达水平明显高于正常直肠壁, 差异有统计学意义(*P*<0.05). 见表2.

2.4 DCE-MRI定量灌注参数与MVD及VEGF表达水平的相关性 K^{trans}、Kep、Ve和iAUC与MVD均呈正相关,

表 2　MVD及VEGF表达水平比较

组别/参数	VEGF(分)	MVD(条/200倍视野)
直肠癌	5.26 ± 1.55[b]	71.51 ± 10.47[b]
正常直肠壁	3.35 ± 0.99	36.20 ± 8.97
T/*P*值	9.744/0.000	25.414/0.000

[b]*P*<0.01, 与正常直肠壁比较. MVD: 微血管密度; VEGF: 血管内皮生长因子.

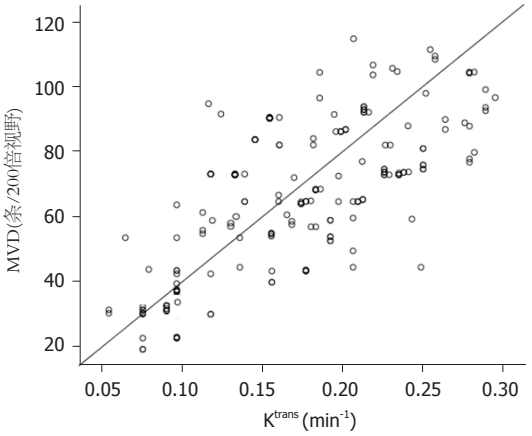


图 2　K^{trans}与MVD的相关性图. K^{trans}: 正向转运常数; MVD: 微血管密度.

相关系数分别为$r = 0.76$、$r = 0.70$、$r = 0.46$、$r = 0.68$(均P<0.05); 与VEGF表达水平均呈正相关, 相关系数分别为$r = 0.72$、$r = 0.67$、$r = 0.41$、$r = 0.64$(均P<0.05); 其中K^{trans}与MVD、VEGF表达水平的相关性最高. 见图2、3.

3 讨论

直肠癌是一种较为常见的恶性消化道肿瘤, 目前临床治疗的主要手段包括手术切除、放疗、化疗等多种手段[5]. 正确选择合适的治疗手段是治疗的关键. 近年来, 影像学检查技术发展迅速, DCE-MRI检查不仅能从肿瘤形态大小、浸润范围、信号强度等方面进行术前评估, 而且能定量分析肿瘤微循环血流灌注状态[6].

DCE-MRI通过分析感兴趣区对比剂吸收的定量参数, 能有效反映肿瘤组织的渗透性或血流量状态, 其中K^{trans}是对比剂经血管内皮转运到血管外间隙的速度, 可反映局部组织的血管渗透性以及血流灌注量; Kep是对比剂从血管外间隙回流入相应血管腔内的速度, 能反映毛细血管的渗透性; 而iAUC因其不受灌注参数模型影响, 能有效反映感兴趣区的整体血流量状态[7]. 本研究结果中, 直肠癌病灶的K^{trans}、Kep、Ve和iAUC均明显高于正常直肠壁, 提示DCE-MRI能有效监测直肠癌病灶的血管通透性、血流量等血管功能状态, 能有效反映病灶的血管解剖、病理功能状态与正常直肠壁之间的

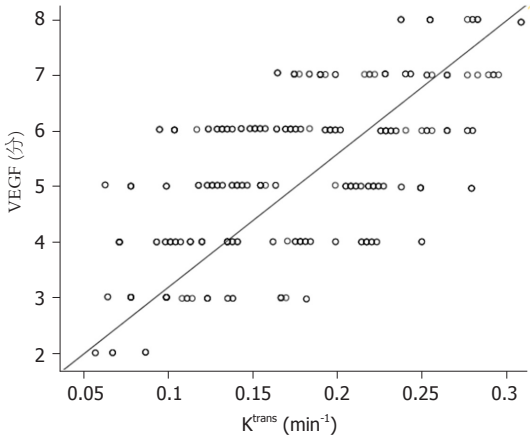


图 3　K^{trans}与VEGF表达水平的相关性图. K^{trans}: 正向转运常数; VEGF: 血管内皮生长因子.

差异. 肿瘤为了获得生长、转移所需的营养, 其在结构和功能上的发展依赖于新生血管, 而这些新生血管容易发生渗漏, 并形成危险的复杂的相互连接模式[8,9]. 这将导致肿瘤具有更高的内皮通透性以及血液流动性, 使DCE-MRI定量灌注参数发生改变. 本研究结果与K im等[10]和Yao等[11]的研究结果相一致, 肿瘤新生血管结构功能均发育不完善, 较正常血管具有更高渗透性以及血流量, 导致K^{trans}、Kep和iAUC相应增高. 但Ve的变化在不同研究中存在差异, K im等[10]的研究显示直肠癌Ve与正常肠壁之间无明显差异, 原因可能是: (1)K im等[10]研究中DCE-MR扫描时间过长, 导致阴性结果出现; (2)血管外间隙可能受多种因素如组织缺氧、细胞密度等影响.

MVD在肿瘤生长和转移过程中发挥着十分重要的作用. 伴随着MVD的升高, 肿瘤细胞进入血管的机会增加, 发生转移的几率相应升高. 而VEGF在肿瘤血管内皮细胞增殖中发挥着重要的诱导分化作用, 在新生血管生成过程中发挥着重要的促进作用, 是肿瘤微小血管生成的重要因子[12]. 本研究结果显示, 直肠癌病灶的MVD、VEGF表达水平均明显高于正常直肠壁, 表明二者在直肠癌病灶的新生血管状态评估中具有十分重要的价值, 能客观反映直肠癌局部微环境的组织病理学变化. 本研究相关性分析结果显示, K^{trans}、Kep、Ve和iAUC分别与MVD、VEGF表达水平均呈正相关, 其中K^{trans}与MVD、VEGF表达水平的相关性最高. 提示利用DCE-MRI定量灌注参数能在一定程度上反映直肠癌病灶的血管解剖特征及血管功能状态, 其中K^{trans}的临床应用价值更优.

4 结论

总之, 直肠癌DCE-MRI定量灌注参数能有效反映病灶的血流灌注状态, 其中K^{trans}与MVD、VEGF表达水平具有较好相关性, 可为术前评估提供有价值的参考.

文章亮点

实验背景

准确评估直肠癌微循环血流灌注及新生血管生成状态有助于指导临床治疗, 而影像学检查在其术前评估方面发挥着重要作用.

实验动机

本研究运用直肠癌动态增强磁共振成像(dynamic contrast-enhanced magnetic resonance image, DCE-MRI)定量分析直肠癌血流灌注状态, 探讨DCE-MRI灌注参数与血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、微血管密度(microvessel density, MVD)的相关性, 以期为临床术前评估提供一种无创性影像学方法.

实验目标

探讨直肠癌的DCE-MRI灌注参数与VEGF、MVD的相关性. 结果显示DCE-MRI定量灌注参数能反映病灶的血管解剖特征及功能状态.

实验方法

本研究采用了DCE-MRI术前评估直肠癌血流灌注及新生血管生成状态. DCE-MRI能定量分析病灶的微循环灌注状态, 而VEGF、MVD水平能准确反映新生血管生成状态.

实验结果

本篇论文的研究达到实验目标并取得以下研究结果: 直肠癌病灶的DCE-MRI灌注参数以及MVD和VEGF表达水平均明显高于正常直肠壁; 直肠癌病灶的K^{trans}、Kep、Ve和iAUC与MVD及VEGF表达呈正相关. 说明DCE-MRI灌注参数能反映直肠癌微循环血流灌注, 能间接反映新生血管生成状态, 为临床术前评估提供有价值的参考.

实验结论

DCE-MRI灌注参数在直肠癌病灶与正常直肠壁之间存在差异. DCE-MRI能定量分析直肠癌的血流灌注状态, 其灌注参数K^{trans}、Kep、Ve和iAUC均与MVD、VEGF呈正相关, 而K^{trans}与MVD、VEGF的相关性最高, 能间接反映直肠癌的新生血管生成状态, 可为临床术前评估直肠癌的新生血管生成状态提供一种可靠方法.

展望前景

DCE-MRI容易受患者运动干扰, 导致图像质量下降, 影响分析结果. 本研究未来研究的方向是DCE-MRI结合其它监测指标对直肠癌进行术前评估. 而未来研究的最佳方法是DCE-MRI联合超声造影评估直肠癌的新生血管状态.

5 参考文献

1 饶慕圣, 曹胜华, 徐兴东, 王刚, 王学成. 肿瘤细胞主导的血管生成拟态与肿瘤侵袭转移. 国际外科学杂志 2019; 46: 60-63 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4203.2019.01.016]

2 毕研翠, 翟所席, 孟慧英. MSCT与MR-DWI在诊断结直肠癌区域淋巴结分期与转移中的价值. 中国CT和MRI杂志 2020; 127: 56-59

3 Berretta M, Cobellis G, Franco R, Panarese I, Rinaldi B, Nasti G, Di Francia R, Rinaldi L. Features of microvessel density (MVD) and angiogenesis inhibitors in therapeutic approach of hepatocellular carcinoma (HCC). *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2019; 23: 10139-10150 [PMID: 31799686 DOI: 10.26355/eurrev_201911_19584]

4 Weidner N. Intratumor microvessel density as a prognostic factor in cancer. *Am J Pathol* 1995; 147: 9-19 [PMID: 7541613 DOI: 10.1007/s10147-016-0966-0]

5 权瑞泉, 熊明兰. 新辅助放化疗对直肠癌患者临床分期、手术方式及预后的影响. 实用癌症杂志 2018; 33: 127-130

6 Buckley DL, Drew PJ, Mussurakis S, Monson JR, Horsman A. Microvessel density of invasive breast cancer assessed by dynamic Gd-DTPA enhanced MRI. *J Magn Reson Imaging* 1997; 7: 461-464 [PMID: 9170027 DOI: 10.1002/jmri.1880070302]

7 Di N, Cheng W, Jiang X, Liu X, Zhou J, Xie Q, Chu Z, Chen H, Wang B. Can dynamic contrast-enhanced MRI evaluate VEGF expression in brain glioma? An MRI-guided stereotactic biopsy study. *J Neuroradiol* 2019; 46: 186-192 [PMID: 29752976 DOI: 10.1016/j.neurad.2018.04.008]

8 Meyer HJ, Wienke A, Surov A. Correlation Between K_{trans} and Microvessel Density in Different Tumors: A Meta-analysis. *Anticancer Res* 2018; 38: 2945-2950 [PMID: 29715121 DOI: 10.21873/anticanres.12543]

9 谢宗源, 徐香玖, 黄刚, 周星, 马小梅, 王治民, 铁萍, 张庆. 直肠癌DCE-MRI参数与病理特征的相关性研究. 磁共振成像 2015; 21: 289-293 [DOI: 10.3969/j.issn.1674-8034.2015.04.15]

10 Kim YE, Lim JS, Choi J, Kim D, Myoung S, Kim MJ, Kim KW. Perfusion parameters of dynamic contrast-enhanced magnetic resonance imaging in patients with rectal cancer: correlation with microvascular density and vascular endothelial growth factor expression. *Korean J Radiol* 2013; 14: 878-885 [PMID: 24265562 DOI: 10.3348/kjr.2013.14.6.878]

11 Yao WW, Zhang H, Ding B, Fu T, Jia H, Pang L, Song L, Xu W, Song Q, Chen K, Pan Z. Rectal cancer: 3D dynamic contrast-enhanced MRI; correlation with microvascular density and clinicopathological features. *Radiol Med* 2011; 116: 366-374 [PMID: 21298356 DOI: 10.1007/s11547-011-0628-2]

12 Lucarini G, Zizzi A, Rubini C, Ciolino F, Aspriello SD. VEGF, Microvessel Density, and CD44 as Inflammation Markers in Peri-implant Healthy Mucosa, Peri-implant Mucositis, and Peri-implantitis: Impact of Age, Smoking, PPD, and Obesity. *Inflammation* 2019; 42: 682-689 [PMID: 30406462 DOI: 10.1007/s10753-018-0926-0]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: https://www.baishideng.com

世界华人消化杂志 2021年5月8日; 29(9): 479-487

DOI: 10.11569/wcjd.v29.i9.479

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

文献综述 REVIEW

中医药调节肠道微生态研究技术进展

李小雅, 谭周进

李小雅, 谭周进, 湖南中医药大学, 湖南省长沙市 410208

李小雅, 博士研究生, 研究方向方剂配伍疗效的微生态学机理研究.

基金项目: 国家自然科学基金项目, No.81874460.

作者贡献分布: 本论文由李小雅负责文献查阅及文献综述写作; 谭周进负责论文选题, 修改及审校.

通讯作者: 谭周进, 教授, 410208, 湖南省长沙市岳麓区学士路300号, 湖南中医药大学. tanzhjin@sohu.com

收稿日期: 2021-02-05
修回日期: 2021-03-10
接受日期: 2021-03-26
在线出版日期: 2021-05-08

Advances in research technology of regulation of intestinal microecology by traditional Chinese medicine

Xiao-Ya Li, Zhou-Jin Tan

Xiao-Ya Li, Zhou-Jin Tan, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, Hunan Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81874460.

Corresponding author: Zhou-Jin Tan, Professor, Hunan University of Chinese Medicine, No. 300 Xueshi Road, Hanpu Science and Education Park, Changsha 410208, Hunan Province, China. tanzhjin@sohu.com

Received: 2021-02-05
Revised: 2021-03-10
Accepted: 2021-03-26
Published online: 2021-05-08

Abstract

The intestine is a diversified microecosystem whose structure and function are research hotspots in the fields of life sciences and medicine. The research on the regulation of intestinal microecology by traditional Chinese medicine is of great significance to the elucidation of the basic theories and the mechanism of therapeutic effects of traditional Chinese medicine. The micro-ecological research technology is very important for the research in this field. We, by reviewing the relevant literature, summarize the related technologies for the intestinal micro-ecological research of traditional Chinese medicine, such as microbial culture counting method, molecular biology techniques (denaturing/temperature gradient gel electrophoresis (DGGE/TGGE), gene chip, real-time quantitative polymerase chain reaction (PT-PCR), terminal-restriction fragment length polymorphism (T-RFLP), amplified ribosomal DNA restriction analysis (ARDRA), fluorescent *in situ* hybridization (FISH), high-throughput sequencing (HTS), metabolic level analysis techniques, and proteomics), intestinal enzyme activity detection, microbial activity detection technology, and *in vitro* simulated gastrointestinal environment experiments, with an aim to provide reference for the intestinal micro-ecological research of traditional Chinese medicine and the application of related technologies.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Intestinal microecology; Traditional Chinese medicine; Research technology; Microbial culture counting method; Molecular biology techniques

Citation: Li XY, Tan ZJ. Advances in research technology of regulation of intestinal microecology by traditional Chinese medicine. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2021; 29(9): 479-487
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i9/479.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i9.479

摘要

肠道是一个多元化的微生态系统, 其结构及功能是生命科学及医学领域的研究热点, 中医药调节肠道微生态的研究对中医基础理论、中医药疗效机制等的阐明具有重要意义. 肠道微生态研究技术对该领域研究至关重要, 笔者通过查阅相关资料, 对中医药调节肠道微生态研究的相关技术如微生物培养技术、分子生物学技术(变性/温度梯度凝胶电泳技术(DGGE/TGGE)、基因芯片技术(Gene chip)、实时荧光定量PCR技术(PT-PCR)、末端限制性片段长度的多态性技术(T-RFLP)、扩增核糖体DNA限制性酶切片段分析技术(ARDRA)、荧光原位杂交技术(FISH)、高通量测序技术(HTS)、代谢水平分析技术、蛋白质组学技术)、肠道酶活性检测、肠道微生物活度检测技术以及体外模拟胃肠道环境实验进行总结, 对中医药肠道微生态的研究及相关技术的应用提供参考.

© **The Author(s) 2021.** Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 肠道微生态; 中医药; 研究技术; 微生物培养计数法; 分子生物学技术

核心提要: 随着现代分子生物学技术的快速发展, 中医药肠道微生态领域研究取得突破性进展, 为中医药治疗肠道微生态相关疾病提供理论依据, 对推动中药现代化研究进程具有重要的意义.

文献来源: 李小雅, 谭周进. 中医药调节肠道微生态研究技术进展. 世界华人消化杂志 2021; 29(9): 479-487

URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i9/479.htm

DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i9.479

0 引言

近年来, 中医药在调节肠道微生态治疗疾病中发挥重要作用, 以中医药为靶点, 选择合理的研究技术有利于全面了解肠道微生物群落结构和作用, 充分挖掘其潜在价值. 谢果珍等[1]对小鼠肠内容物中乳酸菌、双歧杆菌及大肠杆菌进行微生物培养时发现, 铁皮石斛多糖可调节小鼠肠道菌群发挥“益生元”作用. 王永安等[2]发现大承气汤可调节小鼠肠道菌群结构及多样性, 恢复肠道细菌群落, 达到治疗过敏性哮喘的效果. 何云山等[3]发现保和丸治疗后食积小鼠肠道内容物及肠黏膜中木聚糖酶、淀粉酶以及蛋白酶的活性下降, 揭示保和丸对食积小鼠的肠道酶活性的调节作用. 唐圆等[4]发现痛泻要方能够使小鼠肠道内容物中微生物活度降低, 肠黏膜微生物活度增加, 初步阐明痛泻要方对肝气乘脾泄泻小鼠肠道微生物活度的作用机制. 体外模拟实验可在一定程度上还原胃肠道状态, 在探究葛根芩连汤在模拟胃肠液中对微生物生长的影响时发现[5], 葛根芩连汤在模拟胃肠液中对大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌和沙门菌均有较好的抑制效果, 且随消化时间延长对各个细菌的抑制效果发生变化. 本文将从微生物培养技术、分子生物学技术、酶学技术等方面概述中医药在调节肠道微生态领域的应用进展, 为利用肠道微生态研究中医药理论及其应用提供方法学思路(见表1).

1 微生物培养计数法在中医药调节肠道微生态研究中的应用

肠道微生物培养是较为传统的微生物鉴定方法. 中医药利用微生物培养技术在调节肠道微生态治疗疾病过程中发挥关键作用. 龙承星等[19]对脾虚便秘及灌胃铁皮石斛多糖后小鼠肠内容物中乳酸菌、双歧杆菌、大肠杆菌进行微生物培养, 发现铁皮石斛多糖明显恢复了大肠杆菌的菌落数, 乳酸菌和双歧杆菌明显减少, 总数显著超过正常组, 提示铁皮石斛多糖在一定程度上能扶植乳酸菌和双歧杆菌等有益菌, 抑制大肠杆菌等有害菌, 调控脾虚便秘小鼠肠道微生态平衡, 优化肠道环境, 改善脾虚便秘症状. 唐标等[20]在探究降脂理肝汤对高脂饮食诱导的非酒精性脂肪肝大鼠肠道微生物的影响时, 发现降脂理肝汤能够抑制肠道细菌、大肠杆菌及乳酸菌的生长, 使细菌总数和乳酸菌数量恢复至正常组水平, 表明降脂理肝汤能调整非酒精性脂肪肝大鼠肠道菌群种群, 改善肠道微环境紊乱的现象, 达到治疗效果. 肠道微生物培养技术已经逐渐深入到中医药调节肠道微生态治疗疾病的各个方面, 选择符合培养条件的培养基对肠道中的细菌进行培养, 通过检测肠道细菌数量变化初步衡量肠道菌群是否在疾病发生发展过程中及中药干预治疗后发挥作用, 明确中医药作用的可培养菌类, 为进一步从微观角度探索中医药调节肠道菌群治疗疾病的机制研究, 为相关纯化及菌剂研究提供更为直接的证据. 另外, 微生物培养过程复杂, 对分离物很难进行精确鉴定, 导致研究微生物多样性的真实概况受到限制. 鉴于此, 我们可通过优化培养条件、改善培养基营养并综合其他分子技术, 有助于评定特定肠道共生菌的功能, 进一步阐述有益菌和致病菌之间的相互作用, 为挖掘肠道微生物益生功能及抗病功能奠定基础.

2 分子生物学技术在中医药调节肠道微生态研究中的应用

2.1 基于核酸的分析技术

2.1.1 变性/温度梯度凝胶电泳技术: 变性/温度梯度凝胶电泳(denaturing/temperature gradient gel electrophoresis,

表 1 肠道微生态研究技术

研究技术		技术原理	优点	缺点	技术要点
微生物培养技术		在一定培养条件下, 选择适合菌种生长的培养基进行培养, 通过倍比稀释和培养来测定菌的数量和分离微生物[6]	显示不同细菌对宿主肠道系统中各种营养物质的利用情况	(1)可培养的微生物菌株数量较少; (2)严格厌氧菌培养要求高; (3)过程复杂, 难以精确鉴定; (4)分辨水平低, 不能充分反映微生物群落的多样性	(1)根据菌种特性选择培养基; (2)严格控制培养条件; (3)把控稀释过程的稀释比例
基于核酸分析的技术	变性/温度梯度凝胶电泳技术	碱基序列存在差异的不同等长 DNA 通过递增的化学变性剂浓度/温度梯度把长度相近碱基组成不同的DNA片段区分开, 根据凝胶上形成条带的数目和丰度信息反应微生物的多样性[7]	(1)分辨度高, 检测可达到一个碱基; (2)可以保证电泳的重现性以及结果的重复性; (3)快速对大量混合标本进行分析; (4)无须对引物标记; (5)节约样品; (6)在揭示微生物群落遗传多样性和种群差异方面具有明显优越性	(1)只对优势种群进行分析; (2)受到电泳条件诸多因素的影响, 出现 “共迁移” 现象; (3)对微生物鉴定, 仅限于基因数据库中菌种	(1)选择最佳变性梯度/温度梯度范围; (2)确定电泳时间及温度; (3)严格 “GC夹板” 操作步骤; (4)染色方法的选择体现灵敏度
	末端限制性片段长度的多态性技术	利用琼脂或聚丙烯酸凝胶对限制性酶切片断电泳分离, 经染色后不同长度的DNA片段停留在不同的凝胶位置上, 呈现多态性的电泳图谱[8]	(1)结果数据化, 重复性好; (2)对微生物种类可以定性定量分析; (3)能检测到群落中比例为1%的细菌; (4)灵敏度高, 能检测活菌和未降解死菌, 是一种高效微生物群落结构分析方法; (5)适合对微生物多样性进行灵敏的分析评价	(1)只能检测带荧光标记的末端限制性片段; (2)所需DNA数据量大分析较困难; (3)酶切后TRF长度分布会造成对复杂群落多样性的低估	(1)考虑引物的特异性(如上下游引物序列的特异性、上下游引物之间序列长度等); (2)避免选择酶切位点在序列保守区限制性内切酶
	扩增核糖体DNA限制性酶切片段分析技术	依据原核生物rDNA序列的保守性, 将扩增的rDNA片段进行酶切, 通过酶切图谱来分析菌间的多样性[9]	(1)特异性强, 效率高; (2)不受宿主干扰	(1)对于大样本的检测分析费时费力; (2)对图谱进行定量化分析困难	严格把握引物设计、扩增过程以及酶切位点
	基因芯片技术	将大量DNA探针有序地固定在载体表面, 形成储存大量信息的DNA微阵列与标记的核酸样品杂交后获取样品核酸序列信息[10]	(1)快速对成百上千基因进行分析; (2)高通量、自动化; (3)所需样品量少、成本低	(1)探针的合成和固定较为复杂, 特别针对于高密度的探针阵列; (2)探针杂交存在一定的错配率; (3)信号的获取和分析时, 灵敏度较低, 分析范围窄	(1)考虑探针的设计及布局, 确定芯片所需的检测对象; (2)杂交之前需进行分离、扩增和标记杂交反应; (3)确定杂交信号在芯片上的位置
	荧光原位杂交技术	荧光标记已知序列的单链核酸作为探针, 与待检测样本中互补的单链核酸特异性结合, 通过荧光显微镜观察带有杂交荧光标记探针细胞, 计算杂交率来定量检测和鉴定细菌[11]	(1)探针稳定, 一次标记后两年之内可以使用; (2)特异性好, 实验周期短; (3)特异性显示检测目标与组织细胞的结构关系	(1)无法对序列未知的微生物检测; (2)操作时很容易受到各种污染的干扰; (3)样品自身产生的荧光, 以及探针的特异性等因素, 容易产生假阳性实验结果; (4)探针设计不合理、细菌细胞中rRNA含量、荧光褪色等因素, 容易产生假阴性的实验结果	(1)考虑多种探针的利弊; (2)杂交前的需要对细胞通透性、杂交背景等进行处理; (3)杂交过程中环境保持黑暗、潮湿, 控制杂交时间、温度以及探针浓度和长度
	实时荧光PCR技术	利用荧光信号变化实时检测PCR扩增反应中每个循环扩增产物量的变化, 通过Ct值和标准曲线实现对起始模板的定量分析[12]	(1)直接监测扩增中荧光信号变化获得定量结果, 精确性和灵敏度高; (2)检测速度快, 可同时进行几个反应; (3)特异性、重复性强	(1)引物二聚体、单链二级结构及扩增产物错误, 会出现假阳性结果; (2)荧光素种类及检测光源的局限性会限制 RT-PCR的复合式检测应用能力; (3)无法得到整个微生物群落的信息	(1)设计合适引物, 防止非特异性扩增; (2)设计合适的探针温度、浓度等, 保证探针的灵敏度和特异性; (3)PCR体系反应参数的设定
	高通量检测技术	当引物与模板DNA 复性后, 在酶的协同作用下, dNTP 聚合与荧光信号的释放偶联, 以荧光信号的形式实时记录模板 DNA 的核苷酸序列[13]	(1)测序片段短、无需构建基因文库; (2)高输出量和高解析度; (3)同时对样品中的优势物种、稀有物种及一些未知的物种检测	(1)设备昂贵、测序成本高; (2)大数据量的DNA样本, 缺乏匹配的参考数据库, 许多数据无法进行功能注释; (3)无法确定样品中特定微生物的具体数量	选择适合的测序平台和可变区

基于蛋白质的分析	蛋白质组学技术	基于质谱技术，对完整的细胞、组织、体液等样品的全部蛋白质进行定性，定量的分析[14]	在整体水平上对基因组表达的全部蛋白质进行大规模研究，直接说明肠道菌群的功能	(1)对于一些低丰度蛋白质的检测能力有限；(2)容易受到饮食等其他因素干扰	(1)尽可能完整地将所有蛋白质从细胞或者组织中提取；(2)蛋白质组样品的分离方法的选择
基于代谢产物的分析	色谱技术	利用带分离的各种物质在两相中(固体相、流动相)的分配系数、吸附能力等亲和力的不同进行分离[15]	(1)具有高分离能力的色谱技术能够提高检测效率，准确获得样品中目标化合物的相关信息；(2)分析灵敏度高，重复性好	(1)样品前处理技术复杂，容易影响实验结果；(2)检测条件受检测器制约，存在局限	(1)色谱条件的设定(包括色谱柱、柱温、检测波长等)；(2)检测器的选择
肠道酶活性检测技术		将酶液与底物混合，通过水浴、终止反应、定容等步骤，最后利用紫外分光光度计在特定波长下测定吸光度[16]	(1)快速简便；(2)样本用量较少	(1)检测通过对代谢产物进行间接地证明酶的活性高低，可靠性受到影响；(2)侵入性手段影响实验的准确性	(1)酶液、底物的配置；(2)水浴温度、时间；(3)显色温度、时间；(4)波长的设定
肠道微生物活度检测技术		利用荧光素二乙酸与磷酸缓冲液混合，加入待测样液充分混合后，丙酮终止反应，利用紫外分光光度计测定吸光度[17]	(1)快速简便；(2)灵敏度高	(1)丙酮加入终止反应后，放置时间过长，影响实验结果；(2)实验过程中稀释和定容不准确，对于实验结果影响较大	(1)FDA反应液制备；(2)丙酮加入的先后顺序；(3)把握实验过程中的稀释和定容
体外模拟胃肠道环境		活化的菌种按比例接种至人工胃液和人工肠液中培养一段时间后进行活菌计数[18]	(1)操作简单快速；(2)不受伦理限制；(3)较直观的看到实验结果	(1)选择接种液与接种方式的不同，对结果呈现很大的影响；(2)与人体胃肠道的真实情况尚存在差异	(1)菌种接种至已灭菌的斜面培养基上进行活化；(2)人工胃肠液的浓度配比

DGGE/TGGE)技术可直接分析样品总DNA的微生物多样性, 在揭示微生物群落遗传多样性和种群差异方面具有明显优越性[21]. 邝枣园等[22]应用DGGE分析探讨黄连解毒汤对高脂血症小鼠肠道微生态的影响时, 对各组小鼠肠道粪便的细菌群落进行聚类分析发现各组小鼠肠道菌群都建立了新的细菌群落结构, 但部分组别细菌群落结构仍不稳定. 而黄连解毒汤组可能从抑制肠道中某些细菌的生长方面, 调节肠道形成新的、相对稳定的细菌群落结构, 从而干预脂质代谢过程治疗高脂血症. 杨泽锐等[23]从相似性系数角度分析红景天破壁饮片对小鼠肠道菌群影响时, 发现在聚类分析中, 各剂量组破壁饮片以及常规饮片组的组内相似度都会明显改变, 说明服用破壁饮片和常规饮片之后比较有可能形成稳定的肠道菌群环境. 应用DGGE/TGGE技术我们可以从对比不同微生物群落之间的差异变化方面, 探究中医药在疾病的治疗过程可能的机制研究, 对肠道微生物的群落的结构、功能和动态变化有着更好的阐述, 为全面、快速、准确分析和鉴定复杂的肠道微生物提供新的方向.

2.1.2 *末端限制性片段长度的多态性技术*: 末端限制性片段长度的多态性(terminal-restriction fragment length polymorphism, T-RFLP)技术以分子系统学原理为基础, 运用了PCR、限制性酶切、荧光标记和 DNA 序列分析等技术, 通过对特定核酸片段长度多态性的测定来分析微生物群落结构和功能[24]. Wu等[25]采用T-RFLP技术研究甘草中类黄酮异黄酮苷元调节结肠炎相关大肠癌(colitis-associated colorectal cancer, CAC)肠道菌群影响时, 发现甘草中类黄酮异黄酮苷元改变了小鼠肠道菌群群落结构, 其中*Lachnospiraceae*、*Rikenellaceae*含量降低、*Helicobacteraceae*含量增加, 证明甘草中类黄酮异黄酮苷元可保护小鼠免受CAC的侵害, 且它和肠道菌群可能具有协同的抗癌作用. 与定性分析的DGGE/TGGE技术不同, T-RFLP技术可定性、定量分析微生物群落结构和功能. 应用T-RFLP技术在短时间内对肠道中细菌群落以及群落中细菌组成定量分析, 证实中药对疾病主要调控作用的肠道细菌靶点, 为中药可能通过调节肠道微生物群来预防疾病发生发展提供新的证据.

2.1.3 *扩增核糖体DNA限制性酶切片段分析技术*: 扩增核糖体DNA 限制性酶切片段分析(amplifed ribosomal DNA restriction analysis, ARDRA)技术是一种快速、有效的现代生物鉴定方法, 在微生物遗传多样性及其分类研究中应用广泛[26]. 郭抗萧等[27]采用ARDRA技术研究七味白术散对菌群失调腹泻小鼠肠道菌群多样性的影响时发现, 乳酸杆菌16S rDNA的PCR产物经酶切后传统汤药(七味白术散)组与模型组相比ARDRA条带增加, 且接近于正常组, 提示造模后小鼠肠道菌群失调, 乳酸杆菌量减少, 多样性下降; 七味白术散治疗后可改变小鼠肠道菌群多样性, 与正常组群落结构的相似性系数接近. 根据ARDRA条带的丰富程度, 我们可以看出肠道

菌群群落的多样性, 且ARDRA条带信号越强, 表示肠道菌群中该物种的数量越多. 从实验结果中证实了七味白术散能够促进乳酸杆菌的生长, 增加乳酸杆菌的丰富度, 为今后七味白术散应用于临床提供了新的方向. ARDRA技术能够在一定程度上反映出核糖体DNA的遗传多样性, 通过ARDRA技术应用中医药领域的肠道微生态研究对微生物鉴定、共生菌、病原菌的微生物遗传多样性的检测, 了解疾病过程中破坏肠道微生态的主要影响因素, 以及建立中医药良性、稳定的肠道微生态结构具有重要意义, 为今后开发有利于特异性中药抑制剂具有重要的实际应用价值.

2.1.4 基因芯片技术: 基因芯片(Gene chip)技术又称DNA微阵列, 能快速、准确、大规模地对获取样品核酸序列信息进行定性分析. Gene chip技术已应用于粪便、环境样本等的众多领域中, 主要应用于基因表达分析、基因组测序、疾病诊断及药物筛选等方面[28]. 周鸿雲[29]在用Gene chip技术探索人参乌梅汤加味对腹泻模型大鼠结肠差异基因的分子调控机制发现, 有17个基因表达上调, 34个基因表达下调, 提示中药对腹泻的调控是多层次、多靶点的. Gene chip技术不仅可以从基因层面初步揭示中医药应用肠道微生态治疗疾病的分子机制. 而且由于不同基因存在不同功能, 参与不同的信号通路, 涉及疾病的多个阶段多个环节, 互相之间存在着复杂的交互网络作用关系, 它们可能单个发挥作用, 可能需要多个基因同时参与某条通路或表达某项功能. 基于此, 我们也可以深入“中药组分-信号通路-调控”的新视角, 宏观与微观结合系统研究中药复方多成分、多靶点、多途径作用机制, 为进一步诠释中医药应用肠道微生态治疗疾病的现代科学内涵奠定基础.

2.1.5 荧光原位杂交技术: 荧光原位杂交(fluorescent in situ hybridization, FISH) 技术对不同类群的微生物在细胞水平上进行原位的定性定量分析, 描述微生物的形态特征、丰度以及在样品上的空间分布和动态[30]. 应用FISH技术探究中药多糖调节抗生素菌群失调小鼠肠道菌群变化时发现[31], 中药多糖组中小鼠肠道双歧杆菌的含量较模型组升高, 大肠杆菌的含量降低, 提示中药多糖具有扶植肠道正常菌群生长的作用. 实验中经中药多糖干预后快速有效地通过大肠杆菌探针对金葡菌、双歧杆菌等进行杂交检测, 得到中药多糖可通过调节肠道菌群结构及丰度达到治疗抗生素引起菌群失调的现象. FISH方法在检测中医药调节菌群失调的应用较传统微生物培养法具有明显的优势, 不仅能够对多种微生物进行定性定量检测, 而且能够分析微生物群落及对特定菌群进行空间定位和原位生理学研究, 提高了肠道菌群检测的速度和种类变化的准确度, 有助于对中药发挥疗效功能进行准确、客观的评价, 对中药的开发提供技术支持.

2.1.6 实时荧光定量PCR技术: 实时荧光定量PCR(real-time quantitative polymerase chain reaction, RT-PCR)技术即应用RT-PCR检测系统对实验反应过程中荧光信号的强度进行检测, 通过标准曲线对未知模板进行定量分析. 该技术能够分析明确肠道中某类有益菌和致病菌的定植规律, 逐渐应用于人类以及动物肠道特定菌群的分析检测[32]. 在探究安肠汤治疗溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)作用机制过程中, 孙平良[33]应用RT-PCR技术检测大鼠肠内容物中各菌属基因表达, 发现安肠汤对UC大鼠肠道菌属有明显的调节作用. 曾艺鹏等[34]在探究葛根芩连汤治疗2型糖尿病湿热证对患者肠道菌群影响时发现, 葛根芩连汤在一定程度上改善了肠道微生态, 能有效抑制致炎细菌、促进益生菌的生长, 从而达到治疗2型糖尿病湿热证的效果. RT-PCR技术不仅可以从基因水平的量化检测来描述中药对肠道微生物的特定效应, 而且可以对中药干预治疗后肠道中某些有益菌和致病菌的定植规律进行定量分析, 这充分显现出肠道菌群中医药治疗疾病过程中的重要地位, 日益凸显中医药在肠道菌群结构及细菌定量、病原检测、基因表达等方面的优越性.

2.1.7 高通量测序技术: 高通量测序(high-throughput sequencing, HTS)技术能够以样品中各微生物基因组信息作为研究对象直接进行微生物组成的分析, 可准确获得肠道微生物群落信息[35]. 而测序技术的发展由于测序原理、测序平台的不同也出现了较大的差异. 其中二代测序可对多个样本进行测序, 在单位时间内数据测序通量及产出量增长. 与二代测序不同的是, 三代测序技术测序过程更加简化, 读长变长, 可对16S rRNA基因全长进行测序, 直接对给定的模板DNA或者RNA进行测序, 实现真正意义上的实时测序[36]. 张晨阳等[37]应用高通量二代测序技术对小鼠肠内容物菌群16S rRNA基因V3-V4可变区进行扩增, 探究番泻叶灌胃对小鼠肠内容物菌群的影响. 结果发现番泻叶灌胃后可改变小鼠肠内容物菌群中*Streptococcus*, *Sutterella*和*Dorea*的变化. 之后又利用高通量三代测序技术获取小鼠肠黏膜16S rRNA基因全长序列信息, 分析小鼠肠黏膜微生物对肝气乘脾证泄泻的影响发现[38], 模型组小鼠肠黏膜菌群多样性与空白组相比明显升高. 其中*Stigmatella aurantiaca*、*Candidatus arthromitus sp. SFB-mouse*、*Erythrobacter gaetbuli*、*Desulftobacterium hafniense*、*Ochrobactrum pituitosum*和*Candidatus arthromitus sp. SFB-mouse-NL*明显降低, 提示肝气乘脾证泄泻的发生与肠黏膜菌群多样性、群落结构以及相对丰度相关. 虽然测序技术在短短几十年的时间里

取得了突飞猛进的发展, 但仍存在亟待完善的地方, 二代测序在大基因检测时, 其测序读长较短会产生大量高度碎片化的重复片段, 对于后续测序拼接成为较大困扰; 同时在测序读长时针对某一可变区域进行, 读长长度较短; 并且测序时间长, 无法完全满足临床样本快速诊断的需要[39]. 而三代测序平台读长较长, 测序错误率较高, 后续数据处理分析较依赖处理软件与数据库的选择[40]. 基于HTS的宏基因组学技术通过提取肠道中的微生物总DNA、构建文库, 可获得大量肠道微生物群落种类、丰度及相关生物学信息, 为人类研究肠道营养健康提供支持[41]. 郭抗萧等[42]基于宏基因组技术评估七味白术散对肠道菌群失调腹泻的治疗机理发现, 经七味白术散治疗后小鼠肠道菌群菌属结构以及多样性等发生明显改变, 说明七味白术散可能对菌群失调腹泻小鼠肠道细菌群落有恢复的作用.

HTS技术不仅能够反映环境中微生物的群落结构, 而且在以功能基因为核心的分子生态学研究也备受青睐[43]. *mcrA*基因编码mcr的A亚基, 可作为肠道甲烷产量的生物标记物检测产甲烷菌的多样性和系统发育情况, 对于研究针对性减少甲烷的方法具有积极作用[44]. 硫酸盐还原细菌(sulphate-reducing bacteria, SRB)的功能基因*dsrB*可鉴定SRB物种信息来探究炎症性肠病与SRB之间的可能联系, 为之后中医药治疗提供指导性建议[45]. 贺璐等[46]探讨四磨汤对脾虚便秘小鼠肠道细菌功能基因的影响时, 发现四磨汤可通过提高肠道细菌能量和营养物质的代谢, 提高遗传信息的复制、转录、翻译和跨膜转运水平来达到治疗脾虚便秘的效果. 微生物的各种转化功能主要依赖酶来完成, 通过编码相关酶的功能基因作为微生物功能标记物, 成为了微生物多样性研究的新方向[47]. 在探究七味白术散对菌群失调腹泻小鼠肠道黏膜细菌乳糖酶基因多样性的影响时, 龙承星[48]发现七味白术散对小鼠肠道黏膜细菌乳糖酶基因的多样性和丰度有明显恢复作用, 能够修复小鼠肠道黏膜细菌产乳酶基因的群落结构. 实验试从肠道黏膜细菌乳糖酶基因多样性层面进一步探讨七味白术散对菌群失调腹泻疗效的认识, 为阐明七味白术散对菌群失调腹泻疗效的现代生物学机理提供佐证. 由此可以看出, 中医药发挥疗效时可通过借助高通量测序技术从肠道菌群中的物种组成分析、多样性分析、物种差异分析、功能基因等方面准确获取肠道微生物信息, 揭示多种肠道疾病相关的分子机制, 为之后进一步挖掘中医药作用的具体作用靶点(如针对某一通路或功能预测)埋下伏笔, 也为更好探究中医药与肠道微生物的关系提供研究基础.

2.2 基于蛋白质的分析技术 随着蛋白质组学技术日趋成熟, 蛋白质组学在促进中医药肠道微生态领域发展的同时, 中医药研究也为蛋白质组学提供方向与动力, 已成为蛋白质组学的重要研究领域之一[49]. 王佳等[50]探讨健脾祛痰化瘀法对脾虚痰浊动脉粥样硬化巴马猪小肠差异蛋白的影响时发现, 健脾祛痰化瘀中药方影响脾虚痰浊动脉粥样硬化巴马猪小肠多种蛋白表达, 涉及细胞黏附分子、脂肪消化和吸收、胆汁酸分泌等通路, 提示该方通过调控这些关键通路蛋白的表达改善巴马猪小肠消化吸收功能异常, 进而改善脾虚痰浊动脉粥样硬化. 蛋白质组学的快速发展为我们深入研究疾病过程中蛋白质表达和功能作用提供了可能. 蛋白质组学技术可以在整体水平上检测出疾病中一些特异蛋白的表达, 明确疾病过程中相关蛋白的表达和功能变化, 加快对疾病病理改变的认识. 将中医药现代化研究与蛋白质组学研究结合, 从微观角度探讨中药复方作用机制, 为中医药的证候治疗提供准确分子标志物, 以此针对性的达到治疗的效果.

2.3 基于代谢产物的分析技术 肠道细菌代谢产物如短链脂肪酸(short chain fatty acids, SCFAs)在机体生理和病理过程中扮演着重要角色. 随着关于SCFAs在机体中的作用研究的不断深入, 越来越多的实验要求对人或实验动物粪便或肠内容物种中短链脂肪酸含量进行方便、快捷的测定[51]. 目前的检测方法以色谱技术较为常见. 在探究肺系调治方治疗小儿反复呼吸道感染的实验中, 吴月滢[52]发现肺系调治方可促进大鼠肠内容物中乙酸、丙酸、正丁酸的表达, 提示肺系调治方治疗小儿反复呼吸道感染的作用机制可能与大鼠肠内容物中增加的SCFAs有关. 李慧等[53]探讨黄连解毒汤对小鼠粪便中SCFAs代谢的影响时发现, 灌胃黄连解毒汤后小鼠粪便中乙酸、丙酸和丁酸含量显著升高, 提示黄连解毒汤可能促进了肠道菌群代谢, 从而导致其代谢产物短链脂肪酸增加. 通过应用色谱技术检测SCFAs的含量变化可以间接的反映出机体肠道细菌的变化, 有利于挖掘肠道中产乙酸、丙酸、丁酸的肠道有益细菌, 是中医药通过促进这些有益细菌生长及靶向调控防治多种人体疾病的潜在重要方法, 以此为中医药防治疾病及药物研发提供新的研究思路.

3 肠道酶活性检测技术在中医药调节肠道微生态研究中的应用

酶能在温和的条件下, 高效率促进生物体的新陈代谢. 肠道功能酶是机体肠道内重要组成部分, 影响机体营养物质吸收、免疫以及生长发育[54]. 酶活性检测技术已逐渐应用于肠道内容物以及肠黏膜各种功能酶活性的检测中. 吴仪等[55]用痛泻要方治疗肝气乘脾泄泻小鼠, 应用酶活性检测小鼠肠黏膜前、中、后段及肠内容物中

消化酶活性发现, 与自然恢复组比, 中药干预组小鼠肠内容物中乳糖酶活性升高, 肠道前段黏膜纤维素酶活性显著降低, 肠道中段黏膜蛋白酶、淀粉酶以及纤维素酶活性升高, 肠道后段黏膜乳糖酶、蔗糖酶活性显著升高, 提示痛泻要方对肝气乘脾泄泻小鼠肠道消化酶活性具有调节作用, 但对于肠道不同部位消化酶活性调节作用有所不同. 谭周进等[56]发现七味白术散对菌群紊乱腹泻的肠道微生态环境具有调整作用, 之后在探究七味白术散对抗生素所致腹泻小鼠肠道乳糖酶活性的影响时发现, 七味白术散治疗后小鼠肠道黏膜乳糖酶活性恢复且提高, 说明七味白术散可促进腹泻小鼠肠道黏膜乳糖酶活性恢复而治疗腹泻[16]. 基于此, 通过检测肠道中各种消化酶活性发现, 中药不仅可以通过肠道黏膜影响肠道消化酶的分泌量, 使肠道消化酶活性发生变化, 而且还会影响肠道微生物使肠道酶的来源受到影响, 进一步阐明中药对肠道消化酶活性的调节机理, 为之后从酶活性角度探索中药调节肠道菌群治疗疾病提供思考.

4 肠道微生物活度检测技术在中医药调节肠道微生态研究中的应用

微生物活度检测技术最早应用于土壤微生物检测当中, 肠道中不同种类的酶能够反映微生物参与生化反应的活跃程度, 也是微生物活度检测的重要指标[57]. 荧光素二乙酸(fluorescein diacetate, FDA)能够被细菌及真菌中的非专一性酶水解, 我们常通过测定样品FDA水解程度体现肠道中微生物的总体活度[58]. 惠华英等[17]在研究葛根芩连汤对肠道湿热证泄泻小鼠肠内容物及肠黏膜微生物活度影响时发现, 治疗组小鼠肠内容物及黏膜微生物活度降低向正常组水平变化, 提示葛根芩连汤治疗肠道湿热证泄泻可能与肠道微生物活度有关. 肠道微生物活度可在一定程度上反映肠道微生物的总体代谢能力, 肠内容物以及肠黏膜中微生物活度的不同提示处于此处的肠道微生物的种类、丰度等有所差异, 不同种类、丰度的肠道微生物必然会影响微生物总体代谢能力. 通过肠道微生物活度检测可明确中药治疗疾病过程中对于肠道微生物总体代谢能力的调控作用, 丰富了中医药治疗与肠道微生物的关系, 也为今后从肠道微生态出发探讨中医药治疗临床疾病的机理打开一扇新的大门.

5 其他检测技术在中医药调节肠道微生态研究中的应用

体外模拟胃肠系统是一种基于生理学模拟生物体进行生物学研究的创新技术. 针对肠道益生菌的开发与应用, 胃肠道环境耐受性试验已成为一个主要内容. 我们通常采用体外模拟胃肠道环境模型对其进行评价, 为更好的评估益生菌的适应性及其科学有效的使用提供依据. 刘艳平等[59]在探究知母皂苷BⅡ模拟人体胃肠道环境的稳定性研究时, 发现知母皂苷BⅡ在人工胃液、人工肠液中能稳定生存, 不会发生明显降解, 这对于知母皂苷BⅡ剂型选择和生物利用度改善具有重要意义, 也为进一步阐明知母的体内药效物质提供参考.

6 结论

肠道微生物的平衡与宿主的健康和疾病有着密切的关联. 中医药通过调控肠道微生物中菌种结构组成, 从而维持肠道微生态平衡, 对疾病的治疗有显著效果. 目前, 分子生物学技术被广泛运用于中医药调节肠道微生态研究中, 通过分子生物学技术来探讨肠道微生态的平衡与紊乱, 阐释肠道微生物与宿主的生理及病理相关性, 揭示多种肠内外疾病中医症候表现的分子机制, 为中医药治疗肠道微生态相关疾病提供理论依据和研究基础, 这对于全面了解中药药效物质基础, 为中医药在调节肠道菌群方面取得新的突破性进展, 推动中药现代化研究进程具有重要的意义. 相较于传统的肠道微生物研究方法, 目前的技术手段已经取得了非常大的进步. 但是这些技术仍然存在缺陷, 对于研究肠道微生物来说仍显不足, 如对于样品的处理方式应有所突破, 样品信息的处理仍需优化. 在未来, 随着分子生物学自身的发展, 期待有更简便快捷的方法出现, 并结合目前已有的研究技术, 按照需求进行选取以更有效地达到实验目的, 而借助生物大数据的方法可能会是未来研究的发展方向.

7 参考文献

1 谢果珍, 惠华英, 于子真, 彭买姣, 谭周进. 铁皮石斛多糖对肠道微生态的影响研究. 时珍国医国药 2019; 30: 2603-2605 [DOI: 10.3969/j.issn.1008-0805.2019.11.015]
2 王永安, 李亚兰, 吴佳佳, 葛东宇, 彭桂英. 基于高通量测序分析大承气汤对过敏性哮喘小鼠肠道菌群的影响. 中国中医药信息杂志 2021; 28: 1-5 [DOI: 10.19879/j.cnki.1005-5304.202008445]
3 何云山, 谭周进, 李丹丹, 惠华英. 保和丸对食积小鼠的肠道微生物及酶活性的影响. 中国微生态学杂志 2019; 31: 763-767 [DOI: 10.13381/j.cnki.cjm.201907004]
4 唐圆, 吴仪, 惠华英, 谭周进. 痛泻要方对肝气乘脾泄泻小鼠肠道微生物活度的影响. 中国微生态学杂志 2020; 32: 17-20 [DOI: 10.13381/j.cnki.cjm.202001004]
5 何云山, 唐圆, 肖奕菲, 肖嫩群, 惠华英. 葛根芩连汤在模拟胃肠液中对微生物生长的影响. 中国微生态学杂志 2020; 32: 125-130+137 [DOI: 10.13381/j.cnki.cjm.202002001]
6 黄皓, 郝丽, 肖向红, 张晶钰, 柴龙会, 刘畅. 肠道菌群功能及检测技术研究进展. 黑龙江畜牧兽医 2018; 13 45-48 [DOI: 10.13881/j.cnki.hljxmsy.2017.08.0266]
7 于文雅, 孙泽威. 动物胃肠道微生物研究技术的应用进展. 黑龙江畜牧兽医 2015; 3: 53-56 [DOI: 10.13881/j.cnki.hljxmsy.2015.0172]
8 方治国, 郝翠梅, 姚文冲, 欧阳志云. 空气微生物群落解析方法: 从培养到非培养. 生态学报 2016; 36: 4244-4253 [DOI: 10.5846/stxb201411272355]
9 周建波, 姜亚, 宁俊平, 曹晓燕, 黄怡, 王士长. 应用扩增性rDNA

限制性酶切片段多态性分析技术研究竹鼠盲肠细菌菌群的多样性. 动物营养学报 2013; 25: 2504-2508 [DOI: 10.3969/j.issn.1006-267x.2013.10.035]
10 刘玉婷, 郝微微, 温红珠, 邵兰君. 肠道菌群的检测方法及研究进展. 世界华人消化杂志 2016; 24: 3142-3148 [DOI: 10.11569/wcjd.v24.i20.3142]
11 李景, 王素英, 周鑫. 分子生物学技术在肠道微生态研究中的应用. 黑龙江畜牧兽医 2009; 19: 14-16 [DOI: 10.13881/j.cnki.hljxmsy.2009.19.004]
12 黄卫强, 张和平. 分子生物学技术在肠道菌群研究中的进展. 微生物学通报 2014; 41: 1195-1202 [DOI: 10.13344/j.microbiol.china.130449]
13 刘莹, 韩锰, 王文磊, 马成玉, 张沛. 高通量技术在微生物培养中的应用进展及分子测序对比分析. 安徽农业科学 2020; 48: 16-19 [DOI: 10.3969/j.issn.0517-6611.2020.15.005]
14 刘璇, 岳庆喜, 果德安. 蛋白质组学技术及其在中药复杂体系研究中的应用. 中国天然药物 2009; 7: 260-269 [DOI: 10.3724/SP.J.1009.2009.00260]
15 高冰, 于秋颖, 贾海莲, 苏军, 邰大鹏, 李梦格, 戈娜. 短链脂肪酸提取与检测的研究进展. 包头医学院学报 2019; 35: 116-117+145 [DOI: 10.16833/j.cnki.jbmc.2019.12.042]
16 惠华英, 申可佳, 李丹丹, 谭周进. 七味白术散对抗生素所致腹泻小鼠肠道乳糖酶活性的影响. 中国微生态学杂志 2018; 30: 1126-1129 [DOI: 10.13381/j.cnki.cjm.201810003]
17 惠华英, 何云山, 罗成宇, 谭周进. 葛根芩连汤对肠道湿热证泻泄小鼠肠道微生物活度和酶活性的影响. 应用与环境生物学报 2020; 2: 1-8 [DOI: 10.19675/j.cnki.1006-687x.2020.02032]
18 肖新云, 刘又嘉, 邓艳玲, 谭周进. 汉逊德巴利酵母菌在胃酸、肠胆盐环境的耐受性研究. 湖南农业科学 2016; 6: 6-8 [DOI: 10.16498/j.cnki.hnnykx.2016.06.003]
19 龙承星, 贺璐, 郭艳芳, 刘又嘉, 于子真, 任婷, 谭周进. 铁皮石斛多糖对脾虚便秘小鼠免疫、肠道微生物及酶活性的影响. 天然产物研究与开发 2017; 29: 1020-1024+1034 [DOI: 10.16333/j.1001-6880.2017.6.020]
20 唐标, 肖新云, 刘又嘉, 姚天振, 尹抗抗, 谭周进. 降脂理肝汤对高脂饮食诱导的非酒精性脂肪肝大鼠肠道微生物及酶活性的影响. 应用与环境生物学报 2016; 22: 442-445
21 杨翠, 李祖明. 分子生物学技术在肠道微生物研究中的应用进展. 中国微生态学杂志 2017; 29: 229-233+238 [DOI: 10.13381/j.cnki.cjm.201702029]
22 邝枣园, 马嫚, 宋梦微, 李岩, 张韧, 李明. 黄连解毒汤对高脂血症形成过程中小鼠肠道微生态的影响. 中国医药指南 2013; 11: 85-87 [DOI: 10.15912/j.cnki.gocm.2013.09.067]
23 杨泽锐, 曾桂梅, 彭丽华, 张苗苗, 成金乐, 詹若挺. 红景天破壁饮片对小鼠肠道菌群影响的初步研究. 中国中药杂志 2015; 40: 3053-3058 [DOI: 10.4268/cjcmm20151526]
24 邱浩然, 赵霞, 王晓春, 孔秀琴, 陈吉祥. 现代分子生物学技术在活性污泥微生物菌群多样性研究中的应用. 四川环境 2013; 32: 129-132 [DOI: 10.14034/j.cnki.schj.2013.06.002]
25 Wu M, Wu Y, Deng B, Li J, Cao H, Qu Y, Qian X, Zhong G. Isoliquiritigenin decreases the incidence of colitis-associated colorectal cancer by modulating the intestinal microbiota. *Oncotarget* 2016; 7: 85318-85331 [PMID: 27863401 DOI: 10.18632/oncotarget.13347]
26 宁华, 张荣先, 陈浩, 杨志荣, 孙群. 滇池中芽孢杆菌的ARDRA分类及溶藻特性. 湖泊科学 2008; 05: 675-680 [DOI: 10.18307/2008.0518]
27 郭抗萧, 肖新云, 刘又嘉, 龙承星, 谭周进. 七味白术散对菌群失调腹泻小鼠肠道乳酸杆菌多样性的影响. 应用与环境生物学报 2015; 21: 1071-1075 [DOI: 10.3724/sp.j.1145.2015.04030]
28 Niewold TA, Kerstens HH, van der Meulen J, Smits MA, Hulst MM. Development of a porcine small intestinal cDNA microarray: characterization and functional analysis of the response to enterotoxigenic E. coli. *Vet Immunol Immunopathol* 2005; 105: 317-329 [PMID: 15808309 DOI: 10.1016/j.vetimm.2005.02.010]
29 周鸿雲. 基于“五味合化”理论研究人参乌梅汤加味及其性味拆方对腹泻模型大鼠结肠差异基因表达的影响. 四川省: 成都中医药大学 2019
30 何世斌, 柴连琴, 谭珺隽, 沈尧, 周萍, 马云峰, 李立家. 荧光原位杂交技术的研究进展. 植物科学学报 2014; 32: 199-204 [DOI: 10.1016/10.3724/SP.J.1142.2014.20199]
31 郭建壮. 用中药调节剂采取边抗边调等方式对抗生素所致菌群失调进行防治的研究. 新疆: 佳木斯大学 2012
32 周良云, 刘谈, 王升, 唐金富, 康利平, 郭兰萍. 实时荧光定量PCR研究进展及其在中药领域的应用. 中国现代中药 2016; 18: 246-251+262 [DOI: 10.13313/j.issn.1673-4890.2016.2.027]
33 孙平良. 基于代谢组学的溃疡性结肠炎大鼠肠道微生态变化及安肠汤干预机制研究. 广西省: 广西医科大学 2017
34 曾艺鹏, 冯新格, 谷成英, 郭亚芳, 许迎烈. 葛根芩连汤治疗对2型糖尿病湿热证肠道菌群影响. 河北医学 2016; 22: 1731-1734 [DOI: 10.3969/ j.issn.1006-6233.2016.10.064]
35 彭买姣, 惠华英, 肖嫩群, 谭周进. 芦笋对高脂饮食小鼠肠道内容物细菌多样性的影响. 核农学报 2019; 33: 2229-2236 [DOI: 10.11869/j.issn.100-8551.2019.11.2229]
36 王玉静, 陆梓涔, 陈俊煜, 陈毅歆. 高通量测序技术的发展及其在临床检测中的应用现状. 厦门大学学报(自然科学版) 2020; 6: 1-11 [DOI: 10.6043/j.issn.0438-0479.202006033]
37 Zhang C, Shao H, Li D, Xiao N, Tan Z. Role of tryptophan-metabolizing microbiota in mice diarrhea caused by Folium sennae extracts. *BMC Microbiol* 2020; 20: 185 [PMID: 32600333 DOI: 10.1186/s12866-020-01864-x]
38 Zhang C, Shao H, Peng X, Liu T, Tan Z. Microbiotal characteristics colonized in intestinal mucosa of mice with diarrhoea and repeated stress. *3 Biotech* 2020; 10: 372 [PMID: 32832332 DOI: 10.1007/s13205-020-02368-1]
39 Schatz MC, Delcher AL, Salzberg SL. Assembly of large genomes using second-generation sequencing. *Genome Res* 2010; 20: 1165-1173 [PMID: 20508146 DOI: 10.1101/gr.101360.109]
40 Rhoads A, Au KF. PacBio Sequencing and Its Applications. *Genomics Proteomics Bioinformatics* 2015; 13: 278-289 [PMID: 26542840 DOI: 10.1016/j.gpb.2015.08.002]
41 吴森, 张莺莺, 昝林森. 基于高通量测序的宏基因组学技术在动物胃肠道微生物方面的研究进展. 生物技术进展 2015; 5: 77-84 [DOI: 10.3969/j.issn.2095-2341.2015.02.01]
42 郭抗萧, 彭买姣, 彭昕欣, 惠华英, 谭周进. 七味白术散对菌群失调腹泻小鼠肠道细菌多样性的影响. 微生物学通报 2018; 45: 1470-1478 [DOI: 10.13344/j.microbiol.china.170751]
43 Xie G, Tan K, Peng M, Long C, Li D, Tan Z. Bacterial diversity in intestinal mucosa of antibiotic-associated diarrhea mice. *3 Biotech* 2019; 9: 444 [PMID: 31763122 DOI: 10.1007/s13205-019-1967-2]
44 McGovern E, McCabe MS, Cormican P, Popova M, Keogh K, Kelly AK, Kenny DA, Waters SM. Plane of nutrition affects the phylogenetic diversity and relative abundance of transcriptionally active methanogens in the bovine rumen. *Sci Rep* 2017; 7: 13047 [PMID: 29026096 DOI: 10.1038/s41598-017-13013-y]
45 Jia W, Whitehead RN, Griffiths L, Dawson C, Bai H, Waring RH, Ramsden DB, Hunter JO, Cauchi M, Bessant C, Fowler DP, Walton C, Turner C, Cole JA. Diversity and distribution of sulphate-reducing bacteria in human faeces from healthy subjects and patients with inflammatory bowel disease. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2012; 65: 55-68 [PMID: 22309113 DOI: 10.1111/j.1574-695X.2012.00935.x]
46 贺璐, 龙承星, 李丹丹, 张雪, 彭买姣, 谭周进. 四磨汤对脾虚便秘小鼠肠道细菌丰度及功能基因的影响. 中国微生态学杂志2017; 29: 133-138 [DOI: 10.13381/j.cnki.cjm.201702003]
47 He L, Liu Y, Guo Y, Shen K, Hui H, Tan Z. Diversity of intestinal bacterial lactase gene in antibiotics-induced diarrhea mice treated with Chinese herbs compound Qi Wei Bai Zhu San. *3 Biotech* 2018; 8: 4 [PMID: 29242764 DOI: 10.1007/s13205-017-1024-y]
48 龙承星. 七味白术散对菌群失调腹泻小鼠肠道黏膜细菌及乳糖

酶基因多样性的影响. 湖南省: 湖南中医药大学 2019
49 刘宁宁, 张铁军, 郝菲凡, 徐霞, 苗华为, 王艳炜. 半夏白术天麻汤治疗痰湿壅盛型高血压机制探讨. 河北中医药学报 2020; 35: 40-43+57 [DOI: 10.16370/j.cnki.13-1214/r.2020.04.011]
50 王佳. 基于蛋白组学探讨健脾祛痰化瘀法对脾虚痰浊AS巴马猪小肠差异蛋白及能量代谢变化的影响. 辽宁中医药大学 2020
51 邵玉健, 沈红, 徐金娣, 康东周, 李松林. 粪便中短链脂肪酸测定方法研究进展. 药物分析杂志 2019; 39: 967-974 [DOI: 10.16155/j.0254-1793.2019.06.02]
52 吴月滢. 肺系调治方干预肠黏膜屏障防治小儿反复呼吸道感染的实验研究. 云南省: 云南中医药大学 2019
53 李慧, 杨光勇, 刘茜明, 陈瑞, 何光志, 王文佳, 田维毅, 蔡琨, 王平, 黄高, 梁建东. 黄连解毒汤对小鼠血清中Trp、Kyn、5-HT及粪便中短链脂肪酸代谢的影响.黑龙江畜牧兽医 2019; 9: 126-129 [DOI: 10.13881/j.cnki.hljxmsy.2018.06.0060]
54 刘又嘉, 肖新云, 邓艳玲, 郭抗萧, 佘颜, 谭周进. 七味白术散与酵母菌联用对菌群失调腹泻模型小鼠肠道乳酸杆菌多样性的影响. 航天医学与医学工程 2016; 29: 175-180
55 吴仪, 唐圆, 刘娅薇, 惠华英, 谭周进. 痛泻要方对“肝气乘脾”泄泻小鼠肠黏膜及肠内容物消化酶活性的影响. 中国微生态学杂志 2020; 32: 745-749 [DOI: 10.13381/j.cnki.cjm.202007001]
56 谭周进, 吴海, 刘富林, 蔡莹, 蔡光先, 张华玲, 曾奥. 超微七味白术散对肠道微生物及酶活性的影响. 生态学报 2012; 32: 6856-6863 [DOI: 10.5846/ stxb201109271422]
57 王佳佳, 周桦, 张进. 土壤样品中微生物活性的荧光分析方法. 环境化学 2012; 31: 1637-1644
58 许云翔, 何莉莉, 刘玉学, 吕豪豪, 汪玉瑛, 陈金媛, 杨生茂. 施用生物炭6年后对稻田土壤酶活性及肥力的影响. 应用生态学报 2019; 30: 1110-1118 [DOI: 10.13287/j.1001-9332.201904.002]
59 刘艳平, 余自成. 知母皂苷BII在模拟人体胃肠道环境及生物样品中的稳定性研究. 中国现代应用药学 2018; 35: 653-656 [DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2018.05.007]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 © 2021 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

• 消息 •

书讯

本刊讯 由池肇春教授主编的《腹痛的诊断、鉴别诊断与治疗》已由人民卫生出版社出版发行.

腹痛是消化系统最常见的症状之一, 可引起腹痛的疾病很多, 容易发生误诊或漏诊, 以致患者得不到及时的诊治. 本书由全国著名消化内科及相关学科专业学者共同执笔, 为近年在腹痛诊疗方面的最新代表作. 精装, 图文并茂, 内容新颖实用, 全书2014千字, 分上下两篇, 上篇为总论, 包括腹痛的病理生理学、腹痛的病因与发病机制、腹痛的临床诊断、腹痛的内镜与影像诊断与鉴别诊断、腹痛的实验室诊断、腹痛的治疗等11章. 下篇为各论, 分别介绍腹痛疾病的鉴别诊断与治疗. 从第12章至第15章分别介绍腹腔脏器炎症、阻塞、扭转、穿孔、破裂、血管疾病、心肺疾病、妇科疾病、急性中毒等引起急性腹痛的鉴别诊断与治疗. 从第17章至第29章分别介绍胃肠、胰, 肾、感染、肿瘤引起的慢性腹痛鉴别诊断与治疗. 从第30章至第36章分别介绍肝胆系统疾病和系统疾病引起腹痛的鉴别诊断与治疗. 最后一章为经典案例53例, 分别介绍了不同案例的诊治体会、经验与教训.

全书以症状鉴别诊断为中心, 与治疗并重, 均作了全面与详尽的阐述, 是一部有关腹痛诊治的新作, 有较高的学术水平和参考价值, 可为消化内科、普外科、小儿科、感染科、肿瘤科、影像科和妇产科等学科医师学习与参考. 每册定价188元 , 购书热线 010-59787592, 010-59787584, 010-65264830, 人卫智慧服务商城(人卫社官方购书网站)、当当、京东、天猫等网店均可搜索购书, 欢迎选购.

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: https://www.baishideng.com

世界华人消化杂志 2021年5月8日; 29(9): 488-495

DOI: 10.11569/wcjd.v29.i9.488

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

临床实践 CLINICAL PRACTICE

结肠癌患者谷胱甘肽巯基转移酶P1(GSTP1)基因多态性与奥沙利铂敏感性和中医证型的相关性研究

查华英, 吴 岩, 尚洛南, 孙 方

查华英, 吴岩, 浙江省德清县中医院内科 浙江省湖州市 313200

尚洛南, 浙江省德清县中医院影像科 浙江省湖州市 313200

孙方, 浙江省德清县中医院放化疗科 浙江省湖州市 313200

查华英, 副主任中医师, 研究方向为中医内科.

作者贡献分布: 此课题由查华英设计; 研究过程由吴岩, 尚洛南, 孙方操作完成.

通讯作者: 查华英, 副主任中医师, 313200, 浙江省湖州市德清县武康镇群益街383号, 浙江省德清县中医院. xunfangyaobai@163.com

收稿日期: 2020-12-18
修回日期: 2021-01-23
接受日期: 2021-04-02
在线出版日期: 2021-05-08

Association of glutathione thioltransferase P1 (*GSTP1*) gene polymorphism with sensitivity to oxaliplatin and traditional Chinese medicine syndrome types in colon cancer patients

Hua-Ying Cha, Yan Wu, Luo-Nan Shang, Fang Sun

Hua-Ying Cha, Yan Wu, Department of Medicine, Deqing County Hospital of Traditional Chinese Medicine, Huzhou 313200, Zhejiang Province, China

Luo-Nan Shang, Department of Imaging, Deqing County Hospital of Traditional Chinese Medicine, Huzhou 313200, Zhejiang Province, China

Fang Sun, Department of Radiotherapy and Chemotherapy, Deqing County Hospital of Traditional Chinese Medicine, Huzhou 313200, Zhejiang Province, China

Corresponding author: Hua-Ying Cha, Deputy Chief Physician of Traditional Chinese Medicine, Department of Medicine, Deqing County Hospital of Traditional Chinese Medicine, No. 383 Qunyi Street, Deqing Country, Huzhou 313200, Zhejiang Province, China. xunfangyaobai@163.com

Received: 2020-12-18
Revised: 2021-01-23
Accepted: 2021-04-02
Published online: 2021-05-08

Abstract

BACKGROUND

Colon cancer has a high incidence, and chemotherapy is still the only treatment for it. Oxaliplatin, as a third generation platinum chemotherapy drug, has a good efficacy in the treatment of colorectal cancer. However, due to the influence of genetic susceptibility, people with different genotypes have different sensitivities to oxaliplatin. As a result, the therapeutic effect varies greatly among different patients.

AIM

To explore the association of glutathione sulfhydryl transferase P1 (*GSTP1*) gene polymorphism with sensitivity to oxaliplatin and traditional Chinese medicine (TCM) syndrome types in colon cancer patients.

METHODS

A total of 246 colon cancer patients who received chemotherapy with oxaliplatin-based regimens at our hospital from January 2015 to June 2020 were selected. The Ile105Val polymorphism of *GSTP1* gene was detected before chemotherapy, and the curative effect was evaluated after three cycles of chemotherapy. The clinical data and the distribution of *GSTP1* genotypes of patients with different chemotherapy effects were compared, and the factors affecting the efficacy of oxaliplatin chemotherapy were analyzed. The distribution of TCM syndrome types of colon cancer patients was also

calculated, and the relationship between GSTP1 genotype and TCM syndrome types and syndrome elements was evaluated.

RESULTS

There was a polymorphism in the Ile105Val locus of the *GSTP1* gene, which conformed to the Hardy-Weinberg equilibrium law and was representative of the population ($P > 0.05$). After three cycles of oxaliplatin chemotherapy in 246 patients with colon cancer, the total effective rate was 43.90% (108/246). Clinical stage Ⅳ, moderate/well differentiation lymph node metastasis, and *GSTP1* genotypes AG and GG were important factors influencing the effect of oxaliplatin chemotherapy in colon cancer patients ($P < 0.05$). The distribution of TCM syndromes in 118 patients with colon cancer was as follows: Stasis-toxin internal resistance type > Spleen and kidney Yang deficiency type > Qi and blood deficiency type > Damp-heat accumulation type > Liver and kidney Yin deficiency type. There was a statistically significant difference in the distribution of *GSTP1* genotypes in patients with blood stasis internal resistance type and Qi and blood deficiency type ($P < 0.05$). There was a statistically significant difference in the distribution of TCM syndrome types among patients with different *GSTP1* genotypes ($P < 0.05$). The distribution of spleen, lung, and kidney elements of TCM syndromes in patients with different *GSTP1* genotypes was significantly different ($P < 0.05$).

CONCLUSION

There is an association between the *GSTP1* gene polymorphism and sensitivity to oxaliplatin and TCM syndrome types in colon cancer patients. Therefore, the detection of *GSTP1* gene polymorphism is helpful to evaluate the therapeutic effect in patients receiving oxaliplatin as the basic drug chemotherapy, determine the type of TCM syndrome, and provide scientific guidance for individualized treatment of colon cancer.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Colon cancer; Glutathione sulfhydryl transferase P1; Gene polymorphism; Oxaliplatin; TCM syndrome type

Citation: Cha HY, Wu Y, Shang LN, Sun F. Association of glutathione thioltransferase P1 (*GSTP1*) gene polymorphism with sensitivity to oxaliplatin and traditional Chinese medicine syndrome types in colon cancer patients. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2021; 29(9): 488-495

URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i9/488.htm

DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i9.488

摘要

背景

结肠癌属于发病率均较高的癌症, 化疗仍是其只要治疗手段, 奥沙利铂作为第三代铂类化疗药物在治疗肠癌方面有较好的的疗效, 但受基因易感性的影响, 不同基因型的人群对药物的敏感性不同, 因而治疗效果也有较大差异.

目的

探究结肠癌患者谷胱甘肽巯基转移酶P1(Glutathione S-transferase pi 1, GSTP1)基因多态性与奥沙利铂敏感性和中医证型的相关性.

方法

选取我院2015-01/2020-06结肠癌患者246例, 均行奥沙利铂方案化疗, 化疗前检测*GSTP1*基因Ile105Val位点多态性, 化疗3个周期后评价疗效. 比较不同化疗疗效患者临床资料、GSTP1基因型分布情况, 分析奥沙利铂化疗疗效的影响因素, 并统计结肠癌患者中医证型分布情况, 评价GSTP1基因型与中医证型、证素的关系.

结果

*GSTP1*基因Ile105Val位点存在多态性, 符合哈迪-温伯格(Hardy-Weinberg)遗传平衡定律检验, 具有人群代表性($P>0.05$). 246例结肠癌患者经奥沙利铂方案化疗3个周期后, 总有效率为43.90%(108/246). 临床分期Ⅳ期、中高分化、淋巴结转移、GSTP1基因型AG、GG是结肠癌患者奥沙利铂化疗效果的重要影响因素($P<0.05$). 118例结肠癌患者中医证型分布情况: 瘀毒内阻型>脾肾阳虚型>气血双亏型>湿热蕴结型>肝肾阴虚型. 瘀毒内阻型、气血双亏型患者*GSTP1*基因型分布比较, 差异有统计学意义($P<0.05$); 不同GSTP1基因型分布患者中医证型分布比较, 差异有统计学意义($P<0.05$); 不同GSTP1基因型患者中医病位证素脾、肺、肾分布差异有统计学意义($P<0.05$).

结论

结肠癌患者GSTP1基因多态性与奥沙利铂敏感性、中医证型均存在一定相关性, 因此检测GSTP1基因多态性, 有助于评价患者接受以奥沙利铂为基础药物化疗的治疗效果, 判断中医证型, 从而为结肠癌个体化治疗提供科学指导.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 结肠癌; 谷胱甘肽巯基转移酶P1; 基因多态性; 奥沙利铂; 中医证型

核心提要: 本研究从化疗药物和中医证型两方面来探讨GSTP1基因多态性与结肠癌治疗的相关性, 通过中西医结合的方式发现GSTP1基因多态性对奥沙利铂的敏感性和中医证型均密切相关.

文献来源: 查华英, 吴岩, 尚洛南, 孙方. 结肠癌患者谷胱甘肽巯基转移酶P1(GSTP1)基因多态性与奥沙利铂敏感性和中医证型的相关性研究. 世界华人消化杂志 2021; 29(9): 488-495
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i9/488.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i9.488

0 引言

流行病学调查显示, 结肠癌是全球第3大常见恶性肿瘤, 其发生率随饮食结构改变不断增长, 且5年生存率仅为50.0%[1-3]. 以奥沙利铂为基础的化疗方案治疗晚期结肠癌有效率为20.0%-30.0%, 但其易产生外周神经炎等不良反应, 影响患者生存质量, 甚至中断治疗进程[4,5]. 目前, 中医药已成为结肠癌患者综合治疗的一个有效组成部分, 在增强免疫功能、降低毒副反应、提高患者对化疗耐受性、预防复发转移等方面具有一定作用, 但中晚期结肠癌的中医证型缺乏统一的辨证标准[6]. 另外, 生物医学研究已表明[7], DNA损伤修复、药物代谢及解毒等基因存在单核苷酸多态是药物治疗疗效及耐受性个体差异的重要影响因素. 谷胱甘肽巯基转移酶P1(glutathione S-transferase P1, GSTP1)是人类谷胱甘肽S转移酶家族主要成员, 有学者认为, 其不仅与化疗药物代谢具有密切联系, 也与结直肠癌发病及易感性有关[8], 然而关于其与结肠癌患者中医证型的相关性仍缺乏循证依据, 有待进一步深入探讨. 基于此, 本研究尝试分析结肠癌患者GSTP1基因多态性与奥沙利铂敏感性和中医证型的相关性. 详情如下.

1 材料和方法

1.1 一般资料 选取我院2017-01/2020-06结肠癌患者118例, 均行奥沙利铂方案化疗, 其中女49例, 男69例, 年龄40-65岁, 平均(53.25±3.69)岁. 本研究经我院医学伦理委员会批准, 所有研究对象均签署知情同意书.

纳入标准: (1)均符合《2014 JSCCR指南: 结直肠癌的治疗》[9]中结肠癌诊断标准, 并经手术病理组织学检查证实; (2)符合奥沙利铂方案化疗适应证; (3)临床分期ⅢB-Ⅳ期; (4)中医证型标准: 参照《实用中医肿瘤学》[10]和《中医内科学》[11]进行中医辨证分型, 并均符合下述2项主症或1项主症、1项次症、舌脉标准: ①气血双亏型. 主症: 腹痛绵绵, 或腹内结块, 肛门重坠, 大便带血, 泄泻; 次症: 形瘦纳少, 面色苍白, 唇甲不华; 舌质淡, 苔薄白, 脉细弱无力; ②湿热蕴结型. 主症: 腹部阵痛, 下利赤白, 里急后重, 大便干稀不调, 肛门灼热; 次症: 口干、发热、纳差、小便黄; 舌质红, 苔黄腻, 脉滑数; ③肝肾阴虚型. 主症: 腹痛隐隐, 腹内结块, 便秘, 大便带血为主症; 次症: 腰膝酸软, 头晕耳鸣, 口咽干燥, 盗汗, 形瘦纳差; 舌红少苔, 脉弦细数; ④瘀毒内阻型. 主症: 腹胀刺痛拒按, 下利紫黑脓血, 量多; 次症: 痛处拒按, 烦热口渴, 唇甲青紫或有肌肤甲错; 舌质黯或有瘀斑、瘀点, 苔黄, 脉涩; ⑤脾肾阳虚型. 主症: 腹痛喜温喜按, 下利清谷, 五更泄泻, 见大便带血; 次症: 面色苍白或萎黄, 少气无力, 畏寒肢冷, 腰酸膝冷; 舌质淡胖有齿痕, 苔薄白, 脉沉细弱.

排除标准: (1)合并肝肾等其他重要脏器器质性病变者; (2)预计生存期<6 mo; (3)存在奥沙利铂、亚叶酸钙、5-氟尿嘧啶等药物过敏史者; (4)凝血机制紊乱或活动性出血者; (5)精神失常者.

1.2 方法

1.2.1 临床资料收集: 自制临床资料调查问卷(经预试验, 本问卷内部一致性信度Cronbach's α系数为0.85, 内容效度为0.92), 收集患者年龄、性别、肿瘤直径、卡氏评分(karnofsky performance scale, KPS)、临床分期、分化程度、淋巴结转移等资料, 其中KPS评分包括功能状况、体力状况两部分, 总分0-100分, 得分与生活质量呈正相关.

1.2.2 奥沙利铂方案化疗: (1)67例采用改良FOLFOX4方案: d1, 静脉滴注奥沙利铂(海南锦瑞制药有限公司, 国药准字H20143023, 规格: 50 mg)130 mg/m^2, 持续静脉滴注120 min; d1-5, 静脉滴注亚叶酸钙[江苏奥赛康药业有限公司, 国药准字H20060198, 规格: 50 mg(按亚叶酸计)]130 mg/m^2, 持续静脉滴注120 min, 同时静脉滴注5-氟尿嘧啶(远大医药黄石飞云制药有限公司, 国药准字H20051138, 规格: 0.5 g)300 mg/m^2, 持续静脉滴注240 min, 21 d为1个周期. (2)51例采用Xelox方案: d1, 静脉滴注奥沙利铂130 mg/m^2, 持续静脉滴注120 min; d1-14, 口服卡培他滨(正大天晴药业集团股份有限公司, 国药准字H20143044, 规格: 0.5 g)250 mg/m^2, 2次/d, 21 d为1个周期.

1.2.3 GSTP1基因多态性检测: 所有研究对象化疗前均留取2 mL静脉血, 置于乙二胺四乙酸抗凝管中, 严格按照赛默飞世尔科技(中国)有限公司提供的血液基因组DNA提取试剂盒说明书提取样本DNA, 采用北京海天友诚科技有限公司提供的752N型紫外分光光度计测定DNA纯度. *GSTP1*基因片段PCR扩增引物由上海生工生物工程技术服务有限公司合成, 引物序列如下: 上游引物: 5'-ACCCCAGGGCTCTATGGGAA-3'; 下游引物: 5'-TGAGGGCACAAGAAGCCCCT-3'; 探针引物1(FAM): 5'-GCAAATACATCTCCCTCA-3'; 探针引物2(HEX): 5'-GCAAATACGTCTCCCTCA-3'. PCR扩增体系: 总共25 μL, 分别为Nucleasee-free Water 9.25 μL, GSTP1上、下游引物、探针引物各0.5 μL, Premix Taq 12 μL, 基因组DNA 1 μL, 二甲基亚砜1.25 μL. PCR反应条件: 94 ℃预变性5 min; 72 ℃ 2 min; 94 ℃变性30 s,

表 1 奥沙利铂化疗不同疗效患者临床资料

资料	有效患者(n = 108)	无效患者(n = 138)	t/χ^2	P值
年龄(岁)	53.38 ± 7.19	54.22 ± 6.28	0.977	0.330
性别				
男	58(53.70)	77(55.80)	0.107	0.743
女	50(46.30)	61(44.20)		
肿瘤直径(cm)				
≤3	39(36.11)	47(34.06)	0.112	0.738
> 3	69(63.89)	91(65.94)		
临床分期				
IIIB期	60(52.56)	45(32.61)	13.040	< 0.001
Ⅳ期	48(47.44)	93(67.39)		
分化程度				
中高分化	67(62.04)	57(41.30)	10.418	0.001
低分化	41(37.96)	81(58.70)		
淋巴结转移				
无	55(50.93)	40(28.99)	12.304	0.001
有	53(49.07)	98(71.01)		
KPS评分(分)				
60–70	43(39.81)	58(42.03)	0.123	0.726
> 70	65(60.19)	80(57.97)		

KPS评分: 卡氏状态功能评分标准.

63.4 ℃低温复性30 s, 72 ℃退火延伸30 s, 共40个循环. 每个循环结束时, 自动检测荧光信号. 分型结果由仪器自动生成.

1.2.4 质量控制: 上述操作均由接受专业培训后质检人员进行统计与检测, 并签署患者信息保密书, 以保证数据安全性, 保护患者隐私问题.

1.3 疗效判定标准 化疗3个周期后所有患者均接受CT检查, 采用单径测量法测定肿瘤直径、垂直径, 并参照RECIST标准[12]评估两组治疗效果. 完全缓解(complete response, CR): 肿瘤完全消失, 维持≥4 wk; 部分缓解(partial response, PR): 肿瘤最大直径与最大垂直径乘积减少＞50.0%, 并维持≥4 wk; 疾病稳定(stable disease, SD): 介于PR、疾病进展(progressive disease, PD); PD: 肿瘤最大直径与最大垂直径乘积增加＞25.0%, 或出现新病灶. 总有效率 = (CR+PR+SD)/总例数×100%.

1.4 观察指标 (1)统计GSTP1基因型分布情况; (2)分析奥沙利铂化疗疗效, 并比较不同化疗疗效患者临床资料; (3)比较不同化疗疗效患者GSTP1基因型分布情况; (4)分析结肠癌患者奥沙利铂化疗疗效的影响因素; (5)统计结肠癌患者中医证型分布情况; (6)分析GSTP1基因型与中医证型的关系; (7)GSTP1基因型与中医病位证素的关系.

统计学处理 采用统计学软件SPSS 22.0处理数据, 计量资料采取Bartlett方差齐性检验与夏皮罗-威尔克正态性检验, 均确认具备方差齐性且近似服从正态布, 以mean±SD描述, 两组间比较采用独立样本t检验; 计数资料用n(%)表示、χ^2检验, 等级资料用u表示、Ridit检验; 影响因素采用Logistic多因素回归分析. 均采用双侧检验, $\alpha = 0.05$.

2 结果

2.1 GSTP1基因型分布情况 GSTP1基因Ile105Val位点经Taqman-PCR法检测显示: 野生纯合型(AA)、突变杂合型(AG)、突变纯合型(GG), PCR扩增目的片段经琼脂糖凝胶电泳鉴定后, 随机选取10%样本进行基因测序验证, 使用BioEdit version 5.0.6软件查看测序结果, 证实*GSTP1*基因Ile105Val位点存在多态性. PCR产物电泳图见图1. 本研究246例样本中, 共检测到140例AA, 82例AG, 24例GG, 多态性分布符合Hardy-Weinberg遗传平衡定律检验, 具有人群代表性(P＞0.05).

2.2 奥沙利铂化疗疗效及不同疗效患者临床资料 246例结肠癌患者经奥沙利铂方案化疗3个周期后, CR 0例, PR 58例, SD 50例, PD 138例, 总有效率为43.90%(108/246). 有效患者年龄、性别、肿瘤直径、KPS评分与无效患者差异无统计学意义; 有效患者临床分期、分化程度、淋巴结转移与无效患者差异有统计学意义(P＜0.05), 见表1.

表 2　不同化疗疗效患者GSTP1基因型分布情况

组别	例数	AA	AG	GG
有效患者	108	36(33.33)	54(50.00)	18(16.67)
无效患者	138	104(75.36)	28(20.29)	6(4.35)
u			5.829	
P			< 0.001	

表 3　奥沙利铂化疗疗效的影响因素

变量	β	*S.E.*	Wald χ^2	*P*	OR	95%CI
临床分期						
IIIB期					1.000	
Ⅳ期	1.072	0.314	11.651	< 0.001	2.921	1.813–4.705
分化程度						
低分化					1.000	
中高分化	–0.555	0.178	9.710	< 0.001	0.574	0.362–0.911
淋巴结转移						
无					1.000	
有	1.543	0.452	11.658	< 0.001	4.680	2.428–9.021
GSTP1基因型						
AA					1.000	
AG	–0.742	0.201	12.889	< 0.001	0.486	0.317–0.745
GG	–0.644	0.197	10.683	< 0.001	0.525	0.334–0.826

表 4　GSTP1基因型与中医证型的关系

中医证型	AA(*n* = 140)	AG(*n* = 82)	GG(*n* = 24)	χ^2	*P*
瘀毒内阻型	19(13.57)	36(43.90)	15(62.50)	38.509	< 0.001
脾肾阳虚型	38(27.14)	22(26.83)	2(8.33)	4.018	0.134
气血双亏型	41(29.29)	6(7.32)	2(8.33)	17.884	< 0.001
湿热蕴结型	24(17.14)	9(10.98)	1(4.17)	3.733	0.155
肝肾阴虚型	18(12.86)	9(10.98)	4(16.67)	0.565	0.754
χ^2	20.804	48.262	35.104		
P	< 0.001	< 0.001	< 0.001		

表 5　GSTP1基因型与中医证素的关系

基因型	例数	肝	脾	大肠	肺	肾
AA	140	18(12.86)	38(27.14)	24(17.14)	41(29.19)	57(40.71)
AG	82	9(10.98)	34(41.46)	9(10.98)	4(4.88)	25(30.49)
GG	24	4(16.67)	16(66.67)	1(4.17)	1(4.17)	4(16.67)
χ^2		0.565	15.664	3.733	23.959	6.292
P		0.754	< 0.001	0.155	< 0.001	0.043

2.3 不同化疗疗效患者GSTP1基因型分布情况 Ridit检验, 有效患者GSTP1基因型分布情况与无效患者存在显著差异($P<0.05$), 见表2.

2.4 奥沙利铂化疗疗效的影响因素 以奥沙利铂化疗疗效为因变量(有效 = 0, 无效 = 1), 以临床分期、分化程度、淋巴结转移、GSTP1基因型作为自变量(临床分期:

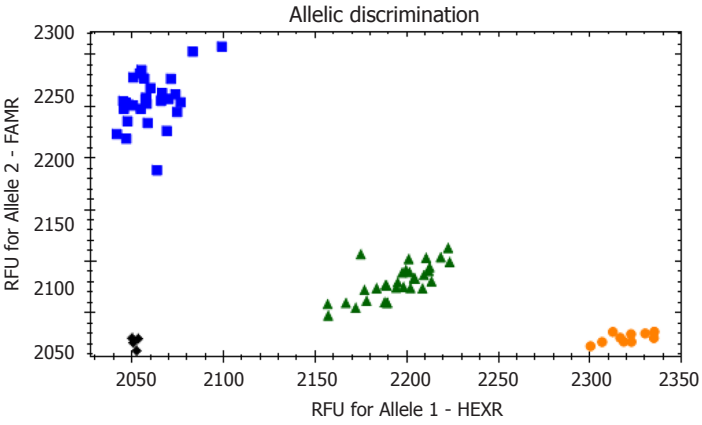


图 1　分型结果散点图.

ⅢB期 = 1, Ⅳ期 = 2; 分化程度: 低分化 = 1, 中高分化 = 2; 淋巴结转移: 否 = 0, 是 = 1; GSTP1基因型引入哑变量赋值: AA = 1, AG = 2, GG = 3), Logistic回归分析, Ⅳ期结肠癌患者发生奥沙利铂化疗无效的风险可能是ⅢB期患者的2.730倍; 中高分化结肠癌患者发生奥沙利铂化疗无效的风险可能是低分化患者的0.558倍; 有淋巴结转移的结肠癌患者发生奥沙利铂化疗无效的风险可能是无淋巴结转移的4.570倍; GSTP1基因型AG的结肠癌患者发生奥沙利铂化疗无效的风险可能是AA患者的0.470倍, GSTP1基因型GG的结肠癌患者发生奥沙利铂化疗无效的风险可能是AA患者的0.502倍(P<0.05), 见表3.

2.5 结肠癌患者中医证型分布情况　118例结肠癌患者中医证型分布情况: 瘀毒内阻型>脾肾阳虚型>气血双亏型>湿热蕴结型>肝肾阴虚型, 详见图2.

2.6 GSTP1基因型与中医证型的关系　瘀毒内阻型、气血双亏型患者GSTP1基因型分布存在显著差异(P<0.05), 脾肾阳虚型、湿热蕴结型、肝肾阴虚型患者GSTP1基因型分布差异无统计学意义; 不同GSTP1基因型分布患者中医证型分布差异有统计学意义(P<0.05); 见表4.

2.7 GSTP1基因型与中医病位证素的关系　不同GSTP1基因型患者中医病位证素脾、肺、肾分布差异有统计学意义(P<0.05), 见表5.

3 讨论

由于中晚期结肠癌患者病灶通常无法彻底切除, 姑息性切除适应证少, 故化疗是其治疗首选方案, 但化疗方案较多, 并非所有患者均能从特定化疗方案中获益[13,14], 因此, 明确影响结肠癌化疗疗效因素, 有助于指导临床拟定针对性化疗方案.

3.1 结肠癌奥沙利铂化疗疗效与GSTP1基因多态性的关联性　GSTP1属Ⅱ相代谢酶, 可结合亲电子细胞毒药物, 提高亲电子细胞毒药物水溶性, 调控化疗药物代谢[15-17], Ile105Val是其最为常见的一种多态, 可降低GSTP1酶稳定性及催化活性. 本研究中, 246例结肠癌患者*GSTP1*基因Ile105Val位点符合Hardy-Weinberg遗传平衡, 可见纳入患者具有良好群体代表性. 另外, 闫晋等[18]研究证实, 与突变型编码的GSTP1酶解毒活性比较, GSTP1 Ile105Va野生型编码的GSTP1酶解毒活性可上调2-3倍. 本研究经Logistic多因素回归分析, GSTP1基因型AG、GG是结肠癌患者奥沙利铂化疗效果的保护因素, 这可能归因于GSTP1酶作为调控铂类药物代谢的重要酶, 其突变后可明显减弱GSTP1酶结合奥沙利铂的能力, 抑制奥沙利铂代谢排出, 进而增强机体对铂类药物的敏感性. 由此可见, *GSTP1*基因可能是结肠癌奥沙利铂敏感性的标志之一. 但McLeod等[19]通过520例晚期大肠癌患者却发现, GSTP1 GG基因型患者因神经毒性可能终止FOLFOX方案化疗进程, 与本研究结果存在一定差异, 可能与种族、地域不同有关. 另外, 在评估奥沙利铂化疗疗效的同时还应将临床分期、分化程度、淋巴结转移等因素纳入考虑范围内, 以减少研究结果偏移.

3.2 结肠癌中医证型与GSTP1基因多态性的关系　目前结肠癌中医证型尚无统一标准. 方汉钦[20]研究认为, 结肠癌临床分期为Ⅲ期、Ⅳ期患者以虚证多见, 主要表现为气滞血瘀证. 另有学者指出[21], 大肠癌证候演变多是由实转虚, 随病情演变, 正邪胶着日久, 肿瘤末期脏腑机能损伤, 气血津液损伤, 故虚证是大肠癌晚期常见证型. 本研究将结肠癌分为5种中医证型, 其中证型分布以虚证为多见, 尤以脾肾阳虚型多见, 实证分布以瘀毒内阻型最为多见, 考虑其原因可能与结肠癌病理机制存在一定相关性, 本虚标实是结肠癌病机, 素体亏虚是其内因, 邪气外侵是其外因, 正气虚衰, 致使邪气留滞不去, 脾虚运化无力, 痰湿结聚体内, 气血运化不畅, 日久化热, 与瘀、毒搏结日久而致病. 另有学者通过分析GSTP1遗传多态性型发现[22], AA、AG及GG 3种基因型患者兼夹脾证素频率逐一减小, 说明GSTP1基因多态性可能影响结

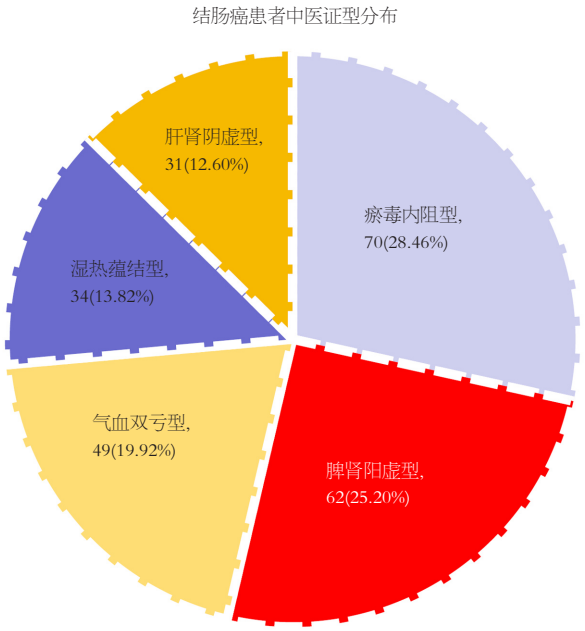


图 2　结肠癌患者中医证型分布情况.

直肠癌术后患者气虚证兼夹. 本研究结果表明, *GSTP1*基因AG、GG患者中医证型以瘀毒内阻型为多, 且不同GSTP1基因型分布患者中医证型分布、中医病位证素脾、肺、肾分布比较, 差异有统计学意义, 由此推测, 结肠癌患者GSTP1基因多态性与中医证型存在一定相关性, 这可能与不同GSTP1基因型对基因产物酶活性或代谢底物亲和性的影响不一, 从而诱导患者出现不同中医证型易患趋势有关, 同时, 不同中医证型奥沙利铂化疗敏感性不一可能也是上述结果出现的原因之一.

4 结论

综上可知, 结肠癌患者GSTP1基因多态性与奥沙利铂敏感性和中医证型均存在一定相关性, 因此检测GSTP1基因多态性, 有助于评价患者接受以奥沙利铂为基础药物化疗的治疗效果, 判断中医证型, 从而为结肠癌个体化治疗提供科学指导.

文章亮点

实验背景

目前对于结肠癌的治疗, 比较有效的还是常规手术和药物化疗, 但是由于受遗传因素的影响, 基因型不同人群可能对化学药物的敏感性不同. 同时, 中医对癌症的辅助治疗也可能受到遗传因素的作用, 而产生不同的治疗效果.

实验动机

本研究试图探讨遗传因素之基因多态性对化疗药物敏感性和中医证型之间的联系, 为结肠癌患者的更有效治疗提供基因分型的依据和化疗药物的使用指导.

实验目标

本研究旨在通过对*GSTP1*基因进行分型, 建立结肠癌患者对奥沙利铂敏感性和中医证型关系的模型, 从而确定不同基因型的患者对同样化疗药物以及中医证型的敏感程度, 为结肠癌患者的靶向治疗提供借鉴和依据.

实验方法

本研究主要采用数据分析的方法, 分析结肠癌患者奥沙利铂化疗疗效的影响因素, 统计并分析GSTP1基因型与中医证型和中医病位证素的关系, 分别从中医和西医两方面来阐述GSTP1基因型对肠癌患者治疗效果的影响.

实验结果

GSTP1基因型AG的结肠癌患者发生奥沙利铂化疗无效的风险可能是AA患者的0.470倍, GSTP1基因型GG的结肠癌患者发生奥沙利铂化疗无效的风险可能是AA患者的0.502倍. 不同GSTP1基因型分布患者中医证型分布, 中医病位证素脾、肺、肾分布均有显著差异.

实验结论

结肠癌患者GSTP1基因多态性与奥沙利铂敏感性有关, 和中医证型也有一定的相关性, 有助于评价患者是否适用于接受奥沙利铂等铂类物化疗药进行治疗, 判断中医证型, 指导结肠癌的个体化治疗.

展望前景

本研究是基于统计学方法建立模型来研究, 同时大部分患者均来自周边, 因此受到地域和样本量等因素的影响, 要反映整体中国或汉族人群的情况, 还有待进一步扩大其他地域的样本量来进一步验证.

5 参考文献

1 周维富, 邓旭锋, 方智民, 张文勇, 刘晓丽, 沈玉光. 结肠癌术后11年肺转移1例报道. 重庆医学 2018; 47: 575-576 [DOI: 10.3969/j.issn.1671-8348.2018.04.048]
2 Benson AB, Venook AP, Al-Hawary MM, Cederquist L, Chen YJ, Ciombor KK, Cohen S, Cooper HS, Deming D, Engstrom PF, Garrido-Laguna I, Grem JL, Grothey A, Hochster HS, Hoffe S, Hunt S, Kamel A, Kirilcuk N, Krishnamurthi S, Messersmith WA, Meyerhardt J, Miller ED, Mulcahy MF, Murphy JD, Nurkin S, Saltz L, Sharma S, Shibata D, Skibber JM, Sofocleous CT, Stoffel EM, Stotsky-Himelfarb E, Willett CG, Wuthrick E, Gregory KM, Freedman-Cass DA. NCCN Guidelines Insights: Colon Cancer, Version 2.2018. *J Natl Compr Canc Netw* 2018; 16: 359-369 [PMID: 29632055 DOI: 10.6004/jnccn.2018.0021]
3 丛熙, 樊建慧. P-糖蛋白对结肠癌多药耐药的影响. 中国生物化学与分子生物学报 2019; 35: 19-26 [DOI: 10.13865/j.cnki.cjbmb.2019.01.04]

4 张诗慧, 丁伶清, 林美钦, 宋洪涛. 基因多态性与结直肠癌患者奥沙利铂化疗不良反应的相关性. 中国新药杂志 2018; 27: 1572-1576
5 胡晓云, 吴志堃, 陈瑜, 魏敏杰, 吴慧哲. 大肠癌DNA修复通路基因和ABCG2基因的多态性与奥沙利铂化疗的环境因素及预后的相关性. 中国药理学与毒理学杂志 2019; 33: 148
6 王俊杰. 奥沙利铂化疗的结直肠癌患者证素分布情况及与GSTP1多态性的关系. 福建中医药大学 2016
7 李然, 马旭, 白羽. 奥沙利铂在消化道肿瘤患者中药物相关基因单核苷酸多态性及化疗不良反应相关性研究. 中国医院药学杂志 2020; 40: 203-207 [DOI: 10.13286/j.1001-5213.2020.02.15]
8 张清月. GSTP1基因启动子区rs6591256多态性与结直肠癌发病风险、生物学行为及预后的关联研究. 中国医科大学 2019
9 Watanabe T, Itabashi M, Shimada Y, Tanaka S, Ito Y, Ajioka Y, Hamaguchi T, Hyodo I, Igarashi M, Ishida H, Ishihara S, Ishiguro M, Kanemitsu Y, Kokudo N, Muro K, Ochiai A, Oguchi M, Ohkura Y, Saito Y, Sakai Y, Ueno H, Yoshino T, Boku N, Fujimori T, Koinuma N, Morita T, Nishimura G, Sakata Y, Takahashi K, Tsuruta O, Yamaguchi T, Yoshida M, Yamaguchi N, Kotake K, Sugihara K; Japanese Society for Cancer of the Colon and Rectum. Japanese Society for Cancer of the Colon and Rectum (JSCCR) Guidelines 2014 for treatment of colorectal cancer. *Int J Clin Oncol* 2015; 20: 207-239 [PMID: 25782566 DOI: 10.1007/s10147-015-0801-z]
10 孙桂芝. 实用中医肿瘤学. 北京: 中国中医药出版社 2009: 3
11 吴勉华. 中医内科学. 北京: 中国中医药出版社 2012: 266
12 张萍, 艾斌. 实体瘤免疫治疗疗效评价标准. 国际肿瘤学杂志 2016; 43: 848-851 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-422X.2016.11.012]
13 肖鹏, 梅家转, 白桦, 栗敏, 刘桂举, 李瑞君, 沈杰. 细胞色素P450 1A1基因多态性对奥沙利铂联合卡培他滨方案治疗结直肠癌患者临床疗效的影响. 中国临床药理学与治疗学 2018; 23: 159-164 [DOI: 10.12092/j.issn.1009-2501.2018.02.008]
14 陈琦, 程景洪, 周芯茹, 孟凡义, 孔洁红, 汪维鹏, 张洪建. PD-L1基因多态性与结直肠癌患者奥沙利铂化疗疗效和安全性的相关性研究. 现代生物医学进展 2018; 18: 1828-1832 [DOI: 10.13241/j.cnki.pmb.2018.10.006]
15 Bhat A, Masood A, Wani KA, Bhat YA, Nissar B, Khan NS, Ganai BA. Promoter methylation and gene polymorphism are two independent events in regulation of GSTP1 gene expression. *Tumour Biol* 2017; 39: 1010428317697563 [PMID: 28443466 DOI: 10.1177/1010428317697563]
16 Nissar S, Sameer AS, Rasool R, Chowdri NA, Rashid F. Promoter methylation and Ile105val polymorphism of GSTP1 gene in the modulation of colorectal cancer risk in ethnic Kashmiri population. *Indian J Cancer* 2019; 56: 248-253 [PMID: 31389389 DOI: 10.4103/ijc.IJC_11_18]
17 Rajesh D, Balakrishna S, Azeem Mohiyuddin SM, Suryanarayana R, Kutty AVM. Novel association of oral squamous cell carcinoma with GSTP1 Arg187Trp gene polymorphism. *J Cell Biochem* 2019; 120: 5906-5912 [PMID: 30378178 DOI: 10.1002/jcb.27877]
18 闫晋, 谢利明, 沈国芳, 于德栋, 王一霖. GSTP1 Ile105Val基因多态性与口腔癌易感性的meta分析. 上海口腔医学 2014; 23: 498-504
19 McLeod HL, Sargent DJ, Marsh S, Green EM, King CR, Fuchs CS, Ramanathan RK, Williamson SK, Findlay BP, Thibodeau SN, Grothey A, Morton RF, Goldberg RM. Pharmacogenetic predictors of adverse events and response to chemotherapy in metastatic colorectal cancer: results from North American Gastrointestinal Intergroup Trial N9741. *J Clin Oncol* 2010; 28: 3227-3233 [PMID: 20530282 DOI: 10.1200/JCO.2009.21.7943]
20 方汉钦. 结肠癌中医证型与血液高凝状态的相关性研究. 福建中医药大学 2019
21 许仲宁, 杨宇飞. 晚期大肠癌中医证素在KRAS、BRAF、NRAS基因突变类型中的分布差异性分析. 中华中医药杂志 2017; 32: 1029-1032
22 廖凌虹, 魏巫, 崔欢, 王俊杰, 吴同玉. 结直肠癌术后患者气虚证的兼夹特点及其影响因素的研究. 世界中医药 2017; 12: 2509-2513 [DOI: 10.3969/j.issn.1673-7202.2017.10.058]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 © 2021 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

• 消息 •

《世界华人消化杂志》参考文献要求

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

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: https://www.baishideng.com

世界华人消化杂志 2021年5月8日; 29(9): 496-500

DOI: 10.11569/wcjd.v29.i9.496

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

病例报告 CASE REPORT

经内镜下分次黏膜切除术诊断结肠子宫内膜异位症1例并文献复习

王 超, 郑 末, 李甜甜, 王珏磊, 孙光斌

王超, 李甜甜, 王珏磊, 孙光斌, 天津市第五中心医院消化内科 天津市 300450

郑末, 天津市第五中心医院病理科 天津市 300450

王超, 医师, 2013年大连医科大学硕士, 主要从事消化内镜诊断和治疗方面工作.

作者贡献分布: 查阅文献及手稿的写作由王超完成; 手术操作由孙光斌完成; 病理阅片由郑末完成; 资料收集由王超、李甜甜、王珏磊共同完成.

通讯作者: 孙光斌, 主任医师, 300450, 天津市滨海新区浙江路41号, 天津市第五中心医院消化内科. sun19660901@sina.com

收稿日期: 2021-02-17
修回日期: 2021-03-13
接受日期: 2021-03-26
在线出版日期: 2021-05-08

Colonic endometriosis diagnosed by endoscopic piecemeal mucosal resection: A case report and literature review

Chao Wang, Mo Zheng, Tian-Tian Li, Jue-Lei Wang, Guang-Bin Sun

Chao Wang, Tian-Tian Li, Jue-Lei Wang, Guang-Bin Sun, Department of Gastroenterology, The Fifth Central Hospital of Tianjin, Tianjin 300450 China

Mo Zheng, Pathology Department, The Fifth Central Hospital of Tianjin, Tianjin 300450, China

Corresponding author: Guang-Bin Sun, Chief Physician, Department of Gastroenterology, The Fifth Central Hospital of Tianjin, No. 41 Zhejiang Road, Binhai New Area, Tianjin 300450, China. sun19660901@sina.com

Received: 2021-02-17
Revised: 2021-03-13
Accepted: 2021-03-26
Published online: 2021-05-08

Abstract

BACKGROUND

Endometriosis is a chronic estrogen-dependent disease that occurs in women of childbearing age. Ectopic endometrium can invade any part of the body. Since colonic endometriosis has a low incidence and atypical clinical manifestations, it is difficult to diagnose and has a high misdiagnosis rate.

CASE SUMMARY

A woman presented with diarrhea and she was diagnosed as having colonic endometriosis by endoscopic piecemeal mucosal resection, which helped avoid unnecessary surgery.

CONCLUSION

Endoscopic piecemeal mucosal resection for large biopsy may be used as a method to improve the diagnostic rate of colorectal endometriosis. But it needs to be confirmed by a large sample study.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Colon; Endometriosis; Endoscopic piecemeal mucosal resection; Big biopsy

Citation: Wang C, Zheng M, Li TT, Wang JL, Sun GB. Colonic endometriosis diagnosed by endoscopic piecemeal mucosal resection: A case report and literature review. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2021; 29(9): 496-500
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i9/496.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i9.496

摘要

背景

子宫内膜异位症是发生于育龄期女性的一种慢性雌

激素依赖性疾病, 异位内膜可侵犯全身任何部位, 结肠子宫内膜异位症发生率低, 临床表现不典型, 误诊率高.

病例简介

本文报道了1例因腹泻就诊于消化科内科的患者, 通过内镜下分次黏膜切除术(endoscopic piecemeal mucosal resection, EPMR)确诊了结肠子宫内膜异位症, 避免了非必要的外科手术.

结论

应用EPMR大活检或可作为提高结直肠子宫内膜异位症诊断率的一种方法, 但尚需大样本量的研究证实.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 结肠; 子宫内膜异位症; 内镜下分次黏膜切除术; 大活检

核心提要: 结直肠子宫内膜异位症发病率低, 诊断率低, 极易误诊, 本文报道了1例经内镜下分次黏膜切除术(endoscopic piecemeal mucosal resection, EPMR)诊断的结肠子宫内膜异位症, 为临床诊断结直肠子宫内膜异位症提供了一个新的诊疗思路.

文献来源: 王超, 郑末, 李甜甜, 王珏磊, 孙光斌. 经内镜下分次黏膜切除术诊断结肠子宫内膜异位症1例并文献复习. 世界华人消化杂志 2021; 29(9): 496-500

URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i9/496.htm

DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i9.496

0 引言

内异症是指有活性的内膜细胞种植在子宫内膜以外的位置而形成的一种妇科疾病, 该疾病好发于育龄期女性, 可发生于盆腔的所有组织和器官, 以卵巢、子宫直肠凹陷和宫骶韧带最常见, 8%-12%累及肠道[1], 其中90%发生于结肠段, 而乙状结肠、直肠最常受累. 结肠内异症发病率低, 诊断困难, 误诊率高, 常常通过手术后病理才能得到诊断. 本例通过内镜下分次黏膜切除术(endoscopic piecemeal mucosal resection, EPMR)大活检确诊了1例乙状结肠内异症, 现对该病例进行回顾性分析, 并复习相关文献.

1 病例简介

1.1 临床资料 患者女性, 43岁, 因发现结肠黏膜病变一月余就诊. 患者自述一月余前因腹泻3 d就诊于门诊并行结肠镜检查, 腹泻前无不洁饮食史, 无腹痛、腹胀、便血等不适症状, 近期否认体重下降. 患者既往体健, 育有1子, 平素月经周期规则, 月经量中等, 颜色正常, 否认痛经史.

1.2 实验室检查及影像表现 (1)血常规、凝血功能、CEA、CA125、CA199均未见异常; (2)结肠镜示(图1A、1B): 乙状结肠距肛门18 cm局部黏膜隆起, 表面粗糙、片状红, 局部肠腔略狭窄, 范围约1.5 cm×1.8 cm, 内镜可通过; 病理示黏膜慢性炎症并轻度急性炎症, 局部黏膜水肿并轻度出血部分隐窝结构紊乱, 局灶腺上皮轻-中度异型增生; (3)全腹平扫+增强CT(图2A、2B、2C、2D)检查考虑乙状结肠远段肠壁局部增厚, 考虑不除外乙状结肠肿瘤性病变, 结合结肠镜检查; (4)手术及病理: 因结肠镜病理提示乙状结肠黏膜局灶腺上皮轻-中度异型增生, 术前与家属充分沟通. 手术经过: 进镜距肛门18 cm(乙状结肠)可见一平坦隆起性病变, 局部黏膜粗糙, 片状发红, 中央不规则凹陷, NBI示局部腺管开口紊乱, 肠道轻度狭窄, 肠管僵硬, 结肠袋形消失. 考虑不除外黏膜下浸润癌, 或者与前次活检黏膜下粘连有关, 病灶整块切除可能性小, 再次与家属充分沟通后分次切除送病理, 行诊断性大活检, 依据病理结果决定下一步治疗措施. 手术中对病灶行黏膜下注射, 抬举征阴性, 对病灶行黏膜下剥离, 分次圈套器切除. 术后病理结果(图3): (乙状结肠, 活检)黏膜慢性炎症, 轻度活动, 局部黏膜水肿并轻度出血, 免疫组化染色固有膜内可见两小灶ER、PR、CD10和Vimentin阳性区域, 结合前次活检病理符合子宫内膜异位. 免疫组化结果: CD(+), ER(+), PR(+), Vimentin(+).

2 最终诊断

结肠子宫内膜异位症.

3 治疗

患者出院后就诊于专科医院, 未予特殊处理.

4 随访

出院后1年复查结肠镜示: 乙状结肠距肛门18 cm-20 cm处局部黏膜轻度隆起, 片状红、表面粗糙, 边界与正常黏膜分解不清; 再次复查全腹平扫+增强CT较前无明显变化. 随访1年中, 患者未再出现腹泻, 无不适主诉, 定期随诊复查.

5 讨论

内异症为一种慢性雌激素依赖性疾病, 是育龄期妇女腹痛、痛经、慢性盆腔疼痛及不孕的重要原因. 目前内异症的发病机制尚不明确, 但对病因学提出了多种说法, 包括子宫内膜种植学说、淋巴及静脉播散学说、遗传学说、免疫学说等. 1921年由Sampson[2]提出了种

表 1　总结结肠子宫内膜异位症内镜下表现

作者/年限	平均年龄(岁)	位置	总结例数(个)	镜下表现
张晟瑜等, 2018[10]	38.3 ± 8.9	直肠和乙状结肠	34	病灶呈隆起型或隆起, 顶端略有凹陷, 可伴局部肠腔狭窄; 病灶表面多充血, 伴结节感
李丽娟等, 2019[12]	40.5	直肠和乙状结肠	2	大部分黏膜完整, 部分黏膜有充血、水肿、糜烂或浅溃疡, 有时可见炎性息肉, 少数见黏膜隆起, 导致肠腔狭窄
许捷鸿, 2009[13]	33	直肠	5	病变呈结节样隆起, 围绕管腔可致肠腔环形狭窄, 病变部位黏膜有轻微或明显皱缩, 多呈一侧性或半周性放射状排列偶见黏膜下暗紫色出血斑
Lin等, 2018[8]	48	直肠和乙状结肠	15	病变呈隆起型, 表面黏膜粗糙、充血, 呈小颗粒样增生, 伴管腔狭窄
Kim等, 2011[14]	44	直肠和乙状结肠	17	病变呈偏心性增厚和息肉样隆起, 表面部分呈结节感

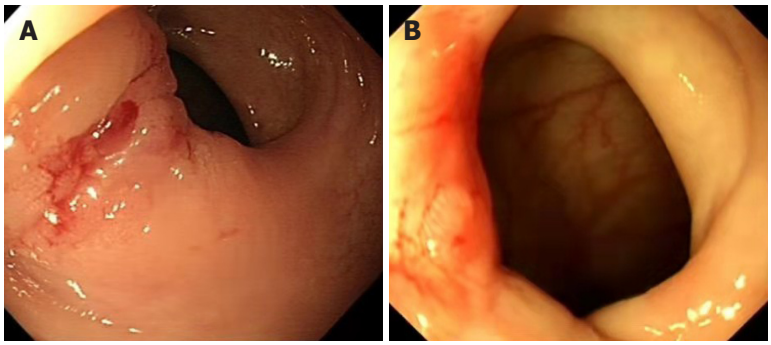


图 1　结肠镜示. A: 乙状结肠距肛门18 cm局部黏膜隆起, 表面粗糙、片状红, 局部肠腔略狭窄, 范围约1.5 cm × 1.8 cm, 内镜可通过; B: 乙状结肠距肛门18 cm−20 cm处局部黏膜轻度隆起, 片状红、表面粗糙, 边界与正常黏膜分解不清(1年后复查).

植学说, 被多数学者广泛接受, 但并不能解释盆腔外内异症发生的原因, 也无法解释多数育龄期女性存在经血逆流, 但仅有10%-15%发病; 郎景和等[3]提出了“在位内膜决定论”补充和修正了Sampson提出的“种植学说”, 解释了为什么多数育龄女性存在经血逆流, 但只有少数发病. 近年有学者研究结肠内异症的发病机制是多因素的, 该研究表明与氧化应激、微生物、神经扩散及遗传等有关[4]. 有研究表明[5], 15%-37%的盆腔内异症患者的子宫内膜异位会影响肠道.

结直肠内异症常引起腹痛、腹泻、便血、肠梗阻、便秘等消化道症状, 因此有相当一部分最终诊断为内异症的患者是以消化道症状为首发症状就诊于消化科, 如本文所述这例患者以腹泻为首发症状就诊于消化科而确诊的结肠内异症, 所以消化内科医师应深化对结直肠内异症的认识. 结肠内异症的症状因受累部位及肠壁的深度而异, 若表现为肠腔狭窄或黏膜下肿瘤, 病变主要累及固有肌层或浆膜层; 若表现为便血, 病变主要累及黏膜层.

内异症有三种临床类型: 腹膜型、卵巢型和深层浸润型, 其中深层浸润型中有约24%的患者有乙状结肠或直肠受累[6]. 目前认为腹腔镜为诊断内异症的金标准, 但并不是每个病人都可以施行该手术, 即使腹腔镜诊断的内异症, 其与病理检查结果的符合率也只有70%或更少[3]; 消化道的子宫内膜异位诊断更困难, 据报道结直肠内异症的术前诊断不足10%[7]. Lin等[8]回顾性分析15例结肠内异症症患者, 只有1例患者在结肠镜检查中怀疑内异症, 8例患者因临床表现为结肠癌而接受手术治疗, 术后病理诊断为内异症; Ishii等[5]报道了7例结肠内异症合并结肠癌患者, 均没有在术前诊断为肠道内异症. 其诊断率低的原因主要有: (1)内异症好发于育龄期女性, 偶见于绝经期女性, 部分患者临床症状与月经周期非一致性表现, 只有约40%的病人的症状是周期性的[9], 往往容易出现漏诊, 如本例患者以“腹泻”为首发症状就诊, 追问病史腹泻与月经周期无规律性; (2)结肠内异症病灶常位于浆膜下及固有肌层, 黏膜下层亦可受累, 很少异位在黏膜层, 结肠镜活检数量少且难以取得更深层的组织, 所以病理结果阳性率低, 如本例患者首次行结肠镜检查病理结果提示为乙状结肠黏膜局灶腺上皮轻-中度异型增生, 活组织结果未见异位组织(本例患者共取活检5次, 包括2次深凿活检); (3)因消化道的子宫内膜异位症发病率低, 且无特征性的临床表现, 影像学及内镜检查可与结肠恶性肿瘤、炎症性肠病、感染性腹泻、缺血性肠病、放射性结肠炎、憩室病等疾病相混淆, 往往在临床上需要与以上疾病鉴别诊断; (4)临

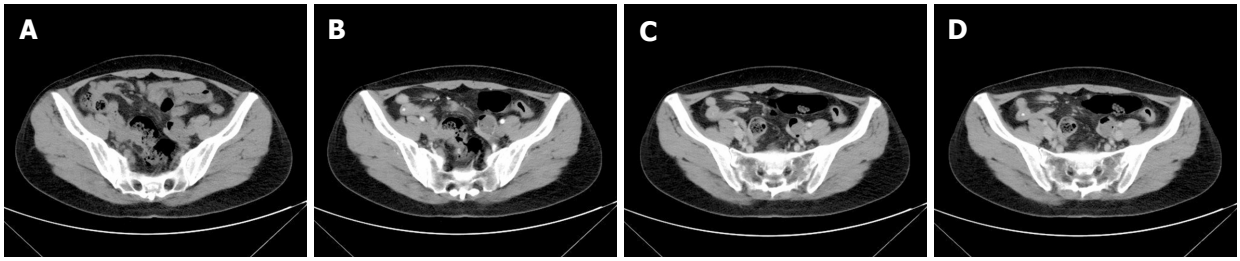


图 2　全腹CT. A: 乙状结肠远段右侧肠壁局部增厚, 走行较僵硬, 最厚处约16 mm, CT值约36 HU, 浆膜面模糊; B: 乙状结肠远段增厚肠壁呈中度持续强化, 动脉期CT值约62 HU; C 门静脉期CT值约66 HU; D: 平衡期CT值约70 HU.

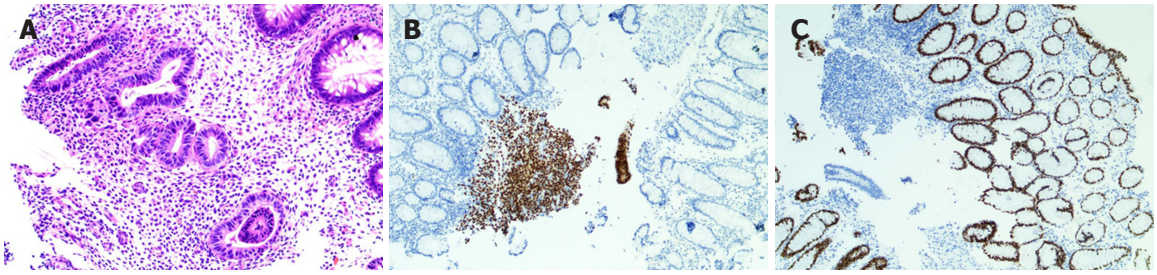


图 3　术后病理. A: HE染色, 肠粘膜内可见异位的子宫内膜腺体和子宫内膜间质(10×20倍); B: 免疫组化染色ER显示异位子宫内膜腺体和子宫内膜间质均阳性(10×10倍); C: 免疫组化染色CDX−2显示子宫内膜腺体阴性, 而肠粘膜腺体阳性(10×10倍).

床医师对该疾病的认识不足, 易造成误诊或漏诊.

前文已提到结直肠子宫内膜异位症的术前诊断率低, 易误诊为结直肠恶性肿瘤, 因此术前尽可能提高其可能诊断或明确诊断率, 可避免部分患者非必要的手术治疗, 且为下一步临床治疗提供理论依据. 结肠镜为结直肠内异症的重要检查手段, 国内外对于结直肠内异症的报道多为个案报道, 对于总结结肠镜下表现的文献数量有限, 搜集国内外相关文献, 总结如下表1; 我国张晟瑜等[10]对34例结直肠子宫内膜异位症的结肠镜下表现进行一项单中心回顾性研究, 尽管其为目前国内最大规模的研究, 但结肠镜下病变特点与月经周期的关系仍不明确, 而病灶特点可能随月经周期改变而变化; 本文所述病例结肠镜下表现为局部黏膜粗糙、片状红, 表面结节感, 隆起于结肠黏膜表面伴肠腔轻度狭窄, 与本文所总结的国内外相关文献结肠镜下特点相似. 结肠镜下活检及加做免疫组化有助于诊断结直肠内异症, 但结直肠内异症很少异位在黏膜层, 所以内镜下活检阳性率低; 张晟瑜等[10]提出适当增加活检数量, 可提高内镜下活检阳性率; Lin等[8]提出内镜活检标本进行免疫组化可以提高肠道内异症的诊断率. 本文病例术前病理活检提示黏膜炎性改变, 局部轻-中度异型增生, 行EPMR大活检病理可见内膜间质, 免疫组化CD(+), ER(+), PR(+), Vimentin(+), 符合子宫内膜异位症. 结合本病例发现增加活检病变的深度及范围或可提高活检阳性率, 但本文病例数量少, 尚待更多样本量的研究证实. 结直肠内异症病灶位置深, 单纯应用EPMR大活检诊断有局限性, 可联合超声内镜引导下细针穿刺(EUS-FNA)进行诊断; 国内相关文献[11]报道对7例诊断为肠道内异症的患者行EUS-FNA, 镜下可见子宫内膜间质及腺体, 均诊断为内异症. 本例患者通过结肠镜下EPMR大活检及免疫组化诊断为结肠内异症, 未再进一步行超声内镜检查.

6 结论

综上所述, 随着内镜技术的发展, 将内镜下大活检联合超声内镜应用于诊断结直肠内异症, 或可作为提高其诊断的手段之一, 但尚需大样本量研究证实.

7 参考文献

1 Chou D, Perera S, Condous G, Cario G, Rosen D, Choi S, Al-Shamari M, Bukhari M. Shaving for Bowel Endometriosis. *J Minim Invasive Gynecol* 2020; 27: 268-269 [PMID: 31783162 DOI: 10.1016/j.jmig.2019.11.012]
2 谢幸. 妇产科学(9版). 北京: 人民卫生出版社 2018: 261-267
3 郎景和. 子宫内膜异位症研究的深入和发展. 中华妇产科杂志 2010; 45: 241-242 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.0529-567x.2010.04.001]
4 Yong PJ, Bedaiwy MA, Alotaibi F, Anglesio MS. Pathogenesis of bowel endometriosis. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2021; 71: 2-13 [PMID: 32646752 DOI: 10.1016/j.bpobbgyn.2020.05.009]
5 Ishii M, Yamamoto M, Tanaka K, Asakuma M, Masubuchi S, Hamamoto H, Akutagawa H, Egashira Y, Hirose Y, Okuda J, Uchiyama K. Intestinal endometriosis combined with colorectal cancer: a case series. *J Med Case Rep* 2018; 12: 21 [PMID: 29378641 DOI: 10.1186/s13256-017-1537-3.]
6 Erol T, Reis E, Koç Ö, Taşbaş B. Colon resection for endometriosis. *Turk J Surg* 2019; 35: 325-328 [PMID: 32551431 DOI: 10.5578/turkjsurg.4054]

7 张文俊, 胡俊霞, 梁文波. 直肠子宫内膜异位症误诊直肠癌一例. 中华临床医师杂志 2012; 6: 537 [DOI: 10.3877.cma.j.issn.1674-0785.2012.02.074]
8 Lin TJ, Chang TA, Ting CT, Lin CL, Chen KY. Sigmoid colonic endometriosis mimicking colon cancer: A case report. *Advances in Digestive Medicine* 2018; 5: 59-62 [DOI: 10.1002/aid2.13072]
9 Dimoulios P, Koutroubakis IE, Tzardi M, Antoniou P, Matalliotakis IM, Kouroumalis EA. A case of sigmoid endometriosis difficult to differentiate from colon cancer. *BMC Gastroenterol* 2003; 3: 18 [PMID: 12906714 DOI: 10.1186/1471-230X-3-18.]
10 张晟瑜, 李骥, 王强, 冯云路, 蒋青伟, 蒋芳, 费贵军, 姚方, 朱丽明, 钱家鸣, 杨爱明. 结直肠子宫内膜异位症的结肠镜下表现: 一项单中心回顾性研究. 中华内科杂志 2018; 57: 275-278 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.0578-1426.2018.04.009]
11 郭文, 邱恩棋, 程天明, 朱薇, 周丹, 刑同印, 智发朝, 姜泊. EUS及EUS-FNA对肠道子宫内膜异位症的诊断价值探讨. 2012年中国消化病学大会 2012
12 李丽娟, 李淑莲, 王景波, 吴影. 结直肠子宫内膜异位症误诊为腺癌2例并文献复习. 牡丹江医学院学报 2019; 40: 85-88
13 许捷鸿. 直肠子宫内膜异位症的临床特点与误诊原因. 临床误诊误治. 2009; 22: 43-44
14 Kim KJ, Jung SS, Yang SK, Yoon SM, Yang DH, Ye BD, Byeon JS, Myung SJ, Kim JH. Colonoscopic findings and histologic diagnostic yield of colorectal endometriosis. *J Clin Gastroenterol* 2011; 45: 536-541 [PMID: 21030871 DOI: 10.1097/MCG.0b013e3181fd297b]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 © 2021 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.

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: https://www.baishideng.com

www.wjgnet.com

世界华人消化杂志 2021年5月8日; 29(9): I-V

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

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学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学事业的发展, 提高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:

7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA

E-mail: wcjd@wjgnet.com

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

https://www.wjgnet.com

Telephone: +1-925-3991568

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

E-mail: 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》编辑部主任王金磊, 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

E-mail: j.l.wang@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, *T*1/2不能写成tl/2或T, *V*max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, 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, ℃), *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), *j* (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*max, *C*max, *V*d, *T*1/2 *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 kD改为*M*r 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*r (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+、一及-后列出, 在±前后均要列出, 如37.6 ℃±1.2 ℃, 45.6岁±24岁, 56.4 d±0.5 d. 3.56±0.27 pg/ml应为3.56 ng/L±0.27 ng/L. BP用kPa (mmHg), RBC数用1×10^{12}/L, WBC数用1×10^{9}/L, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L. *M*r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_2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、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸用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1×10^{-3} g与5×10^{-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_2应为50 mL/L CO_2; 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 = 45×10^{-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χ^2; (4)样本的相关系数用英文小写*r*; (5)自由度用希文小写υ; (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$^aP<0.05$或$^bP<0.01$($P>0.05$不注). 如同一表中另有一套*P*值, 则用$^cP<0.05$和$^dP<0.01$; 第三套为$^eP<0.05$和$^fP<0.01$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 ofMedical 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志谢中. 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^{a}P<0.05或^{b}P<0.01(*P*>0.05不注). 如同一表中另有一套*P*值, 则用^{c}P<0.05和^{d}P<0.01; 第3套为^{e}P<0.05和^{f}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*/min, *c*/(mol/L), *p*/kPa, *V*/mL, *t*/℃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[2-5]认为……; PCR方法敏感性高[6-7]. 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**
7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton,
CA 94566, USA
Telephone: +1-925-3991568
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
https://www.wjgnet.com

ISSN 1009-3079

© 2021 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

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

2021 年 5 月 28 日　　第 29 卷　　第 10 期　　(Volume 29 Number 10)



10/2021

《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.

ISSN 1009-3079



世界华人消化杂志 https://www.wjgnet.com 二零二一年五月二十八日 第二十九卷 第十期

WCJD 世界华人消化杂志®

目　次

2021年5月28日 第29卷 第10期 (总第678期)

述评

501 原发性肝癌转化治疗指征与选择策略

秦建民

临床研究

511 肝癌组织中IL-26水平对乙肝相关肝癌术后患者的预后判断价值

鲍建亨, 尚海涛, 郝成飞, 刘军舰, 韩树旺, 张德林, 李忠廉

517 复发性急性胰腺炎危险因素的Meta分析

周露, 高一雯, 许松欣, 路国涛, 肖炜明

526 miR-128-3p靶向xCT基因在结直肠癌中的分子机制及其与肠癌患者临床病理特征的相关性

吴珺, 廖旭慧, 吴勤丽, 余伟

文献综述

537 胃黄斑瘤的研究进展

陈鸿鑫, 易芳芳, 吴艳艳, 祁兴顺

543 以超声检测为基础的NALFD肝脏脂肪变性的无创诊断

刘芳

临床实践

550 扬州农村地区人群幽门螺杆菌感染现状及其与胃黏膜病理变化的关系

张云, 冯心怡, 李贵庆, 许菲, 刘芳, 李瑶瑶, 邓彬

557 孕前及孕早期母体风险因素与早产儿坏死性小肠结肠炎的相关性研究

马小江, 郑彤彤

消　　息

525　《腹痛的诊断、鉴别诊断与治疗》书讯
549　《世界华人消化杂志》正文要求
556　《世界华人消化杂志》参考文献要求
562　《世界华人消化杂志》外文字符标准

封面故事

颜学兵, 医学博士, 教授, 主任医师, 博士研究生导师. 徐州医科大学附属医院感染性疾病科主任及教研室主任. 江苏省医学会感染病分会候任主委, 江苏省医学会肝脏病学分会副主任委员, 江苏省医师协会感染病分会副会长, 亚太肝病诊疗技术联盟江苏省联盟副理事长, 江苏省中西医结合学会感染病专业委员副主任委员, 江苏省研究型医院学会感染检验与合理用药专委会副主任委员, 国家《抗菌药物专委会》委员, 中华医学会肝病学会药物性肝病学组委员, 全国疑难及重症肝病攻关协作组委员. 主持国家自然科学基金、“十三五、十二五”、省、市各级课题多项, 获科技进步奖多项. 在国内外发表含SCI及EI论文多篇. 擅长感染性疾病及肝病等疑难杂症的救治.

本期责任人

编务 张砚梁; 送审编辑 张砚梁; 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 吴云晓健; 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 2021-05-28
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
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
王金磊, 主任
《世界华人消化杂志》编辑部
Baishideng Publishing Group Inc
7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA
Telephone: +1-925-3991568
E-mail: wcjd@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com

出版
百世登出版集团有限公司
Baishideng Publishing Group Inc
7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA
Telephone: +1-925-3991568
E-mail: 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: +86-10-85381892

《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

© 2021 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

WCJD 世界华人消化杂志®

Contents

Volume 29 Number 10 May 28, 2021

EDITORIAL

501 Conversion therapy for primary liver cancer: Indications and selective strategies
Qin JM

CLINICAL RESEARCH

511 Prognostic value of IL-26 level in hepatocellular carcinoma tissue in postoperative patients with hepatitis B related hepatocellular carcinoma
Bao JH, Shang HT, Hao CF, Liu JJ, Han SW, Zhang DL, Li ZL
517 Meta-analysis of risk factors for recurrent acute pancreatitis
Zhou L, Gao YW, Xu SX, Lu GT, Xiao WM
526 MiR-128-3p targets *xCT* gene in colorectal cancer: Molecular mechanism and correlation with patients' clinicopathological features
Wu J, Liao XH, Wu QL, Yu W

REVIEW

537 Recent advances in research of gastric xanthelasma
Chen HX, Yi FF, Wu YY, Qi XS
543 Ultrasound-based techniques for noninvasive diagnosis of liver steatosis in nonalcoholic fatty liver disease
Liu F

CLINICAL PRACTICE

550 Epidemiological study of *Helicobacter pylori* infection and its relationship with pathologic changes of the antral mucosa in rural areas of Yangzhou
Zhang Y, Feng XY, Li GQ, Xu F, Liu F, Li YY, Deng B
557 Relationship between maternal risk factors and occurrence of necrotizing enterocolitis in premature infants before and during the first trimester
Ma XJ, Zheng TT

Contents

World Chinese Journal of Digestology
Volume 29 Number 10 May 28, 2021

COVER Editorial Board Member of *World Chinese Journal of Digestology*, Xue-Bing Yan, Ph.D, Professor, Chief Physician, Department of Infectious Disease, The First Affiliated Hospital of Xuzhou Medical University, No. 99 Kunpeng North Road, Xuzhou 221002, Jiangsu Province, China. yxbxuzhou@126.com

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

RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE

Assistant Editor: *Yan-Liang Zhang*
Review Editor: *Yan-Liang Zhang*
Production Editor: *Yan-Liang Zhang*
English Language Editor: *Tian-Qi Wang*
Proof Editor: *Yun-Xiaojian Wu*
Layout Reviewer: *Lian-Sheng Ma*

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993
Renamed on January 25, 1998
Publication date May 28, 2021

NAME OF JOURNAL
World Chinese Journal of Digestology

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

EDITOR-IN-CHIEF
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
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
Jin-Lei Wang, Director
World Chinese Journal of Digestology
Baishideng Publishing Group Inc
7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA
Telephone: +1-925-3991568
E-mail: wcjd@wjgnet.com
https://www.wjgnet.com

PUBLISHER
Baishideng Publishing Group Inc
7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA
Telephone: +1-925-3991568
E-mail: 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

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

COPYRIGHT
© 2021 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.

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: https://www.baishideng.com

世界华人消化杂志 2021年5月28日; 29(10): 501-510

DOI: 10.11569/wcjd.v29.i10.501

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

述评 EDITORIAL

原发性肝癌转化治疗指征与选择策略

秦建民

秦建民, 海军军医大学第三附属医院普外科 上海市 201805

秦建民, 教授, 主任医师, 研究方向为肝癌复发、转移机制与纳米靶向药物治疗.

作者贡献分布: 本文由秦建民单独完成.

通讯作者: 秦建民, 教授, 主任医师, 201805, 上海市嘉定区墨玉北路700号, 海军军医大学第三附属医院普外科. jianminqin@yahoo.com

收稿日期: 2021-02-04
修回日期: 2021-03-30
接受日期: 2021-04-23
在线出版日期: 2021-05-28

Conversion therapy for primary liver cancer: Indications and selective strategies

Jian-Min Qin

Jian-Min Qin, Department of General Surgery, the Third Hospital Affiliated to Naval Military Medical University, Shanghai 201805, China

Corresponding author: Jian-Min Qin, Professor, Chief Physician, Department of General Surgery, the Third Hospital Affiliated to Naval Military Medical University, No. 700 North Moyu Road, Shanghai 201805, China. jianminqin@yahoo.com

Received: 2021-02-04
Revised: 2021-03-30
Accepted: 2021-04-23
Published online: 2021-05-28

Abstract

Primary liver cancer has an insidious onset and no specific symptoms at early stage. Most patients are in the middle or advanced stage when diagnosed, and only 20%-40% of patients meet the criteria for radical resection. At present, surgical resection is still the main radical treatment for primary liver cancer, but factors such as liver function decompensation, too large tumor volume, too small future liver remnant, intrahepatic multiple metastasis, tumor thrombus invading the large vessels or bile duct, and distant metastasis limit the application of surgical resection or liver transplantation. In recent years, with the advances of basic research of primary liver cancer, the development of surgical techniques and equipment, as well as the development of new molecular targeted drugs and immunotherapy drugs, a part of unresectable patients with primary liver cancer can receive conversion therapy to improve liver function, minimize tumor volume, minimize or inactivate tumor thrombus, and increase the residual liver volume. Following conversion therapy, patients with primary liver cancer can undergo surgical resection or liver transplantation, which greatly improve the therapeutic efficacy and patient survival.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Primary liver cancer; Conversion therapy; Indication; Strategy

Citation: Qin JM. Conversion therapy for primary liver cancer: Indications and selective strategies. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2021; 29(10): 501-510
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i10/501.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i10.501

摘要

原发性肝癌发病隐匿, 早期无特异性症状, 多数患者确诊时已属中晚期, 符合根治性切除术的患者20%-40%. 目前外科切除仍是原发性肝癌主要根治性治疗手段, 但由于肝功能失代偿、肿瘤体积过大、剩余肝体积过小、肝内多发转移、癌栓侵及大血管或胆管、远处转移等因素限制手术切除或肝移植. 近年来, 随着原发性肝癌发生、发展机制研究的不断深

入, 外科技术和器械发展, 以及新的分子靶向药物、免疫治疗药物的研制, 使得一部分无法手术切除或肝移植的原发性肝癌患者经过转化治疗, 改善肝功能、缩小肿瘤体积、使脉管癌栓缩小或消失、促进剩余肝脏体积代偿性增大, 最终得以手术切除或肝移植, 极大提高了原发性肝癌治疗效果和患者生存期.

© **The Author(s) 2021.** Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 原发性肝癌; 转化治疗; 指征; 策略

核心提要: 由于剩余肝体积过小、肝内多发转移、肿瘤侵及大血管或胆管、远处转移等因素限制原发性肝癌手术切除或肝移植.转化治疗使一部分无法手术的原发性肝癌患者最终实施手术切除或肝移植,提高了原发性肝癌疗效和患者生存期.

文献来源: 秦建民. 原发性肝癌转化治疗指征与选择策略. 世界华人消化杂志 2021; 29(10): 501-510
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i10/501.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i10.501

0 引言

原发性肝癌(primary liver cancer, PLC)是常见的肝脏恶性肿瘤, 其发病率和死亡率在全球癌症排名第7位和第3位, 其中, 肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)占75%-85%, 肝内胆管细胞癌(intrahepatic cholangiocarcinoma, ICC)占10%-15%, 发病隐匿, 早期无特异性症状, 多数患者虽然确诊时已属中晚期, 随着外科技术的进步, 手术切除率显著提高20%-40%, 但术后复发率仍然较高为40%-80%[1,2]. 目前外科切除仍是PLC主要根治性治疗手段, 但由于肿瘤体积过大、剩余肝体积过小、肝内多发转移、癌栓侵及大血管或胆管、远处转移等因素限制手术切除或肝移植, 若强行肝切除或肝移植, 极大增加术后高复发、转移与肝衰竭发生风险[3]. 近年来, 随着PLC发生、发展机制研究的不断深入, 外科技术和器械发展, 以及新的分子靶向药物、免疫治疗药物的研制, 使得一部分无法手术切除或肝移植的肝脏肿瘤经过个体化的治疗得以手术切除或肝移植, 极大提高了PLC治疗效果和生存期. 转化治疗(conversion therapy)是因肝功能差(Child-Pugh C级)、肺转移、门静脉癌栓、肿瘤播散或多发、肿瘤巨大等因素不能行根治性手术切除或肝移植, 但具有潜在手术切除或肝移植的PLC患者, 经积极内科治疗(保肝、分子靶向、免疫、化疗等)联合局部介入、放疗等治疗后, 使患者肝功能转为Child-Pugh A或B级, 控制肿瘤进展, 降低临床分期, 从而获得手术切除或肝移植机会[4,5]. 转化治疗不同于术前新辅助治疗, 前者治疗的目的在于改善肝功能、缩小肿瘤体积、促使脉管癌栓缩小或消失、促进剩余肝脏体积代偿性增大, 为PLC患者创造手术切除或肝移植机会. 后者是指有手术指征的PLC患者, 经术前治疗后减小肿瘤, 增加R0切除率, 降低远处转移和复发率, 提高PLC患者的生存. 本文结合相关文献, 探讨PLC转化治疗指征与选择策略.

1 原发性肝癌转化治疗指征

依据患者肝功能、肿瘤体积、脉管癌栓、未受累肝脏体积等情况, 确定PLC转化治疗的指征[3]: (1)肝功能损害, Child-Pugh C级; (2)肿瘤巨大, 根治性切除后剩余肝体积不足(无肝硬化者, 剩余肝体积/标准肝体积＜20%-30%, 合并肝硬化、重度脂肪肝和化疗或梗阻性黄疸引起的肝损伤者, 剩余肝体积/标准肝体积＜40%); (3)肿瘤合并大血管癌栓, 如门静脉主干或一级分支癌栓、合并下腔静脉癌栓, 难以完全取净癌栓, 具有肝内外播散风险; (4)肿瘤多发, 分布在多个肝叶, 难以根治性切除; (5)肿瘤合并肺、局部淋巴结多发转移, 无全身广泛肿瘤转移; (6)肿瘤侵犯3支肝静脉或左右门静脉主干, 难以完成肿瘤根治性切除. 因此原发性肝癌转化治疗期间, 需要采用超声、超声造影、增强CT和/MRI、PET-CT/MRI等合适的影像技术, 结合血肝功能、肿瘤标记物(AFP、DCP、CA19-9)、病理学检查等进行综合评估, 评价ECOG评分、剩余肝体积、肿瘤大小、数目、坏死、癌栓大小与分布、血肿瘤标记物水平等, 监测肿瘤对转化治疗的反应率, 适时评估肿瘤临床分期及转化治疗效果.

转化治疗后手术切除或肝移植指征[6-8]: (1)无肝硬化背景肝病患者功能性剩余肝体积≥标准肝体积的35%, 具有肝硬化背景的患者功能性剩余肝体积≥标准肝体积的45% , 肿瘤切缘＞2 cm; (2)肝功能储备吲哚菁绿15 min滞留率≤20% ; (3)肝功能Child-Pugh分级为A/B级; (4)ECOG评分为0-1分; (5)MRI与PET-CT提示大血管内癌栓失活, 累积3支肝静脉或左右门静脉主干的肿瘤退缩, 能够完成肿瘤根治性切除; (6)符合米兰或UCSF标准. 原发性肝癌转化治疗后增加机体接触肿瘤新抗原的时间可能会导致通过免疫治疗激活的T细胞重新进入功能障碍状态, 从而增加肿瘤再次进展的可能[6,9], 因此不可手术切除或肝移植的原发性肝癌经转化治疗达到部分或完全缓解符合上述手术指征时均需适时进行手术切除或肝移植治疗, 以免错过最佳的手术治疗时机. 成功转化治疗的最终目标是降低肿瘤分期, 增加剩余肝体积, 提高挽救性手术率, 但不增加手术并发症、

死亡率.

2 原发性肝癌转化治疗策略

原发性肝癌转化治疗的目的是使肝内、外部分肿瘤消失、巨大肿瘤体积缩小、静脉或胆管癌栓缩小、消失或灭活、未受肿瘤累及的肝脏代偿性增大, 增加患者手术切除或肝移植机会. 目前转化治疗的方法包括: (1)肝功能维护; (2)未受累肝脏体积代偿性增大(联合肝脏分割和门静脉结扎的分阶段肝切除术、门静脉栓塞术等); (3)肿瘤体积缩小、脉管癌栓缩小或灭活(包括介入治疗、放疗、分子靶向药物、免疫治疗等), 转化治疗方法的选择取决于患者肝功能、肝脏肿瘤的位置、大小、数目、血供、血管或胆管癌栓分布、未受累肝脏体积等情况, 制定合适的转化治疗方案.

2.1 改善肝功能 HCC患者多数合并乙型或/和丙型肝炎病毒感染, 或长期饮酒引起肝硬变, ICC患者多合并肝内胆管结石、肿瘤累及胆管致胆汁淤积引起肝功能损害, 均导致肝功能失代偿(Child-Pugh评分C级), 使患者出现低蛋白血症、凝血功能紊乱、高胆红素血症、骨髓造血功能障碍(贫血、中性粒细胞减少、血小板减少等), 不能耐受手术切除、介入治疗及放疗等治疗. 因此维护和改善患者肝功能, 是原发性肝癌转化治疗的重要一环, 需要戒烟酒, 停止接触肝毒性药物, 给予高热量、高蛋白质、低脂肪饮食, 静脉补充葡萄糖、维生素、氨基酸等, 肝内胆汁淤积给予熊去氧胆酸, 肝细胞炎症应用甘草酸二胺、多烯磷脂酰胆碱等保肝药物. 乙肝病毒相关肝癌患者即使HBV-DNA浓度＜2×10^3/L, 处于低水平状态, 亦应给予抗病毒治疗, 若合并TBil或ALT升高, 同时给予保肝和利胆治疗, 改善肝功能, 以减少术后肝功能失代偿和肿瘤复发[10]. 胆管梗阻患者血总胆红素＞200 μmol/L需要及时给予胆汁内/外引流, 严重低蛋白血症者给予输新鲜血浆或人血白蛋白, 辅助肝细胞修复和再生, 补充维生素K1, 纠正凝血功能紊乱; 合并食管胃底静脉曲张者口服卡维地洛降门静脉压力, 腹腔积液引起腹内压增高者适当引流腹水、利尿剂治疗. 经过内科转化治疗适时评估肝功能、肝脏储备功能, 一旦肝功能达到Child-Pugh评分A或B级, 及时行手术切除、介入治疗或放疗等治疗.

2.2 增大剩余肝体积的转化治疗 许多原发性肝癌患者因肿瘤巨大毗邻重要脉管结构需行大范围肝切除, 导致剩余肝脏体积(future 1iver remnant, FLR)不足而无法行一期根治性切除, FLR不足是影响肝切除术后肝功能衰竭和围手术期死亡的决定性因素[11]. 保证足够的FLR是决定肝肿瘤切除手术的关键因素之一, 目前主要用于增大FLR体积方法包括联合肝脏分割和门静脉结扎的分阶段肝切除术(associating liver partition and portal vein ligation for staged hepatectomy, ALPPS)和门静脉栓塞术(portal vein embolization, PVE), ALPPS术通过阻断患侧肝脏的门静脉主干及健侧肝脏来源的交通支, 使健侧肝脏获得足够的门静脉血流和营养物质, 术后1-2 wk左右诱导FLR增生率高达47%-192%, 日增生体积高于PVE(4.4 mL/d±4.8 mL/d *vs* 3.66 mL/d±2.2 mL/d), 且两期手术间隔时间短(术后2 wk左右), 能最大程度减少肿瘤进展风险, 肿瘤切除率达95%-100%, 高于PVE(66%)[12-14]. Wang等[15]计划实施ALPPS治疗初期不可切除的原发性肝癌, 第一期手术使残余肝体积增加了56.8%, 82%患者成功完成了第二期手术, 1年、3年总生存率分别为64.2%和60.2%, 但ALPPS属于创伤较大手术, 且短时间内需要进行两次手术, 术后胆漏发生率为20%-24%, 术后感染发生率为20%-23% , 术后肝功能衰竭发生率高达15%-22%[16,17], 虽然目前有一些改良的ALPPS技术(如绕肝提拉带、射频或微波辅助ALPPS, 腹腔镜或机器人辅助ALPPS等)在一定程度上减少了ALPPS术创伤和围手术期并发症[18-21], 但对肝癌患者仍然带来较大的创伤, 因此应严格限制原发性肝癌患者ALPPS术应用指征: 年龄＜60岁, 肝功能正常(Child-Pugh A级, ICG-R15＜10%), FLR不足(正常肝脏, FLR/SLV＜30%; 伴有慢性肝病和肝损伤, FLR/SLV＜40%), 一般状态良好, 无严重肝硬化、脂肪肝和门静脉高压症[22-24], 在实施ALPPS时, 如果二期术前患者MELD评分＞10分者建议延迟第二步手术[25], 加强围手术期机体脏器功能维护, 积极处理并发症, 降低围手术期死亡率.

PVE技术采用经皮穿刺应用钢圈或a-氰基丙烯酸正丁酯(N-butyl a-cyanoacrylate, NBCA)胶等栓塞剂栓塞患侧门静脉, 诱导健侧肝脏组织增生, PVE治疗4 周后患者肝脏体积总体增加10%-12%, 二期肝切除成功率为60%-80%, 并发症发生率约10%-20%[26-28]. 与ALPPS相比, PVE后栓塞对侧肝脏增生时间相对较长(4-6 wk), 在此期间20%以上患者因肿瘤进展或FLR增生体积不足而失去手术机会[29,30]. 为克服PVE缺点, Peng等[31]采用NBCA胶栓塞患侧门静脉及末梢分支, 使其兼具ALPPS肝脏快速增生和PVE的微创效应, 二期肝切除率提高至84%左右, 平均等待时间缩短至2-3 wk. PVE联合肝动脉栓塞化疗(transarterial chemoembolization, TACE)能进一步促进FLR增生率(12%), 显著高于单用PVE(8%), 能够更好地控制肿瘤进展, 提高肿瘤切除率(97%), 显著提高5年存活率(43%-72%), 降低5年肿瘤复发率(37%-61%)[32,33]. PVE联合肝静脉栓塞(hepatic vein embolization, HVE)显著诱导FLR增生(28.9%), 优于单独PVE增生率(13.3%), 3年存活率为45.1%[28,34]. 与ALPPS相比, PVE具有较小

创伤, 但并非适合于任何原发性肝癌患者, 对于栓塞侧门静脉有癌栓, 肿瘤广泛转移, 合并严重的门静脉高压症和凝血功能障碍等肝癌患者禁忌[35]. 当剩余肝脏体积＜30%时宜行ALPPS, 当剩余肝脏体积＞30%且＜40%时宜行PVE[36]. 因此对于FLR不足的原发性肝癌患者, 应结合患者年龄、肿瘤、机体脏器功能等情况, 选择合适的增加FLR体积的方法, 适时进行影像学评估, 及时进行肝肿瘤切除.

2.3 缩小肿瘤体积、灭活大血管或胆管癌栓的转化治疗 对于肿瘤负荷大或大血管、胆管癌栓无法根治性切除/肝移植的PLC患者, 如果不进行积极地治疗, 患者预后极差, 晚期HCC患者门静脉癌栓(portal vein tumor thrombus, PVTT)发生率高达44%-62.2%, 胆管癌栓为1.2%-9%[37,38], 合并PVTT, 中位生存时间为2-4 mo, 合并肝静脉或下腔静脉癌栓, 自然病程1-8 mo, 合并胆管癌栓, 中位生存4.3 mo[39-41]. 因此对于此类肝癌患者需要采取积极的治疗方法, 争取手术切除或肝移植机会, 延长患者生存期.

2.3.1 全身化疗: 不可手术切除的晚期HCC患者应用FOLFOX4方案全身化疗, 与单用阿霉素相比, 患者中位无进展生存期(median progression-free survival , mPFS)分别为2.93 mo和1.77 mo, 客观反应率(objective response rate, ORR)分别为8.15%和2.67%, 总生存期(overall survival, OS)分别为6.47 mo和4.9 mo[42]. Kaseb等[43]对84例不可切除性HCC患者采用顺铂、阿霉素、5-氟尿嘧啶和IFNα-2b联合治疗方案, 其中33%患者转化治疗后行根治性肝肿瘤切除. 雷替曲塞联合奥沙利铂方案较FOLFOX4方案对晚期原发性肝癌的疾病控制率(disease control rate, DCR)显著提高(56.76% *vs* 40.54%)[44]. Zaanan等[45]采用GEMOX化疗方案(吉西他滨联合奥沙利铂)治疗进展期HCC, 8.5%患者成功降期后行肝肿瘤根治性切除. Le等[46]采用吉西他滨联合奥沙利铂治疗74例不可切除的ICC, 6个疗程后39例(53%)患者成功转化手术切除. 表明随着高效化疗药物的研制和联合临床应用, 在晚期原发性肝癌转化治疗中发挥重要的治疗作用.

2.3.2 介入治疗: TACE通过破坏肿瘤血供从而诱导肿瘤缺血, 化疗药物通过肿瘤血管直接注入肿瘤组织, 形成肿瘤组织局部高浓度药物环境, 碘油栓塞肿瘤滋养末梢血管, 协同抑制肿瘤生长, 已成为进展期肝癌治疗的主要方法之一. 但由于碘油清除过快, 达不到长久栓塞的目的, 同时药物在碘化油中迅速释放, 不能在肿瘤组织内长时间保持较高浓度, 导致TACE术后肿瘤完全坏死比例相对较低(1.7%-6.6%)[47]. Fan等[48]采用TACE治疗不可手术切除HCC患者转化为肝脏肿瘤切除率为18.1%. 药微球能够吸附化疗药物, 使化疗药物持续地作用于肿瘤内部, 而且微球在体内不降解, 能长久栓塞肿瘤血管, 进一步提高TACE的疗效, 王浩等[49]术前应用携载表柔比星药物洗脱微球肝动脉栓塞治疗进展期肝癌, 76.7%患者降期至符合UCSF标准, 53.3%患者降期至符合米兰标准, 成功降期后进行了肝移植. Affonso等[50]术前采用载药微球肝动脉栓塞治疗超过米兰标准肝癌患者, 34.4%患者成功降期后行肝移植, 与符合米兰标准的肝癌患者相比, 肝移植术后OS(73.5% *vs* 72.3%)和无瘤生存率(62.1% *vs* 74.8%)无显著性差异. TACE治疗的局限性在于栓塞术后肿瘤微环境改变, 缺氧诱导因子上调, 使血管内皮细胞和血小板源生长因子增加, 诱导肿瘤新生血管的形成, 导致肿瘤生长、肝外转移等不良结果而影响疗效[51,52]. 因此TACE联合酪氨酸激酶受体抑制剂索拉非尼能够抑制肿瘤细胞增殖和血管新生, 14.8%患者成功转化实施肝肿瘤切除, 术后1、2、3年的无瘤存活率分别为76.2% 、52.4% 、43.6%[53]. 肝动脉灌注化疗(hepatic arterial infusion chemotherapy, HAIC)与传统的TACE不同, HAIC以肿瘤滋养动脉持续灌注以奥沙利铂为主的化疗药物(如FOLFOX方案、GEMOX方案等)48-72 h, 使局部肿瘤组织持续维持高浓度化疗药物, 提高化疗药物杀灭肿瘤效果. Lee等[54]应用HAIC治疗进展期HCC患者, 11.7%患者转化后行肝肿瘤切除, 中位OS为(37±6.6) h. HAIC 联合索拉非尼治疗合并有门静脉分支或主干癌栓的HCC患者, 6.48%患者转化成外科手术切除, 优于单用索拉非尼治疗(0.4%), 且联合治疗患者中位OS 为13.37 mo, PFS为7.03 mo, 优于单纯索拉非尼治疗中位OS(7.13 mo), PFS为2.6 mo[55]. HAIC联合三维适形放疗治疗HCC合并门静脉癌栓患者, 有效率为61.5%, 17.3%不能手术切除的HCC患者转化为手术切除, 术后1、2、3年OS分别为100%、100%、71%, 优于非手术患者(50%、20%、18%)[56]. Chong等[57]采用放疗联合肝动脉灌注5-氟尿嘧啶治疗HCC合并门静脉一级分支或二级分支癌栓的患者, 26.5%患者降期转化后再手术切除, 术后中位生存期显著优于直接手术的患者(62 mo *vs* 15 mo). Massani等[58]应用HAIC(5-FU+奥沙利铂)治疗11例不可切除ICC患者, 4-12个周期(平均8个周期)后3例(27.3%)进行肝肿瘤切除, 术后病理证实70%肿瘤发生坏死. 经肝动脉放疗栓塞(transarterial radioembolization, TARE)是将载有发射β射线的钇-90(^{90}Y)玻璃微球选择性注入肝动脉, 放射性微球因无法通过肿瘤的毛细血管床而聚集在肿瘤组织, 其发出的β射线对靶肿瘤具有细胞毒性作用, 由于β射线在肝组织内的穿透能力只有2.5 mm, 在杀伤肿瘤细胞的同时对正常肝脏组织损伤较小[59]. TARE后57% HCC患者肿瘤缩小, 因门静脉癌栓对放疗较为敏感, 癌栓内的癌细胞能被β射线迅速杀灭, 即

使术中癌栓内癌细胞脱落到正常肝脏, 由于癌细胞活性降低, 难以增殖存活, 对门静脉癌栓具有显著的治疗作用[60]. Lau等[61]采用^{90}Y微球联合PIAF化疗方案(顺铂+密拓蒽醌+5-氟尿嘧啶+干扰素)治疗不能切除HCC, 17.8%患者成功降期接受手术切除, 5年生存率为57%. 不可切除的ICC, 10.8%-21.6%患者经^{90}Y 微球TARE转化治疗后接受肝肿瘤切除[62,63]. 由于放疗对肿瘤细胞杀伤作用的滞后性, TARE治疗3-6 mo后肿瘤坏死范围仍会增加, 因此中晚期原发性肝癌患者行TARE后肿瘤对TARE的应答率高于TACE(61% *vs* 37%), TARE治疗后降期接受手术成功率高于TACE(58% *vs* 31%)[64]. Tabone等[65]应用^{90}Y微球TARE治疗24例合并门静脉癌栓不可手术HCC患者, 5例(20%)转化后接受肝肿瘤切除, 术后中位OS为30个月. Riby等[66]应用^{90}Y微球TARE治疗19例不可切除ICC, 100%成功降期接受肝肿瘤切除, 术后中位OS与I期手术切除ICC相似(32.3 mo *vs* 45.9 mo). Labgaa等[67]应用TARE治疗319例不能手术切除HCC, 10.03%患者降期成功后行根治性手术, 其中22例行肝移植术, 10例行肝肿瘤切除, 术后中位OS超过41.5 mo. 临床研究表明针对不同患者选择TACE、HAIC、TARE等局部介入治疗是进展期原发性肝癌降期转化治疗的重要治疗方法之一.

2.3.3 *放疗*: 三维适形放疗采用精准定位肿瘤靶区发射X射线使癌细胞核的DNA 链发生断裂, 抑制癌细胞增殖分裂、杀灭癌细胞, 不能手术切除的HCC患者经体外放疗后, 23%患者转化为二期手术切除[68]. Assalino等[69]对侵犯大血管的HCC进行治疗, 局部放疗能够控制肿瘤负荷、缩小肿瘤体积, 66.7%患者经局部放疗后血管浸润完全消退, 成功接受肝移植术. 立体定向放射治疗(stereotactic body radiation therapy, SBRT)治疗HCC合并PVTT侵犯门静脉右支、左支或主干, 12例患者获得PVTT降期(PVTT从程式分型的Ⅲ型降至Ⅱ型或从Ⅱ型降至Ⅰ型), 新辅助放疗联合肝肿瘤切除术后1年、1.5年和2年的OS分别为75.2%、43.9%和27.4% , 优于单纯手术切除43.1%、16.7%和9.4%[70]. Yeh等[71]回顾性分析106例合并PVTT的HCC患者接受调强放疗, 其中癌栓位于门静脉主干30例次, 门静脉右支71例次, 门静脉左支37例次, 12例(11.3%)患者成功降期接受手术切除, 2年总生存率为66.7%, 中位OS为30 mo, 显著优于未能手术切除的患者. 提示门静脉癌栓对放疗较为敏感, 癌栓内癌细胞能迅速被X射线杀伤或灭活, 即使术中癌栓内癌细胞脱落到剩余肝脏, 由于癌细胞活性降低使其难以增殖存活, 降低了术后复发风险. Shui等[72]对门静脉广泛癌栓无法手术的HCC患者行SBRT治疗, 5.7%患者成功降期转化接受肝肿瘤切除. 采用放疗联合肝动脉灌注5-氟尿嘧啶化疗治疗合并PVTT的HCC, 放疗靶区包含门静脉癌栓和肝脏肿瘤, 13.2%患者成功降期接受肝肿瘤切除, 术后5年生存率为49.6%, 未切除患者仅为9.8%[73]. TACE联合放疗不可切除HCC患者, 11.1%患者成功转化接受肝肿瘤切除[74]. Sumiyoshi等[75]应用调强放疗联合S-1治疗7例不可手术的ICC患者, 5例患者(71.4%)进行肝肿瘤切除, 术后生存6-58 mo(平均28.8 mo). 肝脏肿瘤及血管/胆管癌栓进行局部放射治疗, 不仅能够控制肿瘤生长, 而且能够缩小或灭活癌栓, 提高进展期原发性肝癌患者的手术切除率或肝移植机会, 尤其联合介入治疗、分子靶向药物等方法能够显著提高转化治疗效率.

2.3.4 *分子靶向药物治疗*: Ras/Raf/Mek/ERK、Pl3K/Akt/雷帕霉素靶蛋白(mTOR)等信号通路相关分子、血管内皮生长因子受体(vascular endothelial growth factor receptor, VEGFR)、血小板源性生长因子受体(platelet-derived growth factor receptor, PDGFR)和表皮生长因子受体(epithelial growth factor receptor, EGFR)等在肝癌组织中过表达, 参与肿瘤细胞增殖、侵袭, 在原发性肝癌发生、发展过程中具有重要生物学作用, 亦是原发性肝癌分子靶向药物治疗的分子基础[76,77]. 分子靶向药物是针对肿瘤的特异性分子靶点设计的有针对性地抗肿瘤治疗, 具有特异性强、正常组织细胞损伤小等优点, 近年来研制的分子靶向药物(如索拉非尼、乐伐替尼、瑞戈非尼、卡博替、雷莫芦单抗等)在原发性肝癌治疗中发挥重要的作用, 并取得了较好的疗效. 研究表明成纤维细胞生长受体4(fibroblast growth factor receptor 4, FGF4)是索拉非尼治疗反应的一个新的候选生物学标志物, FGF4阳性的HCC患者应用索拉非尼治疗具有显著的病理反应, 治疗前肿瘤FGFR4水平是索拉非尼、仑伐替尼等分子靶向药物治疗反应的预测因子[78,79]. Yoshimoto等[78]应用索拉非尼治疗2例FGFR4阳性不可切除HCC患者, 治疗3 mo后, 成功实施肝肿瘤切除, 术后随访4.5年无肿瘤复发. Barbier等[80]应用索拉非尼治疗2例HCC合并PVTT患者经9 mo转化治疗后成功行肝肿瘤切除. Tanaka等[81]应用仑伐替尼治疗3例不可切除的HCC, 6 mo后2例行肝肿瘤切除术, 1例行微波消融肝肿瘤治疗, 术后随访10 mo未见肿瘤复发. 单一分子靶向药物治疗进展期HCC的ORR较低, 索拉非尼为2%, 仑伐替尼为24.1%[82,83], 因此需要与其它治疗方法(介入治疗、化疗、放疗等)结合, 以提高转化治疗效果. Vagefi等[84]应用索拉非尼联合局部肿瘤射频消融治疗超过米兰标准的HCC患者, 转化治疗后评估患者符合米兰标准成功进行了肝移植术. Gruenberger等[85]应用靶向EGFR的西妥昔单抗联合吉西他滨和奥沙利铂三药联合治疗不能切除的30例胆管癌患者, 5例ICC患者(16.7%)降期后接受手术切除肝肿瘤, 中位PFS为21.2个月. 分子靶向药物

在进展期原发性肝癌治疗中发挥重要的作用, 依据高通量测序技术等检测肝癌组织和血液基因表达变化, 选择合适的分子靶向药物, 尤其联合介入治疗、放疗、化疗等治疗方法, 具有协同增效作用.

2.3.5 *免疫治疗*: 免疫功能障碍是肝癌发生和转移的重要因素, 免疫治疗通过调节特异性免疫反应抑制或杀死肿瘤细胞, 打破免疫耐受, 增强机体对肿瘤的免疫排斥反应, 延缓肿瘤进展, 降低肿瘤复发和转移的能力. 目前常用的免疫治疗方法如肿瘤疫苗(致敏树突状细胞疫苗和多肽疫苗)、过继性细胞疗法(NK、CIK、CTL、CAR-T细胞等)、免疫检查点抑制剂(immune checkpoint inhibitors, ICIs), CTLA-4抑制剂、PD-1、 PD-L1抑制剂等在肿瘤部位重新激活T细胞或抑制特异性T细胞的活化, 从而抑制肿瘤生长[86]. PD-1抑制剂卡瑞利珠单抗治疗进展期HCC, 中位OS为12.5 mo, ORR为13.8%, 6 mo总生存率为74.4%[87]. 单独使用免疫检查点抑制剂的有效率仅为10%-30%, 因此需要与其它治疗方法(介入治疗、放疗、化疗、分子靶向药物等)联合, 达到协同增效的作用[88]. 分子靶向药物(贝伐单抗)和PD-1抑制剂(阿替利珠单抗)联合应用治疗HCC应答率约为30%[89]. 纳武单抗(nivolumab, PD-1抑制剂)联合伊匹木单抗(ipilimumab, CTLA-4抑制剂)治疗不可手术切除的HCC患者, ORR为80%, DCR为100%[90]. Sun等[91]采用不同酪氨酸激酶抑制剂(阿帕替尼、仑伐替尼)加抗PD-1抗体(帕博利珠单抗、信迪利单抗等)治疗不可手术的HCC患者, 18.3%患者转化为手术切除切除, 5例术后病理证实完全缓解. 免疫治疗尤其免疫检查点抑制剂的研制和临床应用, 为进展期原发性肝癌治疗带来新的曙光, 依据肝癌组织、血液中肿瘤突变负荷(tumor mutation burden, TMB)、微卫星不稳定(microsatellite instability, MSI)、错配修复基因(mismatch repair, MMR)、γ-干扰素、肿瘤浸润淋巴细胞、PD-1和/PD-L1等表达变化, 选择不同免疫治疗方法, 且与分子靶向药物、放疗、化疗、介入治疗等方法的联合应用, 在原发性肝癌转化治疗中发挥越来越重要的作用.

3 原发性肝癌转化治疗手术切除或肝移植术后肿瘤复发与转移的预防

原发性肝癌转化治疗能够缩小肿瘤, 但不能完全杀灭肿瘤细胞, 转化治疗后行手术切除肝肿瘤或肝移植, 术后肿瘤复发率为40%-80%[92,93]. 肿瘤直径>5 cm、多发肿瘤结节无包膜、门静脉/肝静脉癌栓和微血管侵犯(microvascular invasion, MVI)等高危因素是肝癌患者术后肿瘤复发、转移的重要独立危险因素[94]. Wang等[95-97]在肝癌术后应用索拉非尼, 结果发现应用索拉非尼的HCC患者术后复发率明显低于对照组(29.4% *vs* 70.7%), 多因素分析提示索拉非尼是术后肿瘤复发的独立影响因素, 术后应用索拉非尼能够减少肿瘤复发, 显著改善患者PFS及OS. 对超越米兰标准HCC患者肝移植术后应用索拉非尼预后优于吉西他滨[98]. 对于具有高危因素的原发性肝癌患者术后积极序贯TACE治疗, 能够有效降低肿瘤复发率, 提高患者术后OS和无瘤生存率[99]. TACE和放疗对肝癌患者免疫系统部分或完全抑制, 促使HBV大量复制再激活, 再激活率达20%-30%, 尤其血清HBV DNA>1.0×10^4拷贝/mL时, 增加HBV再激活和肿瘤术后复发风险[100,101], 因此转化治疗肝肿瘤切除或肝移植术后需要继续抗乙肝病毒治疗, 降低术后肿瘤复发率. 分子靶向药物、免疫治疗在预防原发性肝癌手术切除或肝移植术后肿瘤复发与转移中作用报道较少, 仍需要多中心、大样本的临床研究, 相信随着基础研究和临床工作的不断深入, 筛选有效的分子标志物作为评估预防复发与转移治疗的预测因子, 未来在预防肝癌术后复发与转移中将发挥重要的生物学作用.

4 结论

转化治疗为部分术前评估不可切除原发性肝癌患者创造了手术切除或肝移植的机会, 而且成功转化并实现手术治疗的肝癌患者与无转化手术切除的患者术后5年生存率(24.9%-57%和30%-60%)相近[48,102]. 但转化治疗仅使8%-18%术前评估不切除肝癌患者成功实现转化接受手术切除[61], 因此根据原发性肝癌患者具体情况, 由放射科、放疗科、病理科、肿瘤内科、肿瘤外科等科室组成多学科诊疗团队(multidisciplinary team, MDT), 制定个体化的联合、序贯转化治疗方案, 以达到最佳的治疗效果. 随着新的化疗药物、分子靶向药物和免疫治疗药物的研制, 以及不同治疗方案的临床实践, 使原发性肝癌转化治疗适应证、方案得到更好的优化, 术后预防肿瘤复发与转移的方案更加完善, 不仅能够显著提高转化治疗后原发性肝癌手术切除或肝移植率, 而且延长患者长期生存期, 改善患者预后, 造福于更多的原发性肝癌患者.

5 参考文献

1 Ransome E, Tong L, Espinosa J, Chou J, Somnay V, Munene G. Trends in surgery and disparities in receipt of surgery for intrahepatic cholangiocarcinoma in the US: 2005-2014. *J Gastrointest Oncol* 2019; 10: 339-347 [PMID: 31032103 DOI: 10.21037/jgo.2018.12.07]

2 Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin* 2018; 68: 394-424 [PMID: 30207593 DOI: 10.3322/caac.21492]

3 Khan AS, Garcia-Aroz S, Ansari MA, Atiq SM, Senter-Zapata

M, Fowler K, Doyle MB, Chapman WC. Assessment and optimization of liver volume before major hepatic resection: Current guidelines and a narrative review. *Int J Surg* 2018; 52: 74-81 [PMID: 29425829 DOI: 10.1016/j.ijsu.2018.01.042]
4 赖俊雄, 刘晓欣, 刘允怡. 原发性肝癌降期手术新进展. 临床外科杂志 2015; 23: 5-7 [DOI: 10.3969/j.issn.1005-6483]
5 中国医师协会器官移植医师分会, 中华医学会器官移植学分会. 中国肝癌肝移植临床实践指南(2018版). 临床肝胆病杂志 2019; 35: 275-280 [DOI: 10.3969/j.issn.1001-5256.2019.02.008]
6 Llovet JM, Zucman-Rossi J, Pikarsky E, Sangro B, Schwartz M, Sherman M, Gores G. Hepatocellular carcinoma. *Nat Rev Dis Primers* 2016; 2: 16018 [PMID: 27158749 DOI: 10.1038/nrdp.2016.18]
7 Bruix J , Sherman M , American Association for the Study of Liver Diseases. Management of hepatocellular carcinoma:an update. *Hepatology* 2011;53:1020-1022.DOI:10.1002/hep.24199.
8 王浩, 陈光, 高海军, 伊正甲, 温连芳, 王鹏辉, 杨颐馨, 张莉, 丁青婵. 载药微球介入栓塞治疗在肝癌肝移植术前降期治疗中的应用. 中华普通外科杂志 2019; 34: 410-412 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-631X.2019.05.009]
9 O'Donnell JS, Hoefsmit EP, Smyth MJ, Blank CU, Teng MWL. The Promise of Neoadjuvant Immunotherapy and Surgery for Cancer Treatment. *Clin Cancer Res* 2019; 25: 5743-5751 [PMID: 31040150 DOI: 10.]
10 Huang G, Li PP, Lau WY, Pan ZY, Zhao LH, Wang ZG, Wang MC, Zhou WP. Antiviral Therapy Reduces Hepatocellular Carcinoma Recurrence in Patients With Low HBV-DNA Levels: A Randomized Controlled Trial. *Ann Surg* 2018; 268: 943-954 [PMID: 29521740 DOI: 10.1097/SLA.0000000000002727]
11 Gruttadauria S, Vasta F, Minervini MI, Piazza T, Arcadipane A, Marcos A, Gridelli B. Significance of the effective remnant liver volume in major hepatectomies. *Am Surg* 2005; 71: 235-240 [PMID: 15869140]
12 Schnitzbauer AA, Lang SA, Goessmann H, Nadalin S, Baumgart J, Farkas SA, Fichtner-Feigl S, Lorf T, Goralcyk A, Hörbelt R, Kroemer A, Loss M, Rümmele P, Scherer MN, Padberg W, Königsrainer A, Lang H, Obed A, Schlitt HJ. Right portal vein ligation combined with in situ splitting induces rapid left lateral liver lobe hypertrophy enabling 2-staged extended right hepatic resection in small-for-size settings. *Ann Surg* 2012; 255: 405-414 [PMID: 22330038 DOI: 10.1097/SLA.0b013e31824856f5]
13 Lau WY, Lai EC, Lau SH. Associating liver partition and portal vein ligation for staged hepatectomy: the current role and development. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2017; 16: 17-26 [PMID: 28119254 DOI: 10.1016/s1499-3872(16)60174-1]
14 Schadde E, Ardiles V, Slankamenac K, Tschuor C, Sergeant G, Amacker N, Baumgart J, Croome K, Hernandez-Alejandro R, Lang H, de Santibañes E, Clavien PA. ALPPS offers a better chance of complete resection in patients with primarily unresectable liver tumors compared with conventional-staged hepatectomies: results of a multicenter analysis. *World J Surg* 2014; 38: 1510-1519 [PMID: 24748319 DOI: 10.1007/s00268-014-2513-3]
15 Wang Z, Peng Y, Hu J, Wang X, Sun H, Sun J, Shi Y, Xiao Y, Ding Z, Yang X, Tang M, Tang Z, Wang J, Lau WY, Fan J, Zhou J. Associating Liver Partition and Portal Vein Ligation for Staged Hepatectomy for Unresectable Hepatitis B Virus-related Hepatocellular Carcinoma: A Single Center Study of 45 Patients. *Ann Surg* 2020; 271: 534-541 [PMID: 29995681]
16 Sala S, Ardiles V, Ulla M, Alvarez F, Pekolj J, de Santibañes E. Our initial experience with ALPPS technique: encouraging results. *Updates Surg* 2012; 64: 167-172 [PMID: 22903531 DOI: 10.1007/s13304-012-0175-y]
17 Nadalin S, Capobianco I, Li J, Girotti P, Königsrainer I, Königsrainer A. Indications and limits for associating liver partition and portal vein ligation for staged hepatectomy (ALPPS). Lessons Learned from 15 cases at a single centre. *Z Gastroenterol* 2014; 52: 35-42 [PMID: 24420797 DOI: 10.1055/s-0033-1356364]
18 Robles R, Parrilla P, López-Conesa A, Brusadin R, de la Peña J, Fuster M, García-López JA, Hernández E. Tourniquet modification of the associating liver partition and portal ligation for staged hepatectomy procedure. *Br J Surg* 2014; 101: 1129-34; discussion 1134 [PMID: 24947768 DOI: 10.1002/bjs.9547]
19 Gall TM, Sodergren MH, Frampton AE, Fan R, Spalding DR, Habib NA, Pai M, Jackson JE, Tait P, Jiao LR. Radio-frequency-assisted Liver Partition with Portal vein ligation (RALPP) for liver regeneration. *Ann Surg* 2015; 261: e45-e46 [PMID: 24670841 DOI: 10.1097/SLA.0000000000000607]
20 Hong de F, Zhang YB, Peng SY, Huang DS. Percutaneous Microwave Ablation Liver Partition and Portal Vein Embolization for Rapid Liver Regeneration: A Minimally Invasive First Step of ALPPS for Hepatocellular Carcinoma. *Ann Surg* 2016; 264: e1-e2 [PMID: 26967629 DOI: 10.1097/SLA.0000000000001707]
21 Vicente E, Quijano Y, Ielpo B, Fabra I. First ALPPS procedure using a total robotic approach. *Surg Oncol* 2016; 25: 457 [PMID: 26856770 DOI: 10.1016/j.suronc.2015.10.001]
22 Vennarecci G, Laurenzi A, Levi Sandri GB, Busi Rizzi E, Cristofaro M, Montalbano M, Piselli P, Andreoli A, D'Offizi G, Ettorre GM. The ALPPS procedure for hepatocellular carcinoma. *Eur J Surg Oncol* 2014; 40: 982-988 [PMID: 24767805 DOI: 10.1016/j.ejso.2014.04.002]
23 Sun Z, Tang W, Sakamoto Y, Hasegawa K, Kokudo N. A systematic review and meta-analysis of feasibility, safety and efficacy of associating liver partition and portal vein ligation for staged hepatectomy (ALPPS) versus two-stage hepatectomy (TSH). *Biosci Trends* 2015; 9: 284-288 [PMID: 26559020 DOI: 10.5582/bst.2015.01139]
24 Buac S, Schadde E, Schnitzbauer AA, Vogt K, Hernandez-Alejandro R. The many faces of ALPPS: surgical indications and techniques among surgeons collaborating in the international registry. *HPB (Oxford)* 2016; 18: 442-448 [PMID: 27154808 DOI: 10.1016/j.hpb.2016.01.547]
25 Oldhafer KJ, Stavrou GA, van Gulik TM; Core Group. ALPPS--Where Do We Stand, Where Do We Go?: Eight Recommendations From the First International Expert Meeting. *Ann Surg* 2016; 263: 839-841 [PMID: 26756771 DOI: 10.1097/SLA.0000000000001633]
26 Abulkhir A, Limongelli P, Healey AJ, Damrah O, Tait P, Jackson J, Habib N, Jiao LR. Preoperative portal vein embolization for major liver resection: a meta-analysis. *Ann Surg* 2008; 247: 49-57 [PMID: 18156923 DOI: 10.1097/SLA.0b013e31815f6e5b]
27 Aloia TA. Associating Liver Partition and Portal Vein Ligation for Staged Hepatectomy: Portal Vein Embolization Should Remain the Gold Standard. *JAMA Surg* 2015; 150: 927-928 [PMID: 26308668 DOI: 10.1001/jamasurg.2015.1646]
28 Piron L, Deshayes E, Escal L, Souche R, Herrero A, Pierredon-Foulongne MA, Assenat E, le Lam N, Quenet F, Guiu B. [Portal vein embolization: Present and future]. *Bull Cancer* 2017; 104: 407-416 [PMID: 28477870 DOI: 10.1016/j.bulcan.2017.03.009]
29 Vauthey JN, Dixon E, Abdalla EK, Helton WS, Pawlik TM, Taouli B, Brouquet A, Adams RB; American Hepato-Pancreato-Biliary Association; Society of Surgical Oncology; Society for Surgery of the Alimentary Tract. Pretreatment assessment of hepatocellular carcinoma: expert consensus statement. *HPB (Oxford)* 2010; 12: 289-299 [PMID: 20590901 DOI: 10.1111/j.1477-2574.2010.00181.x]
30 Shindoh J, Vauthey JN, Zimmitti G, Curley SA, Huang SY, Mahvash A, Gupta S, Wallace MJ, Aloia TA. Analysis of the efficacy of portal vein embolization for patients with extensive

liver malignancy and very low future liver remnant volume, including a comparison with the associating liver partition with portal vein ligation for staged hepatectomy approach. *J Am Coll Surg* 2013; 217: 126-33; discussion 133-4 [PMID: 23632095 DOI: 10.1016/j.jamcollsurg.2013.03.004]

31 Peng SY, Wang XA, Huang CY, Zhang YY, Li JT, Hong DF, Cai XJ. Evolution of associating liver partition and portal vein ligation for staged hepatectomy: Simpler, safer and equally effective methods. *World J Gastroenterol* 2017; 23: 4140-4145 [PMID: 28694654 DOI: 10.3748/wjg.v23.i23.4140]

32 Ogata S, Belghiti J, Farges O, Varma D, Sibert A, Vilgrain V. Sequential arterial and portal vein embolizations before right hepatectomy in patients with cirrhosis and hepatocellular carcinoma. *Br J Surg* 2006; 93: 1091-1098 [PMID: 16779884 DOI: 10.1002/bjs.5341]

33 Piardi T, Memeo R, Renard Y, Ammendola M, Bruno O, Habersetzer F, Baumert T, Pessaux P, Sommacale D. Management of large hepatocellular carcinoma by sequential transarterial chemoembolization and portal vein embolization: a systematic review of the literature. *Minerva Chir* 2016; 71: 192-200 [PMID: 26883849]

34 Hwang S, Ha TY, Ko GY, Kwon DI, Song GW, Jung DH, Kim MH, Lee SK, Lee SG. Preoperative Sequential Portal and Hepatic Vein Embolization in Patients with Hepatobiliary Malignancy. *World J Surg* 2015; 39: 2990-2998 [PMID: 26304608 DOI: 10.1007/s00268-015-3194-2]

35 中国抗癌协会. 肝门部胆管癌规范化诊治专家共识(2015). 中华肝胆外科杂志 2015; 21: 505-511 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-8118.2015.08.001]

36 Chan A, Zhang WY, Chok K, Dai J, Ji R, Kwan C, Man N, Poon R, Lo CM. ALPPS Versus Portal Vein Embolization for Hepatitis-related Hepatocellular Carcinoma: A Changing Paradigm in Modulation of Future Liver Remnant Before Major Hepatectomy. *Ann Surg* 2019 [PMID: 31305284 DOI: 10.1097/SLA.0000000000003433]

37 Zhang ZM, Lai EC, Zhang C, Yu HW, Liu Z, Wan BJ, Liu LM, Tian ZH, Deng H, Sun QH, Chen XP. The strategies for treating primary hepatocellular carcinoma with portal vein tumor thrombus. *Int J Surg* 2015; 20: 8-16 [PMID: 26026424 DOI: 10.1016/j.ijsu.2015.05.009]

38 Zhang R, Xu LB, Zeng H, Yu XH, Wang J, Liu C. Elevated expression of Bmi1 in hepatocellular carcinoma with bile duct tumor thrombi. *Hepatogastroenterology* 2013; 60: 2042-2047 [PMID: 24719948]

39 Minagawa M, Makuuchi M. Treatment of hepatocellular carcinoma accompanied by portal vein tumor thrombus. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 7561-7567 [PMID: 17171782 DOI: 10.3748/wjg.v12.i47.7561]

40 Wang Y, Yuan L, Ge RL, Sun Y, Wei G. Survival benefit of surgical treatment for hepatocellular carcinoma with inferior vena cava/right atrium tumor thrombus: results of a retrospective cohort study. *Ann Surg Oncol* 2013; 20: 914-922 [PMID: 22956071 DOI: 10.1245/s10434-012-2646-2]

41 Peng BG, Liang LJ, Li SQ, Zhou F, Hua YP, Luo SM. Surgical treatment of hepatocellular carcinoma with bile duct tumor thrombi. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 3966-3969 [PMID: 15991304 DOI: 10.3748/wjg.v11.i25.3966]

42 Qin S, Bai Y, Lim HY, Thongprasert S, Chao Y, Fan J, Yang TS, Bhudhisawasdi V, Kang WK, Zhou Y, Lee JH, Sun Y. Randomized, multicenter, open-label study of oxaliplatin plus fluorouracil/leucovorin versus doxorubicin as palliative chemotherapy in patients with advanced hepatocellular carcinoma from Asia. *J Clin Oncol* 2013; 31: 3501-3508 [PMID: 23980077 DOI: 10.1200/JCO.2012.44.5643]

43 Kaseb AO, Shindoh J, Patt YZ, Roses RE, Zimmitti G, Lozano RD, Hassan MM, Hassabo HM, Curley SA, Aloia TA, Abbruzzese JL, Vauthey JN. Modified cisplatin/interferon α-2b/doxorubicin/5-fluorouracil (PIAF) chemotherapy in patients with no hepatitis or cirrhosis is associated with improved response rate, resectability, and survival of initially unresectable hepatocellular carcinoma. *Cancer* 2013; 119: 3334-3342 [PMID: 23821538 DOI: 10.1002/cncr.28209]

44 鲁文权, 乐凌云, 田炳如, 邢士超, 邵宝儿, 林能明. 雷替曲塞注射剂联合奥沙利铂注射剂治疗晚期原发性肝癌的临床研究. 中国临床药理学杂志 2019; 35: 102-105 [DOI: 10.13699/j.cnki.1001-6821.2019.02.002]

45 Zaanan A, Williet N, Hebbar M, Dabakuyo TS, Fartoux L, Mansourbakht T, Dubreuil O, Rosmorduc O, Cattan S, Bonnetain F, Boige V, Taïeb J. Gemcitabine plus oxaliplatin in advanced hepatocellular carcinoma: a large multicenter AGEO study. *J Hepatol* 2013; 58: 81-88 [PMID: 22989572 DOI: 10.1016/j.jhep.2012.09.006]

46 Le Roy B, Gelli M, Pittau G, Allard MA, Pereira B, Serji B, Vibert E, Castaing D, Adam R, Cherqui D, Sa Cunha A. Neoadjuvant chemotherapy for initially unresectable intrahepatic cholangiocarcinoma. *Br J Surg* 2018; 105: 839–847 [PMID: 28858392 DOI: 10.1016/j.currproblcancer.2020.100614]

47 Allard MA, Sebagh M, Ruiz A, Guettier C, Paule B, Vibert E, Cunha AS, Cherqui D, Samuel D, Bismuth H, Castaing D, Adam R. Does pathological response after transarterial chemoembolization for hepatocellular carcinoma in cirrhotic patients with cirrhosis predict outcome after liver resection or transplantation? *J Hepatol* 2015; 63: 83-92 [PMID: 25646884 DOI: 10.1016/j.jhep.2015.01.023]

48 Fan J, Tang ZY, Yu YQ, Wu ZQ, Ma ZC, Zhou XD, Zhou J, Qiu SJ, Lu JZ. Improved survival with resection after transcatheter arterial chemoembolization (TACE) for unresectable hepatocellular carcinoma. *Dig Surg* 1998; 15: 674-678 [PMID: 9845635 DOI: 10.1159/000018676]

49 王浩, 陈光, 高海军, 温连芳, 王鹏辉, 杨颐馨, 张莉, 丁青婵.载药微球化疗栓塞在肝癌患者肝移植等待期间应用的疗效分析. 中华肝胆外科杂志 2019; 25: 246-248 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-8118.2019.04.002]

50 Affonso BB, Galastri FL, da Motta Leal Filho JM, Nasser F, Falsarella PM, Cavalcante RN, de Almeida MD, Felga GEG, Valle LGM, Wolosker N. Long-term outcomes of hepatocellular carcinoma that underwent chemoembolization for bridging or downstaging. *World J Gastroenterol* 2019; 25: 5687-5701 [PMID: 31602168 DOI: 10.3748/wjg.v25.i37.5687]

51 Lin WH, Yeh SH, Yeh KH, Chen KW, Cheng YW, Su TH, Jao P, Ni LC, Chen PJ, Chen DS. Hypoxia-activated cytotoxic agent tirapazamine enhances hepatic artery ligation-induced killing of liver tumor in HBx transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 2016; 113: 11937-11942 [PMID: 27702890]

52 Huang KB, Fan WZ, Zhang YY, Wang Y, Cui W, Li JP. [Transarterial chemoembolization combined with cryoablation for unresectable large hepatocellular carcinoma: a controlled study]. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* 2016; 96: 2978-2982 [PMID: 27760658 DOI: 10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2016.37.006]

53 李川江, 周杰. 肝细胞肝癌经肝动脉化疗栓塞联合索拉非尼降期后二期切除的初步报告. 腹部外科杂志 2017; 30: 295-301 [DOI: 10.3969/ j.issn.1003-5591.2017.04.015]

54 Lee BH, Lee DS, Cho CW, Yun SS. Role and limitation of neoadjuvant hepatic arterial infusion chemotherapy in advanced hepatocelluar carcinoma patients with Child-Pugh class A. *World J Surg Oncol* 2019; 17: 143 [PMID: 31416447 DOI: 10.1186/s12957-019-1685-6]

55 He M, Li Q, Zou R, Shen J, Fang W, Tan G, Zhou Y, Wu X, Xu L, Wei W, Le Y, Zhou Z, Zhao M, Guo Y, Guo R, Chen M, Shi M. Sorafenib Plus Hepatic Arterial Infusion of Oxaliplatin, Fluorouracil, and Leucovorin vs Sorafenib Alone for Hepatocellular Carcinoma With Portal Vein Invasion: A Randomized Clinical Trial. *JAMA Oncol* 2019; 5: 953-960 [PMID:

31070690 DOI: 10.1001/jamaoncol.2019.0250]
56 Hamaoka M, Kobayashi T, Kuroda S, Iwako H, Okimoto S, Kimura T, Aikata H, Nagata Y, Chayama K, Ohdan H. Hepatectomy after down-staging of hepatocellular carcinoma with portal vein tumor thrombus using chemoradiotherapy: A retrospective cohort study. *Int J Surg* 2017; 44: 223-228 [PMID: 28676383 DOI: 10.1016/j.ijsu.2017.06.082]
57 Chong JU, Choi GH, Han DH, Kim KS, Seong J, Han KH, Choi JS. Downstaging with Localized Concurrent Chemoradiotherapy Can Identify Optimal Surgical Candidates in Hepatocellular Carcinoma with Portal Vein Tumor Thrombus. *Ann Surg Oncol* 2018; 25: 3308-3315 [PMID: 30083834 DOI: 10.1245/s10434-018-6653-9]
58 Massani M, Nistri C, Ruffolo C, Bonariol R, Pauletti B, Bonariol L, Caratozzolo E, Morana G, Bassi N. Intrahepatic chemotherapy for unresectable cholangiocarcinoma: review of literature and personal experience. *Updates Surg* 2015; 67: 389-400 [PMID: 26468142 DOI: 10.1007/s13304-015-0330-3]
59 Salem R, Gordon AC, Mouli S, Hickey R, Kallini J, Gabr A, Mulcahy MF, Baker T, Abecassis M, Miller FH, Yaghmai V, Sato K, Desai K, Thornburg B, Benson AB, Rademaker A, Ganger D, Kulik L, Lewandowski RJ. Y90 Radioembolization Significantly Prolongs Time to Progression Compared With Chemoembolization in Patients With Hepatocellular Carcinoma. *Gastroenterology* 2016; 151: 1155-1163.e2 [PMID: 27575820 DOI: 10.1053/j.gastro.2016.08.029]
60 Chen MS, Li JQ, Zheng Y, Guo RP, Liang HH, Zhang YQ, Lin XJ, Lau WY. A prospective randomized trial comparing percutaneous local ablative therapy and partial hepatectomy for small hepatocellular carcinoma. *Ann Surg* 2006; 243: 321-328 [PMID: 16495695 DOI: 10.1097/01.sla.0000201480.65519.b8]
61 Lau WY, Lai EC. Salvage surgery following downstaging of unresectable hepatocellular carcinoma--a strategy to increase resectability. *Ann Surg Oncol* 2007; 14: 3301-3309 [PMID: 17891443 DOI: 10.1245/s10434-007-9549-7]
62 Mouli S, Memon K, Baker T, Benson AB 3rd, Mulcahy MF, Gupta R, Ryu RK, Salem R, Lewandowski RJ. Yttrium-90 radioembolization for intrahepatic cholangiocarcinoma: safety, response, and survival analysis. *J Vasc Interv Radiol* 2013; 24: 1227-1234 [PMID: 23602420 DOI: 10.1016/j.jvir.2013.02.031]
63 Rayar M, Sulpice L, Edeline J, Garin E, Levi Sandri GB, Meunier B, Boucher E, Boudjema K. Intra-arterial yttrium-90 radioembolization combined with systemic chemotherapy is a promising method for downstaging unresectable huge intrahepatic cholangiocarcinoma to surgical treatment. *Ann Surg Oncol* 2015; 22: 3102-3108 [PMID: 25623598 DOI: 10.1245/s10434-014-4365-3]
64 Lewandowski RJ, Kulik LM, Riaz A, Senthilnathan S, Mulcahy MF, Ryu RK, Ibrahim SM, Sato KT, Baker T, Miller FH, Omary R, Abecassis M, Salem R. A comparative analysis of transarterial downstaging for hepatocellular carcinoma: chemoembolization versus radioembolization. *Am J Transplant* 2009; 9: 1920-1928 [PMID: 19552767 DOI: 10.1111/j.1600-6143.2009.02695.x]
65 Tabone M, Calvo A, Russolillo N, Langella S, Carbonatto P, Lo Tesoriere R, Richetta E, Pellerito R, Ferrero A. Downstaging unresectable hepatocellular carcinoma by radioembolization using 90-yttrium resin microspheres: a single center experience. *J Gastrointest Oncol* 2020; 11: 84-90 [PMID: 32175109 DOI: 10.21037/jgo.2019.06.01]
66 Riby D, Mazzotta AD, Bergeat D, Verdure L, Sulpice L, Bourien H, Lièvre A, Rolland Y, Garin E, Boudjema K, Edeline J. Downstaging with Radioembolization or Chemotherapy for Initially Unresectable Intrahepatic Cholangiocarcinoma. *Ann Surg Oncol* 2020; 27: 3729-3737 [PMID: 32472411 DOI: 10.1245/s10434-020-08486-7]
67 Labgaa I, Tabrizian P, Titano J, Kim E, Thung SN, Florman S, Schwartz M, Melloul E. Feasibility and safety of liver transplantation or resection after transarterial radioembolization with Yttrium-90 for unresectable hepatocellular carcinoma. *HPB (Oxford)* 2019; 21: 1497-1504 [PMID: 31005494 DOI: 10.1016/j.hpb.2019.03.360]
68 Zeng ZC, Tang ZY, Yang BH, Liu KD, Wu ZQ, Fan J, Qin LX, Sun HC, Zhou J, Jiang GL. Comparison between radioimmunotherapy and external beam radiation therapy for patients with hepatocellular carcinoma. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2002; 29: 1657-1668 [PMID: 12458401 DOI: 10.1007/s00259-002-0996-x]
69 Assalino M, Terraz S, Grat M, Lai Q, Vachharajani N, Gringeri E, Bongini MA, Kulik L, Tabrizian P, Agopian V, Mehta N, Brustia R, Vitali GC, Andres A, Berney T, Mazzaferro V, Compagnon P, Majno P, Cillo U, Chapman W, Zieniewicz K, Scatton O, Toso C. Liver transplantation for hepatocellular carcinoma after successful treatment of macrovascular invasion - a multi-center retrospective cohort study. *Transpl Int* 2020; 33: 567-575 [PMID: 31994238 DOI: 10.1111/tri.13586]
70 Wei X, Jiang Y, Zhang X, Feng S, Zhou B, Ye X, Xing H, Xu Y, Shi J, Guo W, Zhou D, Zhang H, Sun H, Huang C, Lu C, Zheng Y, Meng Y, Huang B, Cong W, Lau WY, Cheng S. Neoadjuvant Three-Dimensional Conformal Radiotherapy for Resectable Hepatocellular Carcinoma With Portal Vein Tumor Thrombus: A Randomized, Open-Label, Multicenter Controlled Study. *J Clin Oncol* 2019; 37: 2141-2151 [PMID: 31283409 DOI: 10.1200/JCO.18.02184]
71 Yeh SA, Chen YS, Perng DS. The role of radiotherapy in the treatment of hepatocellular carcinoma with portal vein tumor thrombus. *J Radiat Res* 2015; 56: 325-331 [PMID: 25411553 DOI: 10.1093/jrr/rru104]
72 Shui Y, Yu W, Ren X, Guo Y, Xu J, Ma T, Zhang B, Wu J, Li Q, Hu Q, Shen L, Bai X, Liang T, Wei Q. Stereotactic body radiotherapy based treatment for hepatocellular carcinoma with extensive portal vein tumor thrombosis. *Radiat Oncol* 2018; 13: 188 [PMID: 30253783 DOI: 10.1186/s13014-018-1136-5]
73 Lee HS, Choi GH, Choi JS, Kim KS, Han KH, Seong J, Ahn SH, Kim DY, Park JY, Kim SU, Kim BK. Surgical resection after down-staging of locally advanced hepatocellular carcinoma by localized concurrent chemoradiotherapy. *Ann Surg Oncol* 2014; 21: 3646-3653 [PMID: 24916746 DOI: 10.1245/s10434-014-3652-3]
74 Yoon SM, Ryoo BY, Lee SJ, Kim JH, Shin JH, An JH, Lee HC, Lim YS. Efficacy and Safety of Transarterial Chemoembolization Plus External Beam Radiotherapy vs Sorafenib in Hepatocellular Carcinoma With Macroscopic Vascular Invasion: A Randomized Clinical Trial. *JAMA Oncol* 2018; 4: 661-669 [PMID: 29543938 DOI: 10.1001/jamaoncol.2017.5847]
75 Sumiyoshi T, Shima Y, Okabayashi T, Negoro Y, Shimada Y, Iwata J, Matsumoto M, Hata Y, Noda Y, Sui K, Sueda T. Chemoradiotherapy for Initially Unresectable Locally Advanced Cholangiocarcinoma. *World J Surg* 2018; 42: 2910-2918 [PMID: 29511872 DOI: 10.1007/s00268-018-4558-1]
76 Abou-Alfa GK, Schwartz L, Ricci S, Amadori D, Santoro A, Figer A, De Greve J, Douillard JY, Lathia C, Schwartz B, Taylor I, Moscovici M, Saltz LB. Phase II study of sorafenib in patients with advanced hepatocellular carcinoma. *J Clin Oncol* 2006; 24: 4293-4300 [PMID: 16908937 DOI: 10.1200/JCO.2005.01.3441]
77 Daveau M, Scotte M, François A, Coulouarn C, Ros G, Tallet Y, Hiron M, Hellot MF, Salier JP. Hepatocyte growth factor, transforming growth factor alpha, and their receptors as combined markers of prognosis in hepatocellular carcinoma. *Mol Carcinog* 2003; 36: 130-141 [PMID: 12619035 DOI: 10.1002/mc.10103]
78 Yoshimoto T, Imura S, Morine Y, Ikemoto T, Arakawa Y, Iwahashi S, Saito YU, Takasu C, Ishikawa D, Teraoku H, Bando Y, Shimada M. The Outcome of Sorafenib Therapy on Unresectable Hepatocellular Carcinoma: Experience of

Conversion and Salvage Hepatectomy. *Anticancer Res* 2018; 38: 501-507 [PMID: 29277815 DOI: 10.21873/anticanres.12250]
79 Yamauchi M, Ono A, Ishikawa A, Kodama K, Uchikawa S, Hatooka H, Zhang P, Teraoka Y, Morio K, Fujino H, Nakahara T, Murakami E, Miki D, Kawaoka T, Tsuge M, Hiramatsu A, Imamura M, Hayes CN, Fujita M, Nakagawa H, Yasui W, Aikata H, Chayama K. Tumor Fibroblast Growth Factor Receptor 4 Level Predicts the Efficacy of Lenvatinib in Patients With Advanced Hepatocellular Carcinoma. *Clin Transl Gastroenterol* 2020; 11: e00179 [PMID: 32677805 DOI: 10.14309/ctg.0000000000000179]
80 Barbier L, Muscari F, Le Guellec S, Pariente A, Otal P, Suc B. Liver resection after downstaging hepatocellular carcinoma with sorafenib. *Int J Hepatol* 2011; 2011: 791013 [PMID: 22135750 DOI: 10.4061/2011/791013]
81 Tanaka H, Saijo Y, Tomonari T, Tanaka T, Taniguchi T, Yagi S, Okamoto K, Miyamoto H, Sogabe M, Sato Y, Muguruma N, Tsuneyama K, Sata M, Takayama T. An Adult Case of Congenital Extrahepatic Portosystemic Shunt Successfully Treated with Balloon-occluded Retrograde Transvenous Obliteration. *Intern Med* 2021 [PMID: 33456037 DOI: 10.2169/internalmedicine.5914-20]
82 Llovet JM, Ricci S, Mazzaferro V, Hilgard P, Gane E, Blanc JF, de Oliveira AC, Santoro A, Raoul JL, Forner A, Schwartz M, Porta C, Zeuzem S, Bolondi L, Greten TF, Galle PR, Seitz JF, Borbath I, Häussinger D, Giannaris T, Shan M, Moscovici M, Voliotis D, Bruix J; SHARP Investigators Study Group. Sorafenib in advanced hepatocellular carcinoma. *N Engl J Med* 2008; 359: 378-390 [PMID: 18650514 DOI: 10.1056/NEJMoa0708857]
83 Kudo M, Finn RS, Qin S, Han KH, Ikeda K, Piscaglia F, Baron A, Park JW, Han G, Jassem J, Blanc JF, Vogel A, Komov D, Evans TRJ, Lopez C, Dutcus C, Guo M, Saito K, Kraljevic S, Tamai T, Ren M, Cheng AL. Lenvatinib versus sorafenib in first-line treatment of patients with unresectable hepatocellular carcinoma: a randomised phase 3 non-inferiority trial. *Lancet* 2018; 391: 1163-1173 [PMID: 29433850 DOI: 10.1016/S0140-6736(18)30207-1]
84 Vagefi PA, Hirose R. Downstaging of hepatocellular carcinoma prior to liver transplant: is there a role for adjuvant sorafenib in locoregional therapy? *J Gastrointest Cancer* 2010; 41: 217-220 [PMID: 20443078 DOI: 10.1007/s12029-010-9163-y]
85 Gruenberger B, Schueller J, Heubrandtner U, Wrba F, Tamandl D, Kaczirek K, Roka R, Freimann-Pircher S, Gruenberger T. Cetuximab, gemcitabine, and oxaliplatin in patients with unresectable advanced or metastatic biliary tract cancer: a phase 2 study. *Lancet Oncol* 2010; 11: 1142-1148 [PMID: 21071270 DOI: 10.1016/S1470-2045(10)70247-3]
86 Zhu J, Yin T, Xu Y, Lu XJ. Therapeutics for advanced hepatocellular carcinoma: Recent advances, current dilemma, and future directions. *J Cell Physiol* 2019; 234: 12122-12132 [PMID: 30644100 DOI: 10.1002/jcp.28048]
87 Qin S, Ren Z, Meng Z, Chen Z, Chai X, Xiong J, Bai Y, Yang L, Zhu H, Fang W, Lin X, Chen X, Li E, Wang L, Chen C, Zou J. Camrelizumab in patients with previously treated advanced hepatocellular carcinoma: a multicentre, open-label, parallel-group, randomised, phase 2 trial. *Lancet Oncol* 2020; 21: 571-580 [PMID: 32112738 DOI: 10.1016/S1470-2045(20)30011-5]
88 Dawkins J, Webster RM. The hepatocellular carcinoma market. *Nat Rev Drug Discov* 2019; 18: 13-14 [PMID: 30168534 DOI: 10.1038/nrd.2018.146]
89 Finn RS, Qin S, Ikeda M, Galle PR, Ducreux M, Kim TY, Kudo M, Breder V, Merle P, Kaseb AO, Li D, Verret W, Xu DZ, Hernandez S, Liu J, Huang C, Mulla S, Wang Y, Lim HY, Zhu AX, Cheng AL; IMbrave150 Investigators. Atezolizumab plus Bevacizumab in Unresectable Hepatocellular Carcinoma. *N Engl J Med* 2020; 382: 1894-1905 [PMID: 32402160 DOI: 10.1056/NEJMoa1915745]
90 Ziogas IA, Evangeliou AP, Giannis D, Hayat MH, Mylonas KS, Tohme S, Geller DA, Elias N, Goyal L, Tsoulfas G. The Role of Immunotherapy in Hepatocellular Carcinoma: A Systematic Review and Pooled Analysis of 2, 402 Patients. *Oncologist* 2020 [PMID: 33314549 DOI: 10.1002/onco.13638]
91 Sun HC, Zhu XD, Huang C, Shen YH, Yuan J, Ge NL, Tan CJ, Zhou J, Fan J.Initially unresectable hepatocellular carcinoma treated by combination therapy of tyrosine kinase inhibitor and anti-PD-1 antibody followed by resection. *J Clin Oncol* 2020;38:e16690[DOI:10.1200/JCO.2020.38.15_suppl.e16690]
92 Fujiki M, Aucejo F, Kim R. General overview of neo-adjuvant therapy for hepatocellular carcinoma before liver transplantation: necessity or option? *Liver Int* 2011; 31: 1081-1089 [PMID: 22008644 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2011.02473.x]
93 Lau WY, Lai EC, Lau SH. The current role of neoadjuvant/adjuvant/chemoprevention therapy in partial hepatectomy for hepatocellular carcinoma: a systematic review. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2009; 8: 124-133 [PMID: 19357024]
94 Ha SY, Choi M, Lee T, Park CK. The Prognostic Role of Mitotic Index in Hepatocellular Carcinoma Patients after Curative Hepatectomy. *Cancer Res Treat* 2016; 48: 180-189 [PMID: 25797572 DOI: 10.4143/crt.2014.321]
95 Wang SN, Chuang SC, Lee KT. Efficacy of sorafenib as adjuvant therapy to prevent early recurrence of hepatocellular carcinoma after curative surgery: A pilot study. *Hepatol Res* 2014; 44: 523-531 [PMID: 23672310 DOI: 10.1111/hepr.12159]
96 Zhang XP, Chai ZT, Gao YZ, Chen ZH, Wang K, Shi J, Guo WX, Zhou TF, Ding J, Cong WM, Xie D, Lau WY, Cheng SQ. Postoperative adjuvant sorafenib improves survival outcomes in hepatocellular carcinoma patients with microvascular invasion after R0 liver resection: a propensity score matching analysis. *HPB (Oxford)* 2019; 21: 1687-1696 [PMID: 31153833 DOI: 10.1016/j.hpb.2019.04.014]
97 Huang Y, Zhang Z, Zhou Y, Yang J, Hu K, Wang Z. Should we apply sorafenib in hepatocellular carcinoma patients with microvascular invasion after curative hepatectomy? *Onco Targets Ther* 2019; 12: 541-548 [PMID: 30666133 DOI: 10.2147/OTT.S187357]
98 Huang L, Li GM, Zhu JY, Li Z, Li T, Leng XS. Efficacy of sorafenib after liver transplantation in patients with primary hepatic carcinoma exceeding the Milan criteria: a preliminary study. *Onco Targets Ther* 2012; 5: 457-462 [PMID: 23277740 DOI: 10.2147/OTT.S31387]
99 刘臻玉, 武丹, 区锦玲, 曾海峰. 术后TACE对肝癌微血管侵犯治疗效果评估. 肝胆胰外科杂志 2017; 29: 38-372 [DOI: 10.11952/j.issn.1007-1954.2017.05.004]
100 Paul S, Dickstein A, Saxena A, Terrin N, Viveiros K, Balk EM, Wong JB. Role of surface antibody in hepatitis B reactivation in patients with resolved infection and hematologic malignancy: A meta-analysis. *Hepatology* 2017; 66: 379-388 [PMID: 28128861 DOI: 10.1002/hep.29082]
101 张秋明, 钟鉴宏, 游雪梅, 马良, 向邦德, 朱少亮, 龚文锋, 黎乐群. 核苷类似物联合TACE治疗HBV相关性肝细胞癌的预后分析.肿瘤防治研究 2016; 43: 792-795 [DOI: 10.3971/j.issn.1000-8578.2016.09.013]
102 Lau WY, Ho SK, Yu SC, Lai EC, Liew CT, Leung TW. Salvage surgery following downstaging of unresectable hepatocellular carcinoma. *Ann Surg* 2004; 240: 299-305 [PMID: 15273555 DOI: 10.1097/01.sla.0000133123.11932.19]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: https://www.baishideng.com

世界华人消化杂志 2021年5月28日; 29(10): 511-516

DOI: 10.11569/wcjd.v29.i10.511

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

临床研究 CLINICAL RESEARCH

肝癌组织中IL-26水平对乙肝相关肝癌术后患者的预后判断价值

鲍建亨, 尚海涛, 郝成飞, 刘军舰, 韩树旺, 张德林, 李忠廉

鲍建亨, 尚海涛, 郝成飞, 刘军舰, 韩树旺, 张德林, 李忠廉, 天津市南开医院肝胆胰外科二 天津市 300100

鲍建亨, 主治医师, 硕士研究生, 研究方向为肝胆胰相关良恶性疾病, 梗阻性黄疸的临床和基础治疗.

基金项目: 天津市卫生健康委员会中医药重点领域科研项目, No.2019003.

作者贡献分布: 此课题由鲍建亨和李忠廉设计; 研究过程由鲍建亨、尚海涛、 郝成飞、刘军舰操作完成; 数据收集和分析由鲍建亨、韩树旺、张德林、李忠廉完成; 本论文写作由鲍建亨完成.

通讯作者: 李忠廉, 博士研究生, 教授, 300100, 天津市南开区长江道6号, 天津市南开医院肝胆胰外科二. zhonglianli@hotmail.com

收稿日期: 2021-03-29
修回日期: 2021-04-10
接受日期: 2021-04-22
在线出版日期: 2021-05-28

Prognostic value of IL-26 level in hepatocellular carcinoma tissue in postoperative patients with hepatitis B related hepatocellular carcinoma

Jian-Heng Bao, Hai-Tao Shang, Cheng-Fei Hao, Jun-Jian Liu, Shu-Wang Han, De-Lin Zhang, Zhong-Lian Li

Jian-Heng Bao, Hai-Tao Shang, Cheng-Fei Hao, Jun-Jian Liu, Shu-Wang Han, De-Lin Zhang, Zhong-Lian Li, Second Department of Hepatobiliary and Pancreatic Surgery, Nankai Hospital, Tianjin 300100, China

Supported by: Scientific Research Project of Key Fields of Traditional Chinese Medicine of Tianjin Health Committee, No. 2019003.

Corresponding author: Zhong-Lian Li, Ph.D, Professor, Second Department of Hepatobiliary and Pancreatic Surgery, Tianjin Nankai Hospital, No. 6 Changjiang Road, Nankai District, Tianjin 300100, China. zhonglianli@hotmail.com

Received: 2021-03-29
Revised: 2021-04-10
Accepted: 2021-04-22
Published online: 2021-05-28

Abstract

BACKGROUND

The current hepatocellular carcinoma (HCC) staging system is not ideal for judging the prognosis of patients after surgical resection, so it is very important to find and identify the patients who are prone to recurrence and carry out targeted intervention. In recent years, the relationship between liver immunity and HCC has become a research hotspot. Interleukin (IL)-26 can predict the prognosis of patients with HCC, but there is a lack of research on the prognosis of patients 5 years after surgery.

AIM

To analyze the prognostic value of IL-26 in HCC tissues of patients with hepatitis B.

METHODS

The preoperative data of hepatitis B related HCC patients who were hospitalized and operated at our hospital from January 2006 to June 2015 were collected. The expression of IL-26 in resected HCC tissues was measured by immunohistochemistry and based on the median expression level of IL-26, the patients were divided into either a high expression group or a low expression group. The 5-year overall survival (OS) and progression free survival (PFS) were compared between the two groups by Kaplan-Meier method.

RESULTS

The percentages of patients with a tumor size > 5 cm, microvascular invasion, and TNM stage III/IV disease in the high expression group were significantly higher than those of the low expression group (P = 0.026, 0.009, and

P =0.045, respectively). High expression of IL-26 (hazard ratio [HR] = 1.667, *P* = 0.022), tumor size > 5 cm (HR = 1.096, *P* = 0.002), and microvascular invasion (HR = 2.696, *P* = 0.006) were the influencing factors of PFS in patients with HCC resection. High expression of IL-26 (HR = 1.643, *P* = 0.041) and microvascular invasion (HR = 3.303, *P* = 0.016) were independent prognostic factors for OS in patients with HCC resection. PFS and OS in patients with high expression of IL-26 were worse than those with low expression.

CONCLUSION

The expression of IL-26 in HCC tissue correlates with the OS and PFS of patients with hepatitis B-related liver cancer after resection.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: HCC; Postoperative; IL-26; Overall survival; Progression free survival

Citation: Bao JH, Shang HT, Hao CF, Liu JJ, Han SW, Zhang DL, Li ZL. Prognostic value of IL-26 level in hepatocellular carcinoma tissue in postoperative patients with hepatitis B related hepatocellular carcinoma. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2021; 29(10): 511-516
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i10/511.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i10.511

摘要

背景

目前的肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)分期系统对肝癌手术切除后患者预后判断并不理想, 早期发现和识别这些术后易复发的患者并进行针对性干预至关重要. 近年来肝脏免疫与疾病的关系成为研究热点, 白细胞介素(interleukin, IL)-26可预测HCC患者的预后, 但对于接受HCC手术切除患者的术后5年预后情况尚缺乏研究.

目的

分析乙肝相关HCC患者肝癌组织中IL-26对接受肿瘤切除治疗患者的预后判断价值.

方法

收集2006-01/2015-06期间在我院住院并手术治疗的乙肝相关HCC患者术前资料.免疫组化测量切除肝癌组织中IL-26的表达量, 并根据测得全部肝癌组织IL-26水平中位数分为IL-26高表达组和IL-26低表达组. Kaplan-Meier法比较两组患者5年的总生存期(overall survival, OS)和无进展生存期(progression free survival, PFS).

结果

共纳入131例患者, IL-26高表达组患者的肿瘤>5cm (*P* = 0.026)、微血管侵犯(*P* =0.009)、TNM分期Ⅲ-Ⅳ期 (*P* = 0.045)明显多于IL-26低表达组.IL-26高表达(HR = 1.667, *P* = 0.022)、肿瘤＞5 cm (HR = 1.096, *P* = 0.002)、微血管侵犯(HR = 2.696, *P* = 0.006)是HCC切除患者PFS的影响因素. IL-26高表达(HR = 1.643, *P* = 0.041)和微血管侵犯(HR = 3.303, *P* = 0.016)是HCC切除患者的OS的独立预后因素. IL-26高表达组患者的PFS、OS较IL-26低表达组差(*P*<0.05).

结论

肝癌组织中IL-26表达量与乙肝相关肝癌患者切除术后的生存期和无进展生存期存在相关性.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 肝细胞癌; 术后; IL-26; 总生存期; 无进展生存期

核心提要: 肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)手术切除后患者预后判断并不理想. IL-26与HCC患者的预后相关, 但与接受HCC手术切除患者的预后尚不明确. 本文旨在研究乙肝相关肝癌患者肝癌组织中IL-26表达量与患者术后5年的总生存期(overall survival, OS)和无进展生存期(progression free survival, PFS)关系.

文献来源: 鲍建亨, 尚海涛, 郝成飞, 刘军舰, 韩树旺, 张德林, 李忠廉. 肝癌组织中IL-26水平对乙肝相关肝癌术后患者的预后判断价值. 世界华人消化杂志 2021; 29(10): 511-516
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i10/511.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i10.511

0 引言

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)每年导致全球超过50万人死亡. 由于我国人口基数大、乙型肝炎病毒感染率高, 这导致每年约一半新发肝癌患者发生在我国[1]. 尽管目前已经有不同的分期系统(如TNM、BCLC等)为患者治疗和预后判断提供帮助, 但目前为止肝癌患者术后的预后并不理想, 5年术后复发率超过50%[2]. 因此, 早期发现和识别这些术后易复发的患者, 并进行针对性干预至关重要. 近年来慢性炎症在肿瘤中的作用逐渐受到关注[3], 肝脏免疫与疾病的关系成为研究热点[4]. 研究显示白细胞介素(interleukin, IL)-26提示与肝脏纤维化存在一定关系[5]. 也有研究认为IL-26可预测HCC患者的预后[6]. 但目前为止, IL-26对于接受HCC手术切除患者的预后预测价值尚缺乏研究. 因此我们进行了结合病理和临床特征

为基础的, 探索IL-26与HBV相关HCC术后患者5年预后的关系, 以期为今后临床工作提供一定参考.

1 材料和方法

1.1 材料 收集2006-01/2015-06期间在我院住院并手术治疗的乙肝相关HCC患者. 纳入标准: (1)术后病理证实为HCC, 满足手术切除指征[7]; (2)患者存在乙肝病史, 且无丙肝、酒精性肝病等其他诱发肝癌的原因; (3)患者在我院手术、随访资料完整. 排除标准: (1)合并其他肿瘤; (2)接受过其他抗肿瘤治疗(如射频消融、经动脉化疗栓塞术、分子靶向药物、免疫检查点抑制剂等); (3)合并有全身感染.

收集患者的年龄、性别、一般情况、病理诊断以及临床生化指标, 其中包括血常规、肝功能、电解质、癌胚抗原(carcinoembryonic antigen, CEA)、甲胎蛋白(alpha-fetoprotein, AFP)等, 以及CT、MRI等影像学资料. 并根据患者的资料判断Child-Pugh分级, BCLC分期及肿瘤的TNM分期. 收集患者的病理情况, 包括是否存在肝硬化、肿瘤大小、结节个数、血管侵犯和淋巴结转移等情况.

1.2 方法 使用免疫组化分析所切除肿瘤中IL-26的表达水平. 病理切片经过脱蜡、水化后, 使用不同浓度梯度乙醇进行抗原破坏, 经过磷酸缓冲盐溶液浸泡后, 再与IL-26抗体在4 ℃下孵12 h, 后加二抗. 后在37 ℃下孵育30 min, 再由磷酸缓冲盐溶液浸泡. 在经过脱水、透明、封片后进行镜下观察. 由固定病理专家使用Imagescope软件测量IL-26定量水平. 以全部患者的IL-26中位数将患者分为IL-26高表达组和IL-26低表达组.

1.3 患者随访 患者术后第1年每3个月复查1次, 以后每年复查2次. 收集患者复查时的彩超、CT、MRI等影像学资料. 基线资料参照患者入院记录、手术记录和麻醉记录, 并将末次就诊记录或电话随访记录作为随访结果, 记录患者5年内肿瘤复发、死亡情况. 患者失访, 死于其他原因定义为删失. 计算患者的总生存期(overall survival, OS)和无进展生存期(progression free survival, PFS). 本研究患者知情同意, 并经过天津南开医院伦理委员会审查.

统计学处理 采用SPSS 19.0软件对数据进行统计分析. 符合正态分布的计量资料采用mean±SD进行描述, 组间差异使用t检验; 不符合正态分布的定量资料采用中位数(四分位数间距)进行描述, 组间差异使用非参数检验. 计数资料用n(%)进行描述, 组间差异采用χ^2检验, 当理论频数＜1时使用Fisher精确概率. 使用多因素Cox比例风险回归模型分析IL-26与HCC患者OS和PFS关系. 使用Kaplan-Meier法分析不同IL-26水平与对患者OS和PFS关系. 以P＜0.05为差异有意义.

表 1 乙肝相关肝细胞癌患者术前的一般资料

项目	n = 131
年龄(岁)	48(41–56)
女性(n, %)	18(13.74%)
IL–26表达量	0.206(0.164–0.262)
总胆红素(μmol/L)	14.6(11.4–17.8)
直接胆红素(μmol/L)	5.3(4.0–6.8)
白蛋白(g/L)	40(38–44)
ALT(U/L)	48(33–66)
AST(U/L)	49(40–70)
AFP(μg/L)	>1000(85.6–>1000)
CEA(ng/mL)	1.7(1.1–2.7)
肿瘤大小(cm)	7.8(4.7–10.6)
多发病灶(n, %)	7(5.34%)
肝硬化(n, %)	79(60.31%)
大血管侵袭(n, %)	57(43.51%)
微血管浸润(n, %)	97(74.05%)
淋巴结转移(n, %)	4(%)
TNM分期(n, %)	
Ⅰ–Ⅱ	63(48.09%)
Ⅲ–Ⅳ	68(51.91%)
BCLC分期(n, %)	
0–A	15(11.45%)
B	54(41.22%)
C	62(47.33%)

AFP: 甲胎蛋白; ALT: 谷丙转氨酶; AST: 谷草转氨酶; BCLC: 巴塞罗那肝癌临床分期; CEA: 癌胚抗原.

2 结果

2.1 患者一般资料 根据纳入排除标准共纳入131例患者, 患者中位年龄48岁, 女性比例为13.74%.肿瘤中位大小为4.9(2.7-9.5) cm, 单发肿瘤170例(39.91%). 门静脉血栓形成76例(17.84%), 其他术前一般资料详见表1.

2.2 影响肝切除术后的预后的因素分析 将本研究中131例患者5年时存活患者19例. 将可能影响HCC术后的PFS和OS的因素纳入多因素cox风险比例回归模型. 结果可见IL-26表达增加(HR = 1.667, P = 0.022)、肿瘤直径＞5 cm(HR = 1.096, P = 0.002)、微血管侵犯(HR = 2.696, P = 0.006)是HCC切除患者PFS的危险因素. 而IL-26高表达(HR = 1.643, P = 0.041)和微血管侵犯(HR = 3.303, P = 0.016)是肝癌切除后OS的独立预后因素, 详见表2.

2.3 不同IL-26表达量患者临床特征比较 以全部患者IL-26表达量的中位数将患者分为高表达组和低表达两组. IL-26高表达组患者的肿瘤>5 cm(P = 0.026)、微血管侵犯(P = 0.009)、TNM分期Ⅲ-Ⅳ期(P = 0.045)明显多于

表 2　影响患者的PFS和OS多因素Cox风险比例回归分析

危险因素	PFS多因素分析 HR(95%CI)	*P*值	OS多因素分析 HR(95%CI)	*P*值
IL-26表达量	1.667(1.076-2.582)	0.022	1.643(1.021-2.644)	0.041
AFP>50 μg/L	1.020(0.596-1.745)	0.942	1.267(0.692-2.320)	0.444
肿瘤大小>5 cm	1.096(1.034-1.162)	0.002	1.504(0.753-3.006)	0.248
大血管侵袭	1.512(0.944-2.421)	0.086	1.222(0.551-2.713)	0.622
微血管浸润	2.696(1.322-5.497)	0.006	3.303(1.255-8.696)	0.016

AFP: 甲胎蛋白. PFS: 无进展生存期; OS: 总生存期.

表 3　不同IL-26表达量患者临床特征比较

项目	IL-26高表达组 (*n* = 66)	IL-26低表达组 (*n* = 65)	统计值	*P*值
年龄(岁)	46(39-56)	49(43-53)	0.616	0.171
女性(*n*, %)	11(16.67%)	7(10.77%)	0.961	0.327
总胆红素≥21 μmol/L (*n*, %)	9(13.64%)	12(18.46%)	0.566	0.452
直接胆红素>5.1 μmol/L (*n*, %)	32(48.48%)	32(49.23%)	0.007	0.932
白蛋白<35 g/L	4(6.06%)	4(6.15%)	0.000	0.982
ALT升高(*n*, %)	32(48.48%)	22(33.85%)	2.896	0.089
AST升高(*n*, %)	49(74.24%)	46(70.77%)	0.198	0.656
AFP>50 μg/L	54(81.82%)	44(67.69%)	3.468	0.063
CEA>2.5 ng/mL	14(21.21%)	18(27.69%)	0.745	0.388
肿瘤大小>5 cm(*n*, %)	54(81.82%)	42(64.62%)	4.950	0.026
多发病灶(*n*, %)	4(6.06%)	3(4.62%)	0.135	0.713
肝硬化(*n*, %)	40(60.61%)	39(60.00%)	0.005	0.943
大血管侵袭(*n*, %)	36(54.55%)	25(38.46%)	3.405	0.065
微血管浸润(*n*, %)	58(87.88%)	45(69.23%)	6.776	0.009
淋巴结转移(*n*, %)	1(1.52%)	2(3.08%)	0.357	0.550
TNM分期III-IV(*n*, %)	39(59.09%)	27(41.54%)	4.036	0.045
BCLC分期B-C(*n*, %)	62(93.94%)	55(84.62%)	2.983	0.084

AFP: 甲胎蛋白; ALT: 谷丙转氨酶; AST: 谷草转氨酶; BCLC: 巴塞罗那肝癌临床分期; CEA: 癌胚抗原.

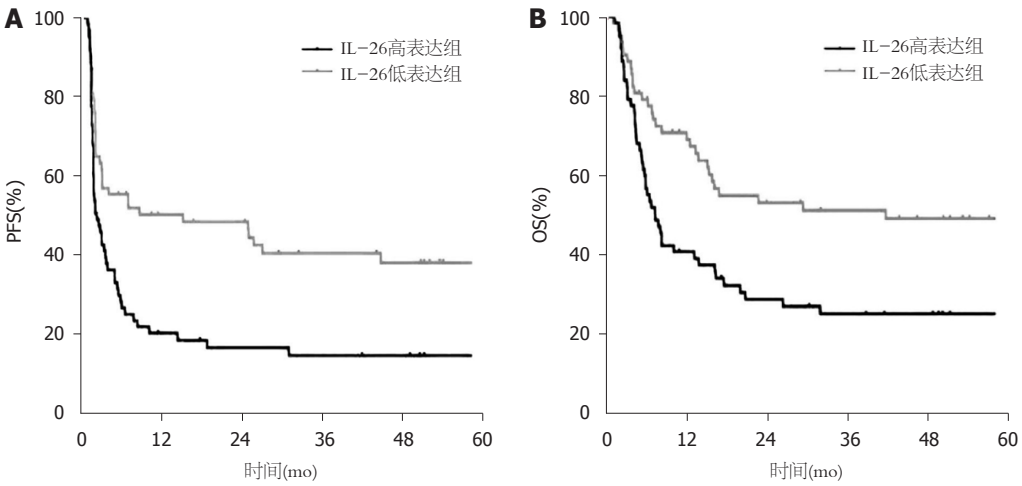


图 1　不同IL-26表达量与患者预后关系. A: 不同IL-26表达量与肝癌患者术后5年PFS关系; B: 不同IL-26表达量与肝癌患者术后5年OS关系. PFS: 无进展生存期; OS: 总生存期.

IL-26低表达组, 详见表3.

2.4 不同IL-26水平对患者预后的影响 分析不同IL-26水平与HCC患者术后5年预后的关系可见, 与IL-26低表达组相比, IL-26高表达组患者的PFS较差($P = 0.000$, 图1A). 与IL-26低表达组相比, IL-26高表达组患者的OS更差($P = 0.002$, 图1B).

3 讨论

HCC治疗一直是国内外研究热点. 由于HCC早期发病隐匿、治疗时机较晚, HCC患者的预后一较差, 即使对于具有HCC手术指征者其术后2年和5年复发率也较高[8]. HCC患者术后的预后判断已经有了一些研究, 多个生化标志物, 如血清人类软骨糖蛋白39[9]、甲胎蛋白[10]、透明质酸[11]、γ-谷氨酰转肽酶[12]等都被认为与接受手术治疗的HCC患者预后存在关系. 然而这些生化标志物指标, 均存在一定临床局限. 由于目前仍缺少成熟的HCC术后的预测模型或方法, 因此, 对于HCC患者术后的预后判断方法仍值得进一步研究. 近年来肝脏免疫与肿瘤关系成为热点. Miot等人[13]发现慢性病毒性肝炎患者IL-26明显升高. 但对于患者手术切除后, IL-26表达与患者关系尚缺乏研究, 因此我们探索了肝癌组织中IL-26水平与患者术后的预后关系.

如何及时发现肿瘤复发是HCC术后困扰学者的问题, 对于HCC术后患者的5年判断同样引起了多个学科研究人员的兴趣. 然而目前为止仍缺乏较为有效HCC术后患者的5年预测模型或标志物[14]. 我们使用免疫组化测量患者肝癌组织中的IL-26表达量, 发现IL-26表达水平可作为乙肝相关HCC患者的PFS和OS判断因子. IL-26高表达的患者手术切除后的生存状况较差. 在对比不同IL-26表达量患者临床特征时即发现, IL-26高表达组的肿瘤>5 cm、微血管侵犯、TNM分期Ⅲ-Ⅳ期的患者比例明显多于IL-26低表达组. 更为重要的是, 上述这些因素也均是影响HCC手术方法和患者预后的关键因素[7].

IL-26可以参与到肝脏慢性炎症过程[13], 但IL-26高表达与患者术后预后不良的具体机制仍未完全明确. IL-26主要是由T细胞, 尤其是Th17细胞产生的慢性炎症性因子[15], 这可能与肿瘤导致的肝脏中免疫细胞群过度激活存在一定相关性.国内学者蒋黎等人分析认为[16], 在HBV患者中IL-26与炎症和纤维化进展有关. 此外, 他们发现尽管发现HBV患者的血清中IL-26也会升高, 但可能受到ALT、纤维化程度等因素影响. 我们发现IL-26是可预测HCC术后患者的新的标志物, 这可能对今后的新模型的开发提供一定参考.

当然本研究存也在以下的不足: (1)受到纳入排除因素影响, 研究纳入患者数量相对较少; (2)以术前肿瘤组织中的IL-26表达量作为研究基础, 可能较血清IL-26表达检测较为准确, 但操作过程相对复杂; (3)受研究条件所限, 未比较肿瘤组织与癌旁肝组织中IL-26水平差异, 手术前后外周血IL-26表达水平差异. 即便如此, 我们初步的研究可为今后研究提供了参考, 值得今后更多前瞻性大样本分层研究, 尤其可能对未来预后预测模型建立提供重要参考分子标志物.

4 结论

综上所述, 肝癌组织中IL-26表达量与乙肝相关肝癌患者切除术后的生存期和无进展生存期相关. 今后值得在临床工作中对肝癌术后病理进行IL-26免疫染色, 以谨慎评估和选择术后的治疗方案. 当然也需要更多的前瞻性大样本研究进一步探讨肝脏组织和血清中IL-26表达与HCC患者术后的关系, 并比较IL-26与其他预测乙肝相关肝癌患者术后标志物的效能差异, 以探索易于检测的、诊断高效的临床标志物.

文章亮点

实验背景

目前肝切除术仍是乙肝相关肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)潜在的根治性治疗手段. 但HCC切除后复发率较高, 5年复发率>70%. 因此, 早期有效识别潜在高复发率患者对临床决策制定具有重大意义. 近年来发现, 白细胞介素(interleukin, IL)-26与乙肝相关纤维化及肝癌发生相关.

实验动机

目前发现IL-26肝癌患者预后相关. 但IL-26与HCC患者术后的预后关系尚不清楚. 基于此, 本研究主要探索乙肝相关HCC患者的肿瘤组织中IL-26表达水平与患者预后关系.

实验目标

探讨乙肝相关HCC患者的肿瘤组织中IL-26表达水平与患者术后5年的总生存期(overall survival, OS)和无进展生存期(progression free survival, PFS)关系.

实验方法

分析乙肝相关肝癌患者的术前临床资料, 比较肝癌组织中不同IL-26表达患者的5年OS和PFS的关系. 使用多因素Cox比例风险回归模型分析IL-26与HCC患者OS和PFS关系.

实验结果

肝癌组织中IL-26高表达患者切除术后5年OS和PFS均低于IL-26低表达患者.

实验结论

乙肝相关肝癌患者肝癌组织中IL-26表达量与患者切除术后5年OS和PFS相关.

展望前景

患者术前、术后血清中IL-26水平与HCC术后5年的复发和死亡关系值得进一步探索. 此外, IL-26与其他不同标志物对HCC术后患者预后预测效能的比较也是今后研究重点.

5 参考文献

1 中华预防医学会肿瘤预防与控制专业委员会感染相关肿瘤防控学组; 中华预防医学会慢病预防与控制分会; 中华预防医学会健康传播分会. 中国肝癌一级预防专家共识(2018). 临床肝胆病杂志 2018; 40: 2090-2097 [DOI: 10.3969/j.issn.1001-5256.2018.10.008]

2 陈孝平, 张志伟. 《肝细胞癌外科治疗方法的选择专家共识》解读. 中华外科杂志 2017; 55: 7-10 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.0529-5815.2017.01.003]

3 廖媛, 潘淑茹, 曹宝华, 罗敏琪. 外周血中性粒/淋巴细胞比值对行TACE治疗的肝癌患者预后的影响. 实用医学杂志 2018; 34: 1787-1790 [DOI: 10.3969/j.issn.1006-5725.2018.11.009]

4 Waidmann O. Recent developments with immunotherapy for hepatocellular carcinoma. *Expert Opin Biol Ther* 2018; 18: 905-910 [PMID: 29995439 DOI: 10.1080/14712598.2018.1499722]

5 Zhang X, Xie X, Wang Y, Li W, Lin Z. Interleukin-26 promotes the proliferation and activation of hepatic stellate cells to exacerbate liver fibrosis by the TGF-β1/Smad2 signaling pathway. *Int J Clin Exp Pathol* 2019; 12: 4271-4279 [PMID: 31933827]

6 Luo L, Jiang L, Tian Z, Zhang X. The serum interleukin-26 level is a potential biomarker for chronical hepatitis B. *Medicine (Baltimore)* 2020; 99: e18462 [PMID: 31895778 DOI: 10.1097/MD.0000000000018462]

7 中华医学会外科学分会肝脏外科学组. 肝细胞癌外科治疗方法的选择专家共识(2016年第3次修订). 中华消化外科杂志 2017; 16: 113-115 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-9752.2017.02.001]

8 李浩琳, 董静, 杨美娟, 杨世忠, 袁伟升. 晚期肝细胞癌的药物治疗: 方法、争议与进展. 中华肝胆外科杂志 2017; 23: 426-429 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-8118.2017.06.019]

9 潘晶晶, 葛勇胜, 许戈良, 李建生, 英卫东, 马金良, 余继海, 刘文斌, 任维华. 人类软骨糖蛋白39在肝癌中的表达及临床意义. 中华肝胆外科杂志 2013; 19: 433-437 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-8118.2013.06.008]

10 钱相君, 曲春枫, 鲁凤民. 肝癌肿瘤标记物在超声筛查监测早期肝细胞癌中的作用不可或缺. 肝脏 2019; 24: 851-853 [DOI: 10.3969/j.issn.1008-1704.2019.08.003]

11 Mima K, Beppu T, Ishiko T, Chikamoto A, Nakagawa S, Hayashi H, Watanabe M, Sakamaki K, Baba H. Preoperative serum hyaluronic acid level as a prognostic factor in patients undergoing hepatic resection for hepatocellular carcinoma. *Br J Surg* 2014; 101: 269-276 [PMID: 24446084 DOI: 10.1002/bjs.9343]

12 王军梅, 莫扬. 肝癌血清AFP、CEA、GGT和AFU水平检测的临床意义. 肝脏 2019; 24: 208-210 [DOI: 10.3969/j.issn.1008-1704.2019.02.036]

13 Miot C, Beaumont E, Duluc D, Le Guillou-Guillemette H, Preisser L, Garo E, Blanchard S, Hubert Fouchard I, Créminon C, Lamourette P, Fremaux I, Calès P, Lunel-Fabiani F, Boursier J, Braum O, Fickenscher H, Roingeard P, Delneste Y, Jeannin P. IL-26 is overexpressed in chronically HCV-infected patients and enhances TRAIL-mediated cytotoxicity and interferon production by human NK cells. *Gut* 2015; 64: 1466-1475 [PMID: 25183206 DOI: 10.1136/gutjnl-2013-306604]

14 刘爱祥, 王海清, 薄文滔, 冯燮林, 田浪, 张辉, 张明仪, 胡勇. 肝细胞癌肝切除术的临床疗效及预后因素分析. 中华消化外科杂志 2019; 18: 368-374 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-9752.2019.04.012]

15 Fujii M, Nishida A, Imaeda H, Ohno M, Nishino K, Sakai S, Inatomi O, Bamba S, Kawahara M, Shimizu T, Andoh A. Expression of Interleukin-26 is upregulated in inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2017; 23: 5519-5529 [PMID: 28852311 DOI: 10.3748/wjg.v23.i30.5519]

16 蒋黎, 谭朝霞, 朱研, 吕化杰, 田志强. 白细胞介素-26在促进慢性乙型肝炎患者肝细胞炎症损伤中的作用研究. 检验医学与临床 2019; 16: 1796-1800 [DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2019.13.002]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: https://www.baishideng.com

世界华人消化杂志 2021年5月28日; 29(10): 517-525

DOI: 10.11569/wcjd.v29.i10.517

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

临床研究 CLINICAL RESEARCH

复发性急性胰腺炎危险因素的Meta分析

周 露, 高一雯, 许松欣, 路国涛, 肖炜明

周露, 扬州大学医学院 江苏省扬州市 225000

高一雯, 扬州大学护理学院 江苏省扬州市 225000

许松欣, 路国涛, 肖炜明, 扬州大学附属医院消化内科 江苏省扬州市 225000

周露, 硕士研究生, 主要研究方向为脂肪胰、胰腺炎.

基金项目: 国家自然科学基金, Nos. 82070668, Nos. 81873866.

作者贡献分布: 周露、高一雯负责收集整理数据; 周露负责数据分析及文章撰写; 许松欣、路国涛、肖炜明参与此课题的设计、修改和指导.

通讯作者: 肖炜明, 主任医师, 225000, 江苏省扬州市邗江中路368号, 扬州大学附属医院消化内科. wmxiao@yzu.edu.cn

收稿日期: 2021-02-17
修回日期: 2021-03-04
接受日期: 2021-04-02
在线出版日期: 2021-05-28

Meta-analysis of risk factors for recurrent acute pancreatitis

Lu Zhou,Yi-Wen Gao, Song-Xin Xu, Guo-Tao Lu, Wei-Ming Xiao

Lu Zhou, Yangzhou University Medical Academy, Yangzhou 225000, Jiangsu Province, China

Yi-Wen Gao, School of Nursing, Yangzhou University, Yangzhou 225000, Jiangsu Province, China

Song-Xin Xu, Guo-Tao Lu, Wei-Ming Xiao, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Yangzhou University, Yangzhou 225000, Jiangsu Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, Nos. 82070668 and 81873866.

Corresponding author: Wei-Ming Xiao, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Yangzhou University, No. 368 Hanjiang Middle Road, Yangzhou 225000, Jiangsu Province, China. wmxiao@yzu.edu.cn

Received: 2021-02-17
Revised: 2021-03-04
Accepted: 2021-04-02
Published online: 2021-05-28

Abstract

BACKGROUND

With the continuous improvement of living standards, the incidence of recurrent acute pancreatitis is also increasing year by year, and this disease has become a hot research topic in recent years. Understanding the etiology of recurrent acute pancreatitis has become an urgent problem to be solved in clinical practice.

AIM

To explore the risk factors for recurrent acute pancreatitis (RAP) by means of systematic evaluation, and provide evidence for better prevention of RAP.

METHODS

We searched CNKI, CBM, VIP, Wanfang, The Cochrane Library, PubMed, Embase, and Web of Science databases to collect case-control and cohort studies on the risk factors associated with RAP from January 1, 2000 to February 29, 2020. "Pancreatitis", "recurrence", "risk factors", and their free words were selected as keywords. The retrieved articles were evaluated and filtrated using the Newcastle-Ottawa Scale (NOS). Meta-analysis was performed based on the articles scored above 6 by using Revman5.3 software.

RESULTS

A total of 15 articles were included, with the cumulative number of cases and controls reaching 2258 and 8482, respectively. The results of meta-analysis showed that alcohol consumption [odds ratio [OR] = 1.83, 95%CI (1.30, 2.59), P = 0.0006], smoking [OR = 2.09, 95%CI (1.61, 2.73), P < 0.00001], biliary AP [OR = 1.82, 95%CI (1.28, 2.57), P = 0.0008], hypertriacylglyceremic AP [OR = 2.24, 95%CI

(1.76, 2.85), $P < 0.00001$], alcoholic AP [OR = 2.68, 95%CI (2.03, 3.55), $P < 0.00001$], diabetes [OR = 1.57, 95%CI (1.48, 1.66), $P < 0.00001$], fatty liver [OR = 2.05, 95%CI (1.22, 3.47), $P = 0.007$], and CT score [OR = 3.52, 95%CI (2.28, 5.43), $P < 0.00001$] were statistically significant risk factors for RAP.

CONCLUSION

Current evidence shows that the risk factors for RAP include disease factors (biliary, alcoholic, and hypertriacylglyceremic AP, fatty liver, and diabetes), behavioral factors (alcohol consumption and smoking), and related indicators (CT score). Due to the limited quantity and quality of included studies, more prospective high-quality clinical studies are needed to verify the above conclusion.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Recurrent acute pancreatitis; Risk factors; Meta-analysis

Citation: Zhou L, Gao YW, Xu SX, Lu GT, Xiao WM. Meta-analysis of risk factors for recurrent acute pancreatitis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2021; 29(10): 517-525
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i10/517.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i10.517

摘要

背景

随着生活水平的不断提高, 复发性急性胰腺炎的发病率也逐年攀升, 近年来成为研究的热点.寻找复发性急性胰腺炎的病因成为临床上亟待解决的问题.

目的

用系统评价方式探讨复发性急性胰腺炎(recurrent acute pancreatitis, RAP)危险因素, 为更好地预防胰腺炎复发提供循证依据.

方法

计算机检索中国知网、中国生物医学文献数据库(CBM)、万方数据库、维普数据库、The Cochrane Library、PubMed、Embase、Web of science数据库, 检索时限为建库至2020-12, 经2名研究者筛选文献、提取信息与质量评价后, 并采用RevMan 5.3软件进行Meta分析.

结果

15篇文献符合纳入标准, 累计病例数和对照数分别为2258例和8482例, 经Meta分析结果显示, 复发性急性胰腺炎的危险因素为: 饮酒[OR = 1.83, 95%CI (1.30, 2.59), $P = 0.0006$]、吸烟[OR = 2.09, 95%CI (1.61, 2.73), $P < 0.00001$]、胆源性AP [OR = 1.82, 95%CI (1.28, 2.57), $P = 0.0008$]、高三酰甘油血症性AP [OR = 2.24, 95%CI (1.76, 2.85), $P<0.00001$]、酒精性AP [OR = 2.68, 95%CI (2.03, 3.55), $P<0.00001$]、糖尿病[OR = 1.57, 95%CI (1.48, 1.66), $P<0.00001$]、脂肪肝[OR = 2.05, 95%CI (1.22, 3.47), $P = 0.007$]、CT评分[OR = 3.52, 95%CI (2.28, 5.43), $P<0.00001$].

结论

当前证据显示, 疾病因素(胆源性AP、高三酰甘油血症性AP、酒精性AP、脂肪肝、糖尿病)、行为危害因素(吸烟、饮酒)、相关指标(CT评分)均与复发性急性胰腺炎相关.受纳入研究数量和质量限制, 仍需前瞻性大样本的高质量临床研究予以验证.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 复发性急性胰腺炎; 危险因素; Meta分析

核心提要: 近年来随着居民生活水平的不断提高, 复发性急性胰腺炎发病率逐年增加, 关于复发性急性胰腺炎的研究也越来越多. 胰腺炎反复急性发作, 不仅给患者本人带来极大的痛苦和较重的经济负担, 也在一定程度上造成医疗资源的浪费. 本研究通过检索复发性急性胰腺炎的相关文献, 按照一定标准层层筛选, 最终选择15篇文献纳入Meta分析. 本研究旨在寻找复发性急性胰腺炎的相关危险因素, 为早期识别易患复发性急性胰腺炎的高危人群、降低复发性急性胰腺炎的发生率提供临床依据.

文献来源: 周露, 高一雯, 许松欣, 路国涛, 肖炜明. 复发性急性胰腺炎危险因素的Meta分析. 世界华人消化杂志 2021; 29(10): 517-525
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i10/517.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i10.517

0 引言

急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)是消化系统常见的危重疾病之一, 且发病率逐年上升[1]. 复发性急性胰腺炎(recurrent acute pancreatitis, RAP)的概念最初由Doubilt等[2]提出, 并于1963年在马赛会议上被正式命名[3]. RAP指有两次及以上确诊的AP发作, 时间间隔在3个月以上, 发作间期AP症状、体征基本或完全消失[4]. 众多研究指出RAP的总患病率为17-30%[5,6], 并根据病因而有所不同[5], 且其中36%的患者有进展为慢性胰腺炎的风险[6]. 此外, 有研究发现即使没有慢性胰腺炎的存在, RAP患者生活质量也明显降低[7], 并且与反复住院伴随的是高昂的费用[8]. 因此, 如何减少AP的复发至关重要. 近年来关于复发性急性胰腺炎危险因素的相关报道逐年增加, 但是很少有关于RAP危险因素的系统研究. 本研究通过对自建库至2020-12发表的复发性急性胰腺炎研究文献

进行Meta分析, 旨在筛选出复发性急性胰腺炎的相关危险因素及关联强度, 为降低复发性急性胰腺炎的患病率和相关的医疗费用提供科学依据.

1 材料和方法

1.1 材料 文献检索: (1)检索平台: 中国知网(CNKI)、中国生物医学文献数据库(CBM)、万方数据库、维普数据库、The Cochrane Library、PubMed、Embase、Web of science; (2)检索策略: 检索采取主题词与自由词相结合的方式进行.英文检索以“Pancreatitis” 和“Recurrent”和“risk factors”或“association factors”或“dangerous factors”为检索词, 中文检索词以“胰腺炎”、“复发”、“危险因素”为主题词及自由词(相关因素、病因、影响因素)相结合进行检索.

1.2 方法

1.2.1 纳入和排除标准: 纳入标准: (1)研究类型 病例对照研究或者队列研究; (2)研究对象 病例来源为各医疗机构确诊的复发性急性胰腺炎患者, 对照组为与病例组在同一医院的急性胰腺炎患者, 或基于较大规模的病例与上述条件相近的同一医院、同期入院的患者; (3)暴露因素 建库至2020-12国内外公开发表的文献, 且涉及因素为胰腺炎、复发、危险因素, 各个危险因素定义基本相似; (4)数据类型 研究结果提供多因素Logistics回归分析所得出的可以转换成比值比(odds ratio, OR)、95%CI及标准误(standard error, SE)的数据.

1.2.2 排除标准: (1)重复发表文献; (2)动物实验; (3)无对照组、基本数据不全及失访过多的研究; (4)会议论文、综述和个案报告.

文献筛选、数据提取及质量评价: 由2名研究者独立筛选文献、质量评价和提取资料并交叉核对. 文献筛选时通过阅读文题和摘要排除不相关文献, 剔除重复发表的临床研究, 阅读全文筛查出符合纳入标准的文献. 资料提取信息包括: (1)纳入研究的基本信息, 包括研究题目、作者、发表期刊及时间等; (2)研究对象的基线特征和相关暴露因素; (3)偏倚风险评价的关键要素. 队列研究和病例对照研究的偏倚风险评价依据Newcastle-Ottawa Scale (NOS)文献质量评价标准.

统计学处理 采用Revman 5.3软件进行Meta分析. 采用OR值为效应分析统计量, 各效应量均提供其95%可信区间. 采用Cochrane Q检验分析各研究间的异质性, 结合I^2来判断异质性的大小. 当P>0.1且I^2<50%时, 说明各项研究间无统计学异质性, 采用固定效应模型; 否则, 采用随机效应模型, 进行敏感性分析方法来分析其异质性. 对纳入文献≥10篇的结局指标绘制漏斗图并结合Egger's检验评价发表偏倚.

2 结果

2.1 文献检索结果 通过数据库初检共获得文献818篇, 通过其它资源途径获得2篇, 排除重复文献127篇, 排除动物实验2篇, 排除综述、系统评价等19篇, 初筛纳入文献672篇, 阅读文题和摘要后排除明显与主题不符的文献577篇, 案例报告10篇及无对照组9篇. 根据文献纳入排除标准精读全文76篇, 最终共纳入符合条件的文献15篇, 包括10740例患者. 文献筛选流程和结果见图1.

2.2 纳入研究的基本特征与文献质量评价结果 纳入研究的基本特征和文献质量评价结果见表1. 病例对照研究的文献质量评价得分为7-8分, 队列研究的文献质量评价得分为8分, 均属于高质量文献.

2.3 Meta分析结果

2.3.1 病因分析: (1)胆源性AP共纳入7个研究[10,11,13,18,20,21,40]. 异质性检验得出I^2 = 87%, 且P<0.1. 为找出异质性较大的原因, 遂按研究对象的地域划分行亚组分析(图2). 共分为2个亚组, 分别为中国[11,13,18,20,21]和国外[9]. 在中国这一亚组中, 异质性检验得出I^2 = 0%, Meta分析结果显示: 胆源性因素是胰腺炎复发的危险因素[OR = 1.82, 95%CI (1.28, 2.57), P = 0.0008]. 而在国外这一亚组中, 异质性检验得出I^2 = 77%, Meta分析结果显示: 胆源性因素是胰腺炎复发的保护因素[OR = 0.24, 95%CI (0.07, 0.77), P = 0.02], 由于这两项研究数据本身异质性较大, 剔除后结果稳健可信.遂选取中国这一亚组数据结果作为胆源性AP这一危险因素的最终结果; (2)高三酰甘油血症性AP共纳入10个[8,12,14-21]研究, 经过异质性检验得I^2 = 52%, 且P<0.1, 提示选择的研究间存在轻度异质, 采用随机效应模型Meta分析, 结果显示: 高三酰甘油血症性AP是胰腺炎复发的危险因素[OR = 2.24, 95%CI (1.76, 2.85), P<0.00001] (表2); (3)酒精性AP共纳入7个研究[10,11,18,20-22,40], 经异质性检验得I^2 = 66%, 且P<0.1, 提示选择的研究间异质性稍大. 经敏感性分析发现, 蒯小玲等[11]的研究是异质性主要异质性来源, 排除此项研究后异质性I^2 = 43%, Meta分析结果: 酒精性因素是胰腺炎复发的危险因素[OR = 2.68, 95%CI (2.03, 3.55), P<0.00001] (表2); (4)特发性AP共纳入7个研究[10,11,12,18,20,22,40], 采用随机效应模型得出结果: 特发性因素不是胰腺炎复发的危险因素[OR = 1.59, 95%CI (0.99, 2.55), P = 0.05] (表2); (5)饮食不当共纳入4个[11-13,21]研究, 由于研究间具有临床异质性, 经敏感性分析后未发现临床异质性, 采用随机效应模型, Meta分析结果显示: 饮食不当不是胰腺炎复发的危险因素[OR = 1.52, 95%CI (0.83, 2.80), P = 0.18] (表2).

2.3.2 合并症: (1)糖尿病共纳入6个研究[8,10,15-17,19]. 固定效应模型Meta分析结果显示, 糖尿病是胰腺炎复发的危

表 1　纳入研究基本特征及文献质量评价

纳入研究	研究类型	地区	样本量		涉及的危险因素	质量评价
			病例组	对照组		(NOS)
Cho等[10]	病例对照	韩国	100	517	1,2,4,7,8	8
蒯小玲等[11]	病例对照	江苏	43	130	1,2,4,5,10,11,12,13	8
潘越等[12]	病例对照	云南	139	693	3,4,5,6	7
田泽敏等[13]	病例对照	重庆	269	869	1,5,6,7,11,12,13	8
南琼等[14]	病例对照	云南	31	143	3,9	7
段丽萍等[15]	病例对照	北京	41	185	3,6,8,11	7
陈建[16]	病例对照	云南	164	382	3,8,9,10	8
叶美玲[17]	病例对照	四川	280	796	3,8	8
彭莉等[8]	病例对照	四川	671	1806	3,8	8
班猛猛[18]	病例对照	辽宁	79	233	1,2,3,4,10,11,12	7
陈芙蓉[19]	病例对照	宁夏	126	909	3,6,7,8	8
张瑜[20]	病例对照	山西	30	143	1,2,3,4	7
闫炫炫[21]	病例对照	甘肃	141	821	1,2,3,5	8
Ahmed等[22]	队列研究	荷兰	117	699	2,4,7	8
Cavestro等[40]	队列研究	意大利	27	156	1,2,4,7	8

危险因素: [1]胆源性AP; [2]酒精性AP(日均摄入乙醇大于80 g, 连续5年以上, 或发病前有大量饮酒史); [3]高三酰甘油血症性AP(血清三酰甘油(TG)≥11.3 mmol/L或血清总胆固醇(TG)在5.65–11.3 mmol/L范围内, 但血清呈乳糜状并排除其它因素); [4]特发性AP; [5]饮食不当(高脂/暴饮暴食); [6]饮酒(有/无); [7]吸烟(有/无); [8]糖尿病; [9]脂肪肝; [10]血清TG; [11]血清TC; [12]血钙; [13]CT评分; 其他因素: 如C反应蛋白、BMI、总胆红素等仅有1篇, 无法进行Meta分析; 患者性别及年龄由于不同文献样本基线或分类标准不一致, 未纳入Meta分析指标.

表 2　复发性胰腺炎危险因素的Meta分析

危险因素	纳入研究编号	异质性检验结果			Meta分析结果(总体效应检验)		
		Q	I^2	P值	OR(95%CI)	Z	P
病因分析							
胆源性AP	5[11,13,18,20,21]	3.74	0%	0.44	1.82 (1.28, 2.57)	3.36	P = 0.0008
高三酰甘油血症性AP	10[8,12,14–21]	18.80	52%	0.03	2.24 (1.76, 2.85)	6.58	P<0.00001
酒精性AP	6[10,18,20–22,40]	8.82	43%	0.12	2.68 (2.03, 3.35)	6.90	P<0.00001
特发性AP	7[10,11,12,18,20,22,40]	14.58	59%	0.02	1.59 (0.99, 2.55)	1.93	P = 0.05
饮食不当	4[11–13,21]	10.55	72%	0.01	1.52 (0.83, 2.80)	1.35	P = 0.18
合并症							
糖尿病	6[8,10,15–17,19]	7.17	30%	0.21	1.57 (1.48, 1.66)	15.56	P<0.00001
脂肪肝	2[14,16]	0.78	0%	0.38	2.05 (1.22, 3.47)	2.69	P = 0.007
行为危险因素							
饮酒	4[12,13,15,19]	2.08	0%	0.56	1.83 (1.30, 2.59)	3.43	P = 0.0006
吸烟	5[10,13,19,22,40]	9.93	60%	0.04	2.09 (1.61, 2.73)	5.46	P<0.00001
相关指标							
血清TG	3[11,16,18]	14.41	86%	0.0007	1.71 (0.94, 3.13)	1.75	P = 0.08
血清TC	4[11,13,15,18]	5.35	44%	0.15	1.01 (0.97, 1.06)	0.56	P = 0.57
血清钙	3[11,13,18]	2.44	18%	0.29	0.88 (0.51, 1.50)	0.47	P = 0.64
CT评分	2[11,13]	0.79	0%	0.37	3.52 (2.28, 5.43)	5.67	P<0.00001

险因素[OR = 1.57, 95%CI (1.48, 1.66), P<0.00001] (表2); (2)脂肪肝共纳入2个研究[14,16], 固定效应模型Meta分析结果显示, 脂肪肝是胰腺炎复发的危险因素[OR = 2.05, 95%CI (1.22, 3.47), P = 0.007] (表2).

2.3.3 *行为危险因素*: (1)饮酒共纳入4个研究[12,13,15,19], 固定效应模型Meta分析结果显示, 饮酒的患者发生复发性急性胰腺炎的风险增加[OR = 1.83, 95%CI (1.30, 2.59), P = 0.0006] (表2); (2)吸烟共纳入5个研究[10,13,19,22,40]. 随机

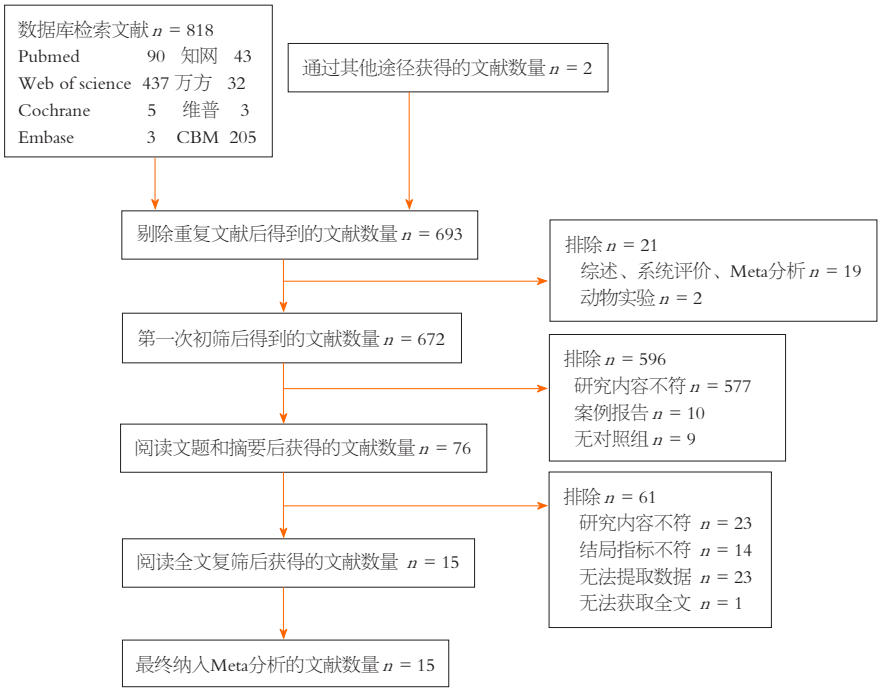


图 1 文献筛选流程图.

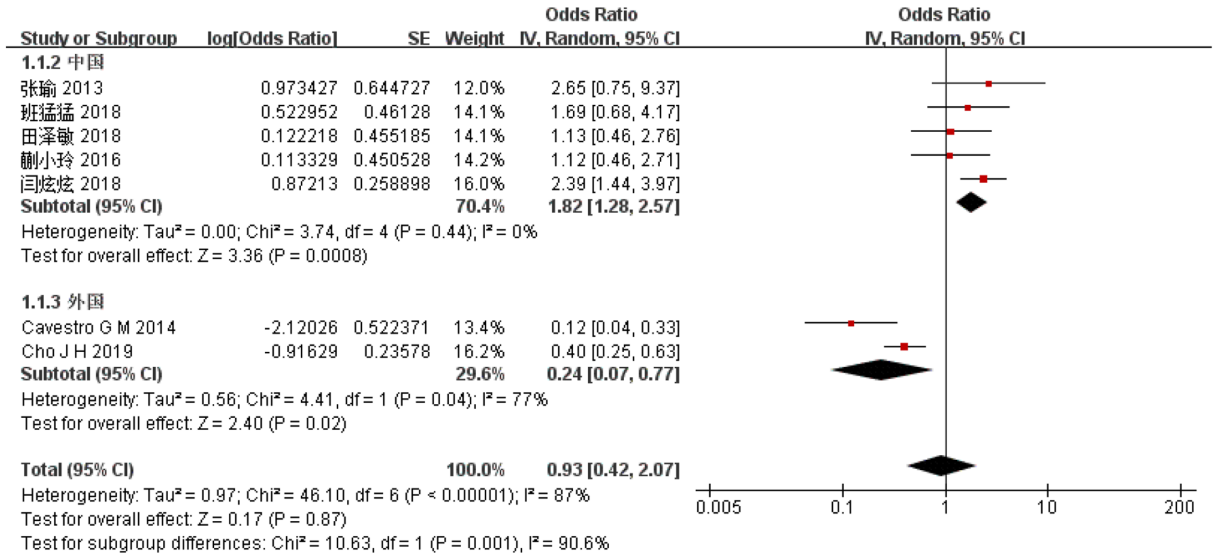


图 2 病因为胆源性AP的亚组分析.

效应模型Meta分析结果显示, 吸烟的患者发生复发性急性胰腺炎的风险增加[OR = 2.09, 95%CI (1.61, 2.73), *P*<0.00001] (表2).

2.3.4 相关指标: (1)血清三酰甘油共纳入3个研究[11,16,18]. 随机效应模型Meta分析结果显示, 三酰甘油水平不是导致胰腺炎复发的危险因素[OR = 1.71, 95%CI (0.94, 3.13), *P* = 0.08] (表2); (2)血清胆固醇共纳入4个研究[11,13,15,18]. 固定效应模型Meta分析结果显示, 血清胆固醇水平不是导致胰腺炎复发的危险因素[OR = 1.01, 95%CI (0.97, 1.06), *P* = 0.57] (表2); (3)血钙共纳入3个研究[11,13,18]. 固定效应模型Meta分析结果显示, 血清钙水平不是导致胰腺炎复发的危险因素[OR = 0.88, 95%CI (0.51, 1.5), *P* = 0.64] (表2); (4)CT评分 共纳入2个研究[11,13]. 固定效应模型Meta分析结果显示, CT评分是导致胰腺炎复发的危险因素[OR = 3.52, 95%CI (2.28, 5.43, *P*<0.00001] (表2).

2.4 发表偏移 当危险因素中文献数量≥10篇需进行发表偏倚检验. 本研究对病因“高三酰甘油血症性”指标

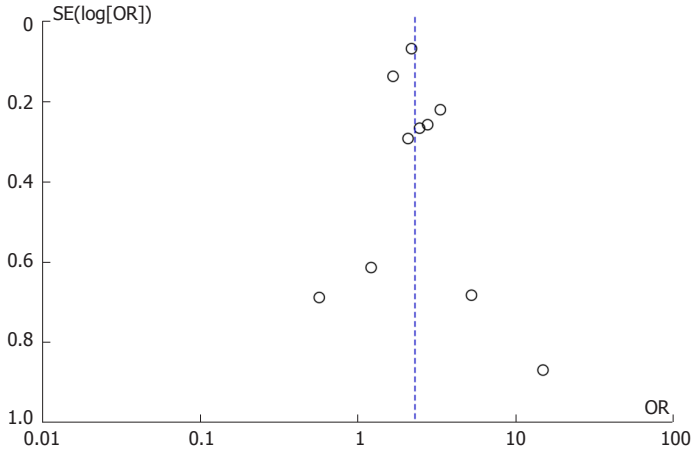


图 3　高三酰甘油血症性分析漏斗图.

纳入文献绘制漏斗图, 显示各研究点左右分布基本对称(图3), 结合Egg's检验结果(P = 0.758), 提示存在发表偏倚的可能性较小.

3 讨论

RAP是一种以反复发生AP为特征的疾病, 会对患者的生活质量产生严重不良影响, 甚至与胰腺癌发病有关.有研究表明, 某些未发现的胰腺肿瘤早期可表现为RAP的临床症状, 即RAP患者有一定的癌变可能[25], 并且急性胰腺炎复发次数与胰腺癌发生的风险呈正相关[29]. 而RAP的发病率与急性胰腺炎初发的危险因素密切相关[10]. 因此, 早期识别胰腺炎复发的危险因素、降低复发性急性胰腺炎的发病率、改善患者的生活质量已成为临床研究的重点. 本研究旨在寻找RAP的相关危险因素, 为医务人员早期识别高危人群、制定有效的治疗措施提供参考.

3.1 增加RAP风险的病因　AP的常见病因为胆石症、饮酒、高三酰甘油血症、内镜手术等. 随着人群膳食结构的改变, 高三酰甘油血症有成为AP第二大病因的趋势[1]. RAP与AP的病因有诸多类似之处, 酒精性AP、胆源性AP被认为是RAP常见的病因[4,10]. 本研究在分析胆源性AP这一病因中发现, 国内外关于胆源性AP对RAP的影响结果截然相反. 可能有以下几个方面原因: (1)外国文献相对较少, 且其异质性本身很大; (2)外国生活水平及科技水平较高, 患者在发生胆源性AP后一般会积极手术, 从病因上解决胆道疾病, 从而避免RAP的发生.而在酒精性AP这一因素的分析中, 发现蒯小玲等[11]的研究是主要异质性来源, 可能由于这项研究的样本量最小从而导致结果的异质性较大. Pelli等[32]研究发现, 在酒精性AP首次发作后, 80%的患者会在3-5年内复发, 这与乙醇导致的Oddi括约肌功能障碍及其对胰腺腺泡细胞的毒性有关. 而在高三酰甘油血症AP患者中, 高血粘稠度可能会干扰胰腺微循环从而导致RAP[33]. 还有其他少见原因, 如: 遗传变异[23], 胰管瘘[35]、胰腺分裂、胰胆管畸形[31]等解剖结构异常、线虫病[38]等也与RAP的发生有一定相关性. 此外, 至少有10%的患者的RAP病因仍未确定, 这些病人常被描述为特发性复发性急性胰腺炎[4]. 本研究结果显示, RAP病因的风险比从高到低依次是酒精性AP、高三酰甘油血症性AP、胆源性AP. 同时, 高三酰甘油血症也是胆源性AP复发的危险因素[26]. 因此, 在今后临床工作中要针对病因加强对患者胰腺炎首发后的随访宣教和必要的定期筛查, 及早制定有效的干预措施, 降低RAP的发病率.

3.2 增加RAP风险的合并症　RAP与糖尿病之间的关系, 可能是RAP能促使糖尿病的发生, 而糖尿病反过来又能提高AP的发生率, 两者相互影响[26]. 台湾学者研究发现, 糖尿病作为AP的独立危险因素, 可使AP的发病率增加2倍[34]. 由此可见RAP并发糖尿病的患者更应严格控制血糖, 减少由糖尿病所致的RAP. 陈建等[16]人研究发现, RAP人群中既往患有脂肪肝的比例为43.3%, 而初发AP中则为30.9%, 两组间的差异有统计学意义, 提示脂肪肝更容易促使AP复发. 对于脂肪肝患者为何更易致AP的复发, 其原因可能是脂肪肝患者更易合并高脂血症. 我们的研究结果显示, 合并脂肪肝、糖尿病均显著增加了RAP的发生风险. 因此, 在治疗AP的同时积极控制合并症也可预防RAP的发生.

3.3 增加RAP风险的行为方式　既往研究表明, 吸烟和饮酒与RAP的发生关系密切[6], 大量饮酒的患者有患RAP和慢性胰腺炎的风险[36], 而在Setiawan等[37]的报道中显示, 少量饮酒与所有类型的胰腺炎呈负相关. 吸烟也被认为是RAP发生的一个独立预测因素[10]. 本研究的结果显示, RAP的发生于吸烟和饮酒均显著相关, 且吸烟的影响大于饮酒. 一项前瞻性研究发现, 在戒酒两年的患者中, 没有出现复发性急性胰腺炎, 而在饮酒的患者中,

有33%的患者出现RAP[28]. 因此, 临床工作中可加强住院期间及随访咨询的健康教育, 通过戒烟酒宣教来减少RAP的发病率.

3.4 增加RAP风险的相关指标 血清三酰甘油水平升高(>500-1000 mg/dL)与AP有关, Wu等[39]发现三酰甘油适度升高(>200 mg/dL)也会显著增加胰腺炎复发的风险, 并且国内外多位研究学者均认为血清三酰甘油或胆固醇水平升高与胰腺炎复发相关[13,27,30,41]. 本研究的结果显示, 与初发组相比, 三酰甘油的水平对RAP的影响不明显, 提示TC、TG水平与RAP可能非线性相关. CT评分对AP诊断和病情评估有重要的意义. CT评分升高通常与胰腺坏死的程度呈正相关[23,24], 本研究结果显示, RAP的发生与CT评分升高显著相关. 因此, 临床工作中需密切关注增加RAP风险的相关指标, 以降低RAP的发生率及死亡率.

本研究的局限: (1)本研究纳入文献大多为中文文献, 可能会对结果全面性造成一定影响; (2)纳入文献的研究类型以回顾性研究居多, 与大规模临床研究相比, 患者数量相对较少, 随访时间相对较短. 因此, 今后还需开展多中心、大样本的前瞻性研究进一步明确RAP发生的危险因素.

4 结论

综上所述, 本研究结果显示, 病因为高三酰甘油血症性AP、酒精性AP, 合并糖尿病或脂肪肝、吸烟、酒精摄入、以及CT评分升高与RAP的发病率密切相关. 在临床工作中可参考本研究结果早期识别复发性急性胰腺炎高危人群, 积极去除病因及复发的危险因素, 加强健康宣教, 尽可能降低RAP的发生率. 受纳入研究数量和质量限制, 无法计算吸烟、饮酒及相关指标的暴露剂量或程度分级, 上述结论尚需开展更多高质量研究予以验证.

文章亮点

实验背景

近年来, 复发性急性胰腺炎发病率逐年攀升, 关于复发性急性胰腺炎的相关文章也逐渐增多, 但目前为止, 对复发性急性胰腺炎行系统评价的研究较少.

实验动机

胰腺炎反复发作, 严重影响患者生活质量, 为寻找复发性急性胰腺炎的危险因素, 提高患者生活质量.

实验目标

检索国内外相关文献, 运用Meta分析的方法筛选文献、汇总数据, 寻找复发性急性胰腺炎危险因素, 为临床治疗及干预提供参考.

实验方法

计算机检索国内外权威数据库,检索时限为建库至2020-12, 保证文献的全面性.使用Newcastle-Ottawa Scale (NOS)文献质量评价标准对文献进行质量评估, 保留高质量文献.采用RevMan 5.3软件进行Meta分析, 保证数据处理的准确性.

实验结果

共纳入15篇文献进行Meta分析, 累计病例数和对照数分别为2258例和8482例, 经Meta分析结果显示, 去除异质性原因后结果稳健, 可信度高.复发性急性胰腺炎的危险因素为:饮酒、吸烟、胆源性AP、高三酰甘油血症性AP、酒精性AP、糖尿病、脂肪肝、CT评分.

实验结论

当前证据显示, 疾病因素(胆源性AP、高三酰甘油血症性AP、酒精性AP、脂肪肝、糖尿病)、行为危害因素(吸烟、饮酒)、相关指标(CT评分)均与复发性急性胰腺炎相关. 积极预防危险因素, 可避免胰腺炎复发, 减少患者住院次数, 提高患者生活质量.

展望前景

在临床工作中可参考本研究结果早期识别复发性急性胰腺炎高危人群, 积极去除病因及复发的危险因素, 尽可能降低复发性急性胰腺炎的发生率.

5 参考文献

1 中华医学会消化病学分会胰腺疾病学组, 《中华胰腺病杂志》编辑委员会, 《中华消化杂志》编辑委员会. 中国急性胰腺炎诊治指南(2019, 沈阳). 中华胰腺病杂志 2019: 321-331 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1674-1935.2019.05.001]

2 Doubilet H, Mulholland JH. Recurrent acute pancreatitis; observations on etiology and surgical treatment. *Ann Surg* 1948; 128: 609-638 [PMID: 18893291]

3 Sarles H, Sarles JC, Camatte R, Muratore R, Gaini M, Guien C, Pastor J, Le Roy F. Observations on 205 confirmed cases of acute pancreatitis, recurring pancreatitis, and chronic pancreatitis. *Gut* 1965; 6: 545-559 [PMID: 5857891 DOI: 10.1136/gut.6.6.545]

4 Guda NM, Muddana V, Whitcomb DC, Levy P, Garg P, Cote G, Uc A, Varadarajulu S, Vege SS, Chari ST, Forsmark CE, Yadav D, Reddy DN, Tenner S, Johnson CD, Akisik F, Saluja AK, Lerch MM, Mallery JS, Freeman ML. Recurrent Acute Pancreatitis: International State-of-the-Science Conference With Recommendations. *Pancreas* 2018; 47: 653-666 [PMID: 29894415 DOI: 10.1097/MPA.0000000000001053]

5 Yadav D, O'Connell M, Papachristou GI. Natural history following the first attack of acute pancreatitis. *Am J Gastroenterol* 2012; 107: 1096-1103 [PMID: 22613906 DOI: 10.1038/ajg.2012.126]

6 Sankaran SJ, Xiao AY, Wu LM, Windsor JA, Forsmark CE, Petrov MS. Frequency of progression from acute to chronic pancreatitis and risk factors: a meta-analysis. *Gastroenterology* 2015; 149: 1490-

1500.e1 [PMID: 26299411 DOI: 10.1053/j.gastro.2015.07.066]
7 Coté GA, Yadav D, Abberbock JA, Whitcomb DC, Sherman S, Sandhu BS, Anderson MA, Lewis MD, Alkaade S, Singh VK, Baillie J, Banks PA, Conwell D, Guda NM, Muniraj T, Tang G, Brand R, Gelrud A, Amann ST, Forsmark CE, Wilcox MC, Slivka A, Gardner TB. Recurrent Acute Pancreatitis Significantly Reduces Quality of Life Even in the Absence of Overt Chronic Pancreatitis. *Am J Gastroenterol* 2018; 113: 906-912 [PMID: 29867178 DOI: 10.1038/s41395-018-0087-7]
8 彭莉, 彭燕, 蒲琅全, 马雨凡, 徐欢, 汤小伟. 671例复发性急性胰腺炎临床特点及危险因素分析. 实用医学杂志 2019; 35: 2924-2928 [DOI: 10.3969/j.issn.1006-5725.2019.18.020]
9 Cote GA, Yadav D, Abberbock J, Tang G, Slivka A, Brand R, Anderson MA, Banks PA, Lewis MD, Baillie J, Sherman S, Alkaade S, Amann S, Gelrud A, Forsmark C, Sandhu BS, Guda NM, Conwell DL, Muniraj T, Wilcox CM, Whitcomb DC, Gardner TB. Recurrent Acute Pancreatitis Without Underlying Overt Chronic Pancreatitis Negatively Impacts Quality of Life. *Gastroenterology* 2017; 152 [DOI: 10.1016/S0016-5085(17)30593-0]
10 Cho JH, Jeong YH, Kim KH, Kim TN. Risk factors of recurrent pancreatitis after first acute pancreatitis attack: a retrospective cohort study. *Scand J Gastroenterol* 2020; 55: 90-94 [PMID: 31822144 DOI: 10.1080]
11 蒯小玲, 丁海芳, 张健峰, 刘肇修, 管程齐, 毛振彪. 复发性急性胰腺炎危险因素分析. 胃肠病学 2016; 21: 729-732 [DOI: 10.3969/j.issn.1008-7125.2016.12.007]
12 潘越, 李晓燕. 复发性胰腺炎139例病因分析. 临床医学 2012; 32: 4-6
13 田泽敏, 高青. 复发性急性胰腺炎相关危险因素及治疗分析. 胃肠病学和肝病学杂志 2018; 27: 22-24
14 南琼, 李红缨, 陆斌. 复发性急性胰腺炎31例临床分析. 胰腺病学 2005:100-106
15 段丽萍, 陈洪, 李渊, 吕愈敏. 复发性急性胰腺炎高危因素及预后分析. 胰腺病学 2003: 124
16 陈建. 复发性急性胰腺炎的病因及临床特征分析. 昆明医科大学 2018
17 叶美玲. 急性胰腺炎数据库建立及急性胰腺炎严重程度风险评估. 西南医科大学 2017
18 班猛猛. 复发性急性胰腺炎危险因素分析. 大连医科大学 2018
19 陈芙蓉. 复发性急性胰腺炎的临床特征及危险因素分析. 宁夏医科大学 2019
20 张瑜. 复发性急性胰腺炎致病高危因素及预后分析. 山西医科大学 2013
21 闫炫炫. 复发性急性胰腺炎的临床高危因素分析. 兰州大学 2018
22 Ahmed Ali U, Issa Y, Hagenaars JC, Bakker OJ, van Goor H, Nieuwenhuijs VB, Bollen TL, van Ramshorst B, Witteman BJ, Brink MA, Schaapherder AF, Dejong CH, Spanier BW, Heisterkamp J, van der Harst E, van Eijck CH, Besselink MG, Gooszen HG, van Santvoort HC, Boermeester MA; Dutch Pancreatitis Study Group. Risk of Recurrent Pancreatitis and Progression to Chronic Pancreatitis After a First Episode of Acute Pancreatitis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2016; 14: 738-746 [PMID: 26772149 DOI: 10.1016/j.cgh.2015.12.040]
23 Seppänen H, Puolakkainen P. Classification, Severity Assessment, and Prevention of Recurrences in Acute Pancreatitis. *Scand J Surg* 2020; 109: 53-58 [PMID: 32192420 DOI: 10.1177/1457496920910007]
24 沈伟芬, 徐洪高, 张心荣. CT严重指数、Ransons评分及超声造影严重指数评估急性胰腺炎病情. 世界华人消化杂志 2020; 28: 1096-1101 [DOI: 10.11569/wcjd.v28.i21.1096]
25 曲凤智, 曹成亮, 王刚, 孙备. 复发性胰腺炎研究进展. 中华肝胆外科杂志 2016; 22: 422-424 [DOI:10.3760/cma.j.issn.1007-8118.2016.06.018]
26 许建, 张浩, 周瑶, 陆翔宇, 俞小炯. 复发性胆源性胰腺炎的临床特征及危险因素分析. 现代生物医学进展 2018; 18: 3080-3083 [DOI: 10.13241/j.cnki.pmb.2018.16.017]
27 延学军, 刘洪锋. 复发性高脂血症急性胰腺炎的相关高危因素分析及干预措施. 医学理论与实践 2017; 30: 1622-1623 [DOI: 10.19381/j.issn.1001-7585.2017.11.032]
28 Pelli H, Lappalainen-Lehto R, Piironen A, Sand J, Nordback I. Risk factors for recurrent acute alcohol-associated pancreatitis: a prospective analysis. *Scand J Gastroenterol* 2008; 43: 614-621 [PMID: 18415757 DOI: 10.1080/00365520701843027]
29 Sadr-Azodi O, Oskarsson V, Discacciati A, Videhult P, Askling J, Ekbom A. Pancreatic Cancer Following Acute Pancreatitis: A Population-based Matched Cohort Study. *Am J Gastroenterol* 2018; 113: 1711-1719 [PMID: 30315287 DOI: 10.1038/s41395-018-0255-9]
30 嫚嫚, 纪龙, 封安强. 高脂血症引起的急性胰腺炎复发的相关危险因素分析. 徐州医科大学学报 2019; 39: 647-650 [DOI: 10.3969/j.issn.2096-3882.2019.09.06]
31 Takuma K, Kamisawa T, Hara S, Tabata T, Kuruma S, Chiba K, Kuwata G, Fujiwara T, Egashira H, Koizumi K, Fujiwara J, Arakawa T, Momma K, Igarashi Y. Etiology of recurrent acute pancreatitis, with special emphasis on pancreaticobiliary malformation. *Adv Med Sci* 2012; 57: 244-250 [PMID: 23183766 DOI: 10.2478/v10039-012-0041-7]
32 Pelli H, Sand J, Laippala P, Nordback I. Long-term follow-up after the first episode of acute alcoholic pancreatitis: time course and risk factors for recurrence. *Scand J Gastroenterol* 2000; 35: 552-555 [PMID: 10868461 DOI: 10.1080/003655200750023840]
33 Stevens T, Conwell DL, Zuccaro G. Pathogenesis of chronic pancreatitis: an evidence-based review of past theories and recent developments. *Am J Gastroenterol* 2004; 99: 2256-2270 [PMID: 15555009 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2004.40694.x]
34 Lai SW, Muo CH, Liao KF, Sung FC, Chen PC. Risk of acute pancreatitis in type 2 diabetes and risk reduction on anti-diabetic drugs: a population-based cohort study in Taiwan. *Am J Gastroenterol* 2011; 106: 1697-1704 [PMID: 21577242 DOI: 10.1038/ajg.2011.155]
35 Guerroum H, Rami A, Kassimi M, Habi J, Imane R, Chikhaoui N, Rouibaa F, Mahi M. Ansa pancreatica: a rare cause of acute recurrent episode in chronic pancreatitis. *BJR Case Rep* 2021; 7: 20200044 [PMID: 33614111 DOI: 10.1259/bjrcr.20200044]
36 Yadav D, Hawes RH, Brand RE, Anderson MA, Money ME, Banks PA, Bishop MD, Baillie J, Sherman S, DiSario J, Burton FR, Gardner TB, Amann ST, Gelrud A, Lawrence C, Elinoff B, Greer JB, O'Connell M, Barmada MM, Slivka A, Whitcomb DC; North American Pancreatic Study Group. Alcohol consumption, cigarette smoking, and the risk of recurrent acute and chronic pancreatitis. *Arch Intern Med* 2009; 169: 1035-1045 [PMID: 19506173 DOI: 10.1001/archinternmed.2009.125]
37 Setiawan VW, Pandol SJ, Porcel J, Wilkens LR, Le Marchand L, Pike MC, Monroe KR. Prospective Study of Alcohol Drinking, Smoking, and Pancreatitis: The Multiethnic Cohort. *Pancreas* 2016; 45: 819-825 [PMID: 27171516 DOI: 10.1097/MPA.0000000000000657]
38 Zahida K, Joseph P, Balaraju G, Al Kaabi SRM, Naushad VA. Hidden Nematode Causing Recurrent Pancreatitis: A Case Report. *Cureus* 2020; 12: e11835 [PMID: 33409075 DOI: 10.7759/cureus.11835]
39 Wu BU, Batech M, Dong EY, Duan L, Yadav D, Chen W. Influence of Ambulatory Triglyceride Levels on Risk of Recurrence in Patients with Hypertriglyceridemic Pancreatitis. *Dig Dis Sci* 2019; 64: 890-897 [PMID: 30094622 DOI: 10.1007/s10620-018-5226-x]
40 Cavestro GM, Leandro G, Di Leo M, Zuppardo RA, Morrow OB, Notaristefano C, Rossi G, Testoni SG, Mazzoleni G, Alessandri M, Goni E, Singh SK, Giliberti A, Bianco M, Fanti L, Viale E, Arcidiacono PG, Mariani A, Petrone MC, Testoni PA. A single-centre prospective, cohort study of the natural history of acute pancreatitis. *Dig Liver Dis* 2015; 47: 205-210 [PMID:

25475611 DOI: 10.1016/j.dld.2014.11.003]
41 Qureshi TM, Khan A, Javaid H, Tabash A, Hussein MS, Othman MO. Secondary Causes of Hypertriglyceridemia are Prevalent Among Patients Presenting With Hypertriglyceridemia Induced Acute Pancreatitis. *Am J Med Sci* 2021 [PMID: 33618838 DOI: 10.1016/j.amjms.2021.01.005]

科学编辑: 刘继红 制作编辑: 张砚梁

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 © 2021 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

• 消息 •

书讯

本刊讯 由池肇春教授主编的《腹痛的诊断、鉴别诊断与治疗》已由人民卫生出版社出版发行.

腹痛是消化系统最常见的症状之一, 可引起腹痛的疾病很多, 容易发生误诊或漏诊, 以致患者得不到及时的诊治. 本书由全国著名消化内科及相关学科专业学者共同执笔, 为近年在腹痛诊疗方面的最新代表作. 精装, 图文并茂, 内容新颖实用, 全书2014千字, 分上下两篇, 上篇为总论, 包括腹痛的病理生理学、腹痛的病因与发病机制、腹痛的临床诊断、腹痛的内镜与影像诊断与鉴别诊断、腹痛的实验室诊断、腹痛的治疗等11章. 下篇为各论, 分别介绍腹痛疾病的鉴别诊断与治疗. 从第12章至第15章分别介绍腹腔脏器炎症、阻塞、扭转、穿孔、破裂、血管疾病、心肺疾病、妇科疾病、急性中毒等引起急性腹痛的鉴别诊断与治疗. 从第17章至第29章分别介绍胃肠、胰, 肾、感染、肿瘤引起的慢性腹痛鉴别诊断与治疗. 从第30章至第36章分别介绍肝胆系统疾病和系统疾病引起腹痛的鉴别诊断与治疗. 最后一章为经典案例53例, 分别介绍了不同案例的诊治体会、经验与教训.

全书以症状鉴别诊断为中心, 与治疗并重, 均作了全面与详尽的阐述, 是一部有关腹痛诊治的新作, 有较高的学术水平和参考价值, 可为消化内科、普外科、小儿科、感染科、肿瘤科、影像科和妇产科等学科医师学习与参考. 每册定价188元 , 购书热线 010-59787592, 010-59787584, 010-65264830, 人卫智慧服务商城(人卫社官方购书网站)、当当、京东、天猫等网店均可搜索购书, 欢迎选购.

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: https://www.baishideng.com

世界华人消化杂志 2021年5月28日; 29(10): 526-536

DOI: 10.11569/wcjd.v29.i10.526

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

临床研究 CLINICAL RESEARCH

miR–128–3p靶向xCT基因在结直肠癌中的分子机制及其与肠癌患者临床病理特征的相关性

吴 珺, 廖旭慧, 吴勤丽, 余 伟

吴珺, 廖旭慧, 吴勤丽, 余伟, 丽水市人民医院(温州医科大学附属第六医院、丽水学院附属第一医院)病理科 浙江省丽水市 323000

吴珺, 主治医师, 主要从事肿瘤病理学诊断与生物信息工作.

作者贡献分布: 此研究由吴珺, 廖旭慧设计; 研究过程由吴珺、吴勤丽及余伟操作完成; 数据分析由吴珺、廖旭慧完成; 本论文写作由吴珺完成.

通讯作者: 吴珺, 主治医师, 323000, 浙江省丽水市莲都区大众街15号, 丽水市人民医院(温州医科大学附属第六医院、丽水学院附属第一医院)病理科. ming730737@163.com

收稿日期: 2021–02–17
修回日期: 2021–03–18
接受日期: 2021–04–02
在线出版日期: 2021–05–28

MiR-128-3p targets *xCT* gene in colorectal cancer: Molecular mechanism and correlation with patients' clinicopathological features

Jun Wu, Xu-Hui Liao, Qin-Li Wu, Wei Yu

Jun Wu, Xu-Hui Liao, Qin-Li Wu, Wei Yu, Department of Pathology, Lishui People's Hospital (the Sixth Affiliated Hospital of Wenzhou Medical University; the First Affiliated Hospital of Lishui University), Lishui 323000, Zhejiang Province, China

Corresponding author: Jun Wu, Attending Doctor, Department of Pathology, Lishui People's Hospital (the Sixth Affiliated Hospital of Wenzhou Medical University; the First Affiliated Hospital of Lishui University), No. 15 Dazhong Road, Liandu District, Lishui 323000, Zhejiang Province, China. ming730737@163.com

Received: 2021-02-17
Revised: 2021-03-18
Accepted: 2021-04-02
Published online: 2021-05-28

Abstract

BACKGROUND

Colorectal cancer (CRC) is the most common malignant tumor of the digestive system. However, the molecular mechanism of the proliferation and migration of colorectal cancer cells has not been fully elucidated. Cystine/glutamate antiporter (xCT) has been shown to be overexpressed in a variety of tumors and is associated with ferroptosis.

AIM

To investigate the molecular mechanism of Mir-128-3p targeting *xCT* gene in inhibiting the proliferation and invasion of colorectal cancer cells and the correlation with patients' clinicopathological characteristics.

METHODS

The Cancer Genome Atlas (TCGA) and Oncomine databases were applied to compare the expression of *xCT* gene in tumor tissue and corresponding normal tissue of human colorectal cancer and various solid tumors. The relationship between *xCT* expression level and lymphocyte infiltration was analyzed in the tumor immune estimation resource (TIMER) database. GSE18392 was downloaded from gene expression omnibus (GEO) database to screen differentially expressed miRNAs between cancer tissues and adjacent normal tissues. The screening criteria were $\log_2FC > 1$ and adjP < 0.05. Online prediction algorithm of miRNA target genes (targetscan, Mirdb, and Starbase) was used to predict the upstream target miRNAs of xCT. The expression levels of *xCT* and miR-128-3p were detected by RT-PCR in normal human intestinal epithelial cells, colorectal cancer cell lines, and 38 pairs of colorectal cancer tissues and adjacent tissues. MTT and wound healing assays were applied to detect the cell proliferation and migration ability after transfection with miR-128-3p.

RESULTS

The expression level of xCT in colorectal cancer tissues was significantly higher than that in adjacent normal tissues ($P < 0.05$). MiR-128-3p was identified to target the *xCT* gene in the upstream. Luciferase reporter gene assay showed that miR-128-3p could bind to the 3′ untranslated region (UTR) of *xCT* gene. xCT was overexpressed in human colon cancer cell lines compared to normal human colorectal cells ($P < 0.05$). However, miR-128-3p was downregulated in colorectal human colon cancer cell lines compared to normal human colorectal cells ($P < 0.05$). Transfection with miR-128-3p mimic could significantly downregulate the expression level of *xCT* in SW480 cells, and inhibit the proliferation and migration of SW480 cells. The expression level of *xCT* in 16 cases of colorectal cancer tissues was significantly higher than that of adjacent tissues ($P < 0.05$), while the relative expression level of miR-128-3p in cancer tissues was significantly lower than that of adjacent tissues ($P < 0.05$). The positive rate of *xCT* in cancer tissues (63.2%) was correlated tumor differentiation ($P < 0.05$) and vascular invasion ($P < 0.05$). The expression level of *xCT* was related to the infiltration of CD8 + T cells, neutrophils, and dendritic cells in colon cancer ($P < 0.05$), and the infiltration of CD8 + T cells and neutrophils in rectal cancer ($P < 0.05$), but not correlated with the infiltration of other lymphocytes ($P > 0.05$).

CONCLUSION

The expression of *xCT* is up-regulated in colorectal cancer. MiR-128-3p can inhibit the proliferation and migration of colorectal cancer cells by binding with the 3′ UTR of *xCT*. The miR-128-3p/xCT pathway is expected to become a new potential target for colorectal cancer targeted therapy.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Colorectal cancer; *xCT*; MiR-128-3p; Ferroptosis; Proliferation; Migration

Citation: Wu J, Liao XH, Wu QL, Yu W. MiR-128-3p targets *xCT* gene in colorectal cancer: Molecular mechanism and correlation with patients' clinicopathological features. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2021; 29(10): 526-536
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i10/526.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i10.526

摘要

背景

结直肠癌(colorectal carcinoma, CRC)是临床上最为常见的消化系统恶性肿瘤, 但结直肠癌细胞增殖和迁移的分子机制并为完全阐明. 胱氨酸/谷氨酸反转运体X(cystine/glutamate antiporter, xCT)被证实在多种肿瘤中高表达并与细胞的铁死亡有关.

目的

探讨miR-128-3p靶向xCT基因抑制结直肠癌细胞增殖、侵袭的分子机制及其与患者临床病理特征关系.

方法

癌症基因图谱(the cancer genome atlas, TCGA)、Oncomine数据库中比较胱氨酸/xCT基因在人结直肠癌及多种实体肿瘤中的表达. 肿瘤免疫(tumor immune estimation resource, TIMER)数据库中分析xCT表达水平与淋巴细胞浸润程度关系. 基因表达综合 (gene expression omnibus, GEO)数据库下载结直肠癌患者癌组织 *vs* 癌旁组织差异表达miRNA数据集GSE18392, 筛序癌组织与癌旁组织差异表达miRNA, 筛选条件为Log2FC>1, adjP<0.05. microRNA靶基因在线预测算法(Targetscan, miRDB和StarBase)预测xCT上游靶miRNA. GSE18392差异表达miRNA和预测靶基因取交集得到miR-128-3p. 并采用双荧光素酶报告实验验证miR-128-3p与xCT靶向调控关系. 实时荧光定量聚合酶链反应(real time fluorescent quantitative polymerase chain reaction, RT-PCR)检测人正常肠上皮细胞及人结直肠癌细胞系、38例结直肠癌患者癌组织和癌旁组织中xCT及miR-128-3p表达水平. 溴化噻唑蓝四氮唑[3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT)]实验和划痕实验观察转染外源性miR-128-3p-mimic后人结癌细胞(SW480)增殖和迁移能力有无改变.

结果

结直肠癌组织xCT表达水平显著高于癌旁正常组织($P<0.05$).筛选并预测miR-128-3p为xCT上游靶向调控基因. 荧光素酶报告基因显示, miR-128-3p可靶向结合xCT基因3'UTR区域. xCT在人结直肠癌细胞系(HT-29, SW480, LoVo及SW620)中的表达水平显著高于正常肠上皮细胞(NCM460), ($P<0.05$), 而miR-128-3p在人结直肠癌细胞系中的表达水平显著低于正常肠上皮细胞异($P<0.05$). 转染外源性miR-128-3p mimic可显著下调SW480细胞中xCT表达水平, 并抑制SW480细胞增殖和迁移能力. xCT在38例结直肠癌患者癌组织中的表达水平显著高于癌旁组织($P<0.05$), 而miR-128-3p在癌组织中相对表达水平显著低于癌旁组织($P<0.05$). 癌组织中miR-128-3p与xCT表达负相关($r_{pearson} = -0.43$, $P<0.05$). 免疫组化显示xCT阳性表达于细胞膜, 呈棕黄色颗粒, 在癌组织中阳性率63.2%. xCT阳性表达与肿瘤分化($P<0.05$)和脉管浸润($P<0.05$)有关. xCT表达水平与结肠癌CD8+T细胞, 中性粒细胞, 树突状细胞浸润有关($P<0.05$), 与直肠癌CD8+T细胞和中性粒细胞浸润有关($P<0.05$), 而于其他淋巴细胞浸润水平无

关(P>0.05).

结论

xCT在结直肠癌中表达上调, miR-128-3p可通过与xCT基因3'UTR结合抑制肠癌细胞的增殖和迁移, miR-128-3p/xCT通路有望成为肠癌靶向治疗新的潜在靶点.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 结直肠癌; xCT; miR-128-3p; 铁死亡; 增殖; 迁移

核心提要: 氨酸反转运体X(cystine/glutamate antiporter, xCT)基因在人多种肿瘤及结直肠癌中表达水平增加, miR-128-3p可靶向调控xCT表达并影响肠癌细胞的生物学功能. 抑制结直肠癌miR-128-3p/xCT信号通路可能是肠癌靶向治疗的新靶点.

文献来源: 吴珺, 廖旭慧, 吴勤丽, 余伟. miR-128-3p靶向xCT基因在结直肠癌中的分子机制及其与肠癌患者临床病理特征的相关性. 世界华人消化杂志 2021; 29(10): 526-536

URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i10/526.htm

DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i10.526

0 引言

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是临床上最为常见的消化系统恶性肿瘤. 相关流行病学研究显示[1], 在全球范围内, 结直肠癌是第三种最常见的恶性肿瘤, 约占所有肿瘤患者的10%. 2018年, CRC新增病例109万例, 死亡55.1万人[2]. 虽然CRC每年造成数十万人的死亡, 但其发生、发展和侵袭转移的确切分子机制并未完全清晰. 近年来随着分子生物学、高通量测序及生物信息学的不断发展进步, 在高通量大规模水平上对肿瘤患者全基因组、转录组及蛋白组水平的分子机制研究成为了可能[3].

凋亡(Apoptosis)是抑制肿瘤的重要分子机制, 近年来人们又发现一种新的细胞死亡形式-铁死亡(ferroptosis)[4,5]. 铁死亡是一种依赖于铁的程序性细胞死亡, 以脂质过氧化物的积累为特征, 在遗传和生物化学上不同于其他形式的调节性细胞死亡, 如凋亡. 铁死亡是由谷胱甘肽依赖性抗氧化功能下降或缺失引起的, 导致不受控制的脂质过氧化和最终的细胞死亡[6,7]. 这种非凋亡形式的细胞死亡可以促进肿瘤细胞被选择性清除. xCT基因编码胱氨酸/谷氨酸反转运体X(cystine/glutamate antiporter, xCT), 可通过介导胱氨酸摄取和谷氨酸释放促进谷胱甘肽的合成, 保护细胞免受氧化应激, 维持细胞的氧化还原平衡, 阻止脂质过氧化诱导的细胞死亡[8]. 已有文献报道xCT在人多种实体肿瘤包括肺癌、乳腺癌、肝细胞癌、胃癌及结直肠癌中高表达并与患者的预后有关, 但其上游调控基因及相关信号通路并不十分清楚[9-11]. 因此, 在本研究中, 我们采用生物信息分析结合细胞实验及组织标本探讨xCT在结直肠癌中的表达及其可能的分子调控机制.

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 细胞株及结直肠癌组织: 正常人结肠上皮细胞株(NCM460)、人结直肠癌细胞株(HT-29, SW480, LoVo及SW62)购自美国ATCC细胞库. 38例结直肠癌患者组织标本来源于丽水市人民医院病理科, 对我院手术治疗的结直肠癌患者组织标本进行回顾性分析, 摘录患者的临床病例特征如年龄、性别、肿瘤分期、病理分级等. 组织标本获取经我院医学伦理委员会通过, 并患者知情同意.

1.1.2 仪器设备试剂: 细胞培养箱; 恒温水浴箱; 实时荧光定量聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)仪7900HT; 台式低速离心机; 超低温冰箱; 无菌操作台Steril CARD III Advance; 倒置相差显微镜(TS100). 荧光定量PCR试剂SYBR^{R}Premix Ex Taq^{TM}; 反转录酶M-MLV Reverse Transcriptase; 胎牛血清; 小RNA提取试剂盒miRNeasy^{R}Mini Kit.

1.2 方法

1.2.1 生物信息分析及xCT上游调控基因预测: 癌症基因图谱(the cancer genome atlas, TCGA) (https://Portal.gdc.cancer.gov/)以及Oncomine (https://www.oncomine.org/resource/login.html)数据库中比较xCT基因在人结直肠癌及多种实体肿瘤中的表达. 肿瘤免疫(tumor immune estimation resource, TIMER)(https://cistrome.shinyapps.io/timer/)数据库中分析xCT表达水平与淋巴细胞浸润程度关系. 基因表达综合(gene expression omnibus, GEO)数据库(https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/)下载结直肠癌患者癌组织 *vs* 癌旁组织差异表达数据集GSE18392, 筛序癌组织与癌旁组织差异表达miRNA, 筛选条件为Log2FC>1, adjP<0.05. microRNA靶基因在线预测算法Targetscan(http://www.targetscan.org/vert_72/), miRDB(http://www.mirdb.org/)和StarBase(http://starbase.sysu.edu.cn/starbase2/)预测xCT上游靶miRNA. GSE18392差异表达miRNA和预测靶基因取交集得到miR-128-3p.

1.2.2 细胞培养: 正常人结肠上皮细胞株(NCM460)、人结直肠癌细胞株(HT-29, SW480, LoVo及SW62)购自美国ATCC细胞库.细胞采用DMEM培养基, 胎牛血清血清(FBS), 37 ℃, 5% CO2, 无菌培养箱中进行培养.

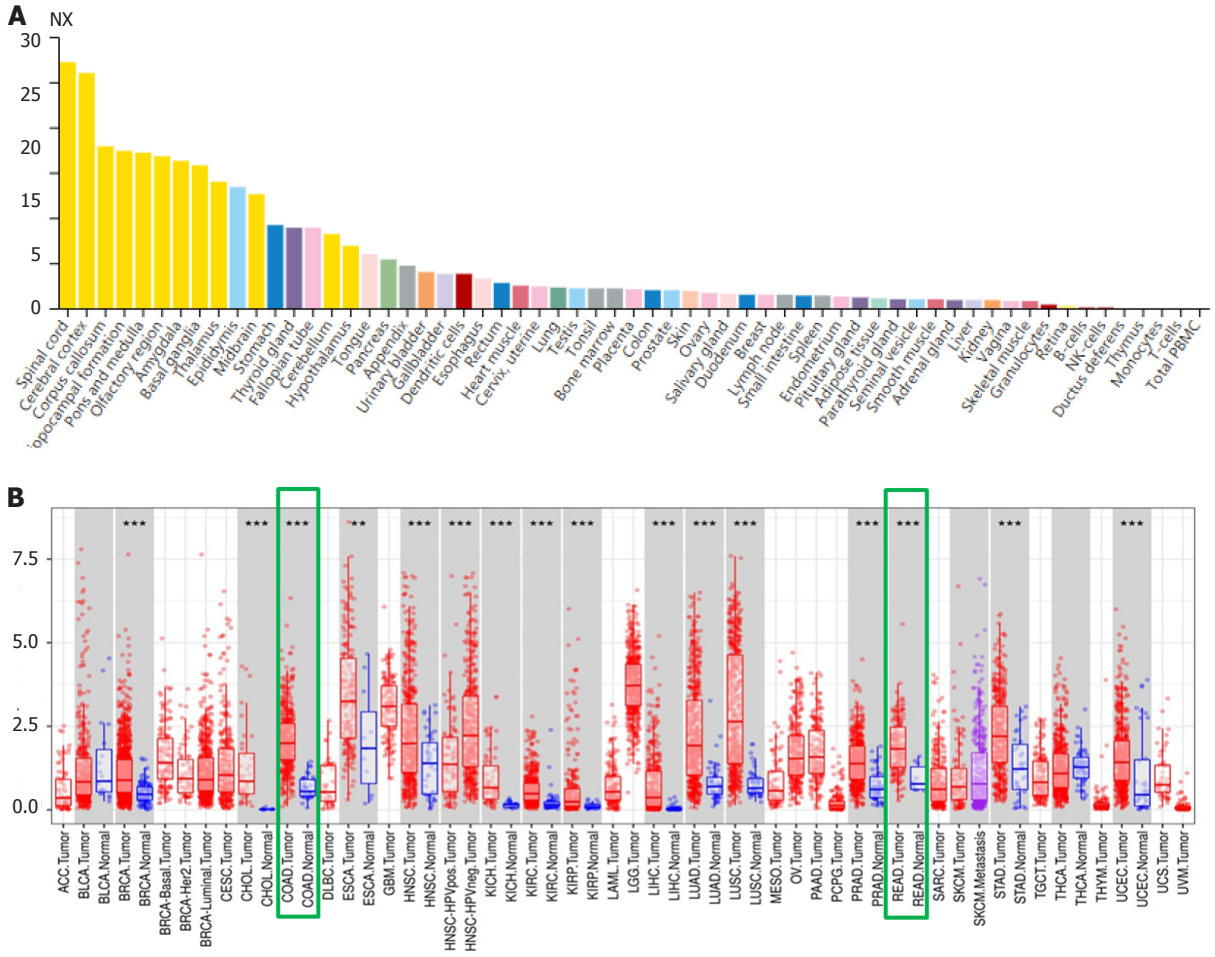


图 1　xCT基因在癌组织和癌旁组织中的相对表达水平. A: xCT基因在人多种正常组织中的相对表达水平; B: xCT基因在人多种肿瘤癌组织和癌旁组织中的表达水平比较. xCT: 谷氨酸反转运体X.

1.2.3 实时荧光定量PCR: 采用qRT-PCR法检测组织和细胞中xCT-AS1的表达水平. TRIzol法从组织和细胞中提取总RNA, 经反转录反应合成cDNA, 采用实时荧光定量PCR进行PCR反应, 条件为反应条件为: 94 ℃变性5 min, 40次循环, 94 ℃持续30 s, 58 ℃持续45 s, 72 ℃持续30 s、 然后在72 ℃下延长10 min. xCT和miR-128-3p分别以甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)和U6为内参, 采用2-ΔΔCt法计算计算相对表达量. 引物序列为: FP: TGAGCTGGGAACGTGCATTA; RP: AGGGCGAATAACCAGCAGTT.

1.2.4 MTT实验: 将转染的SW460细胞配置为单细胞悬浮液, 加入培养皿分别在37 ℃、5% CO2下放置24 h、48 h和72 h. 加入MTT溶液20 μL, 继续培养4 h后弃去上清, 每孔加入150 μL DMSO, 置摇床上低速振荡10 min,检测OD490 nm处测量各孔的吸光值, 绘制细胞增殖曲线.

1.2.5 划痕实验: 取对数生长期SW460细胞, 制备成细胞悬液接种于六孔板,以50%的细胞密度接种, 置于37 ℃ 5% CO2孵箱中培养. 24 h转染miR-128-3p mimic和对照(NC mimic)后继续培养24 h, 然后用1000 μL枪头在贴壁细胞做垂直的划痕, 并拍照记录划痕宽度, 后继续培养并分别于培养24 h, 48 h和96 h拍照记录划痕宽度, 评价细胞迁移距离.

1.2.6 双荧光素酶报告实验: 野生型(WT)-xCT, 突变型(MUT)-含xCT设计并插入miR-128-3p的结合位点到pGL3荧光报告质粒(Promega). 荧光素酶报告基因分析, SW469细胞转染miR-128-3p mimic组和对照组与上述荧光素酶报告载体共转染. 转染48 h后, 通过双荧光素酶报告检测系统进行检测.

1.2.7 xCT表达水平与淋巴细胞浸润: 在TIMER(https://cistrome.shinyapps.io/timer/)数据库中分析xCT基因表达水平与结直肠癌淋巴细胞浸润的关系. 检索策略: Gene symbol选项为xCT, Cancer type选下为colorectal cancer. Immune infiltrates选项为Bcell, CD8+ T cell, CD4+ T cell, Macrophage, Neutrophil, Dendritic cell.

1.2.8 xCT相关信号通路: 在TCGA数据库中(http://www.cbioportal.org/)分析xCT基因及相关信号通路数

表 1　结直肠癌患者xCT表达水平与患者临床病理特征关系

特征	病例数(n = 38)	xCT		χ^2	P
		阳性(n = 24)	阴性(n = 14)		
年龄(岁)				0.18	0.67
≥65	20	12	8		
<65	18	12	6		
性别				0.37	0.54
男	22	13	9		
女	16	11	5		
肿瘤类型				0.25	0.61
结肠癌	17	10	7		
直肠癌	21	14	7		
肿瘤分化				8.84	0.01
高	12	8	4		
中	17	7	10		
低	9	9	0		
浸润深度				4.32	0.12
T2	12	6	6		
T3	23	18	5		
T4	3	1	2		
肿瘤直径				0.61	0.43
≥5cm	27	16	11		
<5cm	11	8	3		
血管侵犯				4.15	0.04
阳性	6	6	0		
阴性	32	18	14		

xCT: 胱氨酸/谷氨酸反转运体X.

表 2　xCT在人体多种肿瘤组织中呈现高表达, 并与某些生物学行为如侵袭转移有关

肿瘤类型	功能
结直肠癌[18]	与生存、复发和淋巴结转移有关
卵巢癌[19]	与患者总生存有关
肺癌[9]	与不良预后和临床分期有关
前列腺癌[10]	生存期短、放疗抵抗; 转移风险增加
乳腺癌[11]	与患者总生存有关
胶质瘤[20]	促进肿瘤增殖
黑色素瘤[21]	肿瘤细胞增殖能力增强

xCT: 胱氨酸/谷氨酸反转运体X.

据库, 检索基因为xCT, 物种为人类.

统计学处理 统计学分析采用R软件(https://www.r-project.org/)及在线分析软件完成, 计量资料用mean±SD表示, 组间比较采用t检验, 计数资料采用相对数表示, 行χ^2检验, 双侧P<0.05为差别有统计学意义.

2 结果

2.1 xCT基因表达水平 xCT基因表达水平在人体不同组织中存在明显差异(图1A)在大多数肿瘤患者癌组织中表达水平高于对应的癌旁正常组织(图1B).在结直肠癌患者中, 癌组织xCT表达水平显著高于癌旁正常组织, 且有统计学差异(P<0.05), 图2.

2.2 xCT突变分析 xCT总体突变率为1%, 突变形式主要为错义突变、融合突变和缺失突变, 图3.

2.3 xCT上游靶基因预测 在GSE18392数据集中筛选出结直肠癌 *vs* 癌旁组织中差异表达microRNA 24个(图4A). miRNA靶基因预测软件miRDB, targetscan及StarBase预测xCT上游靶基因, 同时与GSE18392差异表达基因重合的miRNA为miR-128-3p(图4B). 荧光素酶报告基因显示, miR-128-3p可靶向结合xCT基因3'UTR区域(图4C), 结合位点序列如图4D所示.

2.4 miR-128-3p下调xCT抑制结直肠癌细胞增和迁移 xCT在人结直肠癌细胞系(HT-29, SW480, LoVo及

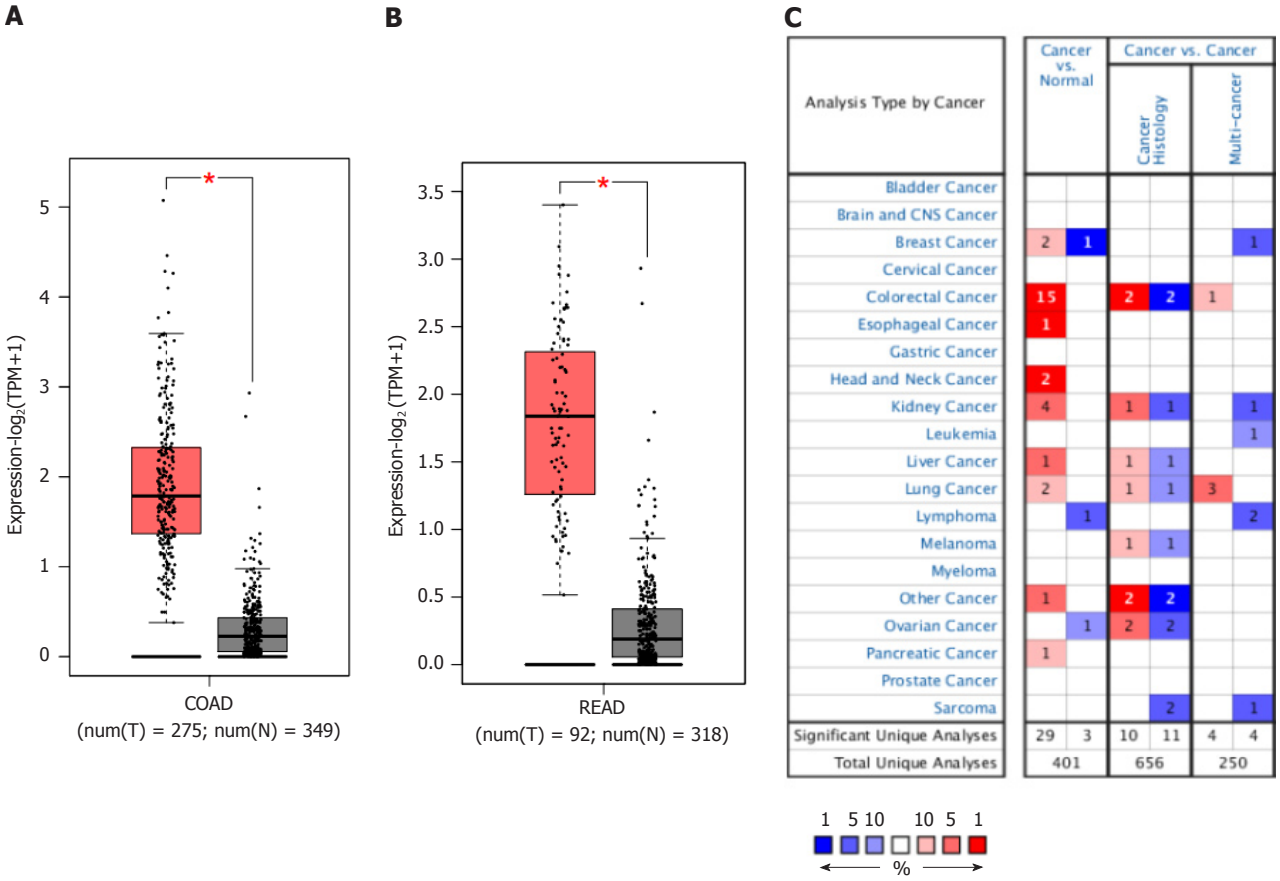


图 2　xCT基因在结直肠癌患者癌组织和癌旁组织中的表达水平比较. A: xCT表达水平在结肠癌患者癌组织中的表达水平明显高于癌旁组织; B: xCT表达水平在直肠癌患者癌组织中的表达水平明显高于和癌旁组织; C: Oncomine数据库中, 结直肠癌组织中xCT表达水平高于癌旁组织. xCT: 谷氨酸反转运体X.

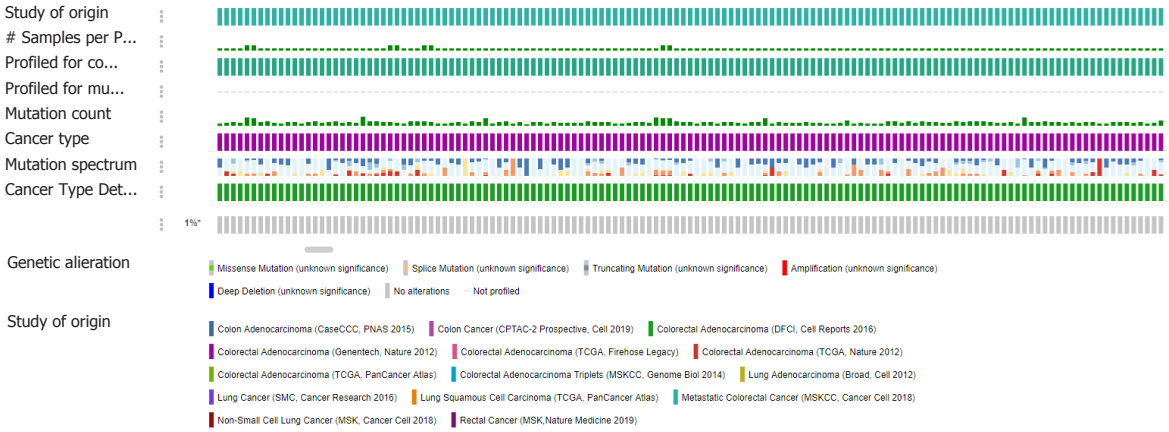


图 3　xCT基因在结直肠癌标本中的突变分析. xCT: 谷氨酸反转运体X.

SW620)中的表达水平显著高于正常结肠上皮细胞(NCM460), 且有统计学差异(P<0.05), 图5A; miR-128-3p在人结直肠癌细胞系中(HT-29, SW480, LoVo及SW620)的表达水平显著低于正常结肠上皮细胞(NCM460), 且有统计学差异(P<0.05), 图5B; 外源性miR-128-3p mimic可显著下调SW480细胞中xCT表达水平, 图5C; miR-128-3p mimic抑制SW480细胞xCT表达后, 细胞增殖能力及细胞迁移能力减低, 图5D, E.

2.5 miR-128-3p与CT表达负相关 xCT在38例结直肠癌患者癌组织中的表达水平显著高于癌旁组织(P<0.05), 图6A, 而miR-128-3p在癌组织中相对表达水平显著低于癌旁组织(P<0.05), 图6B. 癌组织中miR-128-3p与xCT表达负相关($r_{pearson}$ = -0.43, P<0.05), 图6C.

2.6 xCT表达水平与结直肠癌患者临床病理特征关系

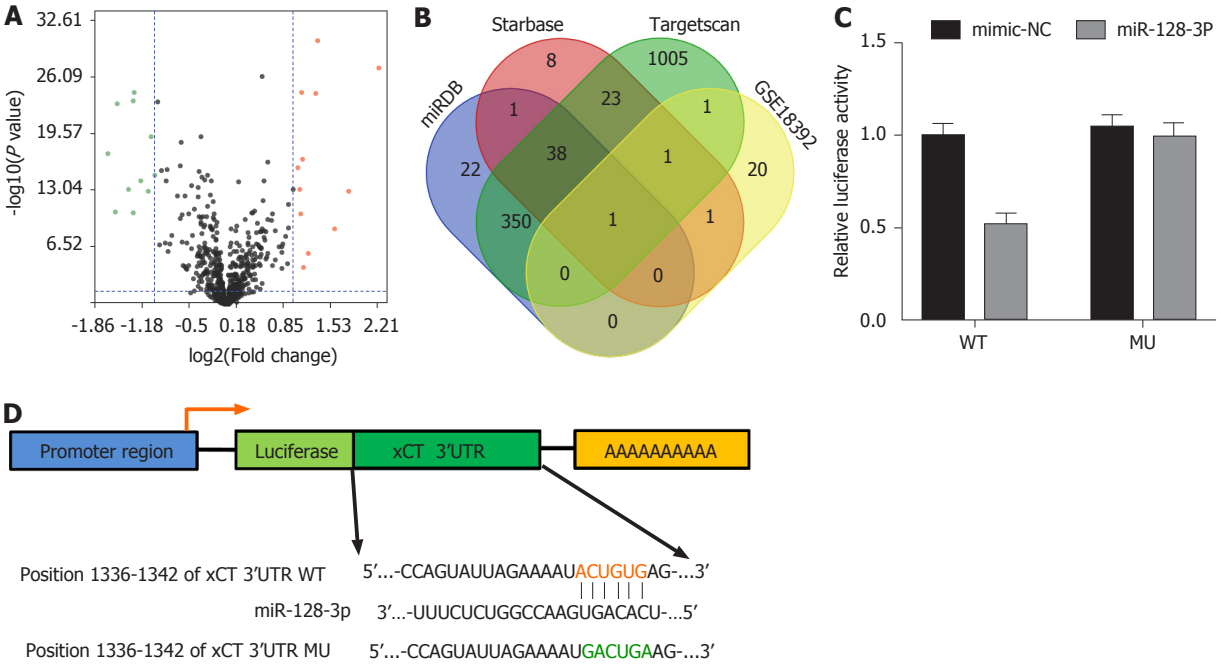


图 4　miR-128-3p可与xCT基因3'UTR靶向结合抑制其表达. A: 火山图筛选出GSE18392数据集中筛选出结直肠癌 *vs* 癌旁组织中差异表达microRNA 24个; B: miRNA靶基因预测软件miRDB, targetscan及StarBase预测xCT上游靶基因, 同时与GSE18392差异表达基因重合的miRNA为miR-128-3p; C: 荧光素酶报告基因显示, miR-128-3p可靶向结合xCT基因3'UTR区域; D: miR-128-3p与xCT基因3'UTR靶向结合序列及位点. xCT: 谷氨酸反转运体X.

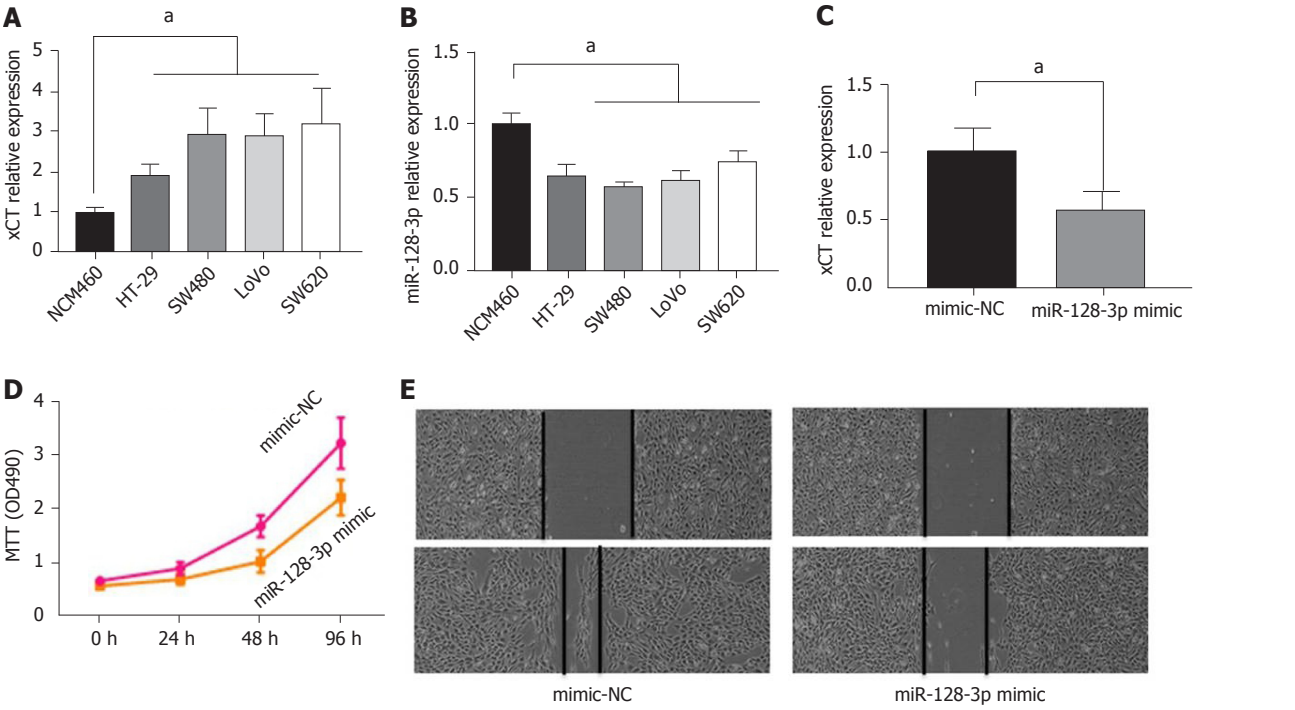


图 5　miR-128-3p下调xCT抑制肠癌细胞增和迁移. A: xCT在人结直肠癌细胞系中的表达水平显著高于正常肠上皮细胞; B: miR-128-3p在人结直肠癌细胞系中的表达水平显著低于正常肠上皮细胞; C: 外源性miR-128-3p mimic可显著下调SW480细胞中xCT表达水平; D: miR-128-3p mimic抑制SW480细胞xCT表达后, 细胞增殖能力减低; E: miR-128-3p mimic抑制SW480细胞xCT表达后, 细胞迁移能力减低). $^{a}P<0.05$. xCT: 谷氨酸反转运体X.

免疫组化显示xCT阳性表达于细胞膜, 呈棕黄色颗粒(图7). 38例结直肠癌组织中xCT阳性表达者24例(63.2%), 阴性表达者14例(36.8%). xCT阳性表达与肿瘤分化($P<0.05$)和脉管浸润($P<0.05$)有关, 表1.

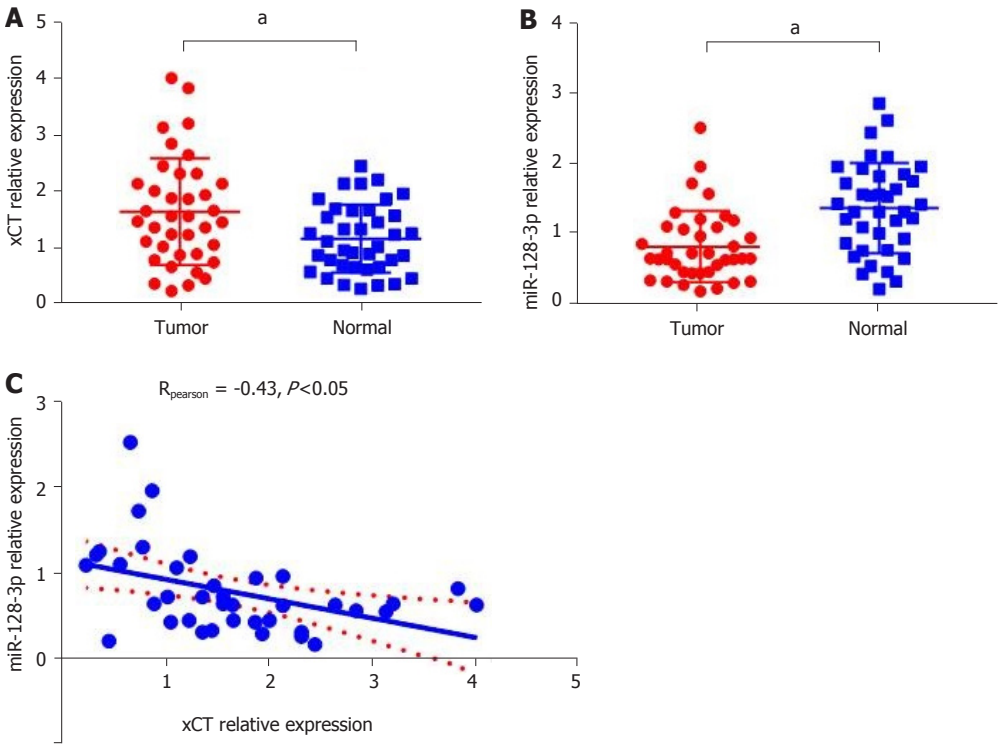


图 6　miR-128-3p与xCT在肠癌患者癌组织和癌旁组织中的表达情况比较. A: xCT在38例结直肠癌患者癌组织中的表达水平显著高于癌旁组织; B: miR-128-3p在癌组织中相对表达水平显著低于癌旁组织; C: 癌组织中miR-128-3p与xCT表达负相关. ^{a}P<0.05. xCT: 谷氨酸反转运体X.

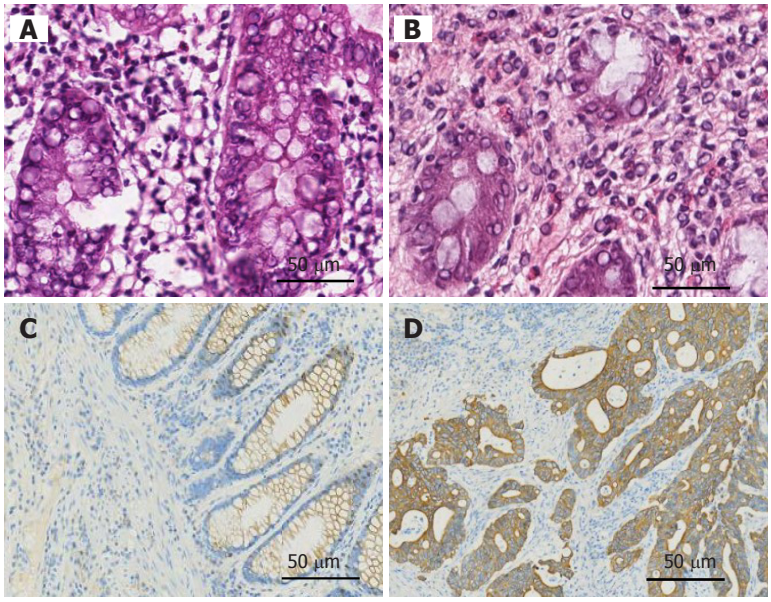


图 7　免疫组化检测xCT蛋白表达情况. A: 正常结肠组织中xCT无表达; B: 正常直肠组织中xCT无表达; C: 结肠癌患者癌旁组织中xCT阳性表达于细胞膜, 呈棕黄色颗粒; D: 结肠癌患者癌组织中xCT阳性表达于细胞膜, 呈棕黄色颗粒. xCT: 谷氨酸反转运体X.

2.7 xCT表达水平与淋巴细胞浸润　xCT表达水平与结肠癌CD8+T细胞, 中性粒细胞, 树突状细胞浸润有关(P<0.05), 与直肠癌CD8+T细胞和中性粒细胞浸润有关(P<0.05), 而于其他淋巴细胞浸润水平无关(P>0.05), 图8.

2.8 xCT相关信号通路　xCT参与的铁死亡是一种细胞死亡的调节形式, 其特征是由铁的积累和脂质过氧化产生活性氧(reactive oxygen species, ROS).在癌细胞和某些正常细胞中可由erastin、RSL3或临床药物如柳氮磺胺吡啶、索拉非尼诱导. xCT参与多种生理和病理过程, 如癌细胞死亡、神经退行性疾病、组织损伤和急性肾功能

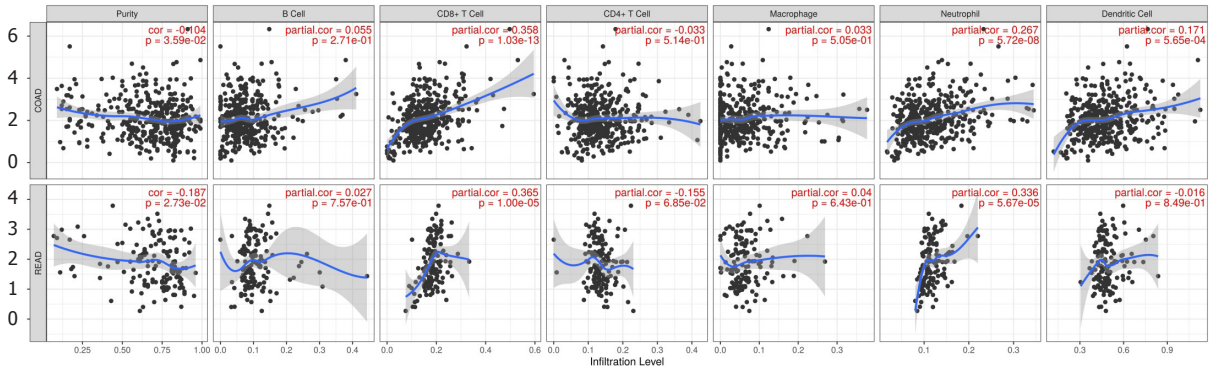


图 8　xCT表达水平与淋巴细胞浸润水平相关性散点图. xCT: 谷氨酸反转运体X.

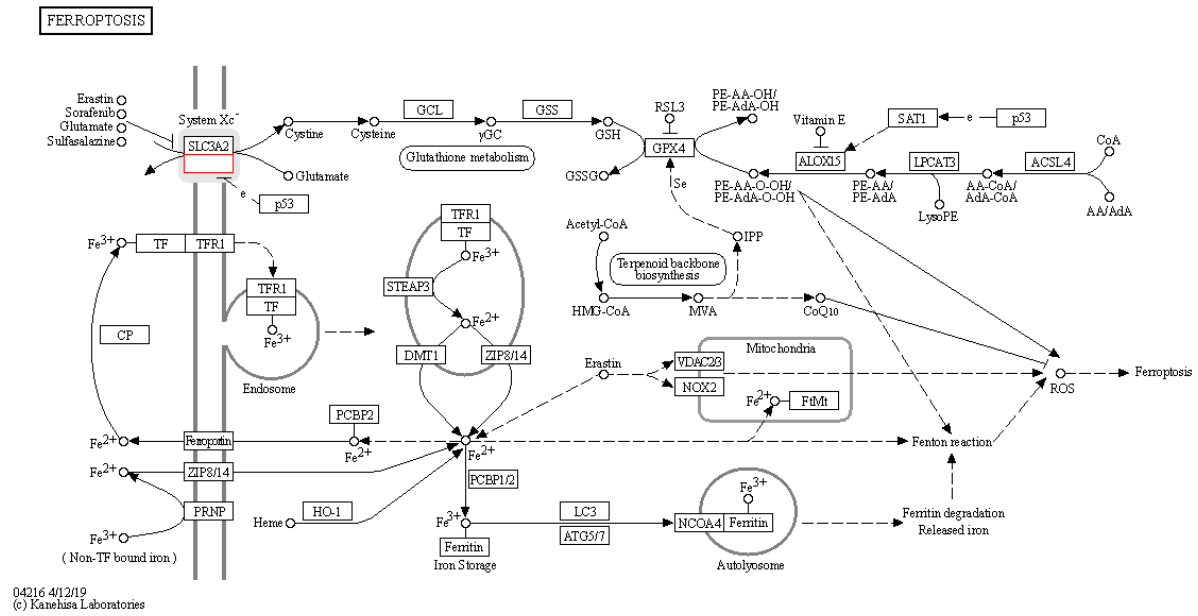


图 9　xCT参与的铁死亡相关信号通路示意图. xCT: 谷氨酸反转运体X.

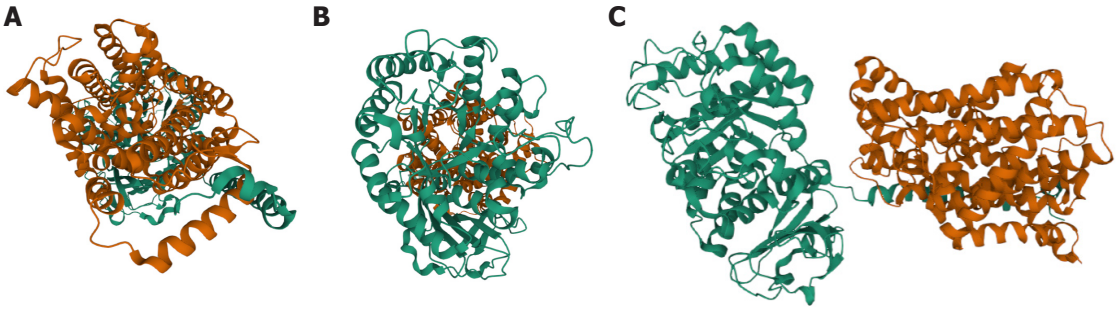


图 10　xCT蛋白三维结构模式图. A: 前面观; B: 后面观; C: 侧面观. xCT: 谷氨酸反转运体X.

衰, 图9.

3 讨论

铁死亡(Ferroptosis)是近年来新发现的一种细胞死亡方式, 一种依赖于铁的程序性细胞死亡, 以脂质过氧化物的积累为特征. 铁死亡与细胞内的氧化还原稳态失衡相关.与凋亡、坏死等传统的死亡方式不同, 细胞内游离铁增多和脂质过氧化是铁死亡独特的代谢特征[12,13]. 已有诸多文献表明, 相对于人体正常体细胞, 肿瘤细胞往往需要更多的铁来维持自身的生长和增殖, 该特征导致

肿瘤细胞对于铁死亡更加敏[14]. 铁死亡是由谷胱甘肽依赖性抗氧系统的失效引起的, 进而导致失控的脂质过氧化和最终的细胞死亡.尽管铁与脂质过氧化之间的联系多年来一直受到重视, 但直到2012年Brent Stockwell和Scott J. Dixon才发明了“铁死亡”一词用以描述不同于细胞凋亡的另一种细胞死亡过程[15].

xCT基因是目前已知的参与铁死亡的相关基因. 该基因定位于人体4q28.3, 编码一种胱氨酸-谷氨酸逆向转运蛋白, 该蛋白依赖于氯离子, 称为系统Xc-或xCT[16]. xCT是一个非钠离子依赖的异二聚体阴离子氨基酸转运系统的成员, 对胱氨酸和谷氨酸具有高度特异性. 这种逆向转运蛋白进口胱氨酸和出口谷氨酸, 这两种氨基酸. 逆向转运器的功能是一对一的逆向转运, 即一种物质在跨膜转运的同时, 另一种物质以相反的方向跨膜转运. 这种蛋白质的结构包括两条链: 一条特定的轻链xCT和一条重链4F2, 它们通过二硫键连接. xCT链有12个跨膜结构域, 由501个氨基酸组成, 4F2链在转运蛋白中高度保守(图10). 它通过刺激突触外受体来调节突触活动, 并释放谷氨酸. 该基因在星形胶质细胞中高度表达, 并将胱氨酸的摄取与谷氨酸的释放结合起来. xCT是构成System Xc-的底物特异性亚基, 负责将胱氨酸从细胞外运输到细胞内. 当细胞处于氧化应激和半胱氨酸缺乏的情况时, 核因子红细胞2相关因子2和转录因子4可诱导XCT的表达. 研究发现xCT在肿瘤组织中高表达, 并且xCT的高表达可以抑制ROS诱导的铁死亡[17]. 抑制细胞外胱氨酸进入细胞导致细胞内谷胱甘肽水平降低, 从而导致铁死亡. 从结构上看, xCT可能是上述Xc-系统维持正常运作的主要决定因素.

目前已有文献证实xCT在人体多种肿瘤组织中呈现高表达, 并与某些生物学行为如侵袭转移有关(表2)[9-11,18-21]. Timmerma及其同事分析乳腺癌细胞中xCT表达及其与患者预后关系发现, xCT在乳腺癌组织及细胞系中呈现高表达, 并与患者的预后不良有关[22]. Sugano[18]对304例结直肠癌患者的组织标本中xCT的表达水平进行了分析, 免疫组化结果发现68.4%(208例)的结直肠癌患者肿瘤组织中xCT蛋白呈现阳性表达, 并且阳性表达患者术后复发风险显著高于无表达者. 同时, 细胞实验也显示, 在恶性黑色素瘤细胞中过表达xCT后细胞增殖和迁移能力增强[21]. 上述研究均提示xCT在肿瘤中往往高表达, 并与细胞的增殖和侵袭有关. 同时, 高表达往往提示肿瘤患者预后不良. 然而, xCT上游靶向调控基因并不清楚.

4 结论

在我们的研究中, 我们从生物信息学分析入手, 在生物信息数据库、细胞试验和组织标本方面探讨了xCT及其上游调控基因信号通路, 探讨了相关分子机制和对细胞生物学功能的影响. 结果miR-128-3p可与xCT基因3’UTR靶向结合并抑制其表达, 从而影响肠癌细胞的增殖和迁移等生物学行为. 这一发现丰富了xCT基因的生物学功能及调控信号通路, 同时为以miR-128-3p/xCT通路相关的靶向治疗药物研发提供了思路, 也丰富了铁死亡的相关研究内容.

文章亮点

实验背景

结直肠癌(colorectal carcinoma, CRC)临床上较为常见, 但其发生、发展和侵袭转移的确切分子机制仍不清. 近年来铁死亡在肠癌生物学功能分子机制研究研究中日益受到关注. 铁死亡是由谷胱甘肽依赖性抗氧化功能下降或缺失引起的, 导致不受控制的脂质过氧化和最终的细胞死亡谷氨酸反转运体X(cystine/glutamate antiporter, xCT)可通过介导胱氨酸摄取和谷氨酸释放促进谷胱甘肽的合成, 保护细胞免受氧化应激, 维持细胞的氧化还原平衡, 阻止脂质过氧化诱导的细胞死亡. xCT被证实在多种肿瘤中高表达并与细胞的铁死亡有关.

实验动机

通过生物信息学检索相关数据库、细胞分子实验及临床组织标本探讨xCT在人多种肿瘤和结直肠癌中的表达, 分析xCT基因上游靶基因及其抑制结直肠癌细胞增殖、侵袭的分子机制.

实验目标

探讨xCT基因在结直肠癌中的表达情况, 筛选出xCT基因上游靶基因及其调控的信号通路及分子机制, 评估xCT表达与结直肠癌患者临床病例特征关系.

实验方法

首先采用生物信息分析方法比较xCT基因在人结直肠癌及多种实体肿瘤中的表达及其与淋巴细胞浸润程度关系. 筛序结直肠癌组织与癌旁组织差异表达miRNA并预测靶基为miR-128-3p. 并采用双荧光素酶报告实验验证miR-128-3p与xCT靶向调控关系. 细胞学实验验证miR-128-3p与xCT的靶向关系及其对细胞生物学功能的影响. 免疫组织化学发评价xCT蛋白表达水平及其与结直肠癌患者临床病理特征关系.

实验结果

结直肠癌组织xCT表达水平显著增高. miR-128-3p可靶向结合xCT基因3’UTR区域并抑制SW480细胞增殖和迁

移能力. xCT在结直肠癌患者癌组织中的表达水平显著高于癌旁组织(P<0.05), 而miR-128-3p在癌组织中相对表达水平显著低于癌旁组织(P<0.05). 癌组织中miR-128-3p与xCT表达负相关($r_{pearson}$ = -0.43, P<0.05). xCT阳性表达与肿瘤分化和脉管浸润有关. xCT表达水平与结肠癌CD8+T细胞, 中性粒细胞, 树突状细胞浸润有关(P<0.05), 与直肠癌CD8+T细胞和中性粒细胞浸润有关(P<0.05).

实验结论

xCT在结直肠癌中表达水平明显升高, miR-128-3p可靶向抑制xCT基因表达从而抑制肠癌细胞的增殖和迁移, miR-128-3p/xCT通路为肠癌靶向药物的研发提供了新的思路.

展望前景

小干扰RNA miR-128-3p可靶向调控xCT表达并影响肠癌细胞的生物学功能. 抑制结直肠癌miR-128-3p/xCT信号通路可能是肠癌靶向治疗的新靶点.

5 参考文献

1 Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin* 2018; 68: 394-424 [PMID: 30207593 DOI: 10.3322/caac.21492]

2 Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2019. *CA Cancer J Clin* 2019; 69: 7-34 [PMID: 30620402 DOI: 10.3322/caac.21551]

3 田亚琼, 范志娟, 刘爽, 武玉晶, 刘树业. miRNAs在结直肠癌诊断中的价值和预后分析. 世界华人消化杂志 2019; 27: 1278-1284 [DOI: 10.11569/wcjd.v27.i20.1278]

4 Wang Y, Wei Z, Pan K, Li J, Chen Q. The function and mechanism of ferroptosis in cancer. *Apoptosis* 2020; 25: 786-798 [PMID: 32944829 DOI: 10.1007/s10495-020-01638-w]

5 Elgendy SM, Alyammahi SK, Alhamad DW, Abdin SM, Omar HA. Ferroptosis: An emerging approach for targeting cancer stem cells and drug resistance. *Crit Rev Oncol Hematol* 2020; 155: 103095 [PMID: 32927333 DOI: 10.1016/j.critrevonc.2020.103095]

6 Wu Y, Yu C, Luo M, Cen C, Qiu J, Zhang S, Hu K. Ferroptosis in Cancer Treatment: Another Way to Rome. *Front Oncol* 2020; 10: 571127 [PMID: 33102227 DOI: 10.3389/fonc.2020.571127]

7 Chen X, Yu C, Kang R, Tang D. Iron Metabolism in Ferroptosis. *Front Cell Dev Biol* 2020; 8: 590226 [PMID: 33117818 DOI: 10.3389/fcell.2020.590226]

8 Choi J, Li W, Schindell B, Ni L, Liu S, Zhao X, Gong J, Nyachoti M, Yang C. Molecular cloning, tissue distribution and the expression of cystine/glutamate exchanger (xCT, SLC7A11) in different tissues during development in broiler chickens. *Anim Nutr* 2020; 6: 107-114 [PMID: 32211536 DOI: 10.1016/j.aninu.2019.10.001]

9 Ji X, Qian J, Rahman SMJ, Siska PJ, Zou Y, Harris BK, Hoeksema MD, Trenary IA, Heidi C, Eisenberg R, Rathmell JC, Young JD, Massion PP. xCT (SLC7A11)-mediated metabolic reprogramming promotes non-small cell lung cancer progression. *Oncogene* 2018; 37: 5007-5019 [PMID: 29789716 DOI: 10.1038/s41388-018-0307-z]

10 Zhong W, Weiss HL, Jayswal RD, Hensley PJ, Downes LM, St Clair DK, Chaiswing L. Extracellular redox state shift: A novel approach to target prostate cancer invasion. *Free Radic Biol Med* 2018; 117: 99-109 [PMID: 29421238 DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2018.01.023]

11 Lanzardo S, Conti L, Rooke R, Ruiu R, Accart N, Bolli E, Arigoni M, Macagno M, Barrera G, Pizzimenti S, Aurisicchio L, Calogero RA, Cavallo F. Immunotargeting of Antigen xCT Attenuates Stem-like Cell Behavior and Metastatic Progression in Breast Cancer. *Cancer Res* 2016; 76: 62-72 [PMID: 26567138 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-15-1208]

12 Zheng J, Conrad M. The Metabolic Underpinnings of Ferroptosis. *Cell Metab* 2020; 32: 920-937 [PMID: 33217331 DOI: 10.1016/j.cmet.2020.10.011]

13 Reichert CO, de Freitas FA, Sampaio-Silva J, Rokita-Rosa L, Barros PL, Levy D, Bydlowski SP. Ferroptosis Mechanisms Involved in Neurodegenerative Diseases. *Int J Mol Sci* 2020; 21 [PMID: 33233496 DOI: 10.3390/ijms21228765]

14 Čepelak I, Dodig S, Dodig DČ. Ferroptosis: regulated cell death. *Arh Hig Rada Toksikol* 2020; 71: 99-109 [PMID: 32975106 DOI: 10.2478/aiht-2020-71-3366]

15 Dixon SJ, Lemberg KM, Lamprecht MR, Skouta R, Zaitsev EM, Gleason CE, Patel DN, Bauer AJ, Cantley AM, Yang WS, Morrison B 3rd, Stockwell BR. Ferroptosis: an iron-dependent form of nonapoptotic cell death. *Cell* 2012; 149: 1060-1072 [PMID: 22632970 DOI: 10.1016/j.cell.2012.03.042]

16 Liu J, Xia X, Huang P. xCT: A Critical Molecule That Links Cancer Metabolism to Redox Signaling. *Mol Ther* 2020; 28: 2358-2366 [PMID: 32931751 DOI: 10.1016/j.ymthe.2020.08.021]

17 Wang SF, Chen MS, Chou YC, Ueng YF, Yin PH, Yeh TS, Lee HC. Mitochondrial dysfunction enhances cisplatin resistance in human gastric cancer cells via the ROS-activated GCN2-eIF2α-ATF4-xCT pathway. *Oncotarget* 2016; 7: 74132-74151 [PMID: 27708226 DOI: 10.18632/oncotarget.12356]

18 Sugano K, Maeda K, Ohtani H, Nagahara H, Shibutani M, Hirakawa K. Expression of xCT as a predictor of disease recurrence in patients with colorectal cancer. *Anticancer Res* 2015; 35: 677-682 [PMID: 25667445 DOI: 10.1016/j.anl.2003.09.005]

19 Yin F, Yi S, Wei L, Zhao B, Li J, Cai X, Dong C, Liu X. Microarray-based identification of genes associated with prognosis and drug resistance in ovarian cancer. *J Cell Biochem* 2019; 120: 6057-6070 [PMID: 30335894 DOI: 10.1002/jcb.27892]

20 Polewski MD, Reveron-Thornton RF, Cherryholmes GA, Marinov GK, Aboody KS. SLC7A11 Overexpression in Glioblastoma Is Associated with Increased Cancer Stem Cell-Like Properties. *Stem Cells Dev* 2017; 26: 1236-1246 [PMID: 28610554 DOI: 10.1089/scd.2017.0123]

21 Shin SS, Jeong BS, Wall BA, Li J, Shan NL, Wen Y, Goydos JS, Chen S. Participation of xCT in melanoma cell proliferation in vitro and tumorigenesis in vivo. *Oncogenesis* 2018; 7: 86 [PMID: 30425240 DOI: 10.1038/s41389-018-0098-7]

22 Timmerman LA, Holton T, Yuneva M, Louie RJ, Padró M, Daemen A, Hu M, Chan DA, Ethier SP, van 't Veer LJ, Polyak K, McCormick F, Gray JW. Glutamine sensitivity analysis identifies the xCT antiporter as a common triple-negative breast tumor therapeutic target. *Cancer Cell* 2013; 24: 450-465 [PMID: 24094812 DOI: 10.1016/j.ccr.2013.08.020]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: https://www.baishideng.com

世界华人消化杂志 2021年5月28日; 29(10): 537-542

DOI: 10.11569/wcjd.v29.i10.537

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

文献综述 REVIEW

胃黄斑瘤的研究进展

陈鸿鑫, 易芳芳, 吴艳艳, 祁兴顺

陈鸿鑫, 易芳芳, 吴艳艳, 祁兴顺, 北部战区总医院消化内科 辽宁省沈阳市 110840

陈鸿鑫, 辽宁中医药大学研究生院 辽宁省沈阳市 110031

易芳芳, 大连医科大学研究生院 辽宁省大连市 116044

吴艳艳, 锦州医科大学研究生院 辽宁省锦州市 121001

陈鸿鑫, 研究方向为中西医结合治疗消化疾病.

作者贡献分布: 所有作者对此文所作贡献均等; 本文由陈鸿鑫查阅文献及撰写; 易芳芳, 吴艳艳校正文章书写及格式; 祁兴顺审校.

通讯作者: 祁兴顺, 副主任医师, 110840, 辽宁省沈阳市文化路83号, 北部战区总医院消化内科. xingshunqi@126.com

收稿日期: 2021-03-03
修回日期: 2021-03-24
接受日期: 2021-04-22
在线出版日期: 2021-05-28

Recent advances in research of gastric xanthelasma

Hong-Xin Chen, Fang-Fang Yi, Yan-Yan Wu, Xing-Shun Qi

Hong-Xin Chen, Fang-Fang Yi, Yan-Yan Wu, Xing-Shun Qi, Department of Gastroenterology, General Hospital of Northern Theater Command, Shenyang 110840, Liaoning Province, China

Hong-Xin Chen, Graduate School of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110031, Liaoning Province, China

Fang-Fang Yi, Graduate School of Dalian Medical University, Dalian 116044, Liaoning Province, China

Yan-Yan Wu, Graduate School of Jinzhou Medical University, Jinzhou 121001, Liaoning Province, China

Corresponding author: Xing-Shun Qi, Vice-Chief Physician, Department of Gastroenterology, General Hospital of Northern Theater Command, No. 83 Wenhua Road, Shenyang 110840, Liaoning Province, China. xingshunqi@126.com

Received: 2021-03-03
Revised: 2021-03-24
Accepted: 2021-04-22
Published online: 2021-05-28

Abstract

Gastric xanthelasma has always been considered a benign lesion of the stomach. It is formed by tissue cells or macrophages phagocytizing a large amount of lipid and accumulating in the lamina propria. However, recent studies have found that gastric xanthelasma is associated with precancerous lesions and gastric cancer, and should be differentiated from signet ring cell carcinoma and clear cell carcinoma of the stomach.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Gastric xanthelasma; Precancerous lesions; Gastric cancer

Citation: Chen HX, Yi FF, Wu YY, Qi XS. Recent advances in research of gastric xanthelasma. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2021; 29(10): 537-542
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i10/537.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i10.537

摘要

胃黄斑瘤常被认为是胃部的良性病变, 是组织细胞或巨噬细胞吞噬大量脂质后堆积在固有层而形成的. 然而, 最近研究发现胃黄斑瘤可能与胃部的癌前病变和胃癌相关, 内镜下需与胃印戒细胞癌和胃透明细胞癌加以鉴别.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 胃黄斑瘤; 癌前病变; 胃癌

核心提要: 胃黄斑瘤可能与胃部的癌前病变和胃癌相关, 临床需加以重视.

文献来源: 陈鸿鑫, 易芳芳, 吴艳艳, 祁兴顺. 胃黄斑瘤的研究进展. 世界华人消化杂志 2021; 29(10): 537-542
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i10/537.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i10.537

0 引言

胃黄斑瘤又称脂质岛、胃黄色瘤, 是上消化道内镜检查中一种较为罕见的良性病变, 常单发, 内镜下外观呈黄白色, 大小在1-10 mm之间[1,2]. 胃黄斑瘤的病因及发病机制尚不明确, 可能的病因包括胃粘膜慢性炎症或老化、幽门螺杆菌感染 (*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)、脂质代谢异常、胆汁返流等[3]. 上消化道黄斑瘤以胃黄斑瘤最为多见[4], 胃黄斑瘤需与胃印戒细胞癌等恶性病变相鉴别[5]. 本文对胃黄斑瘤的流行病学、发病机制、临床特征、临床意义、诊断及治疗作一综述.

1 流行病学

胃黄斑瘤男性较女性更为多见[6,7], 男/女患病率之比约为1.60-2.29: 1. 此病可见于所有年龄人群, 且随着年龄的增长, 胃黄斑瘤的患病率逐渐升高[8]; 年龄＞65岁时, 胃黄斑瘤的患病率明显升高[6,7], 这也证明了胃黄斑瘤可能与胃粘膜老化有关[4]. 儿童患此病十分少见, 罕有报告[3,9-11]. 胃黄斑瘤的患病率存在着地域间的差异, 欧洲国家患病率相对较低, 亚洲国家(韩国和日本)患病率明显高于其他地区, 见图1.

2 发病机制

2.1 *H. pylori*感染 胃黄斑瘤与*H. pylori*感染的关系尚存争议. 有研究者认为*H. pylori*感染是胃黄斑瘤的病因之一, *H. pylori*感染可导致胃粘膜内氧自由基含量大幅度增加, 促使低密度脂蛋白持续过度氧化, 进而形成胃黄斑瘤[12]. Hori等[13]通过间接免疫过氧化酶法检测胃黄斑瘤组织切片的*H. pylori*抗原分布, 发现积聚在固有层的泡沫组织细胞胞浆中存在*H. pylori*抗原, 认为胃粘膜表面感染*H. pylori*后, 可渗透到固有层, 继而诱导巨噬细胞向泡沫细胞转化, 形成胃黄斑瘤. 然而, 在最近的三项病例对照研究中并未发现胃黄斑瘤与*H. pylori*感染有关, 两组*H. pylori*感染阳性率无统计学差异(图2)[1,2,14].

2.2 胃粘膜慢性炎症和老化 长期慢性炎症和细胞老化导致胃粘膜细胞坏死破裂, 大量脂质流出, 被间质组织细胞和巨噬细胞吞噬, 巨噬细胞内大量脂质堆积, 进而成为泡沫细胞, 泡沫细胞在固有层大量聚集, 最终形成了胃黄斑瘤[4,15].

2.3 脂质代谢异常 低密度脂蛋白被自由基氧化或其他化学基团修饰, 氧化和乙酰化的低密度脂蛋白与一种或多种“清道夫受体”结合. 清道夫受体是一种多功能的脂蛋白结合受体, 在巨噬细胞上的表达不受细胞内脂质的负反馈调节, 即细胞可以无限制的摄入被氧化的低密度脂蛋白并沉积在细胞内, 形成泡沫细胞, 泡沫细胞聚集最终导致了胃黄斑瘤[16]. 脂质代谢异常与胃黄斑瘤形成之间关系尚存争议. 目前, 两项病例对照研究发现, 胃黄斑瘤患者组的高密度脂蛋白水平显著低于对照组, 甘油三酯水平显著高于对照组, 两组总胆固醇、低密度脂蛋白水平无统计学差异, 因此, 认为胃黄斑瘤可能与脂质代谢异常有关[2,17]. 有研究报道, 胃黄斑瘤合并脂质代谢异常的患者血脂正常后胃黄斑瘤也随之消失[18]. 然而, 亦有病例报告发现胃黄斑瘤患者的血脂水平无明显异常[19,20].

2.4 胆汁返流 胃大部切除术数年后, 胃黄斑瘤的患病率明显升高. Billroth Ⅱ切除术后1-3年胃黄斑瘤的患病率为6.2%, 术后23年胃黄斑瘤的患病率高达59.5%[21]. 这可能是胃部手术后胆汁反流所致, 胆汁反流使胃粘膜运输脂质的能力下降, 脂质堆积, 进而导致泡沫细胞的积累, 最终形成胃黄斑瘤[22]. 手术标本的初步细胞化学检查发现, 病变处胆固醇酯浓度远高于周围粘膜. 同时, 所有未行胃部手术而患胃黄斑瘤的患者均在内镜下发现胆汁返流[21]. 也有研究认为, 由于胃上皮长期暴露于胆汁内而导致肠上皮化生, 肠上皮吸收脂质, 促使胃黄斑瘤形成[3,23].

3 临床特征

胃黄斑瘤患者多无典型临床症状, 可伴随腹痛、腹胀、消化不良、恶心等[2,4,24]. 胃黄斑瘤合并增生性息肉的患者临床表现为胃灼热、疼痛或胀气[20]. 弥漫性胃黄斑瘤的患者可表现为恶心[25]. 胃黄斑瘤合并胃印戒细胞癌的患者可出现反复上腹部不适以及消瘦[5].

4 内镜下表现

胃黄斑瘤可出现在胃的任何部位, 最常见于胃窦, 内镜下表现为黄白色、单发或多发、边界清楚的结节样或斑块样病变, 直径＜10 mm[1,2,24,26](图3). 少数情况下, 胃黄斑瘤内镜下的表现与胃透明细胞癌和胃印戒细胞癌相似, 难以鉴别[5]. 弥漫性胃黄斑瘤内镜下表现为多个白色或黄色的结节状粘膜病变, 表面呈蕨类样; 直径多为3-8 mm的黄色结节样病变, 窄带成像显示胃内各部位多发白斑, 提示脂质沉积. 据病例报道提示, 4例

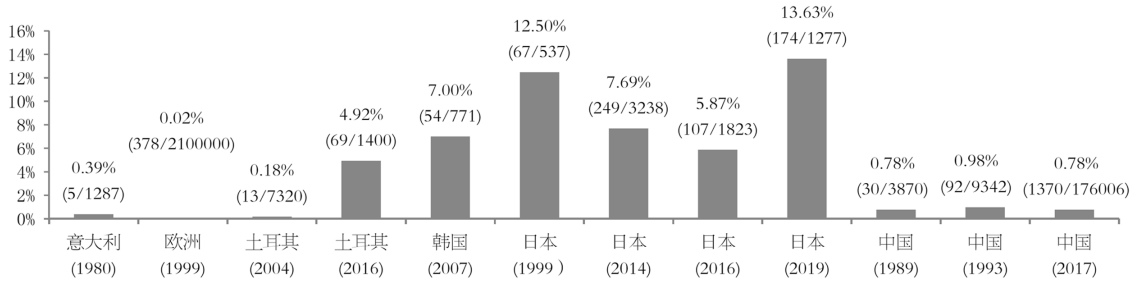


图 1　各地区胃黄斑瘤的患病率.

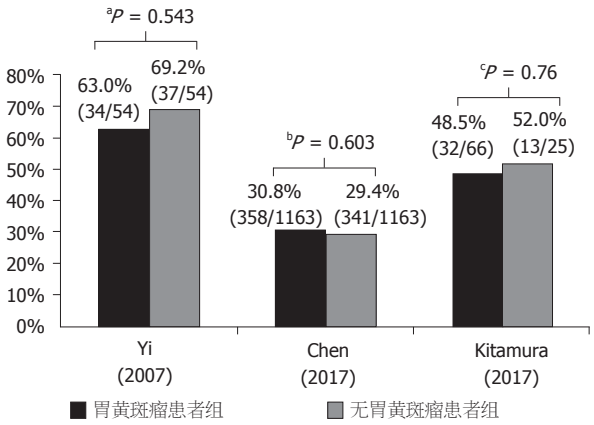


图 2　有无胃黄斑瘤患者幽门螺杆菌感染阳性率. [a]Yi(2007), [b]Chen(2017), [c]Kitamura(2017): 胃黄斑瘤患者 *vs* 无胃黄斑瘤患者.

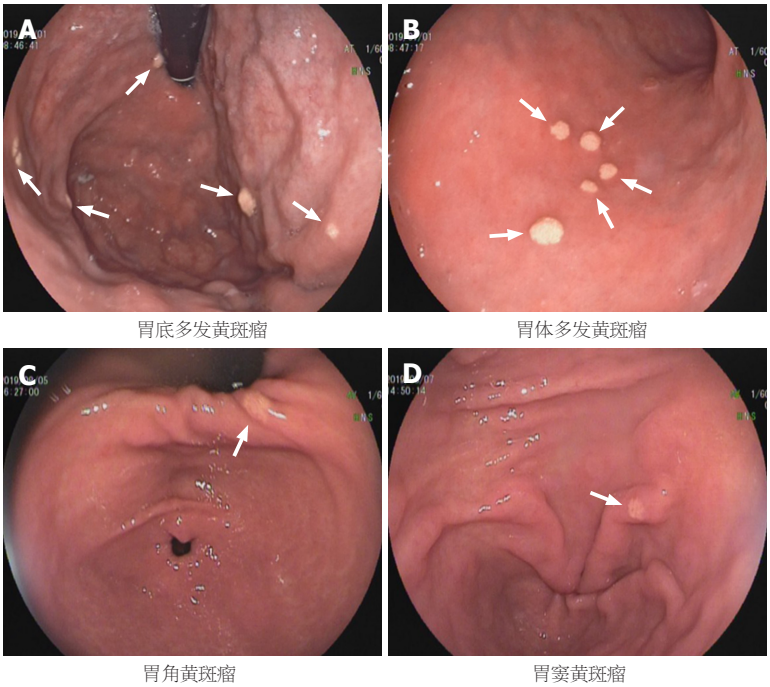


图 3　胃黄斑瘤内镜下表现(本图来自北部战区总医院消化内科的患者).

弥漫性胃黄斑瘤患者中, 3例出现了脂质异常[25,27-29]. 胃黄斑瘤合并肠上皮化生的内镜下表现为胃部可见大量轻度隆起的黄白色粘膜病变, 表面不规则, 有小块的粉红色和白色区域[30]. 黄色增生性息肉罕见, 患病率为5/4497(0.11%); 内镜下表现为大小2-6 mm黄白色息肉样病变, 其特点为黄斑瘤生长在增生性息肉上[20].

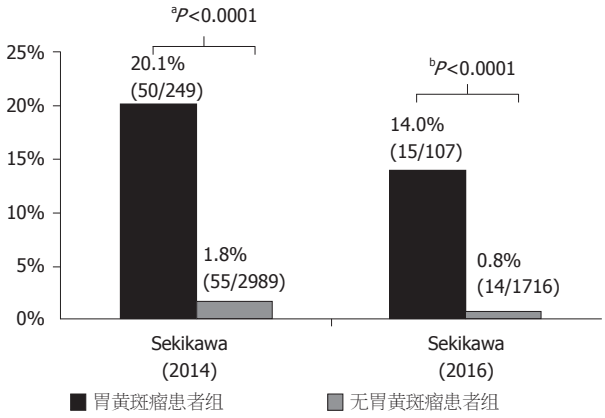


图 4　有无胃黄斑瘤患者胃癌患病率. [a]Sekikawa(2014), [b]Sekikawa(2016): 胃黄斑瘤患者 *vs* 无胃黄斑瘤患者.

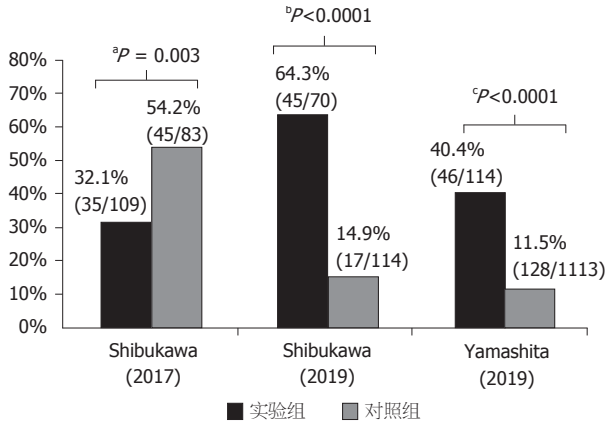


图 5　实验组和对照组胃黄斑瘤患病率. [a]Shibukawa(2017): 实验组(孤立性胃癌患者) *vs* 对照组(同时性或异时性胃癌患者); [b]Shibukawa(2019): 实验组(根除幽门螺杆菌胃癌患者) *vs* 对照组(根除幽门螺杆菌无胃癌患者); [c]Yamashita (2019): 实验组 (胃癌患者) *vs* 对照组(无胃癌患者).

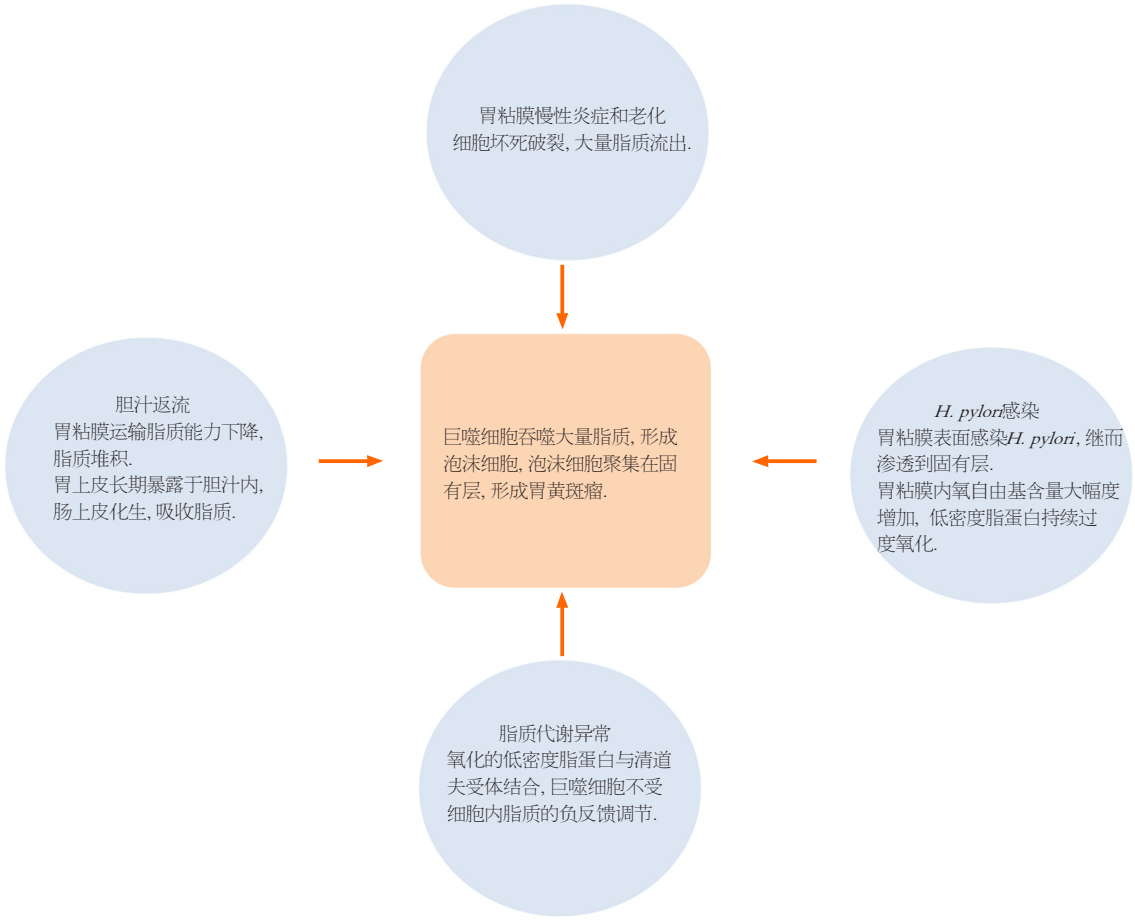


图 6　胃黄斑瘤可能的病因及发病机制. *H. pylori*: 幽门螺杆菌.

5 组织病理学

胃黄斑瘤的组织病理学特点是固有层聚集大量的泡沫细胞. 这些泡沫细胞由组织细胞或巨噬细胞在吞噬大量脂质后形成, 在低温切片中发现泡沫细胞内含有胆固醇酯、脂肪酸、中性脂肪、低密度脂蛋白和氧化的低密度脂蛋白等. 同时, 存在少数平滑肌细胞、浆细胞、淋巴细胞、周细胞、成纤维细胞和含有脂滴的施万细胞[16]. 泡沫细胞呈多边形或圆形, 有明显的细胞膜, 细胞核偏小, 且位于细胞中心或稍偏离中心的位置, 呈圆形或卵圆形, 胞质稀疏, 内可见许多液泡[4]. 在新鲜标本中, 这些泡

沫细胞经油红O染色呈强阳性, 马森三色染色呈弱阳性, 过碘酸雪夫反应染色呈阴性[24]. 组织切片检查可排除与胃黄斑瘤有关的胃粘膜癌前病变或者胃恶性肿瘤[31,32].

6 临床意义

胃黄斑瘤常被认为是胃部的良性病变, 但近年多项研究发现, 胃黄斑瘤与胃癌密切相关[6,7,33-35]. Sekikawa等[7]分析了3238例行内镜检查的患者数据, 发现胃黄斑瘤患者胃癌的患病率明显高于无胃黄斑瘤患者 (20.1 *vs* 1.8%, P<0.0001). 匹配年龄、性别、胃萎缩程度后, 胃黄斑瘤患者胃癌患病率仍明显高于对照组 (20.8% *vs* 3.3%, P<0.0001), 提示胃黄斑瘤与胃癌相关, 图4. 一项对1832例患者进行3年内镜随访的回顾性分析发现[6], 107例胃黄斑瘤患者中有15例 (14.0%) 发生胃癌, 而1716例无胃黄斑瘤患者中仅有14例(0.8%)发生胃癌. 这提示胃黄斑瘤与胃癌的发生独立相关[Odds Ratio比值比(OR): 5.85, 95% Confidence Interval置信区间(CI): 2.67-12.82, P<0.001], 胃黄斑瘤是预测早期胃癌发生的标志, 图4. Shibukawa等[33]对192例胃癌患者进行了回顾性研究, 发现孤立性胃癌患者胃黄斑瘤的患病率显著低于同时性或异时性胃癌患者 (32.1% *vs* 54.2%, P = 0.003), 多变量分析显示胃黄斑瘤与同时性或异时性胃癌独立相关 (OR: 2.11, 95%CI: 1.14-3.99, P = 0.02), 故胃黄斑瘤是同时性或异时性胃癌的预测标志, 图5. 一项纳入184例根除*H. pylori*患者的回顾性研究中[34], 将根除*H. pylori*后的患者分为有无胃癌两组, 两组胃黄斑瘤患病率分别为(64.3% *vs* 14.9%, P<0.0001), 多变量分析显示胃黄斑瘤是根除*H. pylori*后发生胃癌的独立预测因素(OR: 5.64, 95%CI: 2.47-12.9, P<0.001); 匹配胃萎缩程度后, 仍证实胃黄斑瘤是根除*H. pylori*后胃癌发生的独立预测因素, 图5. 此外, Yamashita等[35]回顾性分析1127例患者内镜结果后发现, 胃癌患者胃黄斑瘤患病率明显高于无胃癌人群(40.4% *vs* 11.5%, P<0.0001), 图5. 综上, 胃黄斑瘤与胃癌的发生、存在以及根除*H. pylori*后胃癌发生有密切的关系.

7 治疗与随访

胃黄斑瘤可在无任何治疗干预的情况下缩小或者消失, 所以通常无需治疗[29]. 当胃黄斑瘤合并增生性息肉或其他胃部疾病时, 可在胃黄斑瘤的基底部周围注射稀释的肾上腺素溶液 (0.0125 mg/mL) 后, 再用热活检钳或内镜下粘膜切除术的圈套器完整切除[4,36]. 也可通过内镜下氩离子束凝固术、热探头治疗胃黄斑瘤. 多数研究者认为胃黄斑瘤无需内镜随访[15,37], 然而, 考虑胃黄斑瘤与*H. pylori*感染、萎缩性胃炎、肠上皮化生等病变, 甚至胃癌关系密切, 胃黄斑瘤患者需要加强内镜随访, 观察上述病变的发生[9,36].

8 总结

胃黄斑瘤是上消化道较为罕见的病变, 主要表现为胃粘膜表面黄白色结节或斑块样改变. 它可能与*H. pylori*感染、胃粘膜炎症与老化、脂质代谢异常、胆汁返流等有关, 图6. 胃黄斑瘤内镜下表现与恶性病变相似, 所以在内镜检查的过程中发现胃黄斑瘤时, 需仔细观察是否有其他癌前病变或恶性病变的存在, 并且胃黄斑瘤患者需进行内镜随访来观察是否发生胃癌. 由于胃黄斑瘤发病率低, 研究所能包括的样本量有限, 且以上报道均为单中心的研究结果, 研究方法缺乏大样本、多中心数据. 所以上述结果需要更多的研究来进一步证明.

9 参考文献

1 Yi SY. Dyslipidemia and H pylori in gastric xanthomatosis. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 4598-4601 [PMID: 17729413 DOI: 10.3748/wjg.v13.i34.4598]
2 Chen Y, He XJ, Zhou MJ, Li YM. Gastric xanthelasma and metabolic disorders: A large retrospective study among Chinese population. *World J Gastroenterol* 2017; 23: 7756-7764 [PMID: 29209116 DOI: 10.3748/wjg.v23.i43.7756]
3 Collins MH, Olazagasti JC, Fitzgerald J. Gastric xanthomas in a child. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1994; 19: 444-447 [PMID: 7877001 DOI: 10.1097/00005176-199411000-00014]
4 Gencosmanoglu R, Sen-Oran E, Kurtkaya-Yapicier O, Tozun N. Xanthelasmas of the upper gastrointestinal tract. *J Gastroenterol* 2004; 39: 215-219 [PMID: 15064997 DOI: 10.1007/s00535-003-1288-3]
5 Ludvíková M, Michal M, Datková D. Gastric xanthelasma associated with diffuse signet ring carcinoma. A potential diagnostic problem. *Histopathology* 1994; 25: 581-582 [PMID: 7698735 DOI: 10.1111/j.1365-2559.1994.tb01377.x]
6 Sekikawa A, Fukui H, Sada R, Fukuhara M, Marui S, Tanke G, Endo M, Ohara Y, Matsuda F, Nakajima J, Henmi S, Saito S, Tsumura T, Maruo T, Kimura T, Osaki Y. Gastric atrophy and xanthelasma are markers for predicting the development of early gastric cancer. *J Gastroenterol* 2016; 51: 35-42 [PMID: 25904098 DOI: 10.1007/s00535-015-1081-0]
7 Sekikawa A, Fukui H, Maruo T, Tsumura T, Kanesaka T, Okabe Y, Osaki Y. Gastric xanthelasma may be a warning sign for the presence of early gastric cancer. *J Gastroenterol Hepatol* 2014; 29: 951-956 [PMID: 24372908 DOI: 10.1111/jgh.12512]
8 Naito M, Miura S, Funaki C, Tateishi T, Kuzuya F. [Gastric xanthomas in the elderly]. *Nihon Ronen Igakkai Zasshi* 1991; 28: 683-687 [PMID: 1753432 DOI: 10.3143/geriatrics.28.683]
9 Wetzler G, Felix AA, Lipton JF. Gastric xanthelasma. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2010; 51: 1 [PMID: 20543717 DOI: 10.1097/MPG.0b013e3181e2c6f8]
10 Gasparetto M, Gianmaria P, Francesca G, Mara C, Graziella G. A Rare Case of Pediatric Gastric Xanthoma: Diagnosis and Follow up. *Journal of Gastroenterology and Hepatology Research* 2013; 2: 607-608 [DOI: 10.6051/j.issn.2224-3992.2013.02.280]
11 Halabi I, Yaseen M, Vesoulis Z. Multiple gastric xanthomas in a 3-year-old patient. *Gastroenterol Hepatol (NY)* 2010; 6: 181-183 [PMID: 20567565]
12 Isomoto H, Mizuta Y, Inoue K, Matsuo T, Hayakawa T, Miyazaki M, Onita K, Takeshima F, Murase K, Shimokawa

I, Kohno S. A close relationship between Helicobacter pylori infection and gastric xanthoma. *Scand J Gastroenterol* 1999; 34: 346-352 [PMID: 10365893 DOI: 10.1080/003655299750026344]
13 Hori S, Tsutsumi Y. Helicobacter pylori infection in gastric xanthomas: immunohistochemical analysis of 145 lesions. *Pathol Int* 1996; 46: 589-593 [PMID: 8893228 DOI: 10.1111/j.1440-1827.1996.tb03658.x]
14 Kitamura S, Muguruma N, Okamoto K, Tanahashi T, Fukuya A, Tanaka K, Fujimoto D, Kimura T, Miyamoto H, Bando Y, Takeuchi H, Shiba M, Takayama T. Clinicopathological Assessment of Gastric Xanthoma as Potential Predictive Marker of Gastric Cancer. *Digestion* 2017; 96: 199-206 [PMID: 28965110 DOI: 10.1159/000481346]
15 Lechago J. Lipid islands of the stomach: an insular issue? *Gastroenterology* 1996; 110: 630-632 [PMID: 8566613 DOI: 10.1053/gast.1996.v110.agast960630]
16 Kaiserling E, Heinle H, Itabe H, Takano T, Remmele W. Lipid islands in human gastric mucosa: morphological and immunohistochemical findings. *Gastroenterology* 1996; 110: 369-374 [PMID: 8566582 DOI: 10.1053/gast.1996.v110.pm8566582]
17 Chang FY, Shih CY, Lee SD. Abnormal serum lipid levels in subjects with gastric xanthoma. *Clin Chim Acta* 1993; 217: 233-235 [PMID: 8261635 DOI: 10.1016/0009-8981(93)90173-2]
18 Coates AG, Nostrant TT, Wilson JA, Dobbins WO 3rd, Agha FP. Gastric xanthomatosis and cholestasis. A causal relationship. *Dig Dis Sci* 1986; 31: 925-928 [PMID: 3731984 DOI: 10.1007/bf01303212]
19 Jeong YS, Park H, Lee DY, Lee SI, Park C. Gastric xanthomatosis. *Gastrointest Endosc* 2004; 59: 399-400 [PMID: 14997141 DOI: 10.1016/s0016-5107(03)02593-8]
20 Bassullu N, Turkmen I, Uraz S, Yagiz Korkmaz P, Memisoglu R, Gultekin OS, Bulbul Dogusoy G. Xanthomatous hyperplastic polyps of the stomach: clinicopathologic study of 5 patients with polypoid gastric lesions showing combined features of gastric xanthelasma and hyperplastic polyp. *Ann Diagn Pathol* 2013; 17: 72-74 [PMID: 23020998 DOI: 10.1016/j.anndiagpath.2012.08.001]
21 Domellöf L, Eriksson S, Helander HF, Janunger KG. Lipid islands in the gastric mucosa after resection for benign ulcer disease. *Gastroenterology* 1977; 72: 14-18 [PMID: 830226]
22 Terruzzi V, Minoli G, Butti GC, Rossini A. Gastric lipid islands in the gastric stump and in non-operated stomach. *Endoscopy* 1980; 12: 58-62 [PMID: 7363870 DOI: 10.1055/s-2007-1021711]
23 Heilmann K. Lipid islands in gastric mucosa. *Beitr Pathol* 1973; 149: 411-419 [PMID: 4771310]
24 Kumar PV, Monabati A, Naini MA, Lankarani KB, Fattahi MR, Asadilari M. Gastric xanthoma: a diagnostic problem on brushing cytology smears. *Acta Cytol* 2006; 50: 74-79 [PMID: 16514844 DOI: 10.1159/000325898]
25 Basyigit S, Aktas B, Simsek G, Kucukazman M. Difuse gastric xantomatosis: an interesting endoscopic finding of xanthoma. *Chin Med J (Engl)* 2014; 127: 3427 [PMID: 25269907]
26 Chen YS, Lin JB, Dai KS, Deng BX, Xu LZ, Lin CD, Jiang ZG. Gastric xanthelasma. *Chin Med J (Engl)* 1989; 102: 639-643 [PMID: 2517621]
27 Wu JH. Gastric Xanthomatosis: A Rare Presentation of a Common Disorder. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2016; 14: A18 [PMID: 26905903 DOI: 10.1016/j.cgh.2016.02.019]
28 Hashimoto R, Torralba EJ, Li X. Diffuse Gastric Xanthomatosis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2020; 18: e132 [PMID: 31401362 DOI: 10.1016/j.cgh.2019.07.064]
29 De Roberto G, Ravizza D, Fiori G, Trovato C, Maffini F, Tamayo D, Crosta C. A massive gastric xanthomatosis. *Endoscopy* 2009; 41 Suppl 2: E54-E55 [PMID: 19319778 DOI: 10.1055/s-2008-1077442]
30 Gravina AG, Iacono A, Alagia I, D'Armiento FP, Sansone S, Romano M. Gastric xanthomatosis associated with gastric intestinal metaplasia in a dyspeptic patient. *Dig Liver Dis* 2009; 41: 765 [PMID: 18829401 DOI: 10.1016/j.dld.2008.08.003]
31 Alzahrani M, Alqunaitir A, Alsohaibani M, Al-Rikabi AC. Gastric xanthelasma associated with hyperplastic polyp and mucosal erosions: report of an unusual case and literature review. *Oxf Med Case Reports* 2018; 2018: omy051 [PMID: 30151218 DOI: 10.1093/omcr/omy051]
32 Oviedo J, Swan N, Farraye FA. Gastric xanthomas. *Am J Gastroenterol* 2001; 96: 3216-3218 [PMID: 11721787 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2001.05293.x]
33 Shibukawa N, Ouchi S, Wakamatsu S, Wakahara Y, Kaneko A. Gastric xanthoma is a predictive marker for metachronous and synchronous gastric cancer. *World J Gastrointest Oncol* 2017; 9: 327-332 [PMID: 28868113 DOI: 10.4251/wjgo.v9.i8.327]
34 Shibukawa N, Ouchi S, Wakamatsu S, Wakahara Y, Kaneko A. Gastric Xanthoma Is a Predictive Marker for Early Gastric Cancer Detected after Helicobacter pylori Eradication. *Intern Med* 2019; 58: 779-784 [PMID: 30449773 DOI: 10.2169/internalmedicine.0925-18]
35 Yamashita K, Suzuki R, Kubo T, Onodera K, Iida T, Saito M, Arimura Y, Endo T, Nojima M, Nakase H. Gastric Xanthomas and Fundic Gland Polyps as Endoscopic Risk Indicators of Gastric Cancer. *Gut Liver* 2019; 13: 409-414 [PMID: 30600671 DOI: 10.5009/gnl17136]
36 Dhakal M, Dhakal OP, Bhandari D, Gupta A. Gastric xanthelasma: an unusual endoscopic finding. *BMJ Case Rep* 2013; 2013 [PMID: 24165503 DOI: 10.1136/bcr-2013-201017]
37 Jansen HJ, van Krieken JH, Römkens TE. Yellow-white lesions in the upper gastrointestinal tract. Gastric xanthelasmas. *Neth J Med* 2009; 67: 360-361 [PMID: 19915233]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: https://www.baishideng.com

世界华人消化杂志 2021年5月28日; 29(10): 543-549

DOI: 10.11569/wcjd.v29.i10.543

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

文献综述 REVIEW

以超声检测为基础的NALFD肝脏脂肪变性的无创诊断

刘 芳

刘芳, 天津市第三中心医院, 天津市肝胆疾病研究所, 天津市人工细胞工程技术研究中心 天津市 300170

刘芳, 副主任医师, 主要从事肝脏及消化系统疾病研究.

作者贡献分布: 本综述由刘芳完成.

通讯作者: 刘芳, 副主任医师, 300170, 天津市河东区津塘路83号, 天津市第三中心医院消化肝病科, 天津市肝胆疾病研究所, 天津市人工细胞工程技术研究中心. 1295376151@qq.com

收稿日期: 2021-03-24
修回日期: 2021-04-14
接受日期: 2021-04-22
在线出版日期: 2021-05-28

Ultrasound-based techniques for noninvasive diagnosis of liver steatosis in nonalcoholic fatty liver disease

Fang Liu

Fang Liu, Tianjin Third Central Hospital, Tianjin Institute of Hepatobiliary Disease, Artificial Cell Engineering Technology Research Center, Tianjin 300170, China

Corresponding author: Fang Liu, Deputy Chief Physician, Tianjin Third Central Hospital, Tianjin Institute of Hepatobiliary Disease, Artificial Cell Engineering Technology Research Center, No. 83 Jintang Road, Hedong District, Tianjin 300170, China. 1295376151@qq.com

Received: 2021-03-24
Revised: 2021-04-14
Accepted: 2021-04-22
Published online: 2021-05-28

Abstract

Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) has become a worldwide medical and social problem. Although nonalcoholic steatosis can be reversed, some patients still progress to nonalcoholic steatohepatitis, liver cirrhosis, and even liver cancer. Therefore, early diagnosis and accurate disease assessment of NAFLD have become an important basis for its intervention treatment and prognosis improvement. Although liver biopsy is the gold standard for the diagnosis of NAFLD, it is not an ideal reference standard, and MRI-PDFF is more often used in clinical research. The non-invasive examination based on ultrasound detection has also become a hot spot of NAFLD research. This paper discusses the ultrasonic diagnosis technology for liver steatosis in NAFLD, with an aim to provide a safe and practical basis for the diagnosis, disease evaluation, and treatment intervention of NAFLD.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Controlled attenuation parameter; Quantitative ultrasound; Nonalcoholic fatty liver disease; Liver steatosis

Citation: Liu F. Ultrasound-based techniques for noninvasive diagnosis of liver steatosis in nonalcoholic fatty liver disease. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2021; 29(10): 543-549
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i10/543.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i10.543

摘要

非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)已成为全球普遍关注的医学问题和社会问题, 尽管非酒精性肝脏脂肪变性可以逆转, 但是仍然有部分患者进展成为NASH、肝硬化甚至肝癌, 因此NAFLD的早期诊断、准确疾病评估成为NAFLD干预治疗、改善预后的重要基础. 尽管肝活检作为NAFLD诊断的金标准, 但并不是一个理想的参考标准, 而MRI-PDFF更多用于临床研究中. 以超声检测为基础的非侵入性检查也成为NAFLD研究的热点, 本文对NAFLD的肝脏脂肪变性的超声诊断技术进行分析, 为NAFLD的诊断、疾病评估、治疗干预提供

安全和实用的依据.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 受控衰减参数; 定量超声; 非酒精性脂肪性肝病; 肝脏脂肪变性

核心提要: 随着非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)患病率增加, 拥有一种即时、准确、定量、经济、安全的诊断及评估肝脏脂肪变性程度的非侵入性技术是非常重要的, 以超声检测为基础的各种定量超声技术的研发和进一步的临床应用为NALFD诊断、疾病评估、治疗干预、疗效评估等研究提供了新思路.

文献来源: 刘芳. 以超声检测为基础的NALFD肝脏脂肪变性的无创诊断. 世界华人消化杂志 2021; 29(10): 543-549
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i10/543.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i10.543

0 引言

非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)是遗传易感、环境因素和宿主代谢紊乱相互作用导致的一种多系统受累的代谢相关性疾病, 与代谢综合征(metabolic syndrome, MetS)、2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)互为因果[1]. 随着肥胖和代谢综合征患病率增加, NAFLD已成为全球普遍关注的医学问题和社会问题[2,3], 全球成年人NAFLD患病率约6.3%-45%, 中国等亚洲国家的NAFLD患病率超过25%[4], 在我国随着乙肝疫苗的广泛普及、有效抗乙肝/丙肝病毒治疗药物的应用, NAFLD逐渐取代病毒性肝炎成为最常见的慢性肝脏疾病.

NAFLD包括非酒精性肝脏脂肪变性/脂肪肝(non-alcoholichepatic steatosis)、非酒精性脂肪性肝炎(nonalcoholic steatohepatitis, NASH)、肝硬化和肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)等疾病谱[5], 目前认为非酒精性脂肪肝在积极改善生活方式及药物干预后可以达到疾病逆转, 但是仍然有部分患者进展成为NASH、肝硬化甚至肝癌[6-8]. 此外, NAFLD还与2型糖尿病、代谢综合征、动脉硬化性心血管疾病、骨质疏松、慢性肾脏疾病、结直肠肿瘤、乳腺癌等慢性病的发生有关[9]. 因此NAFLD的早期诊断、准确疾病评估成为NAFLD干预治疗、延缓疾病进展、改善预后的重要基础.

肝活检(liver biopsy)作为NAFLD诊断的金标准, 通过肝脏组织的病理学改变以评估肝脏脂肪变性、炎症坏死、纤维化及肝硬化程度. 肝脏脂肪变性是一个病理性概念, 组织学上主要特征是肝细胞内过量脂滴堆积[10,11], 以可见脂滴在肝细胞内所占比例来判断肝脏脂肪变性的程度, 分为0级<5%肝细胞, 1级5%-33%, 2级33%-66%, 3级>66%, 但是该病理分级仅为含有过量脂肪的肝细胞比例的二维评估, 而不考虑脂肪所占体积. 但是, 由于肝活检局限性包括取样误差、病理医生间差异、侵入性操作、肝穿刺相关并发症等等, 限制其广泛应用, 因此肝活检并不是一个理想的参考标准. 磁共振成像质子密度脂肪分数(MRI-PDFF)逐渐成为重要的非侵入性定量肝脏脂肪变性的检测方法[12-15], 可替代肝活检, 然而MRI-PDFF价格昂贵、检测复杂, 不适用于大规模检测, 更多用于临床研究中.

随着非侵入性检查方法的研究及发展, 以超声检测为基础的非侵入性检查也成为NAFLD研究热点, 本综述着重于分析超声诊断技术评估NAFLD的肝脏脂肪变性, 为NAFLD的诊断、疾病评估、治疗干预、预后判断提供安全和实用的依据.

1 普通B型超声检测

迄今为止普通超声检查仍然是临床应用范围最广泛的NAFLD筛查及诊断的检测手段, 已被临床指南推荐为一线的诊断流程. 普通超声检查通过主观评估肝脏内脂肪浸润程度, 初步判断脂肪肝存在及其脂肪肝分级, 既往研究认为超声检查对于轻度脂肪肝的敏感性并不高, 在肝活检1级脂肪变性的诊断率约12.0%-49.8%[16], 易受肥胖、肠道内气体、肝纤维化等因素影响; 另外, 由于操作者之间的主观判断及肝脏选择区域的差异也会导致诊断结果一致性不佳. Kim等[17]提出普通超声下联合诊断, 该研究回顾性分析126例成年NAFLD受试者, 在肝脏前场回声增强、远场回声衰减、肝肾回声对比以及肝内血管结构模糊等方面, 认为肝肾回声对比是超声诊断脂肪肝较敏感指标, 当联合肝肾异常回声和门静脉回声消失时, 诊断2级以上肝脏脂肪变性的敏感性和特异性有所提高(分别为100%和85.9%, AUROC为0.930). 而普通超声下Hamaguchi评分[18]同样可以一定程度上提高NAFLD肝脏脂肪变性的诊断率, 该评分依据超声下肝脏前场回声增强和肝肾回声对比(评分0-3)、远场回声衰减(评分0-2)、肝内血管结构模糊(评分0-1), 以评分的形式对脂肪肝超声断进行量化评估, 研究共纳入94例肝活检的NAFLD患者和4826名健康志愿者, 当评分≥2时NAFLD诊断的准确性明显提高(敏感性91.7%, 特异性100%, AUROC0.98). 尽管如此, 尚需要在大量的临床工作加以进一步验证.

2 肝肾脂肪变性指数

针对普通超声检测在肝脏脂肪变性方面的局限性,

有研究提出肝肾脂肪变性指数, 肝肾脂肪变性指数(hepatorenal steatosis index, HSI)是利用普通超声相关指标的肝肾回声差异和肝肾回声比值(肝脏特定区域与右肾皮质特定区域间平均回波强度之比)计算而得出. 在诊断脂肪肝中肝肾指数随着不同研究纳入人群特征不同、参考标准(肝活检或MRI-PDFF)不同以及计算的专门软件不同, 其临界值有所不同. Tanpowpong等[19]以MRI-PDF为标准, 使用不带附加软件的标准工作站来计算肝肾指数, 存在肝脏脂肪变性的患者和无脂肪变性的对照组之间的肝肾指数分别为1.49和1.11(P<0.001), AUROC为0.875, 敏感性96.6%, 特异性74.8%, 97例NAFLD患者中诊断肝脏脂肪变性1级的肝肾指数的最佳临界值1.18(AUROC 92.6, 敏感性90.0%, 特异性80.0%), 诊断2级和3级的最佳临界值分别为1.55和1.60(敏感性大于90%, 特异性大于80%). 而Petzold等[20]以肝脏组织学为参考, 使用图片存档和通讯系统(PACS; GE Healthcare Centricity)计算肝肾指数, 认为肝肾指数与肝脏脂肪变性等级之间存在独立的正相关(P<0.001), 其中肝肾指数在诊断肝脏脂肪变性的临界值为1.46, 敏感性为42.7%, 特异性为90.7%, 脂肪变性S≥1的肝肾指数为1.05, 灵敏度为85.4%, 特异性为30.7%, 脂肪变性S≥2和S = 3的最佳临界值分别为1.48和1.79. Shiralkar等[21]直接从PACS通过医学数字成像和医学通信(DICOM)图像快速准确计算肝肾指数, 无需专用软件即可得出诊断肝脏脂肪变性临界点1.34, 可识别超过5%肝脏脂肪变性, 具有更高的敏感性和特异性(92%, 85%). 肝肾脂肪变性指数在一定程度上弥补了普通超声检测轻度肝脏肪变性的不足, 同时可以提高操作者间的一致性, 但是肝肾脂肪变性指数在大量患者中缺乏验证, 尚不清楚对临床工作的可用性.

3 受控衰减参数

近年来超声弹性成像技术迅速发展, 利用弹性力学、生物力学等物理因素的作用, 获得组织弹性数据为超声诊断肝脏脂肪变性带来实质性突破.

瞬时弹性成像技术的受控衰减参数(controlled attenuation parameter, CAP)是世界范围内使用最广泛的一种基于超声的定量诊断肝脏脂肪变性的技术, CAP利用超声波在肝组织及脂肪组织中的传播速度不同, 计算反向射频信号以评估肝脏脂肪浸润. 目前临床上以中国FibroTouch和法国FibroScan设备为主. 最近一项前瞻性研究[22]表明CAP和MRI-PDFF在脂肪变性严重程度及其变化之间呈正相关, CAP的1 dB/m的变化与MRI-PDFF的0.039%的变化相关, CAP诊断肝脏脂肪变性临界值为291.6 dB/m, 对于脂肪变性<10%、10-20%和>20%, CAP临界值为254、301.5和329.5 dB/m, 当脂肪变性≥10%和>20%时CAP诊断性能达到0.821和0.814. Piccinni等[23]在一项慢性肝病患者(包括非酒精性脂肪肝/非酒精性脂肪性肝炎以及合并代谢综合症)的回顾性研究中也提示CAP可以准确识别任何级别的肝脏脂肪变性(接收操作特征曲线下的区域AUROC 0.847, P<0.0001), 44例患者(43例患有代谢综合征)患有重度脂肪变性. 这些结果与其他研究分析结果相符[24-28], 目前认为CAP能够检出5%以上的肝脏脂肪变性, 在区分轻度肝脂肪变与中重度肝脂肪变方面优于普通超声检测[16,29-30], 对NAFLD的分级诊断具有重要的临床意义.

在瞬时弹性成像技术的受控衰减参数(CAP)应用过程中, Pu等[31]在1297例经肝活检证实的NAFLD患者的荟萃研究中提出, CAP正确诊断脂肪肝的可能性91%, 错误诊断的可能性11%, 对于S1患者CAP诊断的敏感性87%, 特异性91%, 诊断比值比(DOR)84.35, AUROC为0.9588, 优于≥S2和≥S3脂肪变性的诊断能力, CAP的DOR和AUROC对S1和S2的肝脂肪变性比对≥S3的脂肪变性具有更好的诊断价值, CAP在严重肝脏脂肪变性诊断欠佳, 如之前报道的CAP对严重脂肪变性的诊断价值低可能与皮下组织厚有关, CAP在皮肤至肝包膜距离(SLCD)<25 mm的患者中检测S≥脂肪变性要优于SLCD>25 mm的患者, 研究亚组分析表明在诊断中重度肝脏脂肪变性时, 受地理区域、临界值、年龄和体重指数(BMI)等因素影响. Karlas等[32]荟萃分析也认为尽管CAP诊断准确性良好, NAFLD的脂肪变性≥11%、≥33%和≥66%的AUROC分别为0.82、0.86和0.88, 最佳临界值为248 dB/m(95%CI 237-261 dB/m)、268 dB/m(95%CI 257-284 dB/m)和280 dB/m(95%CI 268-294 dB/m), 仍应考虑患病率、病因、糖尿病和BMI等因素的影响. 因此尽管CAP是用于快速标准化脂肪变性定量的有前途的即时医疗技术, 但是在区分不同程度肝脏脂肪变性的诊断阈值及其动态变化的临床意义尚待大量研究针对不同的人群、不同疾病基础加以界定[33].

尽管在多种病因(包括病毒性、酒精性和非酒精性肝病)引起的肝脏脂肪变性中CAP的诊断及评估无差异[34], 但是最近一项对4282例患者进行的随访研究表明[35], 肝脏脂肪变性的存在或严重程度均不能在短期内预测肝功能失代偿、癌症及心脑血管等事件的发生, NAFLD患者(占整个队列的40.7%)与病毒性肝炎(乙型肝炎37.0%, 丙型肝炎2.9%)亚组分析观察到结果一致. 相似的结果在Scheiner等[36]的回顾性研究中也可以观察到CAP评估肝脏脂肪变性不能预测肝功能失代偿甚至肝脏有关死亡的发生, 无论是否患有肝脏脂肪变性, 肝功能失代偿首次发生(危险比HR 0.97, 95%置信区

间[95%CI]: 0.91-1.03, P = 0.321)或进一步加重(HR 0.99, 95%CI: 0.94-1.03, P = 0.554)结果类似. 在NALFD治疗过程中也同样涉及治疗后的肝脏脂肪变性评估, 一项针对减肥手术治疗NAFLD患者研究[37]提出, 治疗前体重指数为45.2 kg/m^2±7.1 kg/m^2, CAP 326.5(301-360.5) dB/m, CAP评价肝活检中度肝脂肪变性(S2-3 *vs* S0-1)及重度肝脂肪变性(S3 *vs* S0-2)的AUROC分别为0.74(95%CI: 0.62-0.86)和0.82(95%CI: 0.73-0.91). 经过减肥手术治疗1年的随访, 肝活检进一步证实肝脏脂肪变性明显改善(P = 0.001), 同时CAP显著下降. 在Handzlik等[38]在NAFLD患者予以饮食控制联合二甲双胍治疗, 观察3 mo及5 mo CAP值明显降低(基线319 dB/m, 3月285 dB/m , 5月295 dB/m , P<0.05). 仅饮食控制的NAFLD患者的肝脏CAP值无明显变化. 受控衰减参数(CAP)技术无论是NAFLD患者肝脏脂肪变性的基础评估还是治疗过程中疗效评价, 具有非常重要的临床意义, 但是仍然需要在以后的两组工作中建立多中心、纵向的研究设计以进一步评估CAP与NALFD临床结局之间的关系.

4 反向散射系数

反向散射系数(back scatter coefficient, BSC)是受检组织返回的超声信号的一种定量参数, 取决于组织的结构和组成, BSC通过使用计算机和参考体模计算而得, 由于减少对超声设备和观察者相关的依赖性, 从而提高了诊断肝脏脂肪变性的准确性和可重复性. Paige等[39]前瞻性研究中使用定制软件计算超声特定区域的BSC, 生成参数图, 显示出BSC空间分布, 该研究观察61例经肝脏组织学证实NAFLD患者, 采用MRI-PDFF为参考标准, 首次确定BSC阈值, 提出BSC可以比普通B超、衰减系数更准确地预测NAFLD脂肪变性, 但不及MRI-PDFF准确, BSC脂肪变性分级准确度68.3%(普通B超51.7%, 衰减系数55.0%, MRI-PDFF 76.7%), BSC随着组织学脂肪变性分级的增加而逐渐增加, 但是该研究并未纳入无脂肪变性的对照组. 一项前瞻性研究[40]针对肝脏脂肪变性的有无提出BSC可以准确准确诊断和量化肝脏脂肪变性, 试验组和验证组中BSC诊断NAFLD(MRI-PDFF>5%)的敏感性93%和87%, 特异性97%和91%, AUROC为0.98(0.95-1.00, P<0.0001), BSC(范围0.00005-0.251/cm-sr)与MRI-PDFF相关(Spearman的ρ = 0.80; P<0.0001), 最佳BSC临界值0.0038. 尽管BSC可在任何普通B超设备上操作, 能够提供肝脏解剖图像, 记录肝脏测量位置, 为进一步纵向监测研究提供依据, 而且在肥胖患者BSC检测失败率低. 然而, 该技术也存在一定局限性, 如操作复杂, 需要使用幻像, 因此需要进一步大量临床数据加以验证.

5 声速评估

软组织声速从肌肉(1.575 mm/μs)到脂肪(1.450 mm/μs)略有不同, 与健康的肝组织相比, 脂肪的纵向声速相对较低, 当肝脏脂肪含量增加则导致声速降低, 脂肪肝的预期声速可能低于健康肝脏的预期声速, 利用该原理建立的能够计算肝脏声速的声速评估(sound speed estimation, SSE)技术, 有望对肝脏脂肪变性和脂肪浸润程度加以评估. Imbault等[41]初步临床试验(17例患者)中采用MR-PDFF和肝活检为参考标准, 研究显示诊断肝脏脂肪变性的SSE临界值为1.555 mm/μs, AUROC为0.942, SSE与MR-PDFF和活检相关. Dioguardi等[42]以MRI-PDFF(SO≤6.5%)作为参考标准, 纳入 50例患者为试验组, 50例患者为验证组, 两组0级脂肪变性的SSE值1.570±0.026 mm/μs和1.568±0.023 mm/μs, 1-3级的SSE分别为1.521±0.031 mm/μs和1.514±0.019 mm/μs, 两组均发现SSE与MR-PDFF之间存在对应关系, 而且重复性良好(组内相关系数0.93), 以SSE 1.537 mm/μs的临界值, 肝脏脂肪变性≥1的灵敏度80%, 特异性85.7%, SSE与MRI-PDFF相关. 为了进一步证实这些初步结论, 有待于进一步的临床研究以确定可能影响SSE的临床和生物学混杂因素, 包括覆盖肝脏的皮下脂肪、肝纤维化和肝脏炎症等病理生理过程.

6 超声定量诊断指数

在提高NAFLD肝脏脂肪变性诊断的定量超声技术上, Liao等[43]研究提出超声定量诊断指数(ultrasound quantitative diagnostic index, QDI)可以反映NAFLD相关的代谢特征, 该研究通过超声数据提取相关参数以信噪比(SNR)和中心频率降档(CFDS)斜率生成QDI(范围0-6), 研究认为QDI与人体测量指标、生化学指标、代谢综合征显著相关, QDI每增加1个单位, 则发生代谢综合征的风险增加9%, 可用于识别代谢综合征(AUROC 0.89), 因此使用QDI可能有益于NAFLD患者的临床监测、流行病学研究和代谢疾病评估. 随着脂肪变性、炎症及纤维化生物标志物的发展, 以后的研究工作可以在更多纵向随访队列中观察与其他超声特征结合的多个QDI参数的使用, 为NAFLD和代谢综合征的疾病诊断及评估提供更有价值的测量方法.

7 定量超声多变量模型

为了更好的利用定量超声(quantitative ultrasound, QUS)技术来诊断及评估肝脏脂肪变性, 最近提出多种技术组合应用, Han等[44]研究开发了QUS多变量模型, 该研究前瞻性分析7个QUS参数(衰减系数、反向散射系数、Lizzi-Feleppa斜率、截距、中频带、包络统计参数k参

数和μ参数), 从组织超声能量损失、组织返回超声能量的客观度量, 针对频数变换反向散射系数线性回归的参数, 以及K分布拟合到包络统计的k参数和μ参数进行QUS多变量模型分析, 研究认为多变量QUS模型与MRI-PDFF具有极好的相关性. 当MRI PDFF 34%或更少时, 预测肝脏脂肪含量与MRI PDFF相关[Spearmanρ= 0.82 (P<0.001); 皮尔逊r = 0.76 (P<0.001)], 平均偏差为0.02%, 一致性为95%, 并且呈线性关系(R = 0.63; 斜率为0.69; 截距为4.3%). 目前QUS多变量模型处于较小的临床试验阶段, 而且无法实时评估, 另外QUS的参数组合的可变性及实用性均有限, 尚需要进行大量的临床研究.

8 结论

随着NAFLD患病率增加, 拥有一种即时、准确、定量、经济、安全的诊断及评估肝脏脂肪变性程度的非侵入性技术是非常重要的, 以超声检测为基础的各种定量超声技术的研发和进一步的临床应用为NALFD诊断、疾病评估、治疗干预、疗效评估等研究提供了新思路. 目前临床工作中以受控衰减参数(CAP)为应用最广泛的无创、定量诊断肝脏脂肪变性的技术, 在使用过程中也会面临着技术局限性, 因此不断有新的检测技术的开发及应用, 而且在定量超声方面进行多种技术组合应用是将来临床研究的重点及难点, 这些技术的临床应用价值目前尚未达到统一认识, 还有待进一步的深入研究及临床验证.

9 参考文献

1 Kim D, Touros A, Kim WR. Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Metabolic Syndrome. *Clin Liver Dis* 2018; 22: 133-140 [PMID: 29128053 DOI: 10.1016/j.cld.2017.08.010]

2 Kim SK, Kim KI, Kim SR. Overview of Nonalcoholic Fatty Liver Disease/Nonalcoholic Steatohepatitis Management. *Yakugaku Zasshi* 2019; 139: 1147-1153 [PMID: 31474630 DOI: 10.1248/yakushi.19-00011-1]

3 Ye Q, Zou B, Yeo YH, Li J, Huang DQ, Wu Y, Yang H, Liu C, Kam LY, Tan XXE, Chien N, Trinh S, Henry L, Stave CD, Hosaka T, Cheung RC, Nguyen MH. Global prevalence, incidence, and outcomes of non-obese or lean non-alcoholic fatty liver disease: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Gastroenterol Hepatol* 2020; 5: 739-752 [PMID: 32413340 DOI: 10.1016/S2468-1253(20)30077-7]

4 Younossi Z, Tacke F, Arrese M, Chander Sharma B, Mostafa I, Bugianesi E, Wai-Sun Wong V, Yilmaz Y, George J, Fan J, Vos MB. Global Perspectives on Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Nonalcoholic Steatohepatitis. *Hepatology* 2019; 69: 2672-2682 [PMID: 30179269 DOI: 10.1002/hep.30251]

5 中华医学会肝病学分会脂肪肝和酒精性肝病学组. 非酒精性脂肪性肝病防治指南(2018年更新版). 中华肝脏病杂志 2018; 16: 195-203 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-3418.2018.03.008]

6 Wang XJ, Malhi H. Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Ann Intern Med* 2018; 169: ITC65-ITC80 [PMID: 30398639 DOI: 10.7326/AITC201811060]

7 Dhanasekaran R, Felsher DW. A Tale of Two Complications of Obesity: NASH and Hepatocellular Carcinoma. *Hepatology* 2019; 70: 1056-1058 [PMID: 30958566 DOI: 10.1002/hep.30649]

8 Ge X, Zheng L, Wang M, Du Y, Jiang J. Prevalence trends in non-alcoholic fatty liver disease at the global, regional and national levels, 1990-2017: a population-based observational study. *BMJ Open* 2020; 10: e036663 [PMID: 32747349 DOI: 10.1136/bmjopen-2019-036663]

9 Stefan N, Häring HU, Cusi K. Non-alcoholic fatty liver disease: causes, diagnosis, cardiometabolic consequences, and treatment strategies. *Lancet Diabetes Endocrinol* 2019; 7: 313-324 [PMID: 30174213 DOI: 10.1016/S2213-8587(18)30154-2]

10 Qian LL, Wu L, Zhang L, Zhang J, Zhou J, Li YH, Fang QC, Li HT, Jia WP. Serum biomarkers combined with ultrasonography for early diagnosis of non-alcoholic fatty liver disease confirmed by magnetic resonance spectroscopy. *Acta Pharmacol Sin* 2020; 41: 554-560 [PMID: 31776449 DOI: 10.1038/s41401-019-0321-x]

11 Kleiner DE, Brunt EM, Van Natta M, Behling C, Contos MJ, Cummings OW, Ferrell LD, Liu YC, Torbenson MS, Unalp-Arida A, Yeh M, McCullough AJ, Sanyal AJ; Nonalcoholic Steatohepatitis Clinical Research Network. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2005; 41: 1313-1321 [PMID: 15915461 DOI: 10.1002/hep.20701]

12 Chen J, Duan S, Ma J, Wang R, Chen J, Liu X, Xue L, Xie S, Yao S. MRI-determined liver fat correlates with risk of metabolic syndrome in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2020; 32: 754-761 [PMID: 32091437 DOI: 10.1097/MEG.0000000000001688]

13 Castera L, Friedrich-Rust M, Loomba R. Noninvasive Assessment of Liver Disease in Patients With Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Gastroenterology* 2019; 156: 1264-1281.e4 [PMID: 30660725 DOI: 10.1053/j.gastro.2018.12.036]

14 Gu J, Liu S, Du S, Zhang Q, Xiao J, Dong Q, Xin Y. Diagnostic value of MRI-PDFF for hepatic steatosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease: a meta-analysis. *Eur Radiol* 2019; 29: 3564-3573 [PMID: 30899974 DOI: 10.1007/s00330-019-06072-4]

15 Jayakumar S, Middleton MS, Lawitz EJ, Mantry PS, Caldwell SH, Arnold H, Mae Diehl A, Ghalib R, Elkhashab M, Abdelmalek MF, Kowdley KV, Stephen Djedjos C, Xu R, Han L, Mani Subramanian G, Myers RP, Goodman ZD, Afdhal NH, Charlton MR, Sirlin CB, Loomba R. Longitudinal correlations between MRE, MRI-PDFF, and liver histology in patients with non-alcoholic steatohepatitis: Analysis of data from a phase II trial of selonsertib. *J Hepatol* 2019; 70: 133-141 [PMID: 30291868 DOI: 10.1016/j.jhep.2018.09.024]

16 Xu L, Lu W, Li P, Shen F, Mi YQ, Fan JG. A comparison of hepatic steatosis index, controlled attenuation parameter and ultrasound as noninvasive diagnostic tools for steatosis in chronic hepatitis B. *Dig Liver Dis* 2017; 49: 910-917 [PMID: 28433586 DOI: 10.1016/j.dld.2017.03.013]

17 Kim M, Kang BK, Jun DW. Comparison of conventional sonographic signs and magnetic resonance imaging proton density fat fraction for assessment of hepatic steatosis. *Sci Rep* 2018; 8: 7759 [PMID: 29773823 DOI: 10.1038/s41598-018-26019-x]

18 Hamaguchi M, Kojima T, Itoh Y, Harano Y, Fujii K, Nakajima T, Kato T, Takeda N, Okuda J, Ida K, Kawahito Y, Yoshikawa T, Okanoue T. The severity of ultrasonographic findings in nonalcoholic fatty liver disease reflects the metabolic syndrome and visceral fat accumulation. *Am J Gastroenterol* 2007; 102: 2708-2715 [PMID: 17894848 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2007.01526.x]

19 Tanpowpong N, Panichyawat S. Comparison of sonographic hepatorenal ratio and the degree of hepatic steatosis in magnetic resonance imaging-proton density fat fraction. *J*

Ultrason 2020; 20: e169-e175 [PMID: 33365152 DOI: 10.15557/JoU.2020.0028]
20 Petzold G, Lasser J, Rühl J, Bremer SCB, Knoop RF, Ellenrieder V, Kunsch S, Neesse A. Diagnostic accuracy of B-Mode ultrasound and Hepatorenal Index for graduation of hepatic steatosis in patients with chronic liver disease. *PLoS One* 2020; 15: e0231044 [PMID: 32357147 DOI: 10.1371/journal.pone.0231044]
21 Shiralkar K, Johnson S, Bluth EI, Marshall RH, Dornelles A, Gulotta PM. Improved method for calculating hepatic steatosis using the hepatorenal index. *J Ultrasound Med* 2015; 34: 1051-1059 [PMID: 26014325 DOI: 10.7863/ultra.34.6.1051]
22 Wang JH, Ou HY, Yen YH, Chen CH, Lu SN. Usefulness of Controlled Attenuation Parameter in Detecting and Monitoring Hepatic Steatosis with MRI-PDFF as Reference. *Dig Dis Sci* 2020; 65: 1512-1519 [PMID: 31617130 DOI: 10.1007/s10620-019-05883-1]
23 Piccinni R, Rodrigues SG, Montani M, Murgia G, Delgado MG, Casu S, Stirnimann G, Semmo N, De Gottardi A, Dufour JF, Berzigotti A. Controlled attenuation parameter reflects steatosis in compensated advanced chronic liver disease. *Liver Int* 2020; 40: 1151-1158 [PMID: 31823449 DOI: 10.1111/liv.14325]
24 Dubois M, Ronot M, Houssel-Debry P, Brun V, Rayar M, Auger M, Beuzit L, Turlin B, Aubé C, Paisant A. Performance of B-mode ratio and 2D shear wave elastography for the detection and quantification of hepatic steatosis and fibrosis after liver transplantation. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2020; 32: 222-230 [PMID: 31464783 DOI: 10.1097/MEG.0000000000001500]
25 Siddiqui MS, Vuppalanchi R, Van Natta ML, Hallinan E, Kowdley KV, Abdelmalek M, Neuschwander-Tetri BA, Loomba R, Dasarathy S, Brandman D, Doo E, Tonascia JA, Kleiner DE, Chalasani N, Sanyal AJ; NASH Clinical Research Network. Vibration-Controlled Transient Elastography to Assess Fibrosis and Steatosis in Patients With Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2019; 17: 156-163.e2 [PMID: 29705261 DOI: 10.1016/j.cgh.2018.04.043]
26 Lee SJ, Kim SU. Noninvasive monitoring of hepatic steatosis: controlled attenuation parameter and magnetic resonance imaging-proton density fat fraction in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2019; 13: 523-530 [PMID: 31018719 DOI: 10.1080/17474124.2019.1608820]
27 Caussy C, Alquiraish MH, Nguyen P, Hernandez C, Cepin S, Fortney LE, Ajmera V, Bettencourt R, Collier S, Hooker J, Sy E, Rizo E, Richards L, Sirlin CB, Loomba R. Optimal threshold of controlled attenuation parameter with MRI-PDFF as the gold standard for the detection of hepatic steatosis. *Hepatology* 2018; 67: 1348-1359 [PMID: 29108123 DOI: 10.1002/hep.29639]
28 Chan WK, Nik Mustapha NR, Mahadeva S, Wong VW, Cheng JY, Wong GL. Can the same controlled attenuation parameter cut-offs be used for M and XL probes for diagnosing hepatic steatosis? *J Gastroenterol Hepatol* 2018; 33: 1787-1794 [PMID: 29603365 DOI: 10.1111/jgh.14150]
29 Park CC, Nguyen P, Hernandez C, Bettencourt R, Ramirez K, Fortney L, Hooker J, Sy E, Savides MT, Alquiraish MH, Valasek MA, Rizo E, Richards L, Brenner D, Sirlin CB, Loomba R. Magnetic Resonance Elastography vs Transient Elastography in Detection of Fibrosis and Noninvasive Measurement of Steatosis in Patients With Biopsy-Proven Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Gastroenterology* 2017; 152: 598-607.e2 [PMID: 27911262 DOI: 10.1053/j.gastro.2016.10.026]
30 Runge JH, Smits LP, Verheij J, Depla A, Kuiken SD, Baak BC, Nederveen AJ, Beuers U, Stoker J. MR Spectroscopy-derived Proton Density Fat Fraction Is Superior to Controlled Attenuation Parameter for Detecting and Grading Hepatic Steatosis. *Radiology* 2018; 286: 547-556 [PMID: 28915103 DOI: 10.1148/radiol.2017162931]
31 Pu K, Wang Y, Bai S, Wei H, Zhou Y, Fan J, Qiao L. Diagnostic accuracy of controlled attenuation parameter (CAP) as a non-invasive test for steatosis in suspected non-alcoholic fatty liver disease: a systematic review and meta-analysis. *BMC Gastroenterol* 2019; 19: 51 [PMID: 30961539 DOI: 10.1186/s12876-019-0961-9]
32 Karlas T, Petroff D, Sasso M, Fan JG, Mi YQ, de Lédinghen V, Kumar M, Lupsor-Platon M, Han KH, Cardoso AC, Ferraioli G, Chan WK, Wong VW, Myers RP, Chayama K, Friedrich-Rust M, Beaugrand M, Shen F, Hiriart JB, Sarin SK, Badea R, Jung KS, Marcellin P, Filice C, Mahadeva S, Wong GL, Crotty P, Masaki K, Bojunga J, Bedossa P, Keim V, Wiegand J. Individual patient data meta-analysis of controlled attenuation parameter (CAP) technology for assessing steatosis. *J Hepatol* 2017; 66: 1022-1030 [PMID: 28039099 DOI: 10.1016/j.jhep.2016.12.022]
33 Ferraioli G, Wong VW, Castera L, Berzigotti A, Sporea I, Dietrich CF, Choi BI, Wilson SR, Kudo M, Barr RG. Liver Ultrasound Elastography: An Update to the World Federation for Ultrasound in Medicine and Biology Guidelines and Recommendations. *Ultrasound Med Biol* 2018; 44: 2419-2440 [PMID: 30209008 DOI: 10.1016/j.ultrasmedbio.2018.07.008]
34 Thiele M, Rausch V, Fluhr G, Kjærgaard M, Piecha F, Mueller J, Straub BK, Lupşor-Platon M, De-Ledinghen V, Seitz HK, Detlefsen S, Madsen B, Krag A, Mueller S. Controlled attenuation parameter and alcoholic hepatic steatosis: Diagnostic accuracy and role of alcohol detoxification. *J Hepatol* 2018; 68: 1025-1032 [PMID: 29343427 DOI: 10.1016/j.jhep.2017.12.029]
35 Liu K, Wong VW, Lau K, Liu SD, Tse YK, Yip TC, Kwok R, Chan AY, Chan HL, Wong GL. Prognostic Value of Controlled Attenuation Parameter by Transient Elastography. *Am J Gastroenterol* 2017; 112: 1812-1823 [PMID: 29087391 DOI: 10.1038/ajg.2017.389]
36 Scheiner B, Steininger L, Semmler G, Unger LW, Schwabl P, Bucsics T, Paternostro R, Ferlitsch A, Trauner M, Reiberger T, Mandorfer M. Controlled attenuation parameter does not predict hepatic decompensation in patients with advanced chronic liver disease. *Liver Int* 2019; 39: 127-135 [PMID: 30107095 DOI: 10.1111/liv.13943]
37 Garg H, Aggarwal S, Shalimar, Yadav R, Datta Gupta S, Agarwal L, Agarwal S. Utility of transient elastography (fibroscan) and impact of bariatric surgery on nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) in morbidly obese patients. *Surg Obes Relat Dis* 2018; 14: 81-91 [PMID: 29126863 DOI: 10.1016/j.soard.2017.09.005]
38 Handzlik G, Holecki M, Kozaczka J, Kukla M, Wyskida K, Kędzierski L, Pawlicki K, Duława J. Evaluation of metformin therapy using controlled attenuation parameter and transient elastography in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Pharmacol Rep* 2019; 71: 183-188 [PMID: 30780126 DOI: 10.1016/j.pharep]
39 Paige JS, Bernstein GS, Heba E, Costa EAC, Fereirra M, Wolfson T, Gamst AC, Valasek MA, Lin GY, Han A, Erdman JW Jr, O'Brien WD Jr, Andre MP, Loomba R, Sirlin CB. A Pilot Comparative Study of Quantitative Ultrasound, Conventional Ultrasound, and MRI for Predicting Histology-Determined Steatosis Grade in Adult Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *AJR Am J Roentgenol* 2017; 208: W168-W177 [PMID: 28267360 DOI: 10.2214/AJR.16.16726]
40 Lin SC, Heba E, Wolfson T, Ang B, Gamst A, Han A, Erdman JW Jr, O'Brien WD Jr, Andre MP, Sirlin CB, Loomba R. Noninvasive Diagnosis of Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Quantification of Liver Fat Using a New Quantitative Ultrasound Technique. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2015; 13: 1337-1345.e6 [PMID: 25478922 DOI: 10.1016/j.cgh.2014.11.027]
41 Imbault M, Faccinetto A, Osmanski BF, Tissier A, Deffieux T, Gennisson JL, Vilgrain V, Tanter M. Robust sound speed

estimation for ultrasound-based hepatic steatosis assessment. *Phys Med Biol* 2017; 62: 3582-3598 [PMID: 28225357 DOI: 10.1088/1361-6560/aa6226]
42 Dioguardi Burgio M, Imbault M, Ronot M, Faccinetto A, Van Beers BE, Rautou PE, Castera L, Gennisson JL, Tanter M, Vilgrain V. Ultrasonic Adaptive Sound Speed Estimation for the Diagnosis and Quantification of Hepatic Steatosis: A Pilot Study. *Ultraschall Med* 2019; 40: 722-733 [PMID: 30396216 DOI: 10.1055/a-0660-946]
43 Liao YY, Yeh CK, Huang KC, Tsui PH, Yang KC. Metabolic Characteristics of a Novel Ultrasound Quantitative Diagnostic Index for Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Sci Rep* 2019; 9: 7922 [PMID: 31138858 DOI: 10.1038/s41598-019-44453-3]
44 Han A, Zhang YN, Boehringer AS, Montes V, Andre MP, Erdman JW Jr, Loomba R, Valasek MA, Sirlin CB, O'Brien WD Jr. Assessment of Hepatic Steatosis in Nonalcoholic Fatty Liver Disease by Using Quantitative US. *Radiology* 2020; 295: 106-113 [PMID: 32013792 DOI: 10.1148/radiol.2020191152]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 © 2021 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: $^{a}P<0.05$, $^{b}P<0.01$($P>0.05$不注). 如同一表中另有一套P值, 则$^{c}P<0.05$, $^{d}P<0.01$; 第3套为$^{e}P<0.05$, $^{f}P<0.01$. 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/min, c/(mol/L), p/kPa, V/mL, t/℃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 cm×4.5 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.

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: https://www.baishideng.com

世界华人消化杂志 2021年5月28日; 29(10): 550-556

DOI: 10.11569/wcjd.v29.i10.550

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

临床实践 CLINICAL PRACTICE

扬州农村地区人群幽门螺杆菌感染现状及其与胃黏膜病理变化的关系

张 云, 冯心怡, 李贵庆, 许 菲, 刘 芳, 李瑶瑶, 邓 彬

张云, 冯心怡, 李贵庆, 李瑶瑶, 扬州大学附属医院消化内科 江苏省扬州市 225000

许菲, 刘芳, 扬州大学附属医院消化内镜中心 江苏省扬州市 225000

张云, 内科学硕士研究生, 主要从事幽门螺杆菌相关研究.

基金项目: 江苏省社会发展重点项目, No. BE2019698; 扬州市社会发展项目, No. YZ2020069.

作者贡献分布: 本研究由张云、冯心怡和邓彬进行设计; 标本采集、数据收集整理由李贵庆、许菲和刘芳共同完成; 数据分析由张云、冯心怡和李贵庆完成; 文章起草由张云和冯心怡共同完成; 文章修改李瑶瑶和邓彬完成; 文章审阅由邓彬完成.

通讯作者: 邓彬, 主任医师, 225000, 江苏省扬州市邗江中路368号, 扬州大学附属医院消化内科. chinadbin@126.com

收稿日期: 2021-03-10
修回日期: 2021-04-03
接受日期: 2021-04-22
在线出版日期: 2021-05-28

Epidemiological study of *Helicobacter pylori* infection and its relationship with pathologic changes of the antral mucosa in rural areas of Yangzhou

Yun Zhang, Xin-Yi Feng, Gui-Qing Li, Fei Xu, Fang Liu, Yao-Yao Li, Bin Deng

Yun Zhang, Xin-Yi Feng, Gui-Qing Li, Yao-Yao Li, Department of Gastroenterology, The Affiliated Hospital of Yangzhou University, Yangzhou 225000, Jiangsu Province, China

Fei Xu, Fang Liu, Digestive Endoscopy Center, The Affiliated Hospital of Yangzhou University, Yangzhou 225000, Jiangsu Province, China

Supported by: The Key Research and Development Program of Jiangsu Province, No. BE2019698; Social Development Program of Yangzhou, No. YZ2020069.

Corresponding author: Bin Deng, Chief Physician, Department of Gastroenterology, The Affiliated Hospital of Yangzhou University, No. 368 Hanjiang Middle Road, Yangzhou 225000, Jiangsu Province, China. chinadbin@126.com

Received: 2021-03-10
Revised: 2021-04-03
Accepted: 2021-04-22
Published online: 2021-05-28

Abstract

BACKGROUND

Helicobacter pylori (*H. pylori*) infection remains one of the world's public health problems, and socioeconomic conditions and modifiable lifestyle factors may influence the rate of *H. pylori* infection. As the most important controllable cause of gastric cancer, eradication of *H. pylori* is of great significance for the prevention of gastric cancer.

AIM

To investigate the status of *Helicobacter pylori* infection and its relationship with the pathological change of the antral mucosa.

METHODS

A total of 1412 subjects were selected from the program of Endoscopy Screening of Upper Gastrointestinal Tumor in Yangzhou from January 2019 to December 2019. Questionnaire survey, ^{14}C-urea breath test, gastroscopy, and tissue biopsy were performed among the selected population. Statistical software was used to calculate the prevalence rate of *H. pylori* infection, the related influencing factors, and the relationship between *H. pylori* infection and the pathological changes of the antral mucosa.

RESULTS

In this study, the male-to-female ratio was 1:1.5 and the age ranged from 36 to 76 years old. The prevalence rate of *H. pylori* infection was 43.8% in rural areas of Yangzhou city.

According to the univariate analysis, there was a correlation between smoking, dietary preference, level of *H. pylori* awareness, gastrointestinal symptoms and *H. pylori* infection ($P < 0.05$). Multivariate analysis showed that smoking was an independent risk factor for *H. pylori* infection (odds ratio = 1.427, 95% confidence interval: 1.103-1.847). In the analysis of the relationship between *H. pylori* infection and the pathological changes of the gastric mucosa, the proportion of *H. pylori*-positive people exhibiting atrophic gastritis, intestinal chemosis, heterogeneous hyperplasia, and gastric cancer was significantly higher than that of *H. pylori*-negative participants.

CONCLUSION

The *H. pylori* infection rate in Yangzhou is high, and bad habit can affect the prevalence of *H. pylori* infection. *H. pylori* infection is associated with the progression of gastric mucosal pathology. It is recommended to strengthen education among the population to improve the prevention and control of *H. pylori* in the region and reduce the incidence of gastric cancer.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: *Helicobacter pylori*; Influencing factors; Gastric mucosa; Pathologic change

Citation: Zhang Y, Feng XY, Li GQ, Xu F, Liu F, Li YY, Deng B. Epidemiological study of *Helicobacter pylori* infection and its relationship with pathologic changes of the antral mucosa in rural areas of Yangzhou. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2021; 29(10): 550-556
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i10/550.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i10.550

摘要

背景

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染仍是世界公共卫生问题之一, 社会经济因素、生活饮食习惯等可能影响*H. pylori*感染率.作为胃癌的最重要的可控的病因, 根除*H. pylori*对预防胃癌意义重大.

目的

探讨扬州地区*H. pylori*感染现状及其与胃黏膜病理变化的关系.

方法

选取2019-01/2019-12期间扬州市上消化道肿瘤内镜筛查项目成员共1412例, 对纳入人群进行问卷调查、^{14}C尿素呼气试验、胃镜检查及组织活检.使用统计学软件分析*H. pylori*感染率、*H. pylori*感染的相关危险因素以及*H. pylori*感染与胃黏膜病理变化的关系.

结果

本研究男女比例为1:1.5, 年龄介于36至76岁之间.扬州农村地区*H. pylori*感染率为43.8%.在单因素分析中, 不同性别以及各年龄范围内感染率差异均不显著($P>0.05$), 吸烟、饮食偏好、*H. pylori*认知水平、消化道症状与*H. pylori*感染之间相关性较明显($P<0.05$); 多因素分析中, 吸烟是*H. pylori*感染的独立危险因素(OR = 1.427, 95%CI: 1.103-1.847). 在*H. pylori*感染与胃黏膜病理变化关系的分析中, *H. pylori*阳性人群表现为萎缩性胃炎、肠化生、异型增生、胃癌的比例明显高于*H. pylori*阴性人群.

结论

扬州地区*H. pylori*阳性检出率较高, 生活习惯与*H. pylori*感染具有相关性. *H. pylori*感染与胃部病变进展相关, 建议加强宣教, 提高地区对*H. pylori*的防控水平, 降低胃癌的发生率.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 幽门螺杆菌; 影响因素; 胃黏膜; 病理变化

核心提要: 幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)由于感染范围广及感染率高, 被誉为是“历史上最成功的病原体”, 是胃癌的最重要的可控的危险因素, 调查*H. pylori*感染情况及相关影响因素对于地区*H. pylori*防控有着重要意义.

文献来源: 张云, 冯心怡, 李贵庆, 许菲, 刘芳, 李瑶瑶, 邓彬. 扬州农村地区人群幽门螺杆菌感染现状及其与胃黏膜病理变化的关系. 世界华人消化杂志 2021; 29(10): 550-556
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i10/550.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i10.550

0 引言

胃癌是全世界发病率排名第五、死亡率排名第四的癌症, 仍是全球重大公众健康问题之一[1]. 胃癌的发生涉及到多种复杂的机制, 幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染被认为是其最重要的危险因素, 早在1994年世界卫生组织(WHO)就将*H. pylori*定为胃癌的I类致癌因子[2]. 据统计, 2018年全球约有220万新发癌症病例归因于感染, 其中*H. pylori*感染导致的新发胃癌为81万例, 占所有新发癌症的37%, 其中我国新发胃癌为34万例, 占*H. pylori*所致胃癌总数的42%[3]. *H. pylori*于1983年由马歇尔和沃伦共同发现[4], 两位科学家也因此被授予了2005年诺贝尔生理学或医学奖. 作为最常见的感染之一, 目前世界上超过一半人群感染了*H. pylori*, 且其感染范围极广, 在每个国家或地区均可发现它的身影[5]. 几乎所有的*H. pylori*感染者均会发生胃黏膜组织学上的慢性活动性炎症, 即*H. pylori*胃炎, 约有70%的人无不适症

状, 10%患者表现为消化不良, 15%-20%患者出现消化性溃疡, 1%-3%的人在胃慢性炎症的基础上发展成胃癌[6,7], 目前研究证实筛查及根除*H. pylori*可以有效地防止及减少胃癌的发生[8,9]. 扬州是*H. pylori*高感染地区, 也是胃癌高风险地区, 在2006年即有关于扬州高邮地区*H. pylori*感染情况的报告, 但近10余年中, 关于本地区*H. pylori*感染情况的研究较少, 为填补*H. pylori*流行病学信息的不足, 我们进行了这项研究, 调查扬州农村地区*H. pylori*感染现状, 并分析*H. pylori*感染与胃黏膜病变的关系, 以便评估当地居民感染*H. pylori*的风险, 针对性地进行抗*H. pylori*治疗, 减少抗生素的使用及耐药细菌的产生.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2019-01/2019-12期间在扬州市杨寿镇、射阳湖镇及平山社区进行上消化道肿瘤内镜筛查项目人群. 纳入标准: (1)完成问卷调查全部内容; (2)扬州农村居民. 排除标准: (1)合并有严重心、肺、肝、肾等脏器功能不全, 或有其他威胁生命病史者; (2)消化道急症患者, 如有呕血、黑便等症状; (3)有上消化道手术史者; (4)近1个月内服用过质子泵抑制剂、抗生素、铋剂等药物者; (5)难以配合完成胃镜检查者.最终纳入了1412人为研究对象, 其中男性564人, 女性848人, 年龄(36-76)岁, 平均年龄(57.9±8.5)岁.所有纳入对象均签署知情同意书, 本研究经扬州大学附属医院伦理委员会审批通过.

1.2 方法

1.2.1 问卷调查: 选取扬州大学临床医学专业研究生对筛查对象进行一对一问卷调查, 所有人均经过系统培训. 在胃镜检查前进行系统的问卷调查, 具体内容包括: 一般临床资料(性别、年龄、身高、体重等)、生活及饮食习惯(吸烟、饮酒、饮食偏好、饮用浓茶)、*H. pylori*认知水平、婚姻状况、最高学历、工作强度、居住地、家庭收入、消化道症状(反酸、烧心、嗳气、纳差、吞咽不畅、饱胀、恶心、腹痛)、既往胃病史(包括慢性胃炎、胃息肉、胃食管反流病、消化性溃疡、胃癌)、胃癌家族史等.所有填写好的调查问卷均经过二次审核后方进行统计学分析, 以保证数据的准确性及真实性.

1.2.2 *H. pylori*检测及判断标准: 所有纳入对象于空腹状态下使用深圳中核海得威生物科技有限公司^{14}C胶囊呼气试验药盒进行*H. pylori*检测, 呼气试验测试值≥100 dpm/mmol CO_2被认为是*H. pylori*阳性.

1.2.3 胃镜活检: 胃镜检查过程中分别于胃窦小弯侧、胃体大弯侧各取1块胃组织, 如发现明显病变则另外留取组织标本, 不同部位单独装瓶并做好标记后行病理组织学检查.所有病理均经2名以上病理科医生结合胃镜检查结果进行诊断, 最终病理结果选取组织学最高级别的病变.病理结果分为5类: 浅表性胃炎、萎缩性胃炎、肠化生、异型增生、胃癌.

统计学处理 使用SPSS 21.0统计学软件进行数据分析. 计数资料使用百分率表示, 采用c^2检验进行组间比较, Logistic回归分析进行相关因素分析, $P<0.05$被认为具有统计学意义.

2 结果

2.1 纳入人群的基线特征 在1412例纳入对象中, 经^{14}C检查判定有618人感染了*H. pylori*, 阳性率为43.8%. 在单因素分析中, 一般临床资料包括性别、年龄、身体质量指数(body mass index, BMI)和*H. pylori*感染无相关性($P>0.05$); 其他因素如饮酒、饮用浓茶、人均月收入、胃癌家族史不同的人群*H. pylori*阳性检出率差异亦无统计学意义($P>0.05$). 吸烟人群*H. pylori*感染率为51.3%, 明显高于非吸烟人群的41.7%, 其感染率差异具有统计学意义($c^2 = 9.078$, $P<0.01$); 饮食偏好辛辣刺激的人群*H. pylori*阳性率比饮食较为清淡的人群更高, 差异具有统计学意义($c^2 = 5.734$, $P<0.05$); *H. pylori*认知高水平的人群的感染率明显低于*H. pylori*认知低水平的人群($c^2 = 6.094$, $P<0.05$); 此外, 有消化道症状对比无消化道症状的人群*H. pylori*感染率偏低($c^2 = 6.206$, $P<0.05$); 既往有胃病史的人群*H. pylori*检出率为34.1%, 明显低于无胃病史人群的49.3%($c^2 = 30.516$, $P<0.01$), 详见表1.

2.2 影响*H. pylori*感染的多因素分析结果 本研究将可能影响*H. pylori*感染的以及单因素分析中$P<0.05$的因素纳入多因素Logistic回归模型中, 具体包括胃癌家族史、吸烟、饮食偏好、*H. pylori*认知水平、消化道症状、既往胃病史, 以分析*H. pylori*感染的独立危险因素. 结果显示吸烟是*H. pylori*感染的危险因素(OR = 1.427, 95%CI: 1.103-1.847); 既往有胃病史的人群表现出较低的*H. pylori*检出率(OR = 0.545, 95%CI: 0.435-0.683), 详见表2.

2.3 *H. pylori*感染与胃黏膜病理分布 结果表明, 1412例人群的胃粘膜病变以浅表性胃炎最为多见, 其次是萎缩性胃炎、肠化生、异型增生、胃癌. *H. pylori*阳性人群在萎缩性胃炎、肠化生、异型增生、胃癌组别中所占比例分别为55.8%、16.8%、2.8%、1.6%, 均高于*H. pylori*阴性人群所占比例, 其差异具有统计学意义($c^2 = 327.550$, $P<0.01$), 详见表3.

3 讨论

*H. pylori*是革兰阴性、微需氧细菌, 主要定植于胃黏膜, 最主要的传播方式为口口传播及粪口传播[10], 其感染通

表 1 *H. pylori*感染影响因素的基线资料表

危险因素	类别	例数	*H. pylori*阴性	*H. pylori*阳性	阳性率(%)	χ^2值	*P*值
性别	男性	564	312	252	44.7	0.318	0.573
	女性	848	482	366	43.2		
年龄(岁)	≤45	113	58	55	48.7	0.039	0.361
	45–60	671	372	299	44.6		
	>60	628	364	264	42.0		
最高学历	初中及以下	1264	708	556	44.0	0.927	0.629
	高中/中专	126	75	51	40.0		
	大专及以上	22	11	11	50.0		
婚姻状况	在婚	1340	749	591	44.1	1.211	0.271
	未婚/离婚/丧偶	72	45	27	37.5		
BMI(kg/m^2)	<18.5	36	15	21	58.3	3.842	0.146
	18.5–24	695	386	309	44.5		
	≥24	681	393	288	42.3		
吸烟	否	1104	644	460	41.7	9.078	<0.01
	是	308	150	108	51.3		
饮酒	否	1275	723	552	43.3	1.198	0.274
	是	137	71	66	48.2		
饮食偏好							
	清淡	809	477	332	41.0	5.734	<0.05
	重口[a]	603	317	286	47.4		
饮用浓茶	否	1349	765	584	43.3	2.788	0.095
	是[b]	63	29	34	54.0		
*H. pylori*认知水平	高	79	55	24	30.4	6.094	<0.05
	低	1333	739	594	44.6		
人均月收入(元)	<1000	251	147	104	41.4	5.119	0.077
	1000–3000	827	477	350	42.3		
	≥3000	334	170	164	49.1		
工作强度	低	755	433	322	42.6	2.729	0.256
	中等	540	290	250	46.3		
	高	117	71	46	39.3		
消化道症状	无	1048	569	479	45.7	6.206	<0.05
	有	364	225	139	38.2		
既往胃病史	无	899	456	443	49.3	30.516	<0.01
	有	513	338	175	34.1		
胃癌家族史	无	1157	653	504	43.6	0.111	0.739
	有	255	141	114	44.7		

[a]重口指偏好辛辣刺激饮食; [b]饮用浓茶指偏好浓茶, 且每周饮茶至少三杯, 持续六个月以上. *H. pylori*: 幽门螺杆菌; BMI: 身体质量指数.

表 2 *H. pylori*感染影响因素多因素分析结果

危险因素	β值	标准误	Wald χ^2值	*P*值	OR	95%CI
胃癌家族史	0.084	0.142	0.347	0.556	1.087	0.823–1.437
吸烟	0.356	0.131	7.353	0.007	1.427	1.103–1.847
饮食偏好	0.188	0.111	2.875	0.090	1.207	0.971–1.499
*H. pylori*认知水平	0.433	0.257	2.838	0.092	1.542	0.932–2.552
消化道症状	−0.185	0.129	2.066	0.151	0.831	0.646–1.070
既往胃病史	−0.608	0.115	27.769	0.000	0.545	0.435–0.683

H. pylori: 幽门螺杆菌.

表 3　胃黏膜病理变化与*H. pylori*感染的关系

	胃黏膜病理[*n*(%)]					χ^2值	*P*值
	浅表性胃炎	萎缩性胃炎	肠化生	异型增生	胃癌		
*H. pylori*阴性	545(68.6)	123(15.5)	103(13.0)	19(2.4)	4(0.5)	327.550	< 0.01
*H. pylori*阳性	142(23.0)	345(55.8)	104(16.8)	17(2.8)	10(1.6)		

H. pylori: 幽门螺杆菌.

常具有家族聚集性, 最特别的是, 在污水、井水、蔬菜上也能发现*H. pylori*的身影[11,12]. *H. pylori*不仅可引起胃肠道疾病[6,13], 还与多种胃外疾病相关, 如冠状动脉粥样硬化性心脏病、脑卒中、不明原因的缺铁性贫血、特发性血小板减少性紫癜等[14-16], 作为多种疾病最主要的病原体, 了解当地*H. pylori*流行病学情况非常重要. 随着生活水平及医疗意识的提高, *H. pylori*感染率整体处于下降趋势, 但在大多数国家及地区其感染率仍处于较高水平[5]. 一项Meta分析[5]的结果显示, 非洲、南美洲*H. pylori*感染率较高, 分别为70.1%、69.4%, 大洋洲和西欧地区*H. pylori*感染率较低, 分别为24.4%、34.3%, 亚洲地区*H. pylori*感染率为54.7%, 其中我国平均感染率为55.8%. 2006年, 一项关于江苏地区*H. pylori*感染情况的研究[17]指出苏中农村地区人群*H. pylori*阳性率为62.1%, 本研究中扬州农村地区人群*H. pylori*感染率为43.8%, 整体上处于下降趋势, 但仍需要引起极大地重视.

*H. pylori*感染率具有明显的地区差异性[18], 人口统计学特征、个人生活习惯、环境卫生、社会经济地位等因素均可能与*H. pylori*感染有关[19,20]. 本研究中性别对*H. pylori*感染未见影响. 我们还发现在不同的年龄段, *H. pylori*感染率稍有不同, 呈现随年龄增长感染率缓慢下降的趋势. 也有报告认为随年龄增长, 机体胃黏膜防御能力降低, 年老者易发生*H. pylori*感染. 本研究中老年人*H. pylori*感染率降低, 有两个可能的原因来解释这个发现. 农村地区老年人人际交往少, 居住环境相对封闭, 生活饮食较为规律, 感染机会较少; 此外, 老年人胃内环境发生变化, 可能*H. pylori*载量较低, ^{14}C-UBT检查无法检测到. 本研究中随着人均收入的增加, *H. pylori*感染率呈现上升趋势, 这与其他研究不一致[19], 可能是因为高收入人群外出活动、就餐的机会更多, 这在一定程度上增加了*H. pylori*感染机会. *H. pylori*认知低水平人群占总调查对象的94.4%, 该类人群*H. pylori*检出率更高, 与个体防范意识薄弱有关, 应加强对*H. pylori*感染的宣传, 提高公众认知, 自觉加强防范意识. 多因素分析结果显示吸烟人群相较于不吸烟人群*H. pylori*感染率更高, 这与Zhu等人[21]的研究一致, 长期吸烟可以破坏胃粘膜屏障, 影响前列腺素合成, 减少胃内粘液的分泌以及胃内血供, 降低了胃黏膜防御能力, 使其容易被*H. pylori*定植. *H. pylori*感染与胃肠道疾病之间的相关性已得到充分证明, 但本研究结果提示有胃病史人群的*H. pylori*检出率更低. 根据问卷调查信息, 513例既往有胃病史人群中有75例存在*H. pylori*感染史, 52人进行治疗并成功根除*H. pylori*, 这导致了有胃病史人群当前*H. pylori*检出率降低. 此外, 该类人群的健康意识及对消化道疾病的认知水平均较高, 曾进行过相关诊疗, 平时生活中有意识地改变生活饮食习惯(如便后洗手、减少吸烟饮酒、避免生冷饮食、减少外出就餐等)、在有不适症状时及时就诊, 降低了*H. pylori*感染机会. 针对上述分析结果, 我们应于接下来的筛查活动中积极提倡戒烟行动, 建议居民定期体检, 提高对*H. pylori*以及消化道疾病的认识.

*H. pylori*致病被认为是宿主、环境、细菌毒力因子之间复杂的相互作用引起的, 对于其致病机制的研究从未停止过. 尿素酶、鞭毛、细胞毒素相关蛋白(CagA)、细胞空泡毒素(VacA)和细胞黏附因子(BabA/B、SabA/B、OipA等)参与了*H. pylori*的定植与持续感染[22,23], 使得宿主体内的致病因子表达增高, 胃黏膜组织上皮细胞异常增生, 因此*H. pylori*也被认为是正常胃黏膜-非萎缩性胃炎-萎缩性胃炎-肠上皮化生-异型增生-胃癌这一阶段变化的启动子[24,25]. 本研究的*H. pylori*阳性组中, 表现为萎缩性胃炎、肠化生、异型增生、胃癌的人群分别占56.5%、16.5%、2.9%、1.5%, 均高于*H. pylori*阴性组, 这提示*H. pylori*的感染促进了胃部病变的进程. 此外, 我国共识指出[26,27]根除*H. pylori*可以逆转慢性活动性胃炎, 阻止或延缓胃黏膜萎缩、肠化生的发展, 部分逆转萎缩性胃炎. 本课题发现在浅表性胃炎、萎缩性胃炎及肠化生患者中有较高比例的人群存在*H. pylori*感染, 这提示*H. pylori*在胃黏膜病变早期阶段起到重要的病因作用, 在此阶段进行干预可以防止病变进一步发展[28,29]. *H. pylori*感染作为胃癌最重要的可控的危险因素[6,14], 建议加强对*H. pylori*的防控.

我们的研究存在一些局限性. 首先, 纳入对象均为扬州农村地区人群, 年龄超过36岁, 不能完全反应地区*H. pylori*感染水平; 此外, 调查问卷内容不够丰富, 多项研究提示手卫生、外出就餐、餐具公用、饮用水源、

家人*H. pylori*感染情况等因素也会影响*H. pylori*感染率, 在接下来的研究中需要进一步完善.

4 结论

综上所述, 扬州地区*H. pylori*感染率较高, 吸烟、既往有胃病史是*H. pylori*感染的重要影响因素, 且*H. pylori*感染可以促进胃部病变的发展, 需加强当地*H. pylori*相关知识的宣传力度, 提高居民的医疗卫生意识, 做好人群筛查工作, 规范随访制度, 为更大范围内的*H. pylori*预防及相关消化道疾病诊治提供理论依据.

文章亮点

实验背景

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染是最常见的感染性疾病之一, 与胃癌密切相关.探讨*H. pylori*感染的相关因素对预防*H. pylori*感染和胃癌的发生具有重要意义.

实验动机

*H. pylori*被认为是胃癌最重要的危险因素及可控因素, 近年来扬州*H. pylori*感染流行病学资料不足, 我们期望通过本研究丰富*H. pylori*感染数据库资料, 提高群众对消化道疾病的认知水平.

实验目标

本研究旨在研究扬州农村地区*H. pylori*感染情况, 分析*H. pylori*感染的相关风险因素及与胃粘膜病变关系, 为*H. pylori*感染的防控提供依据.

实验方法

对受试者进行问卷调查、^{14}C-尿素呼气试验检测、胃镜检查及病理活检, 根据尿素呼气试验将受试者分为*H. pylori*阳性组和阴性组, 采用二元Logistic逻辑回归分析*H. pylori*感染的影响因素, 并对所有受试者的胃粘膜病理进行分层分析, 探讨*H. pylori*感染与胃粘膜病变关系.

实验结果

本研究*H. pylori*感染率为43.8%, 单因素分析提示吸烟、饮食偏好辛辣、*H. pylori*认知水平、消化道症状、既往胃病史等因素与*H. pylori*感染具有相关性; 多因素分析提示吸烟是*H. pylori*感染的独立危险因素; 此外, *H. pylori*感染与胃粘膜病理类型之间具有相关性, 提示在胃黏膜病变早期根除*H. pylori*可以有更大获益.

实验结论

扬州地区*H. pylori*感染率较高, 吸烟可以增加*H. pylori*感染风险, 而*H. pylori*感染可以促进胃部病变的发展, 针对这一现象, 需加强卫生宣教、提高群众对*H. pylori*的认知.

展望前景

本文纳入人群仅为扬州农村地区居民, 接下来将进一步扩大研究人群、丰富调查问卷信息, 进行多中心前瞻性研究, 为更大范围内的*H. pylori*防控提供理论依据.

5 参考文献

1 Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, Bray F. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin* 2021 [PMID: 33538338 DOI: 10.3322/caac.21660]

2 Vogiatzi P, Cassone M, Luzzi I, Lucchetti C, Otvos L Jr, Giordano A. Helicobacter pylori as a class I carcinogen: physiopathology and management strategies. *J Cell Biochem* 2007; 102: 264-273 [PMID: 17486575 DOI: 10.1002/jcb.21375]

3 de Martel C, Georges D, Bray F, Ferlay J, Clifford GM. Global burden of cancer attributable to infections in 2018: a worldwide incidence analysis. *Lancet Glob Health* 2020; 8: e180-e190 [PMID: 31862245 DOI: 10.1016/s2214-109x(19)30488-7]

4 Malfertheiner P, Link A, Selgrad M. Helicobacter pylori: perspectives and time trends. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2014; 11: 628-638 [PMID: 25001975 DOI: 10.1038/nrgastro.2014.99]

5 Hooi JKY, Lai WY, Ng WK, Suen MMY, Underwood FE, Tanyingoh D, Malfertheiner P, Graham DY, Wong VWS, Wu JCY, Chan FKL, Sung JJY, Kaplan GG, Ng SC. Global Prevalence of Helicobacter pylori Infection: Systematic Review and Meta-Analysis. *Gastroenterology* 2017; 153: 420-429 [PMID: 28456631 DOI: 10.1053/j.gastro.2017.04.022]

6 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]

7 Graham DY. Helicobacter pylori update: gastric cancer, reliable therapy, and possible benefits. *Gastroenterology* 2015; 148: 719-31.e3 [PMID: 25655557 DOI: 10.1053/j.gastro.2015.01.040]

8 Li WQ, Zhang JY, Ma JL, Li ZX, Zhang L, Zhang Y, Guo Y, Zhou T, Li JY, Shen L, Liu WD, Han ZX, Blot WJ, Gail MH, Pan KF, You WC. Effects of Helicobacter pylori treatment and vitamin and garlic supplementation on gastric cancer incidence and mortality: follow-up of a randomized intervention trial. *BMJ* 2019; 366: l5016 [PMID: 31511230 DOI: 10.1136/bmj.l5016]

9 Doorakkers E, Lagergren J, Engstrand L, Brusselaers N. Eradication of Helicobacter pylori and Gastric Cancer: A Systematic Review and Meta-analysis of Cohort Studies. *J Natl Cancer Inst* 2016; 108 [PMID: 27416750 DOI: 10.1093/jnci/djw132]

10 Mégraud F. Transmission of Helicobacter pylori: faecal-oral versus oral-oral route. *Aliment Pharmacol Ther* 1995; 9 Suppl 2: 85-91 [PMID: 8547533]

11 García A, Salas-Jara MJ, Herrera C, González C. Biofilm and Helicobacter pylori: from environment to human host. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 5632-5638 [PMID: 24914322 DOI: 10.3748/wjg.v20.i19.5632]

12 Ng CG, Loke MF, Goh KL, Vadivelu J, Ho B. Biofilm formation enhances Helicobacter pylori survivability in vegetables. *Food Microbiol* 2017; 62: 68-76 [PMID: 27889168 DOI: 10.1016/j.fm.2016.10.010]

13 Blaser MJ. Helicobacter pylori and gastric diseases. *BMJ* 1998; 316: 1507-1510 [PMID: 9582144 DOI: 10.1136/bmj.316.7143.1507]
14 Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain CA, Gisbert JP, Kuipers EJ, Axon AT, Bazzoli F, Gasbarrini A, Atherton J, Graham DY, Hunt R, Moayyedi P, Rokkas T, Rugge M, Selgrad M, Suerbaum S, Sugano K, El-Omar EM; European Helicobacter and Microbiota Study Group and Consensus panel. Management of Helicobacter pylori infection-the Maastricht V/Florence Consensus Report. *Gut* 2017; 66: 6-30 [PMID: 27707777 DOI: 10.1136/gutjnl-2016-312288]
15 Robinson K, Atherton JC. The Spectrum of Helicobacter-Mediated Diseases. *Annu Rev Pathol* 2021; 16: 123-144 [PMID: 33197219 DOI: 10.1146/annurev-pathol-032520-024949]
16 Goni E, Franceschi F. Helicobacter pylori and extragastric diseases. *Helicobacter* 2016; 21 Suppl 1: 45-48 [PMID: 27531539 DOI: 10.1111/hel.12340]
17 徐顺福, 施瑞华, 张国新, 丁岩冰, 孙桂前, 张红杰, 陈晓星, 黄霞玥, 李学良, 严志刚, 苗毅. 江苏地区幽门螺杆菌感染及其危险因素调查. 世界华人消化杂志 2006; 14: 3363-3370 [DOI: 10.3969/j.issn.1009-3079.2006.35.005]
18 Sjomina O, Pavlova J, Niv Y, Leja M. Epidemiology of Helicobacter pylori infection. *Helicobacter* 2018; 23 Suppl 1: e12514 [PMID: 30203587 DOI: 10.1111/hel.12514]
19 Zhang F, Pu K, Wu Z, Zhang Z, Liu X, Chen Z, Ye Y, Wang Y, Zheng Y, Zhang J, An F, Zhao S, Hu X, Li Y, Li Q, Liu M, Lu H, Zhang H, Zhao Y, Yuan H, Ding X, Shu X, Ren Q, Gou X, Hu Z, Wang J, Wang Y, Guan Q, Guo Q, Ji R, Zhou Y. Prevalence and associated risk factors of Helicobacter pylori infection in the Wuwei cohort of north-western China. *Trop Med Int Health* 2021; 26: 290-300 [PMID: 33159827 DOI: 10.1111/tmi.13517]
20 Shi R, Xu S, Zhang H, Ding Y, Sun G, Huang X, Chen X, Li X, Yan Z, Zhang G. Prevalence and risk factors for Helicobacter pylori infection in Chinese populations. *Helicobacter* 2008; 13: 157-165 [PMID: 18321305 DOI: 10.1111/j.1523-5378.2008.00586.x]
21 Zhu HM, Li BY, Tang Z, She J, Liang XY, Dong LK, Zhang M. Epidemiological investigation of Helicobacter pylori infection in elderly people in Beijing. *World J Clin Cases* 2020; 8: 2173-2180 [PMID: 32548147 DOI: 10.12998/wjcc.v8.i11.2173]
22 Šterbenc A, Jarc E, Poljak M, Homan M. Helicobacter pylori virulence genes. *World J Gastroenterol* 2019; 25: 4870-4884 [PMID: 31543679 DOI: 10.3748/wjg.v25.i33.4870]
23 Chmiela M, Kupcinskas J. Review: Pathogenesis of Helicobacter pylori infection. *Helicobacter* 2019; 24 Suppl 1: e12638 [PMID: 31486234 DOI: 10.1111/hel.12638]
24 李兆申, 陈旻湖, 吕农华, 周丽雅, 杜奕奇, 刘炯, 李景南, 常欣. 中国幽门螺杆菌根除与胃癌防控的专家共识意见(2019年, 上海). 中华健康管理学杂志 2019; 13: 285-291 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-1432.2019.05.008]
25 Rugge M, Genta RM, Di Mario F, El-Omar EM, El-Serag HB, Fassan M, Hunt RH, Kuipers EJ, Malfertheiner P, Sugano K, Graham DY. Gastric Cancer as Preventable Disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2017; 15: 1833-1843 [PMID: 28532700 DOI: 10.1016/j.cgh.2017.05.023]
26 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. 胃肠病学 2017; 22: 346-360 [DOI: 10.3969/j.issn.1008-7125.2017.06.006]
27. 中华医学会消化病学分会. 中国慢性胃炎共识意见(2017年, 上海). 中华消化杂志 2017; 37: 721-738 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-1432.2017.11.001]
28 Kodama M, Murakami K, Okimoto T, Sato R, Uchida M, Abe T, Shiota S, Nakagawa Y, Mizukami K, Fujioka T. Ten-year prospective follow-up of histological changes at five points on the gastric mucosa as recommended by the updated Sydney system after Helicobacter pylori eradication. *J Gastroenterol* 2012; 47: 394-403 [PMID: 22138891 DOI: 10.1007/s00535-011-0504-9]
29 Yanaoka K, Oka M, Ohata H, Yoshimura N, Deguchi H, Mukoubayashi C, Enomoto S, Inoue I, Iguchi M, Maekita T, Ueda K, Utsunomiya H, Tamai H, Fujishiro M, Iwane M, Takeshita T, Mohara O, Ichinose M. Eradication of Helicobacter pylori prevents cancer development in subjects with mild gastric atrophy identified by serum pepsinogen levels. *Int J Cancer* 2009; 125: 2697-2703 [PMID: 19610064 DOI: 10.1002/ijc.24591]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 © 2021 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

• 消息 •

《世界华人消化杂志》参考文献要求

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

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: https://www.baishideng.com

世界华人消化杂志 2021年5月28日; 29(10): 557-562

DOI: 10.11569/wcjd.v29.i10.557

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

临床实践 CLINICAL PRACTICE

孕前及孕早期母体风险因素与早产儿坏死性小肠结肠炎的相关性研究

马小江, 郑彤彤

马小江, 三门县人民医院妇产科 浙江省台州市 317100

郑彤彤, 台州市中心医院妇产科 浙江省台州市 318000

马小江, 副主任, 研究方向为妇产科.

作者贡献分布: 此课题由马小江设计; 研究过程由郑彤彤操作完成.

通讯作者: 郑彤彤, 本科, 主任医师, 318000, 浙江省台州市椒江区东海大道999号, 浙江省台州市中心医院妇产科. xvnttt@163.com

收稿日期: 2021-01-26
修回日期: 2021-03-06
接受日期: 2021-04-22
在线出版日期: 2021-05-28

Abstract

BACKGROUND

Necrotizing enterocolitis (NEC) is a common inflammatory bowel disease. If not treated timely, NEC may increase the risk of serious infection and death. Epidemiological studies have shown that damage to the gastrointestinal mucosa, premature delivery, and intestinal bacterial action are the basic conditions for the occurrence of this disease. In addition, weakened intestinal barrier function, hypertonic milk formula feeding, hypoxic-ischemic injury, probiotic use, and premature rupture of membranes are also related to the onset of NEC.

AIM

To analyze the correlation between maternal risk factors and NEC in premature infants before and during the first trimester.

METHODS

The clinical data of 54 preterm infants with NEC treated at our hospital from September 2017 to June 2020 were collected as an NEC group, and 106 non-NEC preterm infants during the same period were selected as a non-NEC group. The clinical symptoms of NEC in preterm infants were analyzed, and the maternal risk factors affecting the occurrence of NEC in preterm infants were analyzed by univariate and multivariate logistic regression analyses.

RESULTS

The clinical symptoms of 54 children with NEC were mainly abdominal distension, weakened bowel sounds, and hematochezia, accounting for 77.78%, 74.07%, and 64.81% of cases, respectively. The unconditional multiple

Relationship between maternal risk factors and occurrence of necrotizing enterocolitis in premature infants before and during the first trimester

Xiao-Jiang Ma, Tong-Tong Zheng

Xiao-Jiang Ma, Department of Obstetrics and Gynecology, Sanmen People's Hospital, Taizhou 317100, Zhejiang Province, China

Tong-Tong Zheng, Department of Obstetrics and Gynecology, Taizhou Central Hospital, Taizhou 318000, Zhejiang Province, China

Corresponding author: Tong-Tong Zheng, Bachelor, Chief Physician, Department of Obstetrics and Gynecology, Central Hospital of Taizhou City, Zhejiang Province, No. 999 Donghai Avenue, Jiaojiang District, Taizhou 318000, Zhejiang Province, China. xvnttt@163.com

Received: 2021-01-26
Revised: 2021-03-06
Accepted: 2021-04-22
Published online: 2021-05-28

logistic regression analysis confirmed that history of smoking before pregnancy, respiratory infection in early pregnancy, intrahepatic cholestasis, neutrophil/lymphocyte ratio (NLR) ≥h3, and gestational diabetes may be risk factors for NEC (odds ratio [OR] > 1, P < 0.05), while taking vitamin D in the first trimester may be a protective factor (OR < 1, P < 0.05).

CONCLUSION

The occurrence of NEC in premature infants may be related to poor living habits before pregnancy, respiratory infections, intrahepatic cholestasis, NLR, *etc*; these risk factors should be avoided before and during pregnancy.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Necrotizing enterocolitis in preterm infants; Maternal risk factors; Pre-pregnancy; Early pregnancy

Citation: Ma XJ, Zheng TT. Relationship between maternal risk factors and occurrence of necrotizing enterocolitis in premature infants before and during the first trimester. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2021; 29(10): 557-562

URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i10/557.htm

DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i10.557

摘要

背景

坏死性小肠结肠炎(necrotizing enterocolitis, NEC)是一种常见的炎症性肠道疾病, 若未及时治疗, 可能会增加严重感染及死亡的风险. 流行病学研究表明, 消化道黏膜受损、早产、肠道细菌作用是本病发生的基本条件, 同时受肠道屏障功能减弱、高渗奶方喂养、缺氧缺血性损伤、益生菌使用、胎膜早破等诸多危险因均与坏死性小肠结肠炎的发病有关.

目的

分析孕前及孕早期母体风险因素与早产儿NEC的相关性.

方法

回顾性研究, 收集2017-09/2020-06我院54例早产儿NEC临床资料作为NEC组, 另选同期106例非NEC早产儿作为非NEC组. 分析早产儿NEC的临床症状, 并经单因素、多因素logistic回归模型分析影响早产儿NEC发生的孕前及孕早期母体风险因素.

结果

54例NEC患儿临床症状以腹胀、肠鸣音减弱、便血为主, 分别占比77.78%、74.07%、64.81%; 经非条件多项Logistic回归分析证实, 孕前吸烟史、孕早期呼吸道感染、肝内胆汁淤积、嗜中性粒细胞/淋巴细胞比率(neutrophil to lymphocyte ratio, NLR)≥3及妊娠期糖尿病可能是诱发NEC的危险因素(OR>1, P<0.05), 而孕早期服用维生素D可能是保护因素(OR<1, P<0.05).

结论

早产儿NEC的发生可能与孕前不良生活习惯及孕早期呼吸道感染、肝内胆汁淤积、NLR等有关, 故孕前及孕早期需避免上述风险因素.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 早产儿坏死性小肠结肠炎; 母体风险因素; 孕前; 孕早期

核心提要: 本研究运用非条件多项Logistic回归分析的方法探讨孕前及孕早期母体风险因素与早产儿坏死性小肠结肠炎(necrotizing enterocolitis, NEC)的相关性, 发现早产儿NEC的发生可能与孕前不良生活习惯及孕早期呼吸道感染、肝内胆汁淤积、嗜中性粒细胞/淋巴细胞比率等有关.

文献来源: 马小江, 郑彤彤. 孕前及孕早期母体风险因素与早产儿坏死性小肠结肠炎的相关性研究. 世界华人消化杂志 2021; 29(10): 557-562

URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i10/557.htm

DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i10.557

0 引言

坏死性小肠结肠炎(necrotizing enterocolitis, NEC)属于一种常见的炎症性肠道疾病, 我国发病率为10%左右, 其中早产儿占90%以上[1]. NEC起病隐匿, 早期症状包括腹胀、喂养不耐受、胃潴留等, 随着病情不断进展, 细菌侵入肠壁, 加重炎症反应, 可能会造成肠壁产生间隙或裂缝, 导致有害菌泄漏至腹部, 病情晚期可出现血便、腹水、肠鸣音减弱、肠穿孔等表现, 若未及时治疗, 可能会增加严重感染及死亡的风险[2,3]. 目前, 关于NEC的具体发病机理及病因尚未明确, 缺乏特异性治疗方案. 鉴于短期内NEC的诊疗领域难以取得重大突破, 故全面掌握早产儿NEC发生的风险因素在制定治疗方案、降低NEC发生率、改善患儿预后中尤为关键[4]. 流行病学研究表明, 消化道黏膜受损、早产、肠道细菌作用是本病发生的基本条件, 同时受肠道屏障功能减弱、高渗奶方喂养、缺氧缺血性损伤、益生菌使用、胎膜早破等诸多危险因素影响[5]. 国内外对NEC的报道多集中于早产儿NEC与产前母体因素、患儿合并症因素的关系, 尚未见孕前及孕早期母体风险因素的研究. 鉴于此, 本研究通过分析孕前及孕早期母体风险因素与早产儿NEC的相关性, 旨在为NEC的早期预防及干预提供合理依据.

现报道如下.

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 一般资料: 回顾性研究, 收集2017-09/2020-06月我院54例早产儿NEC临床资料作为NEC组, 其中男29例, 女25例; 平均胎龄(32.95±1.03)周, 出生体重(1863.24±192.05) g, 5 min Apgar评分(7.64±1.25)分; 自然分娩18例, 剖宫产36例. 另收集同期106例非NEC早产儿临床资料作为非NEC组, 其中男58例, 女48例; 平均胎龄(32.16±1.15)周, 出生体重(1799.96±185.62) g, 5 min Apgar评分(7.97±1.02)分; 自然分娩39例, 剖宫产67例. NEC组基础资料相比非NEC组均衡性良好(P>0.05), 可对比.

1.1.2 入选标准: 纳入标准: 单胎; 胎龄<34 wk; NEC组符合NEC诊断标准[6], 且Bell分期≥Ⅱ期; 临床资料完整. 排除标准: 遗传代谢疾病、先天性免疫缺陷、胎粪性肠梗阻; 肠道闭锁、先天性巨结肠、先天性肥厚性幽门狭窄、肠旋转不良等先天性肠道畸形; 入院时间≤72 h.

1.2 方法

1.2.1 调查方法: 产后完成母体调查问卷, 包括: (1)一般人口学资料. 孕妇年龄、孕妇职业、居住地、孕妇学历; (2)孕前资料. 孕前是否存在慢性病史(高血压、糖尿病、冠心病、高脂血症等)、家族过敏史(哮喘、不明原因荨麻疹、食物或药物过敏、过敏性鼻炎等)、不良生育史(流产、畸形、胎胚停止发育、死胎等)、吸烟史、饮酒史; (3)孕早期资料. 孕早期是否存在呼吸道感染、服用维生素D、早期贫血、早期肝内胆汁淤积症及早期妊娠期糖尿病, 并记录嗜中性粒细胞/淋巴细胞比率(neutrophil to lymphocyte ratio, NLR)值.

1.2.2 质量控制: 由经过统一培训的调查人员协助所有孕妇填写问卷, 调查完成后, 由专人立即收回并核实问卷, 及时查漏补缺, 以确保结果真实性, 调查数据使用双录入法录入数据库.

统计学处理 采用SPSS 22.0软件进行数据处理, 计数资料用百分比表示, 采用χ^2检验, 将是否发生NEC作为因变量(0, 1), 将所选因素作为自变量, 经非条件多项Logistic回归分析找出可能的影响因素, P<0.05为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 临床症状 54例NEC患儿临床症状以腹胀、肠鸣音减弱、便血为主, 分别占比77.78%、74.07%、64.81%. 见表1.

表 1 54例坏死性小肠结肠炎患儿临床症状分析

临床症状	例数(n)	占比(%)
腹胀	42	77.78
肠鸣音减弱	40	74.07
便血	35	64.81
肌张力减弱	20	37.04
腹壁静脉显露	20	37.04
呕吐	18	33.33
肠穿孔	12	22.22
反应低下	9	16.67

2.2 NEC单因素分析 两组孕前吸烟史、孕早期呼吸道感染、服用维生素D、肝内胆汁淤积症、NLR及妊娠期糖尿病比例相比, 差异有统计学意义(P<0.05). 见表2.

2.3 NEC多因素分析 经非条件多项Logistic回归分析证实, 孕前吸烟史、孕早期呼吸道感染、肝内胆汁淤积、NLR≥3及妊娠期糖尿病可能是诱发NEC的危险因素(OR>1, P<0.05), 而孕早期服用维生素D可能是保护因素(OR<1, P<0.05). 见表3.

3 讨论

受早产儿肠道屏障功能发育不成熟、消化道黏膜通透性高、胃肠道动力弱、胃酸分泌少、消化酶活力低等因素影响, 当早产儿出现感染、喂养不当及肠壁缺血时, 易增加肠黏膜损伤的发生风险[7-9]. 此外, 早产儿可能存在免疫系统、胃肠道系统等多器官功能较弱、宫内发育迟缓现象, 故易产生NEC.

本研究结果发现, NEC患儿临床症状以腹胀、肠鸣音减弱、便血为主, 进一步经非条件多项Logistic回归分析证实, 孕前吸烟史、孕早期呼吸道感染、肝内胆汁淤积、NLR≥3及妊娠期糖尿病可能是诱发NEC的危险因素, 而孕早期服用维生素D可能是保护因素, 分析原因如下: (1)孕前吸烟. 烟草中一氧化碳及尼古丁可造成胚胎缺氧、缺血而出现畸形, 而母体主动或被动吸烟可降低血液输氧能力, 提升血红蛋白水平, 对胎儿宫内氧供及血供产生明显影响, 增加NEC发生率[9]. 因此, 需强化孕前及孕期保健知识的宣传指导工作, 促使孕妇戒烟, 养成良好的生活习惯; (2)孕早期上呼吸道感染. 母体感染病毒及炎症后不仅会对细胞代谢产生影响, 且造成大量细菌、毒素和抗体繁殖于胎儿血液中, 促使毒素产生, 并对肠道细胞产生作用, 刺激不成熟的肠道产生诸多细胞因子, 破坏促炎、抗炎信号途径的平衡, 导致肠屏障功能受损, 诱发肠黏膜坏死[10]; (3)肝内胆汁淤积. 肝内胆汁淤积可在短时间内增加胆汁酸浓度, 促使羊水中的胎盘绒毛静脉收缩力上升及血供降低, 影响肠管内微循环, 造成肠管坏死、淤血或形成血栓, 刺激肠黏膜

表 2　坏死性小肠结肠炎单因素分析*n* (%)

因素		NEC组(*n* = 54)	非NEC组(*n* = 106)	χ^2	*P*
年龄(岁)	<35	34	67	0.001	0.976
	≥35	20	39		
孕妇职业	家庭主妇	15	32	1.215	0.134
	职工	21	43		
	工人	13	24		
	其他	5	7		
居住地	城市	35	73	0.449	0.503
	农村	20	33		
孕妇学历	初中及以下	16	36	1.546	0.117
	高中	25	51		
	大专及以上	13	19		
孕妇慢性病史	是	10	13	1.137	0.286
	否	44	93		
家族过敏史	是	6	15	0.290	0.590
	否	48	91		
不良生育史	是	8	13	0.204	0.651
	否	46	93		
孕前吸烟史	是	27	21	15.526	0.000
	否	27	85		
孕前饮酒史	是	10	15	0.518	0.472
	否	44	91		
孕早期呼吸道感染	是	29	20	20.434	0.000
	否	25	86		
孕早期服用维生素D	是	20	67	9.876	0.002
	否	34	39		
孕早期贫血	是	11	23	0.038	0.846
	否	43	83		
孕早期肝内胆汁淤积症	是	16	10	10.722	0.001
	否	38	96		
孕早期NLR	<3	15	59	11.188	0.001
	≥3	39	47		
孕早期妊娠期糖尿病	是	19	15	9.459	0.002
	否	35	91		

NEC: 坏死性小肠结肠炎; NLR: 中性粒细胞与淋巴细胞比率.

表 3　坏死性小肠结肠炎多因素分析

因素	*B*	标准误	*Wald*	*P*	OR	95%CI
孕前吸烟史	1.398	0.365	14.647	0.000	4.048	1.978–8.282
孕早期呼吸道感染	1.607	0.369	18.974	0.000	4.988	2.420–10.279
孕早期服用维生素D	–1.072	0.346	9.574	0.002	0.342	0.174–0.675
孕早期肝内胆汁淤积症	1.397	0.446	9.792	0.002	4.042	1.685–9.695
孕早期NLR (≥3)	1.183	0.361	10.720	0.001	3.264	1.608–6.626
孕早期妊娠期糖尿病	1.192	0.399	8.943	0.003	3.293	1.508–7.193

NLR: 中性粒细胞与淋巴细胞比率.

分泌大量自由基, 介导再灌注损伤, 进而诱发NEC[11]. Lu等[12]一项回顾性病例对照设计研究中发现, 妊娠期肝内胆汁淤积症与NEC发生显著相关, 与本研究结果一致; (4)NLR≥3. NLR值上升可增加母体全身感染及局部宫内感染发生风险, 造成损伤型一氧化氮合成酶调节紊乱及胎儿炎症细胞因子上升, 加快胎儿血液循环, 引发肠系膜血管强烈收缩, 体内血流重新分布, 导致胎儿肠道上皮细胞处于一个缺氧、缺血状态, 甚至出现坏死、变形, 进而导致NEC的发生[13]; (5)妊娠期糖尿病. 妊娠期间胎儿直接从母体内摄取葡萄糖, 对其自身体内胰岛素的分泌产生影响, 诱发低血糖. 而低血糖会对胎儿各项器官、组织成功产生不利影响, 常通过喂养高渗奶、静脉输注葡萄糖、增加喂养量等途径以纠正低血糖, 但易增加渗透压及肠道负担, 破坏正常的肠道黏膜功能, 导致外界病菌趁机侵入, 从而诱发NEC[14]; (6)维生素D. Masri等[15]研究提出, 维生素D可经维生素D受体而发挥诱导肠道细胞凋亡及调节增殖、分化等生物学效应. 杨玲蓉等[16]研究发现, NEC组患儿维生素D正常、不足、缺乏、严重缺乏分别占比0%、9.1%、63.6%、27.3%, 且母体及早产儿血清25-羟基维生素D(25-OHD)水平较低, 可增加早产儿NEC的发生可能性. 新生儿维生素D主要来源于胎盘的营养供给, 本研究中孕早期服用维生素D与NEC发病风险的OR值为0.342, 有一定的保护效应, 故提倡母孕早期需补充维生素D.

4 结论

综上所述, 早产儿NEC的发生可能与孕前不良生活习惯及孕早期呼吸道感染、肝内胆汁淤积、NLR等有关, 故孕前及孕早期需避免上述风险因素. 但本研究尚存在一定局限性, 如研究只纳入Bell分期≥Ⅱ期的患儿, 可能未考虑到部分风险因素与NEC的关系; 研究属于单中心的回顾性病例研究, 收集数据时可能存在一定偏倚, 故后期仍存开展多中心、前瞻性、大样本量的研究进一步求证.

文章亮点

实验背景

目前对于早产儿坏死性小肠结肠炎(necrotizing enterocolitis, NEC)的发病机制的研究, 认为与消化道黏膜受损、早产、肠道细菌作用、肠道屏障功能减弱、高渗奶方喂养、缺氧缺血性损伤、益生菌使用、胎膜早破等诸多危险因素的影响, 但孕前及孕早期母体风险因素可能具有重要意义.

实验动机

分析孕前及孕早期母体风险因素与早产儿NEC的相关性, 旨在为NEC的早期预防及干预提供合理依据.

实验目标

本研究旨在通过对孕前及孕早期母体风险因素进行筛查, 从而确定其与早产儿NEC发病的相关关系, 为NEC患儿的早期防治治疗提供借鉴和依据.

实验方法

本研究主要采用数据分析的方法, 分析孕前及孕早期母体风险因素在早产儿NEC发病中的作用, 统计并分析二者的相关关系, 从而阐述孕前及孕早期母体风险因素对早产儿NEC发病的影响.

实验结果

孕前吸烟史、孕早期呼吸道感染、肝内胆汁淤积、嗜中性粒细胞/淋巴细胞比率(neutrophil to lymphocyte ratio, NLR)≥3及妊娠期糖尿病可能是诱发NEC的危险因素, 而孕早期服用维生素D可能是保护因素.

实验结论

孕前不良生活习惯及孕早期呼吸道感染、肝内胆汁淤积、NLR等因素可能是早产儿NEC的发生的重要因素, 孕前及孕早期应尽早规避上述风险因素, 有效防治早产儿NEC的发生.

展望前景

本研究病例主要选择本院病例, 为单中心研究, 因此受到地域和样本量等因素的影响, 要反映整个中国早产儿的情况, 还有待进一步扩大其他地域的样本量来进一步验证.

5 参考文献

1 Bellodas Sanchez J, Kadrofske M. Necrotizing enterocolitis. *Neurogastroenterol Motil* 2019; 31: e13569 [PMID: 30793842 DOI: 10.1111/nmo.13569]
2 Hackam D, Caplan M. Necrotizing enterocolitis: Pathophysiology from a historical context. *Semin Pediatr Surg* 2018; 27: 11-18 [PMID: 29275810 DOI: 10.1053/j.sempedsurg.2017.11.003]
3 熊小琴, 冯伟, 李小玉, 邓春. 影响足月和早产儿坏死性小肠结肠炎预后的危险因素分析. 重庆医科大学学报 2020; 45: 114-118 [DOI: 10.13406/j.cnki.cyxb.002324]
4 席娥, 朱晓飞. 新生儿坏死性小肠结肠炎发病及死亡危险因素研究. 现代消化及介入诊疗 2017; 6: 65-67 [DOI: 10.3969/j.issn.1672-2159.2017.06.021]
5 欧阳学认, 连逸青, 陈晓晴, 李颖, 许华. 坏死性小肠结肠炎新生儿预后的影响因素. 广西医学 2017; 39: 1185-1188 [DOI: 10.11675/j.issn.0253-4304.2017.08.22]
6 Bell MJ, Ternberg JL, Feigin RD, Keating JP, Marshall R, Barton L, Brotherton T. Neonatal necrotizing enterocolitis. Therapeutic decisions based upon clinical staging. *Ann Surg* 1978; 187: 1-7 [PMID: 413500 DOI: 10.1097/00000658-197801000-00001]
7 张兰, 徐友岚, 李敏许. 早产极低出生体重儿并发坏死性小肠结肠炎危险因素分析. 中国妇幼保健 2017; 32: 3515-3517 [DOI:

10.7620/zgfybj.j.issn.1001-4411.2017.15.41]
8 Wang ZL, An Y, He Y, Hu XY, Guo L, Li QY, Liu L, Li LQ. Risk factors of necrotizing enterocolitis in neonates with sepsis: A retrospective case-control study. *Int J Immunopathol Pharmacol* 2020; 34: 2058738420963818 [PMID: 33016797 DOI: 10.1177/2058738420963818]
9 黄艳, 梁小琴, 张敏, 杨婷, 彭海波, 陈幽. 新生儿坏死性小肠结肠炎检测指标与预后的相关性分析. 国际儿科学杂志 2018; 45: 567 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4408.2018.07.019]
10 Cognata A, Kataria-Hale J, Griffiths P, Maskatia S, Rios D, O'Donnell A, Roddy DJ, Mehollin-Ray A, Hagan J, Placencia J, Hair AB. Human Milk Use in the Preoperative Period Is Associated with a Lower Risk for Necrotizing Enterocolitis in Neonates with Complex Congenital Heart Disease. *J Pediatr* 2019; 215: 11-16.e2 [PMID: 31561958 DOI: 10.1016/j.jpeds.2019.08.009]
11 徐良银, 林振浪. 早产儿坏死性小肠结肠炎危险因素分析及益生菌预防效果观察. 中国妇幼保健 2018; 33: 110-113 [DOI: 10.7620/zgfybj.j.issn.1001-4411.2018.22.33]
12 Lu Q, Cheng S, Zhou M, Yu J. Risk Factors for Necrotizing Enterocolitis in Neonates: A Retrospective Case-Control Study. *Pediatr Neonatol* 2017; 58: 165-170 [PMID: 27543379 DOI: 10.1016/j.pedneo.2016.04.002]
13 Samuels N, van de Graaf RA, de Jonge RCJ, Reiss IKM, Vermeulen MJ. Risk factors for necrotizing enterocolitis in neonates: a systematic review of prognostic studies. *BMC Pediatr* 2017; 17: 105 [PMID: 28410573 DOI: 10.1186/s12887-017-0847-3]
14 杜越, 钟琴, 冯慧, 芦起. 影响新生儿坏死性小肠结肠炎严重程度的危险因素.儿科药学杂志 2019; 25: 22-25 [DOI: 10.13407/j.cnki.jpp.1672-108X.2019.02.005]
15 Masri OA, Chalhoub JM, Sharara AI. Role of vitamins in gastrointestinal diseases. *World J Gastroenterol* 2015; 21: 5191-5209 [PMID: 25954093 DOI: 10.3748/wjg.v21.i17.5191]
16 杨玲蓉, 李桦, 张彤, 赵如翠. 维生素D缺乏与早产儿坏死性小肠结肠炎的相关性. 中国当代儿科杂志 2018; 20: 178-183 [DOI: 10.7499/j.issn.1008-8830.2018.03.003]

科学编辑: 刘继红 制作编辑: 张砚梁

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 © 2021 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^{H}, *H pylori*不能写成HP, T1/2不能写成tl/2或$t\frac{1}{2}$, *V*max不能Vmax, μ不写为英文u. 需排斜体的外文字, 用斜体表示. 如生物学中拉丁学名的属名与种名, 包括亚属、亚种、变种. 如幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H.pylori*), *Ilex pubescens* Hook, *et* Arn.*var.glaber* Chang(命名者勿划横线); 常数*K*; 一些统计学符号(如样本数*n*, 均数mean, 标准差SD, *F*检验, *t*检验和概率*P*, 相关系数*r*); 化学名中标明取代位的元素、旋光性和构型符号(如*N*, *O*, *P*, *S*, *d*, *l*)如*n*-(normal, 正), *N*-(nitrogen, 氮), *o*-(ortho, 邻), *O*-(oxygen, 氧, 习惯不译), *d*-(dextro, 右旋), *p*-(para, 对), 例如*n*-butyl acetate(醋酸正丁酯), *N*-methylacetanilide(N-甲基乙酰苯胺), *o*-cresol(邻甲酚), 3-*O*-methyl-adrenaline(3-O-甲基肾上腺素), *d*-amphetamine(右旋苯丙胺), *l*-dopa(左旋多巴), *p*-aminosalicylic acid(对氨基水杨酸). 拉丁字及缩写*in vitro*, *in vivo*, *in situ*; Ibid, *et al*, *po*, *vs*; 用外文字母代表的物理量, 如*m*(质量), *V*(体积), *F*(力), *p*(压力), *W*(功), *v*(速度), *Q*(热量), *E*(电场强度), S(面积), *t*(时间), *z*(酶活性, kat), *t*(摄氏温度, ℃), *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_{max}, C_{max}, *V*d, $T_{1/2}$ *Cl*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.

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: https://www.baishideng.com

www.wjgnet.com

世界华人消化杂志 2021年5月28日; 29(10): I-V

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

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学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学事业的发展, 提高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:

7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA

E-mail: wcjd@wjgnet.com

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

https://www.wjgnet.com

Telephone: +1-925-3991568

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

E-mail: 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》编辑部主任王金磊, 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

E-mail: j.l.wang@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, *T*1/2不能写成tl/2或T, *V*max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, 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, ℃), *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), *j* (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*max, *C*max, *V*d, *T*1/2 *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 kD改为*M*r 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*r (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+、一及-后列出, 在±前后均要列出, 如37.6 ℃±1.2 ℃, 45.6岁±24岁, 56.4 d±0.5 d. 3.56±0.27 pg/ml应为3.56 ng/L±0.27 ng/L. BP用kPa (mmHg), RBC数用1×10^{12}/L, WBC数用1×10^{9}/L, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L. *M*r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_2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、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸用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1×10^{-3} g与5×10^{-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_2应为50 mL/L CO_2; 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 = 45×10^{-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χ^2; (4)样本的相关系数用英文小写*r*; (5)自由度用希文小写υ; (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$^aP<0.05$或$^bP<0.01$($P>0.05$不注). 如同一表中另有一套*P*值, 则用$^cP<0.05$和$^dP<0.01$; 第三套为$^eP<0.05$和$^fP<0.01$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 ofMedical 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志谢中. 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^{a}P<0.05或^{b}P<0.01(*P*>0.05不注). 如同一表中另有一套*P*值, 则用^{c}P<0.05和^{d}P<0.01; 第3套为^{e}P<0.05和^{f}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/min, c/(mol/L), p/kPa, V/mL, t/℃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[2-5]认为……; PCR方法敏感性高[6-7]. 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**
7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton,
CA 94566, USA
Telephone: +1-925-3991568
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
https://www.wjgnet.com

ISSN 1009-3079

© 2021 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

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

2021 年 6 月 8 日　　第 29 卷　　第 11 期　　(Volume 29 Number 11)



11/2021

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.

世界华人消化杂志 https://www.wjgnet.com 二零二一年六月八日 第二十九卷 第十一期

WCJD 世界华人消化杂志®

目　次

2021年6月8日 第29卷 第11期 (总第679期)

述评

563 肝脏肿瘤体外培养模型的应用与研究进展

邢家利, 王禹歆, 杜顺达

571 腹泻与肠道乳糖酶活性的关系研究进展

吴仪, 谭周进

基础研究

577 *TACC3*基因在肝癌中的表达及其与患者的预后关系

邢国强, 运涛, 赵国刚

585 电针联合六磨汤对慢传输型便秘大鼠的有益作用

王立明, 尚惺杰, 朱雅碧, 叶淑芳, 刘央央, 陈勇

临床研究

592 自拟解毒抗癌汤剂联合化疗治疗晚期结肠癌患者的临床效果及安全性分析

张炼, 钟津津, 许远, 张腮莉, 王磊, 徐晓翌

601 胶体金法检测粪便中TU M2PK、COX-2、Vimentin在大肠癌患者中的表达变化及临床意义分析

楼何飞, 马春梅, 傅英芝, 张术

文献综述

609 SAP早期预防性使用抗生素治疗的研究进展

何林, 孙昀

615 基于肠道微生态探源《黄帝内经》泄泻五脏论

李玉丽, 谭周进

消　　息

570　《腹痛的诊断、鉴别诊断与治疗》书讯
584　《世界华人消化杂志》正文要求
600　《世界华人消化杂志》栏目设置
608　《世界华人消化杂志》修回稿须知
614　《世界华人消化杂志》参考文献要求

封面故事

袁建业, 中医学博士, 研究员, 博士研究生导师, 美国纽约州立大学水牛城分校访问学者, 现任职于上海中医药大学附属龙华医院/上海中医药研究院脾胃病研究所, 兼任中国民族医药学会脾胃病分会常务理事, 中国中西医结合学会消化系统疾病专业委员会慢性便秘专家委员会常务委员, 《世界华人消化杂志》、*World Journal of Gastrointestinal Pathophysiology*和*Frontiers in Pharmacology*编委等学术任职. 主要从事中医药防治脾胃(消化)疾病的临床和基础研究, 先后主持国家自然科学基金项目3项, 上海市科委和上海市教委课题各1项; 以第一或通讯作者发表学术论文18篇, 其中SCI收录8篇, 参与完成的科研成果曾荣获上海市科技进步二等奖等奖励.

本期责任人

编务 张砚梁; 送审编辑 张砚梁; 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 李香; 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 2021-06-08
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
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
王金磊, 主任
《世界华人消化杂志》编辑部
Baishideng Publishing Group Inc
7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA
Telephone: +1-925-3991568
E-mail: wcjd@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com

出版
百世登出版集团有限公司
Baishideng Publishing Group Inc
7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA
Telephone: +1-925-3991568
E-mail: 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: +86-10-85381892

《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

© 2021 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

WCJD 世界华人消化杂志®

Contents

Volume 29 Number 11 June 8, 2021

EDITORIAL

563 Application and research progress of *in vitro* liver cancer cell culture models
Xing JL, Wang YX, Du SD

571 Relationship between diarrhea and intestinal lactase activity
Wu Y, Tan ZJ

BASIC RESEARCH

577 Relationship of *TACC3* gene expression with prognosis in hepatocellular carcinoma
Xing GQ, Yun T, Zhao GG

585 Electroacupuncture combined with Liumotang has beneficial effects on slow transit constipation in rats
Wang LM, Shang XJ, Zhu YB, Ye SF, Liu YY, Chen Y

CLINICAL RESEARCH

592 Clinical efficacy and safety of self-made Jiedu Kangai decoction combined with chemotherapy in treatment of patients with advanced colon cancer
Zhang L, Zhong JJ, Xu Y, Zhang SL, Wang L, Xu XY

601 Detection of TU M2PK, COX-2, and Vimentin expression in stool by colloidal gold method in patients with colorectal cancer and its clinical significance
Lou HF, Ma CM, Fu YZ, Zhang S

REVIEW

609 Advances in research of early use of prophylactic antibiotics in severe acute pancreatitis
He L, Sun Y

615 Discussion on the theory of treating diarrhea from five viscera in Huangdi Neijing based on intestinal microecology
Li YL, Tan ZJ

COVER

Editorial Board Member of *World Chinese Journal of Digestology*, Jian-Ye Yuan, MD, Researcher, Institute of Digestive Diseases, Longhua Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, No. 725 South Wanping Road, Xuhui District, Shanghai 200032, China. yuanjianye@hotmail.com

Indexed/Abstracted by

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

RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE

Assistant Editor: *Yan-Liang Zhang*
Review Editor: *Yan-Liang Zhang*
Production Editor: *Yan-Liang Zhang*
English Language Editor: *Tian-Qi Wang*
Proof Editor: *Xiang Li*
Layout Reviewer: *Lian-Sheng Ma*

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993
Renamed on January 25, 1998
Publication date June 8, 2021

NAME OF JOURNAL
World Chinese Journal of Digestology

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

EDITOR-IN-CHIEF

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
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
Jin-Lei Wang, Director
World Chinese Journal of Digestology
Baishideng Publishing Group Inc
7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA
Telephone: +1-925-3991568
E-mail: wcjd@wjgnet.com
https://www.wjgnet.com

PUBLISHER
Baishideng Publishing Group Inc
7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA
Telephone: +1-925-3991568
E-mail: 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

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

COPYRIGHT
© 2021 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.

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: https://www.baishideng.com

世界华人消化杂志 2021年6月8日; 29(11): 563-570

DOI: 10.11569/wcjd.v29.i11.563

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

述评 EDITORIAL

肝脏肿瘤体外培养模型的应用与研究进展

邢家利, 王禹歆, 杜顺达

邢家利, 王禹歆, 杜顺达, 中国医学科学院北京协和医院肝脏外科 北京市 100730

邢家利, 硕士, 主要从事肝脏外科临床及基础方面的研究.

基金项目: 国家自然科学基金, No. 81972698; 湖北陈孝平科技发展基金会肝胆胰恶性肿瘤研究基金, No. CXPJJH11900001-2019215.

作者贡献分布: 本论文写作由邢家利和王禹歆完成, 杜顺达负责指导、审核.

通讯作者: 杜顺达, 教授, 主任医师, 100730, 北京市东城区帅府院1号, 中国医学科学院北京协和医院肝脏外科. shundadu@sina.com

收稿日期: 2021-03-03
修回日期: 2021-03-30
接受日期: 2021-04-22
在线出版日期: 2021-06-08

Application and research progress of *in vitro* liver cancer cell culture models

Jia-Li Xing, Yu-Xin Wang, Shun-Da Du

Jia-Li Xing, Yu-Xin Wang, Shun-Da Du, Department of Liver Surgery, Peking Union Medical College Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100730, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No.81972698; Hubei Chen Xiaoping Science and Technology Development Foundation Research Fund for Hepatobiliary and Pancreatic Malignant Tumors, No. CXPJJH11900001-2019215.

Corresponding author: Shun-Da Du, Professor, Chief Physician, Department of Liver Surgery, Peking Union Medical College Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences, No. 1 Shuaifuyuan, Dongcheng District, Beijing 100730, China. shundadu@sina.com

Received: 2021-03-03
Revised: 2021-03-30
Accepted: 2021-04-22
Published online: 2021-06-08

Abstract

Liver cancer is gradually becoming an important burden on public health around the world, and many drugs are currently available for the treatment of liver cancer, so the correct choice of drugs will significantly improve the prognosis of patients. *In vitro* liver cancer cell culture model is an important way to study the pathogenesis of liver cancer and drug screening. Long-term practice has proved that the traditional two-dimensional (2D) drug screening method cannot truly reproduce the complex drug resistance mechanism of tumor. The emergence of *in vitro* three-dimensional (3D) hepatocellular carcinoma cell model enriches the selection of methods for hepatoma experiments *in vitro*. The experimental sensitivity of hepatoma drugs *in vitro* and the study of pathology and physiology of hepatoma cells *in vitro* have also been greatly improved. In this paper, we review the main types of liver cancer cells cultured *in vitro* and discuss their advantages and disadvantages, in order to clarify the development and research direction of *in vitro* liver cancer culture models.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Source of liver cancer cells; 2D liver cancer cell culture; Organoid; Human tumor xenotransplantation model; 3D liver cancer cell culture; 3D bioprinting

Citation: Xing JL, Wang YX, Du SD. Application and research progress of *in vitro* liver cancer cell culture models. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2021; 29(11): 563-570
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i11/563.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i11.563

摘要

肝癌正逐渐成为世界各国公众健康的重要负担, 而各种抗癌药物在肝癌的治疗中扮演着重要的作用, 正确的选择药物, 将显著改善患者预后. 体外肝癌细胞培养模型是研究肝癌发病机制以及药物筛选的重要途径. 长期的实践证明传统的二维药物筛选方法

无法真实的再现肿瘤复杂的耐药机制, 三维体外肝癌细胞模型的出现丰富了肝癌体外实验的方法选择的同时, 在体外肝癌药物实验敏感性及肝癌细胞病理、生理学体外研究方面也带了较大提高. 本文回顾了现有不同类型的肝癌细胞体外培养的主要类型、讨论其各自存在的优势及缺陷, 以明确肝癌体外培养模型的发展和研究方向.

© **The Author(s) 2021.** Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 肝癌细胞来源; 二维肝癌细胞培养; 类器官; 人源肿瘤异种移植模型; 三维肝癌细胞培养; 三维生物打印

核心提要: 肝癌细胞体外模型的应用与进展有助于更好探究肝癌的发生发展机制, 3D生物打印技术的出现为肝脏肿瘤的精准治疗和预后预测提供新方向和可能.

文献来源: 邢家利, 王禹歆, 杜顺达. 肝脏肿瘤体外培养模型的应用与研究进展. 世界华人消化杂志2021; 29(11): 563-570

URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i11/563.htm

DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i11.563

0 引言

肝癌是世界上最常见的恶性肿瘤之一, 包括肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)、肝内胆管细胞癌(intrahepatic cholangiocarcinoma, ICC)以及混合型[1]. 索拉非尼作为一线晚期肝癌治疗药物2007年上市, 随后仑伐替尼和二线瑞戈非尼也获得了批准, 给肝癌的药物治疗带来了希望. 然而, 临床实践显示它们的药物应答率较低, 仑伐替尼的客观应答率(objective response rate, ORR)为24%, 瑞戈非尼的ORR为11%, 索拉非尼的ORR仅为3%[2-4]. 近年来, 免疫药物的出现, 再次给肝癌的治疗带来了曙光, 尤其是靶向药物和免疫药物的联合应用, 但有效性仍然有限[5], 肝癌患者的5年生存率低于20%[6].肝癌细胞耐药性的出现以及肿瘤微环境的复杂机制给肝癌的传统治疗带来了巨大挑战.

肿瘤细胞的耐药性机制十分复杂, 如肿瘤细胞可以通过上调细胞表面的药物转运体来增强自身的耐药性, 多药耐药(multi-drug resistance, MDR)基因可以编码多种多药耐药蛋白(MDR protein, MRP), 将不同种类的药物排出细胞[7]. 此外, 肿瘤细胞还可以通过细胞周期机制[8]、染色质修饰[9]、表观遗传学改变[10]、以及肿瘤干细胞[11]等复杂机制产生耐药性. 同时, 肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME)中存在多种间质细胞及细胞因子成分, 机制复杂, 在肿瘤的生长、进展和耐药性方面扮演着重要的角色.

因此, 通过系统研究肝癌细胞微环境, 分析肝癌细胞对不同抗癌药物反应, 以及寻找分子标志物, 发现新的治疗靶点等方法实现对肝癌患者的精准治疗是一项十分迫切的任务[12]. 在研究肝癌发病机制和药物筛选时, 利用体外肝癌细胞模型系统对肝癌进行适当的建模是一种重要方式. 目前体外肝癌细胞培养模型构建主要采用包括2D细胞培养、类器官、人源肿瘤异种移植模型、三维细胞培养模型及3D生物打印模型等方法. 本文总结讨论了目前不同类型肝癌细胞体外培养模型的优势和局限性, 重点对3D细胞培养技术和3D生物打印技术进行了探讨, 以期明确肝癌体外培养模型的应用、将来的发展和研究方向.

1 体外培养肝癌细胞来源

1.1 细胞系源肝癌细胞 人肝癌细胞株是通过克隆培养法或通过筛选培养法从肝癌病理组织中分离出单细胞后, 由单个细胞不断分裂增殖形成的细胞群, 具有与原代组织极为相似的特性和人体完整的遗传基因, 并能稳定传代. 相较于人原代肝癌细胞, 具有来源方便、操作简单、条件可控和可重复等优点. 根据Cellosaurus数据库(2017-05-22; http://web.Expasy.org/cellosaurus/), 目前已有百余种肝癌细胞系; 但可用细胞系的数量受到肿瘤分离后细胞体外生长效率的限制, 目前已经发表的肝癌细胞系只有31种, 如HepG2、HepaRG等[13]. 同时细胞系的使用可能受到细胞培养物与不同细胞系的其他细胞的污染的限制, 在Cellosaurus数据库中已经列出了几个受污染的或被错误识别的细胞系, 如BEL7402、SMMC7721和SKHEP1等[14].

HepG2由Knowles等建系于1979年, 是一种肝母细胞瘤, 取自于一名高加索白人男性肝癌标本[15]. HepG2细胞呈上皮样形态, 典型染色体数目为55个, 贴壁抱团生长, 生长较快, 传代周期为1-2 d[16]. HepG2细胞具有低转移、裸鼠中成瘤率较差、AFP阳性等特点. 目前通过实验已证实, 该细胞系分化程度较高, 细胞里代谢酶的生物转化特性较完整, 不需加入外源性活化系统[17], 常被用于体外肝细胞代谢或遗传毒性试验方面[18]. 同HepG2细胞相比, HepaRG与人源原代肝细胞具有更多相似之处[19]. 在体外细胞实验的培养皿中, HepaRG细胞较人源原代肝细胞具有更稳定的细胞表型[20], 被视为人源原代肝细胞的最佳替代品[21].

1.2 人源原代肝癌细胞 在体外细胞学实验中, HepG2及HepaRG等肝癌细胞系已得到了广泛的应用, 但细胞系细胞的表型与人源原代肝癌细胞之间存在有较多不同之处[22]. 原代肝癌细胞取自肝癌患者手术切除病灶, 在体外消化离心后进行多维培养, 被视为体外肝癌细胞实验中金标准, 但在2D培养模式下, 肝癌细胞会较快发生去分化最终导致肝细胞功能缺失[23]. 研究证明人源原

表 1 肝脏肿瘤体外培养模型

肝癌模型	细胞来源	方式	优点	局限性
2D细胞培养[26,27]	细胞系	细胞培养皿	操作简单可行; 实时评估细胞存活和增殖情况	基因谱发生改变; 无法构建肿瘤微环境
类器官[28,29]	细胞系/原代细胞	温敏性基底膜提取物、水溶胶	探究原肿瘤的组织学和生物学特征; 自发生长, 长期生长传代; 模拟复杂肿瘤微环境TME; 可开展个性化药物筛查	依赖于原始肿瘤的固有增殖能力; 细胞数量、大小和分布不均匀, 无法控制生长
异种移植[30,31]	原代细胞/细胞系	移植	研究体内肿瘤生物学相互作用; 模拟肿瘤微环境; 长期培养; 个性化药筛, 直观展现抗肿瘤作用	动物自身免疫系统的干扰; 构建时间长, 存在随机性; 设施成本高和长期技能训练; 伦理学争议
3D细胞培养[32,33]	原代细胞/细胞系	聚球体模型[34]	较高组织化程度; 体外药物肝毒性测试	聚球体内肝癌细胞氧气或营养物质缺乏
		生物反应器[35]	动态细胞培养微环境, 并可调控培养参数	需要生物反应器
		微流控芯片[36]	流动状态三维培养建立细胞之间的联系, 并且形成外界化学刺激信号在三维结构细胞团内的梯度浓度分布	需要微流控设备; 难以长期保存培养基, 污染风险
3D生物打印[37-39]	原代细胞/细胞系	生物墨水、3D打印机	保留原肿瘤的生物学和遗传学特征; 操作简单方便; 细胞密度和分布均匀; 能够长期生存传代; 能够个性化药筛, 直观显示抗肿瘤作用	器械昂贵; 打印过程机械剪切力造成细胞损伤

代肝癌细胞在3D细胞模型长期培养过程中具有稳定性, 能够稳定分泌如白蛋白、激素等重要分子物质[24,25].

2 二维肝癌细胞培养

二维肿瘤模型的研究已经为肿瘤细胞的增殖和其他致瘤表型提供了一些启示, 但二维模型早已被证明具有局限性(表1), 特别是在癌症机制的研究和抗癌药物的开发方面[40,41]. 首先, 在二维培养条件下, 肿瘤组织中细胞与细胞、细胞与细胞外基质(ECM)的相互作用以及局部缺氧微环境的特征难以模拟. 其次, 传统的二维培养肝癌模型主要基于各种肝癌细胞系, 研究证明这些肝癌细胞系的基因表达模式发生了不可逆转的变化, 无法提供原始肿瘤的关键生物学特征[26,42]. 在药物筛选方面, 基于细胞系的二维体外肝癌模型已被广泛开展于肝癌药物的临床实验, 但细胞系由于存在基因漂变、部分细胞建系困难等因素影响而造成其实验结果在后续的动物实验中并不一定有效[43]. 虽然基于二维培养的体外药物筛选具备可进行高通量筛选、便捷的巨大优势, 但极低的有效率却增加了药物筛选成本, 使其逐渐被人源肿瘤异种移植模型所替代.

3 人源肝癌异种移植模型

移植性肝癌小鼠模型是指将肝癌细胞株或人源肝癌组织块移植到小鼠体内形成的动物模型, 主要分为两种, 一种是将肝癌细胞系(HepG2、HuH7等)接种到免疫缺陷小鼠体内, 称为CDX模型(cell-line-derived xenograft), 另一种是将来源于患者的肝癌组织块接种到免疫缺陷小鼠体内, 称为PDX模型(patient-derived xenograft). 相较于直接将细胞系移植到裸鼠体内的CDX技术, PDX模型由于直接来源于患者, 不会如细胞系一般丧失异质性和产生遗传漂变, 故能够更好的保持原有的肿瘤形态、转移特点、突变谱及药物反应[44]. 肝癌的PDX模型已应用于药物筛选、药效评价、肝癌的发生发展等多个方面[45]. Jiang等人[46]利用肝癌PDX模型发现GPC3-CART细胞能有效清除PDX中的肿瘤, GPC3-CART细胞有望成为肝癌的候选治疗方式. Wang等人[47]在PDX肝癌模型的基础上, 利用纳米载体将siRNA转移到肝癌细胞中, 与肿瘤特异性结合, 显著抑制Luc基因的表达, 为肝癌的治疗提供了新的方向.

但PDX模型也有其固有的缺陷: 一是其作为动物模型, 将人源肿瘤接种到小鼠上培养会受到宿主动物的一定干扰, 导致药物反应性最终出现差异[48]; 二是将人源原代肿瘤组织培养至可进行体外实验的数量需要耗费数月的时间且代价高昂[49,50]. 近年来, 具有人类免疫系统的人源化PDX小鼠模型正在开发和应用[51]. 未来如何提高皮下移植瘤的微环境相似性, 提高肝内移植的成功率, 将是建立肝癌PDX模型的重要研究方向.

4 肝癌类器官构建

类器官技术是一种基于基质胶的体外三维培养技术, 最初被应用于体外干细胞诱导分化为组织器官的研究, 近年来被广泛应用于构建肿瘤类器官. 肿瘤类器官能够很好保留亲代肿瘤的组织学特性、突变谱以及药物反应特点[52], 同PDX模型相比, 构建时间也更短. 肝癌类器官

已广泛应用于肿瘤发生发展机制、肿瘤干细胞和个体化药物筛选等方面. Broutier等人[28]在培养肝癌类器官时发现低分化肝癌的器官培养成功率接近100%, 但所有高分化肝癌均未成功培养成功, 肿瘤类器官的培养则取决于肿瘤干细胞的干性. Zheng等人[53]通过对肝癌不同细胞亚群的单细胞基因组测序发现, 肿瘤干细胞的异质性会导致肿瘤的异质性, 因此类肿瘤器官是研究肝癌干性的有力工具. 寻找肝癌干细胞的靶点开发靶向药物有望成为肝癌治疗的有效手段.

但肿瘤类器官技术在应用上仍有诸多局限性: 一是需要加入大量成分复杂、昂贵的细胞因子用以维持类器官自身的肿瘤微环境; 二是体外肿瘤类器官的构建成功率取决于肿瘤自身的增殖能力, 如肝细胞肝癌等增殖率较低的肿瘤在体外构建类器官的成功率很低[28], 这使得肿瘤类器官技术的应用面不如PDX模型广泛[54]. 近年来基于同样取材方案的肿瘤类器官技术通过三维培养基质作为载体, 供给复杂的生长因子用以模拟微环境, 成功的构建出体外肿瘤模型, 具备相当高的肿瘤同源性和药物反应相似度[52]. 在未来的研究中, 类器官若能与液态活检相结合, 可能有助于更全面、更准确地探讨肝癌的异质性, 分析不同肝癌细胞亚群协同作用导致肿瘤耐药的分子机制. 同时, 利用类肿瘤器官寻找肿瘤特异性抗原, 探索突破肿瘤免疫抑制微环境, 或利用类器官作为预测疗效的工具, 在免疫治疗方面具有很好的应用前景.

5 三维肝癌细胞培养

随着类器官技术在多种肿瘤模型构建中得到成功应用, 研究者已经普遍认为三维体系下的细胞培养能够更好的反映肿瘤异质性、突变谱和药物反应性[52]. 三维培养下的细胞能够在空间中立体分布, 这为细胞因子、趋化因子的不同分布提供了前提条件[55]. 相关研究已经证实肿瘤细胞在三维培养环境下能够通过上调多重耐药基因来增强自身的药物抵抗性[56].

目前多种三维培养技术已被用于三维体外肝癌模型的构建, 如聚球体模型、生物反应器、微制造技术相关3D肝癌细胞模型等. 肝癌细胞聚球体培养模型是由肝癌细胞在一定的微环境中自组装而成, 聚集体模型中肝癌细胞存活时间明显延长[57]. Jung等人[34]使用Huh7肝癌细胞系设计了一种肝癌细胞球体方案, 在球体内加入人脐静脉内皮细胞(HUVECs)进行共培养, 与单层细胞相比, 含有HUVECs的Huh7细胞球体在更高浓度的抗癌药物(阿霉素和索拉非尼)中存活. 和聚球体模型相比, 生物反应器可以为培养的细胞提供三维动态细胞培养微环境, 有效改善长期培养中的细胞间的物质交换[58,59]. Štampar等人[35]建立了一种利用动态回转器生物反应器系统对人肝癌细胞(HepG2/C3A)球体进行遗传毒性测试的方法, 将间接作用的遗传毒性化合物和杂环芳胺以非细胞毒性浓度暴露于球体, 测定DNA链断裂水平和DNA损伤反应基因的mRNA水平. 与单层培养相比, 在生物反应器条件下生长的HepG2/C3A球体的模型表现出更高的代谢酶编码基因的基础表达[35]. 微流控芯片主要基于微流体控制技术构建, 相较生物反应器而言, 微流控芯片能够实现简便高效的三维培养, 建立细胞之间的联系, 并且形成外界化学刺激信号在三维结构细胞团内的梯度浓度分布[60,61]. Zhang等人[36]基于肝癌细胞膜上表达的去唾液酸糖蛋白受体(ASGPR)与其配体的相互作用, 开发一种微流控装置芯片捕获循环肿瘤细胞(CTCs), 获利于微流体通道的小尺寸和微流体通道与细胞外延伸之间增强的局部地形相互作用, CTC血样的捕获率可达85%以上, 并且可以有效地测试释放的CTCs对化疗药物(索拉非尼或奥沙利铂)的敏感性. 随着不同类型三维肝癌细胞模型的出现, 它将更多地应用于药物敏感性和药物代谢分析、肝毒性预测、肝癌干细胞研究等领域.

6 三维肝癌细胞生物打印

近些年, 随着3D打印技术的使用范围从无机材料向生命体扩大的同时, 一种全新优化的体外肝癌细胞3D培养方式也随之而来. 3D生物打印是一项新兴的技术, 它使细胞和ECM材料能够直接组装成具有预先设计的几何和结构的复杂组织状结构[62,63]. 目前已经实现体外打印肺泡[64]、心脏[65]和血管[66]等复杂结构. 三维生物打印体借助精密工程学仪器的帮助, 控制各个细胞成分的三维位置, 从而还原组织中不同细胞具备不同分布的特点, 达到模拟体内微环境的目的.

为了建立有效的3D生物打印模型, 需要解决两个关键问题, 即生物墨水和细胞. 生物墨水是提供样品可打印性的重要组成部分[67], 同时也提供了基于生物材料使用的模拟活体微环境. 除了细胞和信号分子外, 肿瘤微环境主要由细胞外基质物质组成, 包括多糖、蛋白质和蛋白多糖. 这些物质构成了一个复杂的网络结构, 支持和连接肿瘤组织结构, 并调节肿瘤的发生和生理活动[68].

近来, 已有研究者利用3D生物打印技术来更长时间的保持细胞活性及功能[69], Nakao等人利用生物打印机制造出与肝索结构相似的名为“Canaliculi”的结构, 并将原代肝细胞及“Canaliculi”结构在胶原蛋白基质下培养, 在后期的检测过程中, 他们发现肝细胞的功能可维持长达4周时间. Chang等人[70]已经成功尝试利用多层组织模型应用在3D肝脏模型中, 这种多层次组织中

包含了鼠和人的肝脏细胞, 并且可以利用这种结构进行药物毒理实验以其他医学和生物学研究. Yang等人[37]利用HepaRG细胞和生物墨水构建3D生物打印肝器官, 将其移植到肝衰竭小鼠体内, 3D生物打印模型具有体内肝功能并显著提高了小鼠的存活率. Xie等人[38]采取6例肝癌患者原代肝癌细胞与明胶、海藻酸钠混合制成生物墨水进行打印, 成功构建三维生物肝癌模型. 此模型保留了亲本肝癌的特征, 包括生物标记物的稳定表达, 基因改变和表达谱的稳定维持, 并且能够直观、定量地显示抗癌药物筛选结果.

三维生物打印相对于三维培养也有其固有的劣势. 不论是常见机械挤出式打印机, 还是光固化等多种新形式的打印机, 应用打印技术将细胞构建成特定模型是一个需要大量前期工作, 且实际操作时耗时也较长的过程, 而细胞长期处于离开培养基的生物墨水中也会影响其功能. 此外, 挤出式打印机的机械压迫也会造成细胞损伤. 这使得部分脆弱的原代细胞在打印后短时间就会死亡, 无法成功构建模型. 这有赖于生物材料和机械工程技术的进一步发展. 3D生物打印目前仍处于初步发展阶段, 随着打印程序、生物墨水配置、打印模型的不断优化, 由肝癌细胞和间质细胞, 如内皮细胞、免疫细胞和成纤维细胞等其他细胞成分, 组成的多细胞打印模型有助于探索肝癌的微环境与异质性, 以及扩大不同抗肝癌药物敏感实验的筛选范围. 目前我们主要通过评估肝癌细胞功能基因表达来比较3D打印模型生物学特性, 未来可借助分析模型中肝癌细胞侵袭和转移等生物学表型来重建肿瘤转移环境.

7 结论

近些年, 随着人们对于体外培养肝癌细胞的微环境、细胞-细胞和细胞-细胞外基质之间作用和体外肝癌细胞培养灌流的深入研究, 越来越多的肝癌细胞体外实验模型得到逐步应用. 体外培养模型的最终目标, 是可以广泛应用于肝脏疾病的研究, 包括药物代谢及分子学领域, 并且性能稳定. 2D细胞培养、类器官、异种移植、微流体芯片等模型在肝癌个性化治疗研究方面取得了较多进展, 和其他技术的应用, 将会扩大其应用前景; 但高度依赖肿瘤细胞增殖能力、基因表达在培养过程中的改变、操作耗时长等因素在一定程度上限制了其转化应用于大规模研究的可能. 就目前而言, 随着3D体外培养技术的成熟和发展, 其将会在体外实验领域会更加深入, 在器官移植、终末期肝病和肝脏肿瘤精准个体化治疗等临床应用方面也将会起到不可替代的作用.

8 参考文献

1 Villanueva A. Hepatocellular Carcinoma. *N Engl J Med* 2019; 380: 1450-1462 [PMID: 30970190 DOI: 10.1056/NEJMra1713263]

2 Bruix J, Qin S, Merle P, Granito A, Huang YH, Bodoky G, Pracht M, Yokosuka O, Rosmorduc O, Breder V, Gerolami R, Masi G, Ross PJ, Song T, Bronowicki JP, Ollivier-Hourmand I, Kudo M, Cheng AL, Llovet JM, Finn RS, LeBerre MA, Baumhauer A, Meinhardt G, Han G; RESORCE Investigators. Regorafenib for patients with hepatocellular carcinoma who progressed on sorafenib treatment (RESORCE): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet* 2017; 389: 56-66 [PMID: 27932229 DOI: 10.1016/s0140-6736(16)32453-9]

3 Kudo M, Finn RS, Qin S, Han KH, Ikeda K, Piscaglia F, Baron A, Park JW, Han G, Jassem J, Blanc JF, Vogel A, Komov D, Evans TRJ, Lopez C, Dutcus C, Guo M, Saito K, Kraljevic S, Tamai T, Ren M, Cheng AL. Lenvatinib versus sorafenib in first-line treatment of patients with unresectable hepatocellular carcinoma: a randomised phase 3 non-inferiority trial. *Lancet* 2018; 391: 1163-1173 [PMID: 29433850 DOI: 10.1016/s0140-6736(18)30207-1]

4 Llovet JM, Ricci S, Mazzaferro V, Hilgard P, Gane E, Blanc JF, de Oliveira AC, Santoro A, Raoul JL, Forner A, Schwartz M, Porta C, Zeuzem S, Bolondi L, Greten TF, Galle PR, Seitz JF, Borbath I, Häussinger D, Giannaris T, Shan M, Moscovici M, Voliotis D, Bruix J; SHARP Investigators Study Group. Sorafenib in advanced hepatocellular carcinoma. *N Engl J Med* 2008; 359: 378-390 [PMID: 18650514 DOI: 10.1056/NEJMoa0708857]

5 Anwanwan D, Singh SK, Singh S, Saikam V, Singh R. Challenges in liver cancer and possible treatment approaches. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer* 2020; 1873: 188314 [PMID: 31682895 DOI: 10.1016/j.bbcan.2019.188314]

6 Zeng H, Chen W, Zheng R, Zhang S, Ji JS, Zou X, Xia C, Sun K, Yang Z, Li H, Wang N, Han R, Liu S, Li H, Mu H, He Y, Xu Y, Fu Z, Zhou Y, Jiang J, Yang Y, Chen J, Wei K, Fan D, Wang J, Fu F, Zhao D, Song G, Chen J, Jiang C, Zhou X, Gu X, Jin F, Li Q, Li Y, Wu T, Yan C, Dong J, Hua Z, Baade P, Bray F, Jemal A, Yu XQ, He J. Changing cancer survival in China during 2003-15: a pooled analysis of 17 population-based cancer registries. *Lancet Glob Health* 2018; 6: e555-e567 [PMID: 29653628 DOI: 10.1016/s2214-109x(18)30127-x]

7 Pajic M, Iyer JK, Kersbergen A, van der Burg E, Nygren AO, Jonkers J, Borst P, Rottenberg S. Moderate increase in Mdr1a/1b expression causes in vivo resistance to doxorubicin in a mouse model for hereditary breast cancer. *Cancer Res* 2009; 69: 6396-6404 [PMID: 19654309 DOI: 10.1158/0008-5472.can-09-0041]

8 Stewart DJ, Chiritescu G, Dahrouge S, Banerjee S, Tomiak EM. Chemotherapy dose--response relationships in non-small cell lung cancer and implied resistance mechanisms. *Cancer Treat Rev* 2007; 33: 101-137 [PMID: 17276603 DOI: 10.1016/j.ctrv.2006.12.002]

9 Sharma SV, Lee DY, Li B, Quinlan MP, Takahashi F, Maheswaran S, McDermott U, Azizian N, Zou L, Fischbach MA, Wong KK, Brandstetter K, Wittner B, Ramaswamy S, Classon M, Settleman J. A chromatin-mediated reversible drug-tolerant state in cancer cell subpopulations. *Cell* 2010; 141: 69-80 [PMID: 20371346 DOI: 10.1016/j.cell.2010.02.027]

10 Esteller M. Epigenetics in cancer. *N Engl J Med* 2008; 358: 1148-1159 [PMID: 18337604 DOI: 10.1056/NEJMra072067]

11 Clevers H. The cancer stem cell: premises, promises and challenges. *Nat Med* 2011; 17: 313-319 [PMID: 21386835 DOI: 10.1038/nm.2304]

12 Zucman-Rossi J, Villanueva A, Nault JC, Llovet JM. Genetic Landscape and Biomarkers of Hepatocellular Carcinoma. *Gastroenterology* 2015; 149: 1226-1239.e4 [PMID: 26099527 DOI: 10.1053/j.gastro.2015.05.061]

13 Qiu Z, Li H, Zhang Z, Zhu Z, He S, Wang X, Wang P, Qin J, Zhuang L, Wang W, Xie F, Gu Y, Zou K, Li C, Li C, Wang C, Cen J, Chen X, Shu Y, Zhang Z, Sun L, Min L, Fu Y, Huang

X, Lv H, Zhou H, Ji Y, Zhang Z, Meng Z, Shi X, Zhang H, Li Y, Hui L. A Pharmacogenomic Landscape in Human Liver Cancers. *Cancer Cell* 2019; 36: 179-193.e11 [PMID: 31378681 DOI: 10.1016/j.ccell.2019.07.001]
14 Rebouissou S, Zucman-Rossi J, Moreau R, Qiu Z, Hui L. Note of caution: Contaminations of hepatocellular cell lines. *J Hepatol* 2017; 67: 896-897 [PMID: 28807831 DOI: 10.1016/j.jhep.2017.08.002]
15 Hewitt NJ, Hewitt P. Phase I and II enzyme characterization of two sources of HepG2 cell lines. *Xenobiotica* 2004; 34: 243-256 [PMID: 15204697 DOI: 10.1080/00498250310001657568]
16 Westerink WM, Schoonen WG. Phase II enzyme levels in HepG2 cells and cryopreserved primary human hepatocytes and their induction in HepG2 cells. *Toxicol In vitro* 2007; 21: 1592-1602 [PMID: 17716855 DOI: 10.1016/j.tiv.2007.06.017]
17 Westerink WM, Schoonen WG. Cytochrome P450 enzyme levels in HepG2 cells and cryopreserved primary human hepatocytes and their induction in HepG2 cells. *Toxicol In vitro* 2007; 21: 1581-1591 [PMID: 17637504 DOI: 10.1016/j.tiv.2007.05.014]
18 Yokoyama Y, Sasaki Y, Terasaki N, Kawataki T, Takekawa K, Iwase Y, Shimizu T, Sanoh S, Ohta S. Comparison of Drug Metabolism and Its Related Hepatotoxic Effects in HepaRG, Cryopreserved Human Hepatocytes, and HepG2 Cell Cultures. *Biol Pharm Bull* 2018; 41: 722-732 [PMID: 29445054 DOI: 10.1248/bpb.b17-00913]
19 Aninat C, Piton A, Glaise D, Le Charpentier T, Langouët S, Morel F, Guguen-Guillouzo C, Guillouzo A. Expression of cytochromes P450, conjugating enzymes and nuclear receptors in human hepatoma HepaRG cells. *Drug Metab Dispos* 2006; 34: 75-83 [PMID: 16204462 DOI: 10.1124/dmd.105.006759]
20 Lübberstedt M, Müller-Vieira U, Mayer M, Biemel KM, Knöspel F, Knobeloch D, Nüssler AK, Gerlach JC, Zeilinger K. HepaRG human hepatic cell line utility as a surrogate for primary human hepatocytes in drug metabolism assessment in vitro. *J Pharmacol Toxicol Methods* 2011; 63: 59-68 [PMID: 20460162 DOI: 10.1016/j.vascn.2010.04.013]
21 Andersson TB, Kanebratt KP, Kenna JG. The HepaRG cell line: a unique in vitro tool for understanding drug metabolism and toxicology in human. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 2012; 8: 909-920 [PMID: 22568886 DOI: 10.1517/17425255.2012.685159]
22 Rodríguez-Antona C, Donato MT, Boobis A, Edwards RJ, Watts PS, Castell JV, Gómez-Lechón MJ. Cytochrome P450 expression in human hepatocytes and hepatoma cell lines: molecular mechanisms that determine lower expression in cultured cells. *Xenobiotica* 2002; 32: 505-520 [PMID: 12160483 DOI: 10.1080/00498250210128675]
23 Rowe C, Gerrard DT, Jenkins R, Berry A, Durkin K, Sundstrom L, Goldring CE, Park BK, Kitteringham NR, Hanley KP, Hanley NA. Proteome-wide analyses of human hepatocytes during differentiation and dedifferentiation. *Hepatology* 2013; 58: 799-809 [PMID: 23526496 DOI: 10.1002/hep.26414]
24 Tostões RM, Leite SB, Serra M, Jensen J, Björquist P, Carrondo MJ, Brito C, Alves PM. Human liver cell spheroids in extended perfusion bioreactor culture for repeated-dose drug testing. *Hepatology* 2012; 55: 1227-1236 [PMID: 22031499 DOI: 10.1002/hep.24760]
25 Ohkura T, Ohta K, Nagao T, Kusumoto K, Koeda A, Ueda T, Jomura T, Ikeya T, Ozeki E, Wada K, Naitoh K, Inoue Y, Takahashi N, Iwai H, Arakawa H, Ogihara T. Evaluation of human hepatocytes cultured by three-dimensional spheroid systems for drug metabolism. *Drug Metab Pharmacokinet* 2014; 29: 373-378 [PMID: 24695277 DOI: 10.2133/dmpk.dmpk-13-rg-105]
26 Wang W, Iyer NG, Tay HT, Wu Y, Lim TK, Zheng L, Song IC, Kwoh CK, Huynh H, Tan PO, Chow PK. Microarray profiling shows distinct differences between primary tumors and commonly used preclinical models in hepatocellular carcinoma. *BMC Cancer* 2015; 15: 828 [PMID: 26520397 DOI: 10.1186/s12885-015-1814-8]
27 Gao Q, Wang ZC, Duan M, Lin YH, Zhou XY, Worthley DL, Wang XY, Niu G, Xia Y, Deng M, Liu LZ, Shi JY, Yang LX, Zhang S, Ding ZB, Zhou J, Liang CM, Cao Y, Xiong L, Xi R, Shi YY, Fan J. Cell Culture System for Analysis of Genetic Heterogeneity Within Hepatocellular Carcinomas and Response to Pharmacologic Agents. *Gastroenterology* 2017; 152: 232-242.e4 [PMID: 27639803 DOI: 10.1053/j.gastro.2016.09.008]
28 Broutier L, Mastrogiovanni G, Verstegen MM, Francies HE, Gavarró LM, Bradshaw CR, Allen GE, Arnes-Benito R, Sidorova O, Gaspersz MP, Georgakopoulos N, Koo BK, Dietmann S, Davies SE, Praseedom RK, Lieshout R, IJzermans JNM, Wigmore SJ, Saeb-Parsy K, Garnett MJ, van der Laan LJ, Huch M. Human primary liver cancer-derived organoid cultures for disease modeling and drug screening. *Nat Med* 2017; 23: 1424-1435 [PMID: 29131160 DOI: 10.1038/nm.4438]
29 Nuciforo S, Fofana I, Matter MS, Blumer T, Calabrese D, Boldanova T, Piscuoglio S, Wieland S, Ringnalda F, Schwank G, Terracciano LM, Ng CKY, Heim MH. Organoid Models of Human Liver Cancers Derived from Tumor Needle Biopsies. *Cell Rep* 2018; 24: 1363-1376 [PMID: 30067989 DOI: 10.1016/j.celrep.2018.07.001]
30 Nazzal M, Sur S, Steele R, Khatun M, Patra T, Phillips N, Long J, Ray R, Ray RB. Establishment of a Patient-Derived Xenograft Tumor From Hepatitis C-Associated Liver Cancer and Evaluation of Imatinib Treatment Efficacy. *Hepatology* 2020; 72: 379-388 [PMID: 32356575 DOI: 10.1002/hep.31298]
31 Wu Y, Wang J, Zheng X, Chen Y, Huang M, Huang Q, Xiao W, Wei H, Tian Z, Sun R, Sun C. Establishment and Preclinical Therapy of Patient-derived Hepatocellular Carcinoma Xenograft Model. *Immunol Lett* 2020; 223: 33-43 [PMID: 32335145 DOI: 10.1016/j.imlet.2020.04.009]
32 Aref AR, Campisi M, Ivanova E, Portell A, Larios D, Piel BP, Mathur N, Zhou C, Coakley RV, Bartels A, Bowden M, Herbert Z, Hill S, Gilhooley S, Carter J, Cañadas I, Thai TC, Kitajima S, Chiono V, Paweletz CP, Barbie DA, Kamm RD, Jenkins RW. 3D microfluidic ex vivo culture of organotypic tumor spheroids to model immune checkpoint blockade. *Lab Chip* 2018; 18: 3129-3143 [PMID: 30183789 DOI: 10.1039/c8lc00322j]
33 Carvalho MR, Lima D, Reis RL, Correlo VM, Oliveira JM. Evaluating Biomaterial- and Microfluidic-Based 3D Tumor Models. *Trends Biotechnol* 2015; 33: 667-678 [PMID: 26603572 DOI: 10.1016/j.tibtech.2015.09.009]
34 Jung HR, Kang HM, Ryu JW, Kim DS, Noh KH, Kim ES, Lee HJ, Chung KS, Cho HS, Kim NS, Im DS, Lim JH, Jung CR. Cell Spheroids with Enhanced Aggressiveness to Mimic Human Liver Cancer In vitro and In Vivo. *Sci Rep* 2017; 7: 10499 [PMID: 28874716 DOI: 10.1038/s41598-017-10828-7]
35 Štampar M, Sedighi Frandsen H, Rogowska-Wrzesinska A, Wrzesinski K, Filipič M, Žegura B. Hepatocellular carcinoma (HepG2/C3A) cell-based 3D model for genotoxicity testing of chemicals. *Sci Total Environ* 2021; 755: 143255 [PMID: 33187710 DOI: 10.1016/j.scitotenv.2020.143255]
36 Zhang Y, Zhang X, Zhang J, Sun B, Zheng L, Li J, Liu S, Sui G, Yin Z. Microfluidic chip for isolation of viable circulating tumor cells of hepatocellular carcinoma for their culture and drug sensitivity assay. *Cancer Biol Ther* 2016; 17: 1177-1187 [PMID: 27662377 DOI: 10.1080/15384047.2016.1235665]
37 Yang H, Sun L, Pang Y, Hu D, Xu H, Mao S, Peng W, Wang Y, Xu Y, Zheng YC, Du S, Zhao H, Chi T, Lu X, Sang X, Zhong S, Wang X, Zhang H, Huang P, Sun W, Mao Y. Three-dimensional bioprinted hepatorganoids prolong survival of mice with liver failure. *Gut* 2021; 70: 567-574 [PMID: 32434830

DOI: 10.1136/gutjnl-2019-319960]
38 Xie F, Sun L, Pang Y, Xu G, Jin B, Xu H, Lu X, Xu Y, Du S, Wang Y, Feng S, Sang X, Zhong S, Wang X, Sun W, Zhao H, Zhang H, Yang H, Huang P, Mao Y. Three-dimensional bio-printing of primary human hepatocellular carcinoma for personalized medicine. *Biomaterials* 2021; 265: 120416 [PMID: 33007612 DOI: 10.1016/j.biomaterials.2020.120416]
39 Mao S, He J, Zhao Y, Liu T, Xie F, Yang H, Mao Y, Pang Y, Sun W. Bioprinting of patient-derived in vitro intrahepatic cholangiocarcinoma tumor model: establishment, evaluation and anti-cancer drug testing. *Biofabrication* 2020; 12: 045014 [PMID: 32599574 DOI: 10.1088/1758-5090/aba0c3]
40 Imamura Y, Mukohara T, Shimono Y, Funakoshi Y, Chayahara N, Toyoda M, Kiyota N, Takao S, Kono S, Nakatsura T, Minami H. Comparison of 2D- and 3D-culture models as drug-testing platforms in breast cancer. *Oncol Rep* 2015; 33: 1837-1843 [PMID: 25634491 DOI: 10.3892/or.2015.3767]
41 Peng W, Datta P, Ayan B, Ozbolat V, Sosnoski D, Ozbolat IT. 3D bioprinting for drug discovery and development in pharmaceutics. *Acta Biomater* 2017; 57: 26-46 [PMID: 28501712 DOI: 10.1016/j.actbio.2017.05.025]
42 Ledford H. US cancer institute to overhaul tumour cell lines. *Nature* 2016; 530: 391 [PMID: 26911756 DOI: 10.1038/nature.2016.19364]
43 Masters JR. Human cancer cell lines: fact and fantasy. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2000; 1: 233-236 [PMID: 11252900 DOI: 10.1038/35043102]
44 Stewart E, Federico SM, Chen X, Shelat AA, Bradley C, Gordon B, Karlstrom A, Twarog NR, Clay MR, Bahrami A, Freeman BB 3rd, Xu B, Zhou X, Wu J, Honnell V, Ocarz M, Blankenship K, Dapper J, Mardis ER, Wilson RK, Downing J, Zhang J, Easton J, Pappo A, Dyer MA. Orthotopic patient-derived xenografts of paediatric solid tumours. *Nature* 2017; 549: 96-100 [PMID: 28854174 DOI: 10.1038/nature23647]
45 Huynh H, Soo KC, Chow PK, Panasci L, Tran E. Xenografts of human hepatocellular carcinoma: a useful model for testing drugs. *Clin Cancer Res* 2006; 12: 4306-4314 [PMID: 16857806 DOI: 10.1158/1078-0432.ccr-05-2568]
46 Jiang Z, Jiang X, Chen S, Lai Y, Wei X, Li B, Lin S, Wang S, Wu Q, Liang Q, Liu Q, Peng M, Yu F, Weng J, Du X, Pei D, Liu P, Yao Y, Xue P, Li P. Anti-GPC3-CAR T Cells Suppress the Growth of Tumor Cells in Patient-Derived Xenografts of Hepatocellular Carcinoma. *Front Immunol* 2016; 7: 690 [PMID: 28123387 DOI: 10.3389/fimmu.2016.00690]
47 Wang K, Kievit FM, Sham JG, Jeon M, Stephen ZR, Bakthavatsalam A, Park JO, Zhang M. Iron-Oxide-Based Nanovector for Tumor Targeted siRNA Delivery in an Orthotopic Hepatocellular Carcinoma Xenograft Mouse Model. *Small* 2016; 12: 477-487 [PMID: 26641029 DOI: 10.1002/smll.201501985]
48 Tentler JJ, Tan AC, Weekes CD, Jimeno A, Leong S, Pitts TM, Arcaroli JJ, Messersmith WA, Eckhardt SG. Patient-derived tumour xenografts as models for oncology drug development. *Nat Rev Clin Oncol* 2012; 9: 338-350 [PMID: 22508028 DOI: 10.1038/nrclinonc.2012.61]
49 Mak IW, Evaniew N, Ghert M. Lost in translation: animal models and clinical trials in cancer treatment. *Am J Transl Res* 2014; 6: 114-118 [PMID: 24489990]
50 McGonigle P, Ruggeri B. Animal models of human disease: challenges in enabling translation. *Biochem Pharmacol* 2014; 87: 162-171 [PMID: 23954708 DOI: 10.1016/j.bcp.2013.08.006]
51 Khalil DN, Smith EL, Brentjens RJ, Wolchok JD. The future of cancer treatment: immunomodulation, CARs and combination immunotherapy. *Nat Rev Clin Oncol* 2016; 13: 273-290 [PMID: 26977780 DOI: 10.1038/nrclinonc.2016.25]
52 Vlachogiannis G, Hedayat S, Vatsiou A, Jamin Y, Fernández-Mateos J, Khan K, Lampis A, Eason K, Huntingford I, Burke R, Rata M, Koh DM, Tunariu N, Collins D, Hulkki-Wilson S, Ragulan C, Spiteri I, Moorcraft SY, Chau I, Rao S, Watkins D, Fotiadis N, Bali M, Darvish-Damavandi M, Lote H, Eltahir Z, Smyth EC, Begum R, Clarke PA, Hahne JC, Dowsett M, de Bono J, Workman P, Sadanandam A, Fassan M, Sansom OJ, Eccles S, Starling N, Braconi C, Sottoriva A, Robinson SP, Cunningham D, Valeri N. Patient-derived organoids model treatment response of metastatic gastrointestinal cancers. *Science* 2018; 359: 920-926 [PMID: 29472484 DOI: 10.1126/science.aao2774]
53 Zheng H, Pomyen Y, Hernandez MO, Li C, Livak F, Tang W, Dang H, Greten TF, Davis JL, Zhao Y, Mehta M, Levin Y, Shetty J, Tran B, Budhu A, Wang XW. Single-cell analysis reveals cancer stem cell heterogeneity in hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2018; 68: 127-140 [PMID: 29315726 DOI: 10.1002/hep.29778]
54 Weeber F, Ooft SN, Dijkstra KK, Voest EE. Tumor Organoids as a Pre-clinical Cancer Model for Drug Discovery. *Cell Chem Biol* 2017; 24: 1092-1100 [PMID: 28757181 DOI: 10.1016/j.chembiol.2017.06.012]
55 Wyckoff J, Wang W, Lin EY, Wang Y, Pixley F, Stanley ER, Graf T, Pollard JW, Segall J, Condeelis J. A paracrine loop between tumor cells and macrophages is required for tumor cell migration in mammary tumors. *Cancer Res* 2004; 64: 7022-7029 [PMID: 15466195 DOI: 10.1158/0008-5472.can-04-1449]
56 Xu X, Farach-Carson MC, Jia X. Three-dimensional in vitro tumor models for cancer research and drug evaluation. *Biotechnol Adv* 2014; 32: 1256-1268 [PMID: 25116894 DOI: 10.1016/j.biotechadv.2014.07.009]
57 Wu FJ, Friend JR, Remmel RP, Cerra FB, Hu WS. Enhanced cytochrome P450 IA1 activity of self-assembled rat hepatocyte spheroids. *Cell Transplant* 1999; 8: 233-246 [PMID: 10442736 DOI: 10.1177/096368979900800304]
58 Martin Y, Vermette P. Bioreactors for tissue mass culture: design, characterization, and recent advances. *Biomaterials* 2005; 26: 7481-7503 [PMID: 16023202 DOI: 10.1016/j.biomaterials.2005.05.057]
59 Freed LE, Guilak F, Guo XE, Gray ML, Tranquillo R, Holmes JW, Radisic M, Sefton MV, Kaplan D, Vunjak-Novakovic G. Advanced tools for tissue engineering: scaffolds, bioreactors, and signaling. *Tissue Eng* 2006; 12: 3285-3305 [PMID: 17518670 DOI: 10.1089/ten.2006.12.3285]
60 Nevill JT, Cooper R, Dueck M, Breslauer DN, Lee LP. Integrated microfluidic cell culture and lysis on a chip. *Lab Chip* 2007; 7: 1689-1695 [PMID: 18030388 DOI: 10.1039/b711874k]
61 Srinivasan V, Pamula VK, Fair RB. An integrated digital microfluidic lab-on-a-chip for clinical diagnostics on human physiological fluids. *Lab Chip* 2004; 4: 310-315 [PMID: 15269796 DOI: 10.1039/b403341h]
62 Ouyang L, Yao R, Mao S, Chen X, Na J, Sun W. Three-dimensional bioprinting of embryonic stem cells directs highly uniform embryoid body formation. *Biofabrication* 2015; 7: 044101 [PMID: 26531008 DOI: 10.1088/1758-5090/7/4/044101]
63 Wüst S, Müller R, Hofmann S. Controlled Positioning of Cells in Biomaterials-Approaches Towards 3D Tissue Printing. *J Funct Biomater* 2011; 2: 119-154 [PMID: 24956301 DOI: 10.3390/jfb2030119]
64 Grigoryan B, Paulsen SJ, Corbett DC, Sazer DW, Fortin CL, Zaita AJ, Greenfield PT, Calafat NJ, Gounley JP, Ta AH, Johansson F, Randles A, Rosenkrantz JE, Louis-Rosenberg JD, Galie PA, Stevens KR, Miller JS. Multivascular networks and functional intravascular topologies within biocompatible hydrogels. *Science* 2019; 364: 458-464 [PMID: 31048486 DOI: 10.1126/science.aav9750]
65 Lee A, Hudson AR, Shiwarski DJ, Tashman JW, Hinton TJ, Yerneni S, Bliley JM, Campbell PG, Feinberg AW. 3D bioprinting of collagen to rebuild components of the human

heart. *Science* 2019; 365: 482-487 [PMID: 31371612 DOI: 10.1126/science.aav9051]
66 Skylar-Scott MA, Uzel SGM, Nam LL, Ahrens JH, Truby RL, Damaraju S, Lewis JA. Biomanufacturing of organ-specific tissues with high cellular density and embedded vascular channels. *Sci Adv* 2019; 5: eaaw2459 [PMID: 31523707 DOI: 10.1126/sciadv.aaw2459]
67 Ouyang L, Highley CB, Sun W, Burdick JA. A Generalizable Strategy for the 3D Bioprinting of Hydrogels from Nonviscous Photo-crosslinkable Inks. *Adv Mater* 2017; 29 [PMID: 27982464 DOI: 10.1002/adma.201604983]
68 Peela N, Truong D, Saini H, Chu H, Mashaghi S, Ham SL, Singh S, Tavana H, Mosadegh B, Nikkhah M. Advanced biomaterials and microengineering technologies to recapitulate the stepwise process of cancer metastasis. *Biomaterials* 2017; 133: 176-207 [PMID: 28437628 DOI: 10.1016/j.biomaterials.2017.04.017]
69 Schütte J, Hagmeyer B, Holzner F, Kubon M, Werner S, Freudigmann C, Benz K, Böttger J, Gebhardt R, Becker H, Stelzle M. "Artificial micro organs"--a microfluidic device for dielectrophoretic assembly of liver sinusoids. *Biomed Microdevices* 2011; 13: 493-501 [PMID: 21347825 DOI: 10.1007/s10544-011-9517-7]
70 Chang R, Emami K, Wu H, Sun W. Biofabrication of a three-dimensional liver micro-organ as an in vitro drug metabolism model. *Biofabrication* 2010; 2: 045004 [PMID: 21079286 DOI: 10.1088/1758-5082/2/4/045004]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 © 2021 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

• 消息 •

书讯

本刊讯 由池肇春教授主编的《腹痛的诊断、鉴别诊断与治疗》已由人民卫生出版社出版发行.

腹痛是消化系统最常见的症状之一, 可引起腹痛的疾病很多, 容易发生误诊或漏诊, 以致患者得不到及时的诊治. 本书由全国著名消化内科及相关学科专业学者共同执笔, 为近年在腹痛诊疗方面的最新代表作. 精装, 图文并茂, 内容新颖实用, 全书2014千字, 分上下两篇, 上篇为总论, 包括腹痛的病理生理学、腹痛的病因与发病机制、腹痛的临床诊断、腹痛的内镜与影像诊断与鉴别诊断、腹痛的实验室诊断、腹痛的治疗等11章. 下篇为各论, 分别介绍腹痛疾病的鉴别诊断与治疗. 从第12章至第15章分别介绍腹腔脏器炎症、阻塞、扭转、穿孔、破裂、血管疾病、心肺疾病、妇科疾病、急性中毒等引起急性腹痛的鉴别诊断与治疗. 从第17章至第29章分别介绍胃肠、胰, 肾、感染、肿瘤引起的慢性腹痛鉴别诊断与治疗. 从第30章至第36章分别介绍肝胆系统疾病和系统疾病引起腹痛的鉴别诊断与治疗. 最后一章为经典案例53例, 分别介绍了不同案例的诊治体会、经验与教训.

全书以症状鉴别诊断为中心, 与治疗并重, 均作了全面与详尽的阐述, 是一部有关腹痛诊治的新作, 有较高的学术水平和参考价值, 可为消化内科、普外科、小儿科、感染科、肿瘤科、影像科和妇产科等学科医师学习与参考. 每册定价188元 , 购书热线 010-59787592, 010-59787584, 010-65264830, 人卫智慧服务商城(人卫社官方购书网站)、当当、京东、天猫等网店均可搜索购书, 欢迎选购.

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: https://www.baishideng.com

世界华人消化杂志 2021年6月8日; 29(11): 571-576

DOI: 10.11569/wcjd.v29.i11.571

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

述评 EDITORIAL

腹泻与肠道乳糖酶活性的关系研究进展

吴 仪, 谭周进

吴仪, 谭周进, 湖南中医药大学 湖南省长沙市 410208

吴仪, 湖南中医药大学2019级方剂学硕士研究生, 主要从事中医药-微生态研究.

基金项目: 国家自然科学基金, No.81874460.

作者贡献分布: 本文由吴仪完成, 谭周进审校.

通讯作者: 谭周进, 教授, 410208, 湖南省长沙市含浦科教园区学士路300号, 湖南中医药大学. tanzhjin@sohu.com

收稿日期: 2021-02-05
修回日期: 2021-03-08
接受日期: 2021-04-02
在线出版日期: 2021-06-08

Relationship between diarrhea and intestinal lactase activity

Yi Wu, Zhou-Jin Tan

Yi Wu, Zhou-Jin Tan, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, Hunan Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81874460.

Corresponding author: Zhou-Jin Tan, Professor, Hunan University of Chinese Medicine, No. 300 Xueshi Road, Hanpu Science and Education Park, Changsha 410208, Hunan Province, China. tanzhjin@sohu.com

Received: 2021-02-05
Revised: 2021-03-08
Accepted: 2021-04-02
Published online: 2021-06-08

Abstract

Lactase is one of the most important functional enzymes in the intestine, and it is closely related to diarrhea. Traditional Chinese medicine (TCM) has unique advantages in the treatment of diarrhea, but its curative effect mechanism on diarrhea is still unclear. In this paper, we discuss the relationship between diarrhea caused by different factors and intestinal lactase activity, and the relationship between diarrhea treatment by TCM and intestinal lactase activity. The activity of lactase in the intestinal tract can be increased by TCM, because TCM is helpful to repair the intestinal mucosa and regulate intestinal microbiota. TCM may improve the activity of intestinal lactase by regulating bacterial gene expression of lactase, and its specific mechanism is worthy of further study.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Lactase; Diarrhea; Intestinal mucosa; Microbiota; TCM

Citation: Wu Y, Tan ZJ. Relationship between diarrhea and intestinal lactase activity. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2021; 29(11): 571-576
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i11/571.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i11.571

摘要

乳糖酶作为肠道重要的功能酶之一, 其活性的表达与腹泻密切相关. 中药治疗腹泻性疾病具有独特优势, 中药治疗腹泻的疗效机制至今尚不明确. 本文探究不同因素诱导下的腹泻与肠道乳糖酶活性的关系, 中药治疗腹泻与肠道乳糖酶活性的关系, 发现不同因素诱导的腹泻会降低肠道乳糖酶活性, 中药治疗后提高肠道乳糖酶活性水平. 肠道乳糖酶活性的提高与中药作用于肠道黏膜与肠道菌群, 帮助修复肠道黏膜、调整肠道菌群有关, 中药或许能调控乳糖酶细菌基因的表达提高肠道乳糖酶活性, 具体机制值得进一步研究.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 乳糖酶; 腹泻; 肠黏膜; 肠道菌群; 中医药

核心提要: 本文通过综述腹泻与乳糖酶活性变化的关系, 以及中药疗效发挥与乳糖酶活性表达的关系. 发现不同因素诱导的腹泻存在不同程度的肠道黏膜损伤与肠道菌群紊乱, 与乳糖酶活性的差异表达有关, 而中医中药治疗能恢复或提高肠道乳糖酶的表达, 这或许与中药与肠道黏膜、肠道菌群相互作用相关; 此外发现对细菌乳糖酶基因的研究值得进一步深入.

文献来源: 吴仪, 谭周进. 腹泻与肠道乳糖酶活性的关系研究进展. 世界华人消化杂志 2021; 29(11): 571-576
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i11/571.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i11.571

0 引言

乳糖酶, 又称β-半乳糖苷酶, 是肠道重要的功能酶之一, 能分解乳糖成单糖为机体供能, 也可将乳糖催化成低聚半乳糖, 促进肠道益生菌增殖, 对维持肠道健康有重要意义. 乳糖酶主要由小肠绒毛刷状缘及肠道细菌分泌, 与腹泻密切相关. 研究表明, 机体缺乏乳糖酶时会出现乳糖不耐受的症状, 如严重的腹泻、腹胀、排气增多等, 或伴有呕吐、乳酸尿症, 严重者可出现脱水、酸中毒、营养不良及生长障碍等. 中医中药治疗腹泻效果明显, 本课题组发现对使用抗生素后的慢性腹泻, 中药治疗有较大的优势. 中药可能通过改善肠道黏膜屏障、调节肠道菌群, 提高肠道乳糖酶活性, 中药对腹泻疗效与乳糖酶基因的关系值得进一步探究. 故本文论述不同原因导致的腹泻与肠道乳糖酶活性表达的关系, 以及中药治疗腹泻的疗效与肠道乳糖酶活性表达之间的关系.

1 肠道乳糖酶与腹泻的相关性

1.1 肠道乳糖酶的构成与来源 乳糖是人乳中存在的唯一双糖, 由半乳糖和葡萄糖通过1,4-糖苷键的表达更科学连接而成, 是绒毛刷状缘表达的乳糖酶-根皮苷水解酶(lactase-phlorizinhydrolase, LPH)的主要底物, 在肠黏膜呈灶块状分布, 在空肠中部表达最高. 乳糖酶又称为β-半乳糖苷酶、乳糖酶-根皮苷水解酶, 由两条相同的胞外160 kDa多肽链和一个短的胞质内部分组成. 乳糖酶的α-葡萄糖苷酶活性将乳糖分解成单糖葡萄糖和半乳糖, 然后由钠(+)/葡萄糖(半乳糖)共转运蛋白(Na+/glucose cotransporter, SGLT1)主动转运到上皮细胞(肠细胞)中[1], 此外乳糖酶具有转糖基活性,可将乳糖催化形成低聚半乳糖[2].

人体肠道乳糖酶主要来源于以下3个途径: (1)主要由宿主乳糖酶基因合成, 分布在小肠绒毛刷状缘的黏膜表面; (2)肠道菌群能少量合成乳糖酶, 如双歧杆菌、乳杆菌、大肠杆菌, 酵母菌和霉菌; (3)服用外源乳糖酶补充[3,4]. 因此, 乳糖酶以人体胃肠黏膜(gastrointestinal mucosa, GIT)分泌为主, 同时也由肠道微生物所分泌. 乳糖酶宿主基因与微生物的互作经历了长久的过程. 首先在宿主基因不断地选择压力下, 由乳糖不持久性(lactase non persistence, LNP)变为乳糖持久性(lactase persistence, LP), 同时宿主基因会优先与有益的微生物合作. 最初的自然条件下, 人乳是乳糖唯一的来源, 乳糖酶基因会在断乳后逐渐关闭[5], 但畜牧业发展以来人类能更普遍的摄入含乳糖制品, 掀起了肠道内部一场巨变. 在没有LP等位基因的情况下, 代谢乳糖的细菌发挥了分解乳糖的巨大作用[6], 后来有益的宿主等位基因才出现并取代了微生物群功能, 并在部分人体内稳定下来[7,8]. 但这种分布具有种族与地域差异, 西欧及高加索地区的人更多的携带了乳糖酶基因, 而亚洲人则普遍缺乏. 另一方面, 肠道内微生物仍在发挥着乳糖代谢的作用, 双歧杆菌[9,10]、乳杆菌、大肠杆菌、酵母菌和霉菌是主要产乳糖酶的菌种. 虽然微生物代谢乳糖产能较少, 且乳糖酶在GIT分泌为主, 宿主与微生物间存在乳糖酶位点竞争关系, 但微生物产乳糖酶可以减少乳糖酶基因型之间的适应性差异, 减轻LP等位基因的选择压力, 从而保持人群中乳糖酶基因的多样性. 综上所述, 乳糖酶活性表达与机体肠道黏膜完整情况及细菌多样性相关.

1.2 腹泻与肠道乳糖酶活性的关系 乳糖酶作为重要的肠道功能酶之一, 与腹泻密切相关. 腹泻过程中普遍存在肠道黏膜破坏、菌群失调、胃肠动力障碍等肠道失调机制. 肠道黏膜受损, 刷状缘表达的乳糖酶水平降低, 或正常肠道菌群构成的破坏, 产肠道乳糖酶菌株受到抑制, 都会降低乳糖酶活性. 此外破坏或抑制乳糖酶基因的表达也会降低肠道乳糖酶活性. 经过课题组的研究, 发现不同干预因素(包括药物、饮食、温度湿度等)诱导的腹泻乳糖酶的表达有差异.

1.2.1 药物诱导的腹泻与肠道乳糖酶活性: 抗生素抗生素相关性腹泻(antibiotic-associated diarrhea, AAD)是临床使用抗生素治疗最容易发生的不良反应之一, AAD主要与黏膜的破坏和肠道微生物组成及功能失调有关. 如表1[11-16]中所示, 我们的前期研究证明使用混合抗生素溶液灌胃后小鼠肠道内容物及黏膜乳糖酶活性自第一天开始下降, 直至第5天差异达到极致[11]. 杨春富等[16]发现婴幼儿肺炎用药后尿半乳糖含量或活性下降, 乳糖不耐受阳性率达81.8%. 进一步对AAD小鼠肠道内容物及肠道黏膜细菌进行16Sr RNA测序, 结果表明抗生

表 1　腹泻与肠道乳糖酶活性的相关性

疾病	影响因素	肠道乳糖酶活性变化
AAD[11]	混合抗生素	小肠黏膜及内容物乳糖酶活性↓
肠道湿热泄泻[12]	高糖高脂+高温高湿+白酒+冰水	小肠内容物乳糖酶活性↓
肝郁脾虚[13]	番泻叶灌胃	小肠黏膜乳糖酶活性↓
感染性腹泻[14]	大肠杆菌O_{101}诱导	小肠黏膜乳糖酶活性↓
脾虚[15]	番泻叶灌胃	小肠内容物乳糖酶活性↓
婴幼儿腹泻[16]	肺炎用抗生素	乳糖酶含量或活性↓

AAD: 抗生素失调性腹泻.

表 2　中药对腹泻疗效与肠道乳糖酶活性的相关性

分组疾病	影响因素	中药治疗后乳糖酶活性变化	中医方剂
AAD[31]	混合抗生素	肠道黏膜及内容物乳糖酶活性↑	七味白术散
肝气乘脾泄泻[32]	番泻叶+情志刺激	肠道黏膜及内容物乳糖酶活性↑	痛泻要方
肠道湿热泄泻[12]	高糖高脂+高温高湿+白酒+冰水	肠道黏膜及内容物乳糖酶活性↑	葛根芩连汤
肝郁脾虚[13]	番泻叶灌胃	肠道黏膜乳糖酶活性↑	加味二术散
感染性腹泻[14]	大肠杆菌O_{101}诱导	肠道黏膜乳糖酶活性↑	白头翁复方

AAD: 抗生素失调性腹泻.

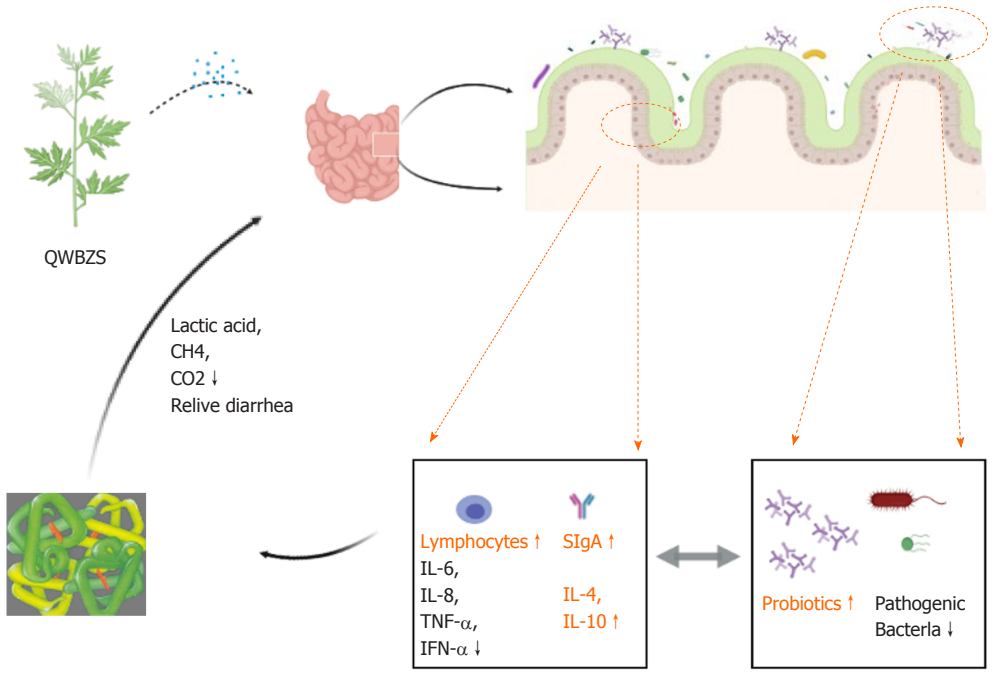


图 1　七味白术散治疗AAD腹泻的疗效机理. QWBZS: 七味白术散; IL-6: 白细胞介素6; IL-8:白细胞介素8; IL-4: 白细胞介素4; IL-10: 白细胞介素10; TNF-α: 肿瘤坏死因子-α; SIgA: 分泌型免疫球蛋白A; CH4: 甲烷; CO2: 二氧化碳.

素降低了肠道细菌多样性, 尽管抗生素处理后杀死一些致病菌, 如支原体和幽门螺旋杆菌, 但更为严重的是抗生素导致了变形菌门的扩张[17,18]. 据报道[19], 变形菌门近来被证明可作为肠道上皮功能障碍的诊断特征, 肠道炎症或抗生素处理可增加结肠上皮的氧化作用, 从而破坏厌氧环境, 驱动兼性厌氧的变形菌门的扩张. 过量混合抗生素的使用降低了肠道乳酸杆菌的丰度, 减弱了肠道黏膜的定植抗力, 增加其他机会致病菌对肠道黏膜的破

坏作用(如肠球菌属及梭菌属), 降低肠道黏膜乳糖酶活性. 另一方面, 混合抗生素导致了肠道内容物菌群失调[17], 降低了肠道内容物乳酸菌丰度、减少了肠道乳酸杆菌数量[20], 并通过抑制乳糖酶产生菌而降低乳糖酶活性.

课题组对细菌乳糖酶基因的研究发现了抗生素可能通过破坏或抑制肠道内容物乳糖酶基因的形成与表达, 降低细菌乳糖酶基因的多样性[21]; 黏膜细菌乳糖酶基因多样性增加, 可能与黏膜结构被破坏, 肠道定植抗力减弱, 大量菌群迁移至黏膜层有关[22]. 我们的研究证明抗生素的使用并未影响小鼠细菌乳糖酶基因13910位点多态性[23].

总之, 过量混合抗生素的使用破坏了肠道黏膜屏障, 改变了菌群在黏膜与内容物中的构成, 增加了细菌的多样性, 但减少了产乳糖酶关键菌群的菌群. 乳糖酶以黏膜分泌为主, 故肠道黏膜的破坏是抗生素导致乳糖酶活性下降的主要原因. 抗生素的使用会影响细菌乳糖酶基因多样性, 但具体机制需进一步研究.

番泻叶诱导腹泻的肠道机理主要是减少对水、电解质的吸收造成肠道非推进性收缩增强, 以及改变肠道微生物菌群与代谢[24]. 本课题发现番泻叶能明显抑制肠道内容物乳糖酶活性, 而对肠道黏膜乳糖酶活性没有影响, 这可能是因为番泻叶致泻并非明显的损伤了肠道黏膜, 所以对肠道黏膜乳糖酶并无影响[15].

1.2.2 环境因素诱导的腹泻与肠道乳糖酶活性水平相关性: 多项研究证明, 环境因素与物种基因是影响肠道菌群的重要因素, 在同一物种中环境因素对肠道菌群的影响, 甚至比宿主自身因素(年龄/性别)更显著. 这种环境因素包括季节气候、居住条件、地域、食物构成等[25,26]. 中医泄泻是以排便次数增多, 粪质溏薄或完谷不化, 甚至泻出如水样为主症的病证. 从病因学角度, 中医认为外感寒湿或湿热之邪, 饮食不当, 脾虚体质, 情志变化等都是引起泄泻的重要因素. 从微生物学角度来看, 这些因素都能对肠道菌群产生影响.

温度、湿度、饮食都是影响机体肠道菌群的重要因素, 温热环境增强了菌群的多胺生物合成, 使乙酰亚精胺和腐胺等多胺水平升高[27]. 短暂的高糖饮食虽然不会促进小鼠肠炎的形成, 但会改变肠道菌群的构成, 增加黏液降解细菌, 削弱肠道黏液屏障[28]. Tian等人[29]发现高温环境下的绍兴鸭肠道内乳酸杆菌为优势菌属; 惠华英等[12]通过“高糖高脂+高温高湿+白酒+冰水”的复合因素模拟中医肠道湿热证泄泻, 发现高脂高糖饮食损伤肠道黏膜, 降低了肠道黏膜酶活性(表1), 同时多种复合因素下改变了肠道菌群的构成, 提高了肠道微生物产乳糖酶的能力, 促细菌产乳糖酶的主要影响因素为高脂高糖饮食.

由上可知, 腹泻与肠道乳糖酶活性具有相关性, 且与乳糖酶活性下降成呈正相关. AAD对肠道黏膜及肠道菌群的损伤最严重, 降低了小肠黏膜与内容物的乳糖酶活性; 环境与饮食诱导的腹泻与乳糖酶关系密切, 主要降低了肠道内容物乳糖酶活性; 番泻叶诱导的腹泻主要降低了肠道黏膜乳糖酶活性. 这提示我们不同因素诱导的腹泻与乳糖酶活性降低相关, 且具体因素影响下的活性变化有区别.

2 中药治疗腹泻与乳糖酶活性的相关性及疗效机制

中医药对腹泻具有明显的治疗优势, 但其疗效机制尚不明确, 尤其中医学认为腹泻具有不同的方证, 这使研究变得更加复杂. 贺璐等[30]认为中草药对肠道消化酶水平具有调控作用, 主要是通过修复肠道黏膜损伤、改善肠道环境及调整肠道微生物调节肠道消化酶活性水平. 表2[12-14, 31-32]说明了中药对肠道乳糖酶具有调控作用, 中医药治疗腹泻后肠道乳糖酶活性会明显提高. 从消化酶活性水平着手, 探究中药对泄泻的肠道疗效机制及微生态调节机制具有创新性, 根据课题组实验结果表明, 中药提高腹泻下肠道乳糖酶的活性可能通过以下两个主要途径: 肠道黏膜修复与肠道菌群调整(图1).

2.1 中药通过修复肠道黏膜提高乳糖酶活性治疗腹泻 肠道黏膜是饮食消化吸收的重要场所, 同时也是肠道免疫的重要防线. 一旦肠黏膜屏障受损, 肠上皮细胞间的完整连接结构受损, 肠上皮通透性增加. 宿主乳糖酶主要由肠黏膜上皮细胞分泌, 因此黏膜乳糖酶的活性高低与肠道黏膜的损伤状态密切相关. 惠华英等[31]证明七味白术散能恢复且提高AAD小鼠肠道黏膜乳糖酶活性, 吴仪等[32]使用痛泻要方治疗肝气乘脾泄泻小鼠, 发现中药组小鼠肠黏膜乳糖酶、蔗糖酶等二糖酶活性明显提高, 对治疗腹泻具有一定作用. 肠黏膜上肥大细胞活化分数反映肠道黏膜炎症, 研究证明痛泻要方能降低肥大细胞活化分数, 帮助修复肠黏膜[33]. 蛋白酶激活受体2是一种丝氨酸蛋白酶受体, 广泛分布于肠上皮细胞上. 肠道PAR-2受体信号与肠上皮细胞屏障损伤密切相关. 谭许鹏等发现痛泻要方及防风能改善肠上皮Caco-2细胞屏障, 这与方中有效活性成分如槲皮素等密切相关. 惠华英等[12]实验证明, 葛根芩连汤明显提高了肠道湿热证泄泻小鼠肠道黏膜乳糖酶活性, 能促进肠道黏膜分泌乳糖酶, 这与葛根芩连汤参与修复肠黏膜屏障有关. 张宁等[34]实验证明加味葛根芩连汤明显降低黏膜低氧诱导因子-1α(HIF-1α)、二胺氧化酶(DAO)、D-乳酸(D-LA), 对重度湿热型溃疡性结肠炎具有黏膜修复的作用.

2.2 中药通过调控“肠道菌群-代谢产物”提高肠道乳糖酶活性 中药所含成分非常复杂, 除含有大量的活性

成分外, 还有多糖、蛋白质、脂类等大分子物质及微生物、微量元素等. 中药成分进入肠道后, 某些机体无法消化的物质需要肠道内庞大的微生物参与, 这些成分会直接刺激对应菌群的增长, 从而改变肠道菌群的构成, 调整肠道菌群的平衡. 厚壁菌门是产乳糖酶的主要菌门[35], *Akkermansia muciniphila* (*Akk*菌)、肠道乳酸杆菌及肠道共生的多形拟杆菌(*Bacteroides thetaiotaomicron, BT*)也被证实能产生β-半乳糖苷酶[36,37]. 研究证明[20], QWBZS能增加AAD小鼠黏膜乳酸菌和拟杆菌S24-7的丰度, 抑制内容物中拟杆菌和*Ochrobactrum*的增长, 增加*Osillospir, Dorea*, *Coprococcus and Blautia*丰度, 调整肠道菌群的结构分布及多样性; 葛根芩连汤通过增加乳酸菌的数量, 缓解AAD; 痛泻要方能促进益生菌的增长和抑制病原菌、条件致病菌(普雷沃氏菌和理研菌、肠杆菌等)[38]; 四君子汤能增加小鼠肠道内乳酸杆菌和双歧杆菌的数量[39]. FDA法测定肠道总微生物活性简便快捷, 能迅速地反应肠道内微生物的活跃程度, 实验证明痛泻要方能提高肝气乘脾泄泻小鼠的肠道微生物活度, 说明中药能整体提高肠道内酶活性水平[40].

2.3 中药调控肠道乳糖酶活性与肠道细菌乳糖酶基因的关系 β-半乳糖苷酶基因编码是由4个亚基组成的四聚体. 从不同物种提取的β-半乳糖苷酶的蛋白质序列有着较高的同源性和相似性. 人体胃肠道微生物组蕴含着丰富的微生物酶类基因资源, 共有基因支持着微生物日常生存的基本功能, 如酶的消耗和分解, 能量转换和代谢[41]. 乳糖酶基因的多样性可为物种进化提供材料,从而提高乳糖酶的催化效率. 中药能调控乳糖酶活性治疗腹泻, 在酶量及酶基因表达水平都有可能发挥作用. 从乳糖酶基因的表达水平有助于深入认识中药的疗效机制[31].

哺乳动物乳糖酶基因存在多个单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)位点, 其基因多态性与乳糖酶活性存在显著相关性. 课题组研究证明与QWBZS对AAD疗效的发挥与乳糖酶基因13910位点多态性没有相关性, 可能存在其他多态性位点或其他方面的调控机制[23]. 此外, 我们的研究表明QWBZS能促进肠道黏膜乳糖酶基因的多样性恢复至正常水平, 同时QWBZS能调节肠道黏膜细菌的构成, 说明QWBZS主要通过改变细菌的结构, 帮助修复肠屏障黏膜, 调节乳糖酶活性治疗腹泻[42]. QWBZS处理没有增加细菌乳糖酶基因的多样性, 其对腹泻的疗效可能与其促进新的或一些关键的产乳糖酶菌株的生长有关[43].

3 结论

不同的干预因素及中药治疗改变了肠道菌群的组成与特定肠道菌群, 尤其影响了产乳糖酶细菌. 不同的干预因素不同程度的降低了肠道内容物或黏膜的乳糖酶活性, 与肠道黏膜状态及肠道菌群的变化差异有关. 中药调控肠道黏膜以及肠道菌群, 提高肠道乳糖酶活性, 与腹泻的疗效成正相关. 乳糖酶基因表达水平及酶基因编码功能的研究需要进一步深入. 未来应该继续研究中药对腹泻疗效的物质基础, 重点是寻找不同干预因素下的与乳糖酶活性密切相关的肠道产乳糖酶细菌, 对细菌乳糖酶基因的研究值得进一步深入.

4 参考文献

1 Chen L, Tuo B, Dong H. Regulation of Intestinal Glucose Absorption by Ion Channels and Transporters. *Nutrients* 2016; 8 [PMID: 26784222 DOI: 10.3390/nu8010043]
2 张莉, 李庆章, 田雷. β-半乳糖苷酶研究进展. 东北农业大学学报 2009; 40: 128-131 [DOI: 10.3969/j.issn.1005-9369.2009.07.027]
3 Leis R, de Castro MJ, de Lamas C, Picáns R, Couce ML. Effects of Prebiotic and Probiotic Supplementation on Lactase Deficiency and Lactose Intolerance: A Systematic Review of Controlled Trials. *Nutrients* 2020; 12 [PMID: 32443748 DOI: 10.3390/nu12051487]
4 Oak SJ, Jha R. The effects of probiotics in lactose intolerance: A systematic review. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2019; 59: 1675-1683 [PMID: 29425071 DOI: 10.1080/10408398.2018.1425977]
5 邓艳玲, 舒兰, 刘又嘉, 谭周进. 肠道乳糖酶在小儿腹泻诊疗中的意义. 世界华人消化杂志 2016; 24: 664-669
6 Ségurel L, Bon C. On the Evolution of Lactase Persistence in Humans. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 2017; 18: 297-319 [PMID: 28426286 DOI: 10.1146/annurev-genom-091416-035340]
7 Itan Y, Jones BL, Ingram CJ, Swallow DM, Thomas MG. A worldwide correlation of lactase persistence phenotype and genotypes. *BMC Evol Biol* 2010; 10: 36 [PMID: 20144208 DOI: 10.1186/1471-2148-10-36]
8 Sturm RA, Duffy DL. Human pigmentation genes under environmental selection. *Genome Biol* 2012; 13: 248 [PMID: 23110848 DOI: 10.1186/gb-2012-13-9-248]
9 Hove H, Nørgaard H, Mortensen PB. Lactic acid bacteria and the human gastrointestinal tract. *Eur J Clin Nutr* 1999; 53: 339-350 [PMID: 10369488 DOI: 10.1038/sj.ejcn.1600773]
10 Szilagyi A. Adaptation to Lactose in Lactase Non Persistent People: Effects on Intolerance and the Relationship between Dairy Food Consumption and Evalution of Diseases. *Nutrients* 2015; 7: 6751-6779 [PMID: 26287234 DOI: 10.3390/nu7085309]
11 惠华英, 贺璐, 彭昕欣, 邓艳玲, 舒兰, 谭周进, 彭买姣. 抗生素所致菌群失调腹泻小鼠肠道乳糖酶活性的研究. 中国预防兽医学报 2017: 761-763 [DOI: 10.3969/j.issn.1008-0425.2017.09.16]
12 惠华英, 何云山, 罗成宇, 谭周进. 葛根芩连汤对肠道湿热证泻泄小鼠肠道微生物活度和酶活性的影响. 应用与环境生物学报 2020; 1-8 [PMID: 26287234 DOI: 10.19675/j.cnki.1006-687x.2020.02032]
13 姚璐. 加味二术颗粒剂对肝郁脾虚证小鼠止泻机制的影响研究. 四川畜牧兽医 2017; 44: 25-28+31
14 张晓利, 王迎春, 徐倩倩, 王丽叶, 霍晓青, 曹玲芝, 张永辉, 董世山. 白头翁复方对腹泻小鼠肠道粘膜乳糖酶活性的影响. 河北农业大学学报 2010; 33: 99-102 [DOI: 10.3969/j.issn.1000-1573.2010.02.022]
15 徐琦, 刘又嘉, 邓艳玲, 肖新云, 谭周进, 舒兰. 番泻叶对腹泻小鼠肠道乳糖酶活性的影响. 湖南中医杂志 2016; 32: 189-191 [DOI: 10.16808/j.cnki.issn1003-7705.2016.08.089]
16 杨春富, 李文红, 于志丹, 王文华, 陈雯微. 婴幼儿肺炎用药后导致腹泻与乳糖酶的相关性分析. 医学信息(中旬刊) 2011; 24: 89

[DOI: 10.3969/j.issn.1006-1959.2011.01.091]
17 Xie G, Tan K, Peng M, Long C, Li D, Tan Z. Bacterial diversity in intestinal mucosa of antibiotic-associated diarrhea mice. *3 Biotech* 2019; 9: 444 [PMID: 31763122 DOI: 10.1007/s13205-019-1967-2.]
18 Shao H, Zhang C, Xiao N, Tan Z. Gut microbiota characteristics in mice with antibiotic-associated diarrhea. *BMC Microbiol* 2020; 20: 313 [PMID: 33059603 DOI: 10.1186/s12866-020-01999-x]
19 Litvak Y, Byndloss MX, Tsolis RM, Bäumler AJ. Dysbiotic Proteobacteria expansion: a microbial signature of epithelial dysfunction. *Curr Opin Microbiol* 2017; 39: 1-6 [PMID: 28783509 DOI: 10.1016/j.mib.2017.07.003]
20 刘茜明, 杨光勇, 何光志, 田维毅, 蔡琨, 王平, 黄高, 梁建东, 王文佳. 葛根芩连汤对抗生素相关腹泻肠道乳酸杆菌属的影响研究. 家畜生态学报 2016; 37: 74-78
21 Long CX, He L, Guo YF, Liu YW, Xiao NQ, Tan ZJ. Diversity of bacterial lactase genes in intestinal contents of mice with antibiotics-induced diarrhea. *World J Gastroenterol* 2017; 23: 7584-7593 [PMID: 29204058 DOI: 10.3748/wjg.v23.i42.7584]
22 Long C, Liu Y, He L, Tan Q, Yu Z, Xiao N, Tan Z. Bacterial lactase genes diversity in intestinal mucosa of mice with dysbacterial diarrhea induced by antibiotics. *3 Biotech* 2018; 8: 176 [PMID: 29556430 DOI: 10.1007/s13205-018-1191-5]
23 龙承星, 贺璐, 刘又嘉, 郭艳芳, 于子真, 任婷, 谭周进. 菌群失调腹泻造模及七味白术散治疗对小鼠乳糖酶基因13910多态性的影响. 中国微生态学杂志 2017; 29: 766-770 [DOI: 10.13381/j.cnki.cjm.201707006]
24 孙森凤, 张颖颖. 番泻叶成分及药理作用研究进展. 山东化工 2017; 46: 44-45
25 Ren T, Boutin S, Humphries MM, Dantzer B, Gorrell JC, Coltman DW, McAdam AG, Wu M. Seasonal, spatial, and maternal effects on gut microbiome in wild red squirrels. *Microbiome* 2017; 5: 163 [PMID: 29268780 DOI: 10.1186/s40168-017-0382-3]
26 Kers JG, Velkers FC, Fischer EAJ, Hermes GDA, Stegeman JA, Smidt H. Host and Environmental Factors Affecting the Intestinal Microbiota in Chickens. *Front Microbiol* 2018; 9: 235 [PMID: 29503637 DOI: 10.3389/fmicb.2018.00235]
27 Chevalier C, Kieser S, Çolakoğlu M, Hadadi N, Brun J, Rigo D, Suárez-Zamorano N, Spiljar M, Fabbiano S, Busse B, Ivanišević J, Macpherson A, Bonnet N, Trajkovski M. Warmth Prevents Bone Loss Through the Gut Microbiota. *Cell Metab* 2020; 32: 575-590.e7 [PMID: 32916104 DOI: 10.1016/j.cmet.2020.08.012]
28 Khan S, Waliullah S, Godfrey V, Khan MAW, Ramachandran RA, Cantarel BL, Behrendt C, Peng L, Hooper LV, Zaki H. Dietary simple sugars alter microbial ecology in the gut and promote colitis in mice. *Sci Transl Med* 2020; 12 [PMID: 33115951 DOI: 10.1126/scitranslmed.aay6218]
29 Tian Y, Li G, Chen L, Bu X, Shen J, Tao Z, Zeng T, Du X, Lu L. High-temperature exposure alters the community structure and functional features of the intestinal microbiota in Shaoxing ducks (Anas platyrhynchos). *Poult Sci* 2020; 99: 2662-2674 [PMID: 32359603 DOI: 10.1016/j.psj.2019.12.046]
30 贺璐, 龙承星, 刘又嘉, 肖嫩群, 谭周进. 中药对肠道消化酶活性的调节作用. 中药材 2017; 40: 1983-1986 [DOI: 10.13863/j.issn1001-4454.2017.08.055]
31 惠华英, 申可佳, 李丹丹, 谭周进. 七味白术散对抗生素所致腹泻小鼠肠道乳糖酶活性的影响. 中国微生态学杂志 2018; 30: 1126-1129
32 吴仪, 唐圆, 刘娅薇, 惠华英, 谭周进. 痛泻要方对“肝气乘脾”泄泻小鼠肠黏膜及肠内容物消化酶活性的影响. 中国微生态学杂志 2020; 32: 745-749 [DOI: 10.13381/j.cnki.cjm.202007001]
33 毛丽娟, 韩树堂. 痛泻要方对腹泻型IBS患者肠黏膜肥大细胞活化的影响. 北方药学 2011; 08: 55-57
34 张宁, 周晓丽, 刘帅. 加味葛根芩连汤联合常规治疗对重度湿热型溃疡性结肠炎患者的临床疗效. 中成药 2020; 42: 351-355
35 Wang W, Hu H, Zijlstra RT, Zheng J, Gänzle MG. Metagenomic reconstructions of gut microbial metabolism in weanling pigs. *Microbiome* 2019; 7: 48 [PMID: 30914068 DOI: 10.1186/s40168-019-0662-1]
36 Kostopoulos I, Elzinga J, Ottman N, Klievink JT, Blijenberg B, Aalvink S, Boeren S, Mank M, Knol J, de Vos WM, Belzer C. Akkermansia muciniphila uses human milk oligosaccharides to thrive in the early life conditions in vitro. *Sci Rep* 2020; 10: 14330 [PMID: 32868839 DOI: 10.1038/s41598-020-71113-8]
37 Gil-Cruz C, Perez-Shibayama C, De Martin A, Ronchi F, van der Borght K, Niederer R, Onder L, Lütge M, Novkovic M, Nindl V, Ramos G, Arnoldini M, Slack EMC, Boivin-Jahns V, Jahns R, Wyss M, Mooser C, Lambrecht BN, Maeder MT, Rickli H, Flatz L, Eriksson U, Geuking MB, McCoy KD, Ludewig B. Microbiota-derived peptide mimics drive lethal inflammatory cardiomyopathy. *Science* 2019; 366: 881-886 [PMID: 31727837 DOI: 10.1126/science.aav3487]
38 袁榛, 舒兰, 彭昕欣, 谭周进. 痛泻要方对肠道微生态影响的研究进展. 世界华人消化杂志 2020; 28: 357-361
39 黄文武, 彭颖, 王梦月, 彭崇胜, 李晓波. 四君子汤及其单味药水煎液对脾虚大鼠肠道菌群的调节作用. 中国实验方剂学杂志 2019; 25: 8-15 [DOI: 10.13422/j.cnki.syfjx.20190847]
40 唐圆, 吴仪, 惠华英, 谭周进. 痛泻要方对肝气乘脾泄泻小鼠肠道微生物活度的影响. 中国微生态学杂志 2020; 32: 17-20 [DOI: 10.13381/j.cnki.cjm.202001004]
41 Tierney BT, Yang Z, Luber JM, Beaudin M, Wibowo MC, Baek C, Mehlenbacher E, Patel CJ, Kostic AD. The Landscape of Genetic Content in the Gut and Oral Human Microbiome. *Cell Host Microbe* 2019; 26: 283-295.e8 [PMID: 31415755 DOI: 10.1016/j.chom.2019.07.008]
42 He L, Liu Y, Guo Y, Shen K, Hui H, Tan Z. Diversity of intestinal bacterial lactase gene in antibiotics-induced diarrhea mice treated with Chinese herbs compound Qi Wei Bai Zhu San. *3 Biotech* 2018; 8: 4 [PMID: 29242764 DOI: 10.1007/s13205-017-1024-y]
43 Long C, Liu Y, He L, Yu R, Li D, Tan Z, Hui H. Bacterial lactase genes diversity in intestinal mucosa of dysbacterial diarrhea mice treated with Qiweibaizhu powder. *3 Biotech* 2018; 8: 423 [PMID: 30280074 DOI: 10.1007/s13205-018-1460-3]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: https://www.baishideng.com

世界华人消化杂志 2021年6月8日; 29(11): 577-584

DOI: 10.11569/wcjd.v29.i11.577

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

基础研究 BASIC RESEARCH

*TACC3*基因在肝癌中的表达及其与患者的预后关系

邢国强, 运 涛, 赵国刚

邢国强, 运涛, 赵国刚, 天津市第五中心医院普外科 天津市 300450

邢国强, 住院医师, 研究方向为普通外科.

作者贡献分布: 此课题由邢国强设计,数据统计和文章撰写,研究过程和数据统计由运涛共同完成; 赵国刚负责最终的审较.

通讯作者: 赵国刚, 副主任医师, 300450, 天津市滨海新区浙江路41号, 天津市第五中心医院普外科. tjsdwzxyyzgg@163.com

收稿日期: 2021-02-22
修回日期: 2021-04-05
接受日期: 2021-05-11
在线出版日期: 2021-06-08

Relationship of *TACC3* gene expression with prognosis in hepatocellular carcinoma

Guo-Qiang Xing, Tao Yun, Guo-Gang Zhao

Guo-Qiang Xing, Tao Yun, Guo-Gang Zhao, Department of General Surgery, The Fifth Central Hospital of Tianjin, Tianjin 300450, China

Corresponding author: Guo-Gang Zhao, Deputy Chief Physician, Department of General Surgery, The Fifth Central Hospital of Tianjin, No. 41 Zhejiang Road, Binhai New Area, Tianjin 300450, China. tjsdwzxyyzgg@163.com

Received: 2021-02-22
Revised: 2021-04-05
Accepted: 2021-05-11
Published online: 2021-06-08

Abstract

BACKGROUND

Transforming acidic coiled coil protein 3 (TACC3) is an important member of the TACC family. Studies have shown that *TACC3* gene is highly expressed in breast cancer, non-small cell lung cancer, and gastric cancer, and is associated with poor prognosis. However, its expression in liver cancer and its relationship with prognosis are rarely reported.

AIM

To explore the clinical significance of *TACC3* gene expression in liver cancer.

METHODS

The expression of *TACC3* gene in normal human tissues, liver cancer tissues, and liver cancer cell lines was mined by searching databases including BioGPS, Oncomine, and Cancer Cell Line Encyclopedia (CCLE), respectively. Kaplan-Meier plotter and GEPIA were used to analyze the effect of *TACC3* gene expression on the prognosis of liver cancer patients.

RESULTS

BioGPS database analysis showed that *TACC3* gene was expressed in all normal tissues and *TACC3* gene expression in the liver was slightly higher than that in other normal tissues (median expression value, 8.95 *vs* 7.1). A total of 290 studies on *TACC3* gene were retrieved from Oncomine database, showing four studies with high expression and one with low expression of *TACC3* gene in liver cancer tissues. Meta-analysis showed that *TACC3* gene was highly expressed in liver cancer tissues compared with normal liver tissues (Median rank = 442.5, $P < 0.05$). CCLE database analysis showed that *TACC3* mRNA was highly expressed in liver cancer cell lines. The survival analysis results by Kaplan-Meier plotter based on the GEPIA database showed that the overall survival time (OS) and progression-free survival time (PFS) of liver cancer patients in the TACC3 high expression group were worse than those of the low expression group ($P < 0.05$).

CONCLUSION

TACC3 gene is highly expressed in liver cancer tissues. And the high expression of *TACC3* gene is associated with poor survival prognosis in liver cancer patients.

© **The Author(s) 2021.** Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Liver hepatocellular carcinoma; Bioinformatics; *TACC3* gene

Citation: Xing GQ, Yun T, Zhao GG. Relationship of *TACC3* gene expression with prognosis in hepatocellular carcinoma. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2021; 29(11): 577-584
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i11/577.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i11.577

摘要

背景

转录相关酸性卷曲蛋白3 (transforming acidic coiled coil protein 3, TACC3)是TACC家族的重要成员, 研究表明, *TACC3*基因在乳腺癌, 非小细胞肺癌, 胃癌中高表达, 并与预后较差有关. 但是其在肝癌中的表达情况及与患者预后的关系鲜见报道.

目的

通过生物信息学手段探讨*TACC3*基因在肝癌中的表达及其与患者的预后关系.

方法

分别检索BioGPS、Oncomine、癌症细胞系百科全书(cancer cell line encyclopedia, CCLE)数据库, 挖掘分析*TACC3*基因在正常人体组织、肝癌组织及肝癌细胞系中的表达情况, 应用 Kaplan-Meier Plotter、GEPIA等数据库分析*TACC3*基因对肝癌患者预后的影响.

结果

BioGPS数据库分析结果显示*TACC3*基因在人体各组织中均有表达, 肝脏组织中的表达值中位数略高于其他正常组织(8.95 *vs* 7.1). 从Oncomine数据库检索出TACC3基因相关研究290项, 显示肝癌组织中*TACC3*基因高表达4项, 低表达1项, Meta分析显示与正常肝组织相比TACC3基因在肝癌组织中呈高表达状态[中位秩(Median Rank) = 442.5, P<0.05]. CCLE数据库分析显示, 在肝癌细胞系中TACC3 mRNA高表达. Kaplan-Meier Plotter及GEPIA数据库生存分析结果显示, TACC3基因高表达组的肝癌患者总体生存时间(OS)和无进展生存时间(PFS)等生存预后指标均较低表达组差(P<0.05).

结论

*TACC3*基因在肝癌组织中呈高表达, 且*TACC3*基因高表达与肝癌患者生存预后差有关.

© **The Author(s) 2021.** Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 肝癌; 生物信息学; *TACC3*基因

核心提要: 转录相关酸性卷曲蛋白3 (transforming acidic coiled coil protein 3, TACC3)是TACC家族的重要成员, 本研究通过生物信息学手段证实*TACC3*基因在肝癌中呈高表达, 并且其高表达与肝癌患者生存预后差有关.

文献来源: 邢国强, 运涛, 赵国刚. *TACC3*基因在肝癌中的表达及其与患者的预后关系. 世界华人消化杂志 2021; 29(11): 577-584
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i11/577.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i11.577

0 引言

在全球范围内, 肝癌是恶性肿瘤相关死亡的第四大常见原因, 在发病率方面排名第六位[1]. 我国癌症统计报告显示2015年我国居民癌症粗死亡率为169.41/10万, 标化死亡率为159.01/10万, 其中肝癌死亡率居于第2位(仅次于肺癌)[2]. 随着手术、化疗、靶向及免疫治疗方式的进步以及多学科综合治疗方案的普及, 肝癌患者生存期虽然有所延长, 但防控形势依旧严峻. 因此, 寻找新的肝癌标志物和潜在治疗靶点, 研究其在肝癌发病过程中的分子机制对于肝癌防控具有重要意义.

转录相关酸性卷曲蛋白3(transforming acidic coiled coil protein 3, TACC3)是TACC家族的重要成员, TACC3受到Aurora-A激酶的调节, 靶向中心体, 在有丝分裂期间对微管生长至关重要[3]. 有研究表明, *TACC3*基因在乳腺癌[4], 非小细胞肺癌[5], 胃癌[6]中高表达, 并与预后较差有关. 目前关于*TACC3*基因在肝癌中的表达情况及其与患者预后的关系鲜见报道. 本研究旨在通过生物信息学探讨*TACC3*基因在肝癌中的表达水平及其与患者预后的关系.

1 材料和方法

1.1 材料 检索BioGPS[7]、Oncomine[8]、癌症细胞系百科全书(cancer cell line encyclopedia, CCLE)等数据库, 获取*TACC3*基因在肝癌中的表达数据. 应用Kaplan-Meier Plotter[9]、GEPIA[10]数据库分析*TACC3*基因对肝癌患者预后生存的影响.

1.2 方法

1.2.1 利用BioGPS数据库分析: *TACC3*基因在人体正常组织中的表达情况, 在BioGPS数据库检索框中输入“TACC3”进行检索, 物种选择Human.

1.2.2 在Oncomine数据库主界面设定检索条件: (1) Cancer Type: Liver Cancer; (2)Gene: TACC3; (3)Data Type: mRNA;(4)Analysis Type: Cancer *vs* Normal analysis; (5)临界值限定: P<0.05, Fold Change = all, Gene Rank = all DNA type = mRNA.

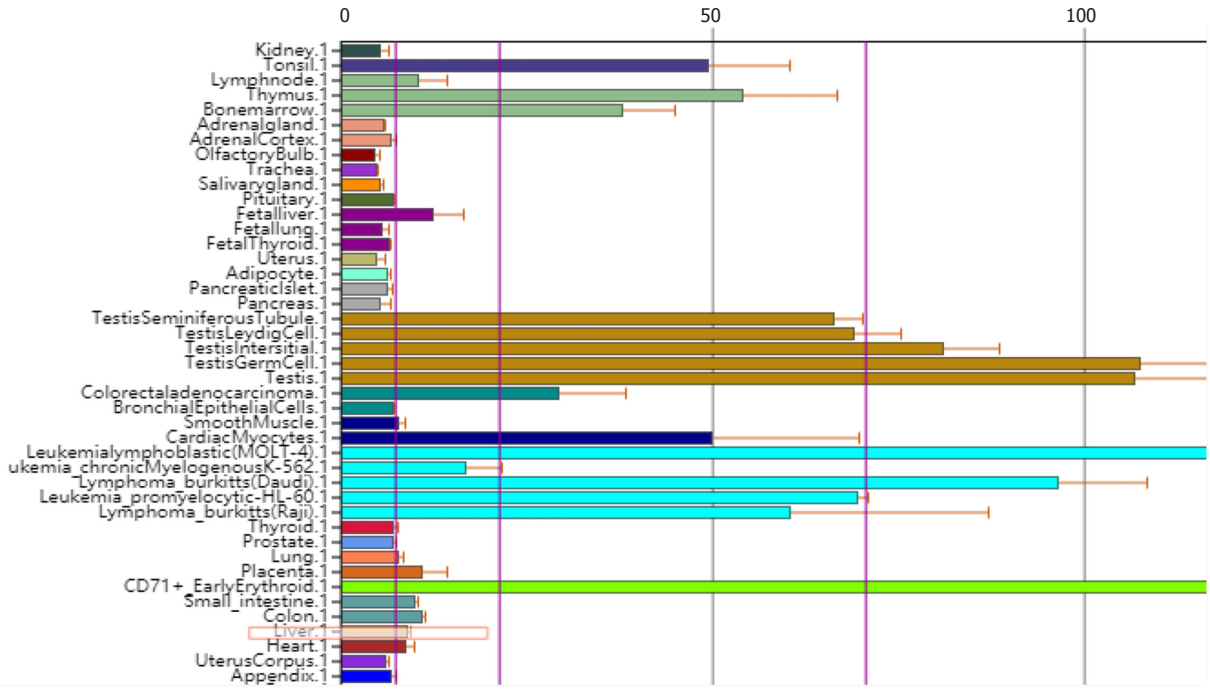


图 1　BioGPS数据库中*TACC3*基因在人体正常组织表达情况.

1.2.3 在CCLE数据库检索框中输入“TACC3”进行检索: 对*TACC3*基因在各细胞系中的表达进行分析.

1.2.4 利用Kaplan-Meier Plotter(http://kmplot.com/analysis/)的肝癌数据集进行在线生存分析: 设定检索条件, (1)Cancer Type: Liver Cancer; (2)Gene: TACC3; (3)Survival: 总体生存时间(OS)/无复发生存时间(RFS)/无进展生存时间(PFS)/疾病特异性存活率(DSS).

1.2.5 利用GEPIA数据库的肝癌数据集进行在线生存分析: 设定检索条件, (1)Gene: TACC3; (2)Methods: OS/RFS; (3)Cancer name: LIHC.

统计学处理 采用*t*检验评估*TACC3*基因在不同组中的表达差异. 通过Kaplan-Meier方法绘制生存曲线, 采用对数秩检验(Log-rank test)分析. 在Oncomine数据库中对各项研究中肝脏正常组织及肝癌组织中TACC3表达差异进行统计对比并生成Meta分析结果. $P<0.05$为有显著差异.

2 结果

2.1 *TACC3*基因在人体正常组织中的表达情况 通过BioGPS数据库在线分析表明*TACC3*基因在人体大部分正常组织中均存在表达, 而在肝脏组织中表达水平略高于平均值, 表达的中位值分别为8.95和7.1, 见图1.

2.2 *TACC3*基因在不同肿瘤中的表达情况 Oncomine数据库中检索结果显示, *TACC3*基因在各肿瘤中表达的相关研究290项, 显示正常组织和肿瘤组织TACC3表达具有显著差异的研究197项, 其中高表达169项, 低表达28项. TACC3基因在乳腺癌、胃癌、肺癌等组织中呈现高表达. 肝癌相关研究5项, 其中4项为高表达, 1项为低表

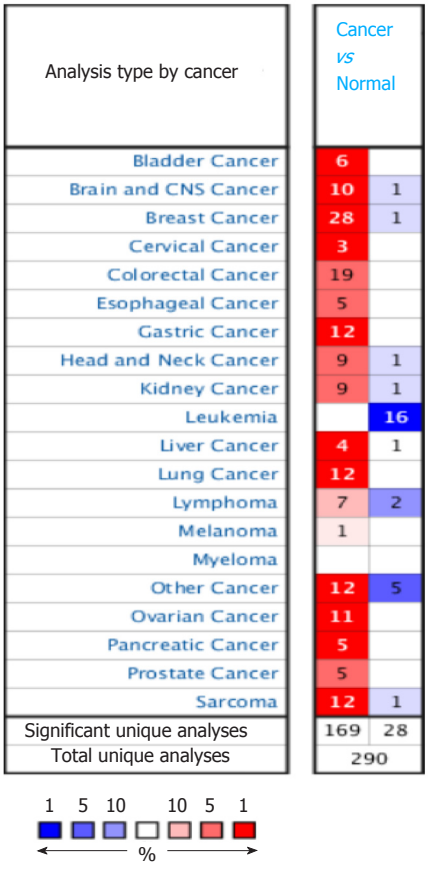


图 2　Oncomine数据库中*TACC3*基因在不同类型肿瘤中的表达情况.

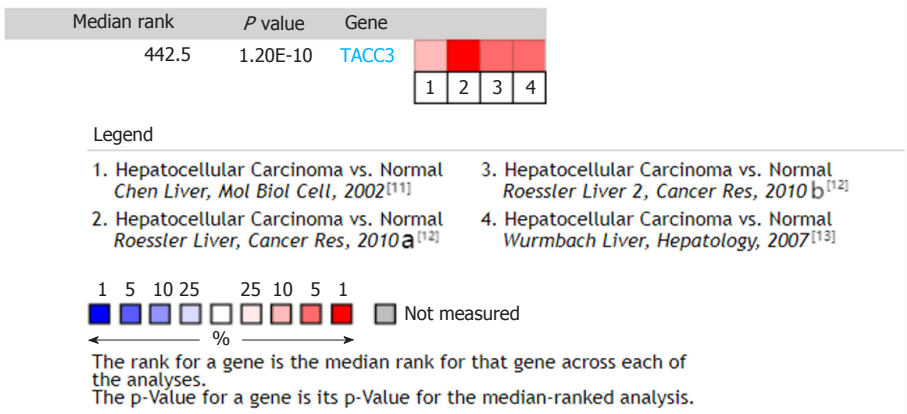


图 3　Oncomine数据库中*TACC3*基因在肝癌中表达的Meta分析结果.

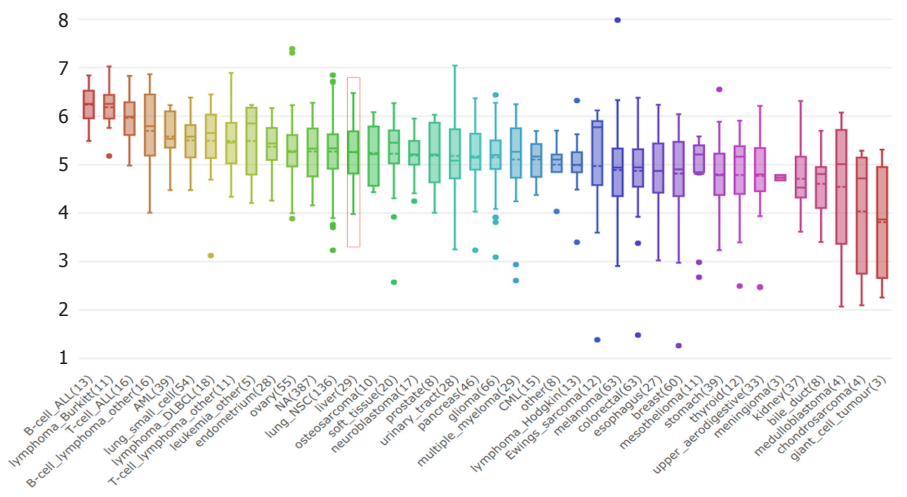


图 4　*TACC3*基因在各癌症细胞系的分布分析.

达(为肝硬化病变研究), 见图2. 剔除1项肝硬化病变的研究, 对符合条件的4项肝癌研究[11-13]中760个样本进行Meta分析, 结果显示*TACC3*基因在肝癌组织中呈现高表达状态[中位秩(Median Rank) = 442.5, P<0.05], 见图3.

2.3 *TACC3*基因在各细胞系的表达情况　CCLE数据库分析结果显示, *TACC3*在40种细胞系中高表达, 排在前三位的分别为B细胞、Burkitt淋巴瘤细胞、T细胞(表达中位值分别为6.23、6.18、5.96); 在肝癌细胞系中高表达(表达值为5.25), 并且在40种癌细胞系中排名第14 位, 见图4.

2.4 预后生存分析

2.4.1 在Kaplan-Meier Plotter数据库中检索到: 具有完整OS数据的肝癌患者364例(高表达组129例, 低表达组235例), 具有完整RFS数据的肝癌患者316例(高表达组187例, 低表达组129例), 具有完整PFS数据的肝癌患者370例(高表达组178例, 低表达组192例), 具有完整DSS数据的肝癌患者362例(高表达组94例, 低表达组268例), 生存分析结果显示, *TACC3*基因表达水平对肝癌患者的OS、RFS、PFS及DSS均有显著影响, *TACC3*基因高表达组的OS、RFS、PFS、DSS等生存预后指标均较低表达组差(P<0.05), 图5.

进一步在Kaplan-Meier Plotter数据库中检索到具有完整OS数据的索拉非尼治疗肝癌患者29例(高表达组10例, 低表达组19例), 具有完整RFS数据的索拉非尼治疗肝癌患者22例(高表达组17例, 低表达组5例), 具有完整PFS数据的索拉非尼治疗肝癌患者30例(高表达组23例, 低表达组7例), 具有完整DSS数据的索拉非尼治疗肝癌患者30例(高表达组10例, 低表达组20例), 生存分析结果显示, *TACC3*基因表达水平对索拉非尼治疗肝癌患者的OS、RFS、PFS及DSS均有显著影响, TACC3基因高表达组的OS、RFS、PFS、DSS等生存预后指标同样均较低表达组差(P<0.05), 图6.

2.4.2 在GEPIA数据库中检索: 共检索到364例肝癌患者(高表达组182例, 低表达组182例), 生存分析结果显示*TACC3*基因表达水平对肝癌患者的OS、PFS均有显著影响, *TACC3*基因高表达组的OS、PFS均较低表达

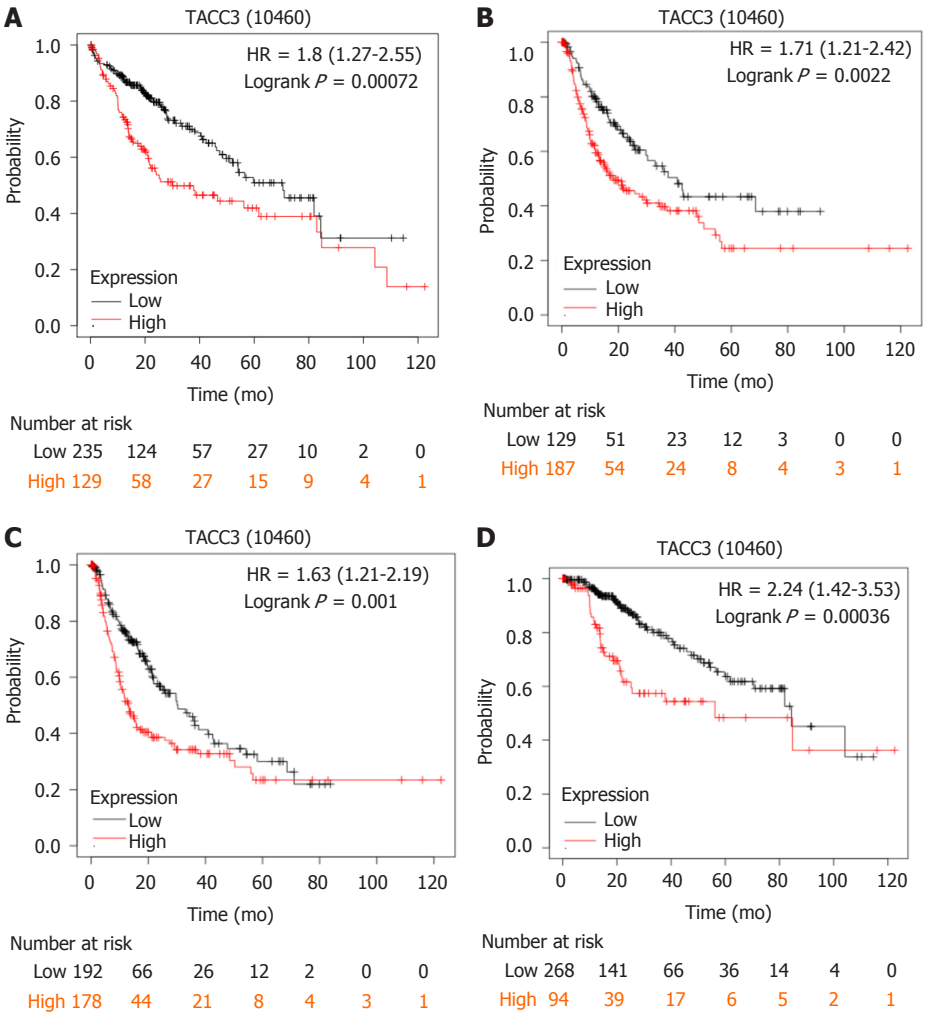


图 5　Kaplan–Meiter Plotter数据库中*TACC3*基因表达水平与肝癌患者预后生存的关系. A: 总生存时间; B: 无复发生存时间; C: 无进展生存时间; D: 疾病特异存活率.

组差(P<0.05), 见图7.

3 讨论

TACC蛋白家族的成员是组成中心体的主要蛋白. 它们因具有较强的酸性, 且于羧基末端包含一卷曲螺旋区域(现被称为TACC结构域), 同时具有促进细胞转化的活性, 因此被命名为酸性卷曲转化相关蛋白(transforming acidic coiled-coil proteins, TACC). 与非洲爪蟾和其他脊椎动物一样, 人类细胞中共有3种TACC蛋白: TACC1、TACC2、TACC3[14,15]. *TACC3*基因定位于染色体4p16.3, 含有高度保守的C-末端卷曲螺旋结构域, 其主要功能是在细胞有丝分裂时保持中心体微管成核稳定和中心体完整性[3,16-18]. 同时TACC3在细胞增殖、分化和基因调控中也起着重要的作用[19,20].

大量研究表明, TACC3在乳腺癌[4], 非小细胞肺癌[5], 胃癌[6], 前列腺癌[21], 骨肉瘤[22]等患者中高表达, 且其高表达状态与患者生存预后差紧密相关. Qie等[21]研究发现TACC3在前列腺癌中显著上调, 并且通过体外和体内实验, 证实TACC3的敲除抑制肿瘤发生和肿瘤生长, 其机制可能与TACC3水平的升高破坏了filamin A与meckelin之间的相互作用, 从而抑制前列腺癌细胞中初级纤毛的形成相关. Zhao等[22]研究发现骨肉瘤组织和细胞系中TACC3表达显著增加, 并且TACC3敲除后能够抑制骨肉瘤细胞的增殖、迁移和侵袭, 考虑与NF-κB信号通路相关. 本研究采用生物信息学分析方法探讨了*TACC3*基因在肝癌中的表达情况, 同时分析了其与患者预后的相关性. 研究结果认为肝癌癌组织中的表达水平明显高于正常肝脏组织, 提示TACC3在肝癌的发生发展中可能发挥重要作用. 生存分析显示TACC3高表达与肝癌的较短生存期有关. 本研究与既往Zhou等[23]的研究报道结果相一致, 其研究证实肝癌组织标本中TACC3蛋白和mRNA水平均升高. 此外, TACC3高表达与总生存率和无病生存率差呈正相关, 同时在基础实验中*TACC3*基因敲除或潜在的TACC3抑制剂能够抑制肝癌细胞的增殖、克隆形

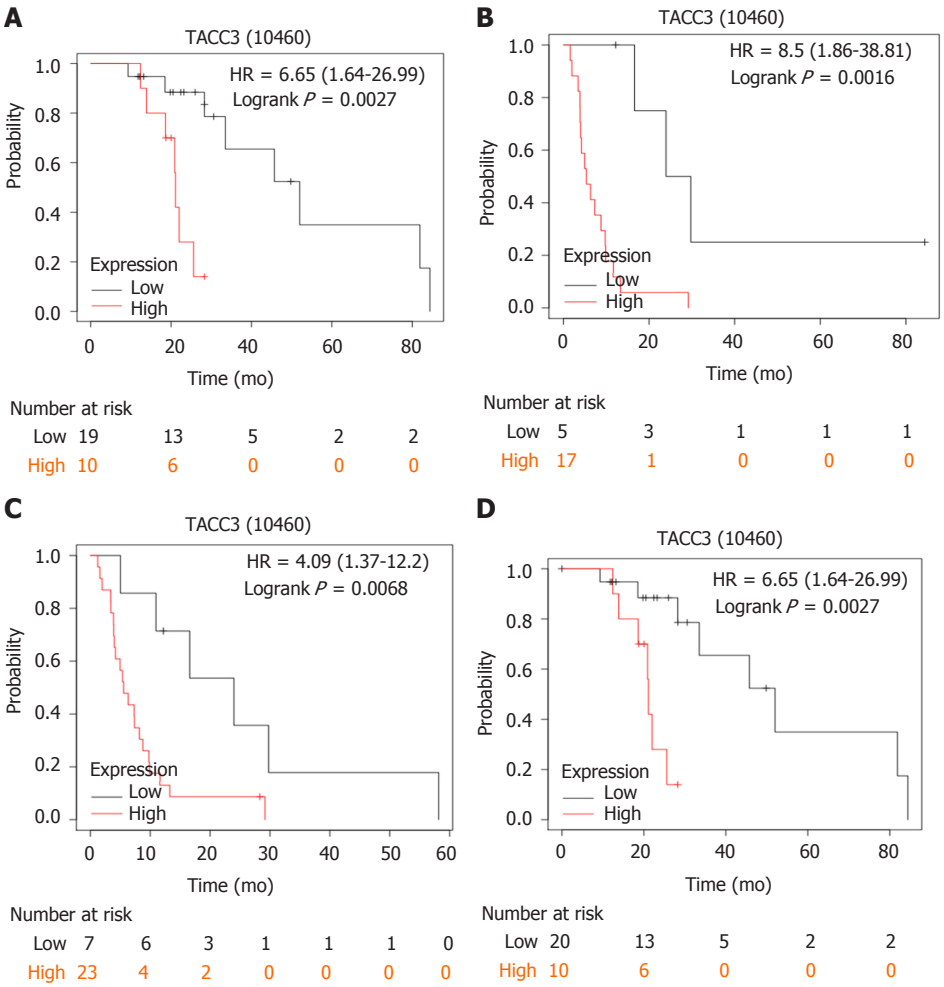


图 6　Kaplan–Meiter Plotter数据库中*TACC3*基因表达水平与索拉非尼治疗肝癌患者预后生存的关系. A: 总生存时间; B: 无复发生存时间; C: 无进展生存时间; D: 疾病特异存活率.

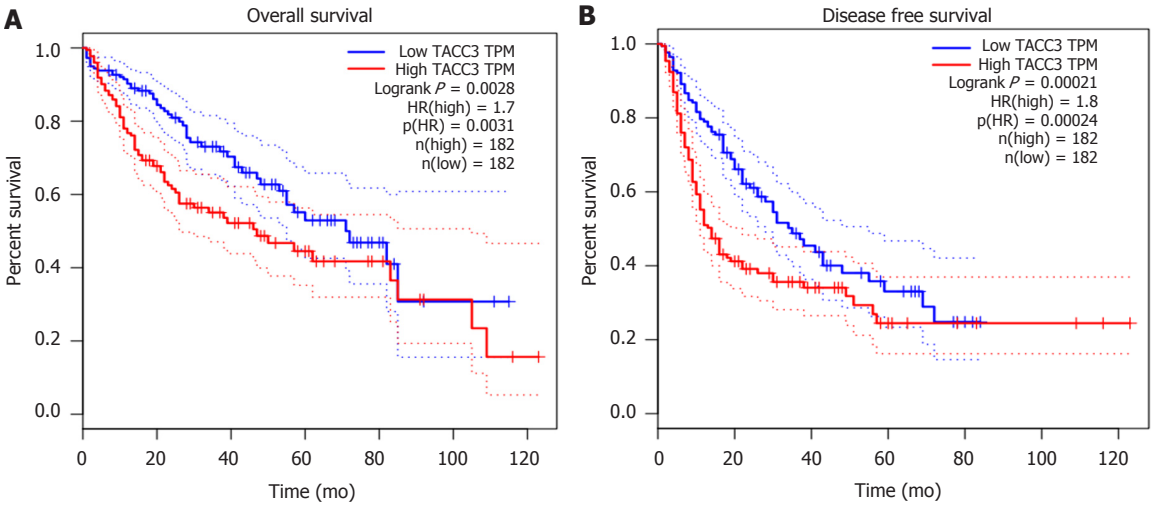


图 7　GEPIA数据库中*TACC3*基因表达与肝癌患者预后生存的关系. A: 总生存时间; B: 无进展生存时间.

成. 因此, 阻断TACC3有望成为治疗肝癌的新靶点.

4 结论

本研究通过数据挖掘全面分析了*TACC3*基因在肝癌中的表达及与患者预后的相关性, 对靶向TACC3治疗肝癌提供理论依据. 但本研究结果均为各数据库挖掘分析数据, 具有一定的局限性, 关于*TACC3*基因是如何调控并促进肝癌的发生、发展及其与各相关信号通路之间的

关系仍不甚明确, 尚需大量基础实验及临床试验进一步探讨.

文章亮点

实验背景

肝癌是恶性肿瘤相关死亡的第四大常见原因, 在发病率方面排名第六位. 随着手术、化疗、靶向及免疫治疗方式的进步以及多学科综合治疗方案的普及, 肝癌患者生存期虽然有所延长, 但防控形势依旧严峻. 因此, 寻找新的肝癌标志物和潜在治疗靶点, 研究其在肝癌发病过程中的分子机制对于肝癌防控具有重要意义.

实验动机

转录相关酸性卷曲蛋白3(transforming acidic coiled coil protein 3, TACC3)是TACC家族的重要成员,其受到Aurora-A激酶的调节, 靶向中心体, 在有丝分裂期间对微管生长至关重要. 研究表明, *TACC3*基因在乳腺癌, 非小细胞肺癌, 胃癌中高表达, 并与预后较差有关. 但是其在肝癌组织中的表达及其与患者预后关系不明.

实验目标

本研究通过生物信息学方法探讨TACC3在肝癌组织的表达情况, 及其与患者的预后关系.

实验方法

检索BioGPS、Oncomine、癌症细胞系百科全书(cancer cell line encyclopedia, CCLE)等数据库, 获取*TACC3*基因在肝癌中的表达数据. 应用Kaplan-Meier Plotter、GEPIA数据库分析*TACC3*基因对肝癌患者预后生存的影响.

实验结果

BioGPS数据库分析结果显示*TACC3*基因在人体各组织中均有表达, 肝脏组织中的表达值中位数略高于其他正常组织(8.95 *vs* 7.1). 从Oncomine数据库检索显示肝癌组织中*TACC3*基因高表达4项, 低表达1项, Meta分析显示与正常肝组织相比*TACC3*基因在肝癌组织中呈高表达状态中位秩(Median Rank) = 442.5, $P<0.05$. CCLE数据库分析显示, 在肝癌细胞系中TACC3 mRNA高表达. Kaplan-Meier Plotter及GEPIA数据库生存分析结果显示, TACC3基因高表达组的肝癌患者总体生存时间(OS)和无进展生存时间(PFS)等生存预后指标均较低表达组差($P<0.05$).

实验结论

*TACC3*基因在肝癌组织中呈高表达, 且*TACC3*基因高表达与肝癌患者生存预后差有关.

展望前景

*TACC3*基因有望成为肝癌靶向治疗或预测预后的潜在分子标志物.

5 参考文献

1 Villanueva A. Hepatocellular Carcinoma. *N Engl J Med* 2019; 380: 1450-1462 [PMID: 30970190 DOI: 10.1056/NEJMra1713263]
2 兰蓝, 赵飞, 蔡玥, 武瑞仙, 孟群. 中国居民2015年恶性肿瘤死亡率流行病学特征分析. 中华流行病学杂志 2018; 39: 32-34 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2018.01.006]
3 Ding ZM, Huang CJ, Jiao XF, Wu D, Huo LJ. The role of TACC3 in mitotic spindle organization. *Cytoskeleton (Hoboken)* 2017; 74: 369-378 [PMID: 28745816 DOI: 10.1002/cm.21388]
4 Song H, Liu C, Shen N, Yi P, Dong F, Li X, Zhang N, Huang T. Overexpression of TACC3 in Breast Cancer Associates With Poor Prognosis. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2018; 26: 113-119 [PMID: 27258563 DOI: 10.1097/PAI.0000000000000392]
5 Jung CK, Jung JH, Park GS, Lee A, Kang CS, Lee KY. Expression of transforming acidic coiled-coil containing protein 3 is a novel independent prognostic marker in non-small cell lung cancer. *Pathol Int* 2006; 56: 503-509 [PMID: 16930330 DOI: 10.1111/j.1440-1827.2006.01998.x]
6 Yun M, Rong J, Lin ZR, He YL, Zhang JX, Peng ZW, Tang LQ, Zeng MS, Zhong Q, Ye S. High expression of transforming acidic coiled coil-containing protein 3 strongly correlates with aggressive characteristics and poor prognosis of gastric cancer. *Oncol Rep* 2015; 34: 1397-1405 [PMID: 26133271 DOI: 10.3892/or.2015.4093]
7 Wu C, Orozco C, Boyer J, Leglise M, Goodale J, Batalov S, Hodge CL, Haase J, Janes J, Huss JW 3rd, Su AI. BioGPS: an extensible and customizable portal for querying and organizing gene annotation resources. *Genome Biol* 2009; 10: R130 [PMID: 19919682 DOI: 10.1186/gb-2009-10-11-r130]
8 Rhodes DR, Kalyana-Sundaram S, Mahavisno V, Varambally R, Yu J, Briggs BB, Barrette TR, Anstet MJ, Kincead-Beal C, Kulkarni P, Varambally S, Ghosh D, Chinnaiyan AM. Oncomine 3.0: genes, pathways, and networks in a collection of 18,000 cancer gene expression profiles. *Neoplasia* 2007; 9: 166-180 [PMID: 17356713 DOI: 10.1593/neo.07112]
9 Nagy Á, Lánczky A, Menyhárt O, Győrffy B. Validation of miRNA prognostic power in hepatocellular carcinoma using expression data of independent datasets. *Sci Rep* 2018; 8: 9227 [PMID: 29907753 DOI: 10.1038/s41598-018-27521-y]
10 Tang Z, Li C, Kang B, Gao G, Li C, Zhang Z. GEPIA: a web server for cancer and normal gene expression profiling and interactive analyses. *Nucleic Acids Res* 2017; 45: W98-W102 [PMID: 28407145 DOI: 10.1093/nar/gkx247]
11 Chen X, Cheung ST, So S, Fan ST, Barry C, Higgins J, Lai KM, Ji J, Dudoit S, Ng IO, Van De Rijn M, Botstein D, Brown PO. Gene expression patterns in human liver cancers. *Mol Biol Cell* 2002; 13: 1929-1939 [PMID: 12058060 DOI: 10.1091/mbc.02-02-0023]
12 Roessler S, Jia HL, Budhu A, Forgues M, Ye QH, Lee JS, Thorgeirsson SS, Sun Z, Tang ZY, Qin LX, Wang XW. A unique metastasis gene signature enables prediction of tumor relapse in early-stage hepatocellular carcinoma patients. *Cancer Res* 2010; 70: 10202-10212 [PMID: 21159642 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-10-2607]
13 Wurmbach E, Chen YB, Khitrov G, Zhang W, Roayaie S, Schwartz M, Fiel I, Thung S, Mazzaferro V, Bruix J, Bottinger E, Friedman S, Waxman S, Llovet JM. Genome-wide molecular profiles of HCV-induced dysplasia and hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2007; 45: 938-947 [PMID: 17393520 DOI: 10.1002/hep.21622]

14 Nigg EA, Raff JW. Centrioles, centrosomes, and cilia in health and disease. *Cell* 2009; 139: 663-678 [PMID: 19914163 DOI: 10.1016/j.cell.2009.10.036]
15 Peset I, Vernos I. The TACC proteins: TACC-ling microtubule dynamics and centrosome function. *Trends Cell Biol* 2008; 18: 379-388 [PMID: 18656360 DOI: 10.1016/j.tcb.2008.06.005]
16 Lappin TR, Mullan RN, Stewart JP, Morgan NA, Thompson A, Maxwell AP. AINT/ERIC/TACC: an expanding family of proteins with C-terminal coiled coil domains. *Leuk Lymphoma* 2002; 43: 1455-1459 [PMID: 12389629 DOI: 10.1080/1042819022386644]
17 Thakur HC, Singh M, Nagel-Steger L, Kremer J, Prumbaum D, Fansa EK, Ezzahoini H, Nouri K, Gremer L, Abts A, Schmitt L, Raunser S, Ahmadian MR, Piekorz RP. The centrosomal adaptor TACC3 and the microtubule polymerase chTOG interact via defined C-terminal subdomains in an Aurora-A kinase-independent manner. *J Biol Chem* 2014; 289: 74-88 [PMID: 24273164 DOI: 10.1074/jbc.M113.532333]
18 Still IH, Vince P, Cowell JK. The third member of the transforming acidic coiled coil-containing gene family, TACC3, maps in 4p16, close to translocation breakpoints in multiple myeloma, and is upregulated in various cancer cell lines. *Genomics* 1999; 58: 165-170 [PMID: 10366448 DOI: 10.1006/geno.1999.5829]
19 Barr AR, Gergely F. Aurora-A: the maker and breaker of spindle poles. *J Cell Sci* 2007; 120: 2987-2996 [PMID: 17715155 DOI: 10.1242/jcs.013136]
20 Gangisetty O, Lauffart B, Sondarva GV, Chelsea DM, Still IH. The transforming acidic coiled coil proteins interact with nuclear histone acetyltransferases. *Oncogene* 2004; 23: 2559-2563 [PMID: 14767476 DOI: 10.1038/sj.onc.1207424]
21 Qie Y, Wang L, Du E, Chen S, Lu C, Ding N, Yang K, Xu Y. TACC3 promotes prostate cancer cell proliferation and restrains primary cilium formation. *Exp Cell Res* 2020; 390: 111952 [PMID: 32156598 DOI: 10.1016/j.yexcr.2020.111952]
22 Zhao C, He X, Li H, Zhou J, Han X, Wang D, Tian G, Sui F. Downregulation of TACC3 inhibits tumor growth and migration in osteosarcoma cells through regulation of the NF-κB signaling pathway. *Oncol Lett* 2018; 15: 6881-6886 [PMID: 29725420 DOI: 10.3892/ol.2018.8262]
23 Zhou DS, Wang HB, Zhou ZG, Zhang YJ, Zhong Q, Xu L, Huang YH, Yeung SC, Chen MS, Zeng MS. TACC3 promotes stemness and is a potential therapeutic target in hepatocellular carcinoma. *Oncotarget* 2015; 6: 24163-24177 [PMID: 26219398 DOI: 10.18632/oncotarget.4643]

科学编辑: 刘继红 制作编辑: 张砚梁



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 © 2021 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: $^{a}P<0.05$, $^{b}P<0.01$($P>0.05$不注). 如同一表中另有一套P值, 则$^{c}P<0.05$, $^{d}P<0.01$; 第3套为$^{e}P<0.05$, $^{f}P<0.01$. 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/min, c/(mol/L), p/kPa, V/mL, t/℃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 cm×4.5 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.

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: https://www.baishideng.com

世界华人消化杂志 2021年6月8日; 29(11): 585-591

DOI: 10.11569/wcjd.v29.i11.585

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

基础研究 BASIC RESEARCH

电针联合六磨汤对慢传输型便秘大鼠的有益作用

王立明, 尚惺杰, 朱雅碧, 叶淑芳, 刘央央, 陈 勇

王立明, 尚惺杰, 朱雅碧, 叶淑芳, 刘央央, 丽水市人民医院消化内科 浙江省丽水市 323000

陈勇, 丽水市莲都区人民医院普外科 浙江省丽水市 323000

王立明, 本科, 副主任医师, 主要从事炎症性肠病、功能性胃肠疾病和胃肠动力障碍性疾病的临床和基础研究方面的工作.

基金项目: 丽水市公益性技术基金项目, No. 2019SJZC52.

作者贡献分布: 课题由王立明、尚惺杰与朱雅碧设计; 研究过程由王立明和叶淑芳操作完成; 研究所用试剂由王立明提供; 数据分析由王立明、刘央央和陈勇完成; 本论文写作由王立明、尚惺杰和叶淑芳完成.

通讯作者: 王立明, 本科, 副主任医师, 浙江省丽水市莲都区碧湖镇大众街16号, 丽水市人民医院消化内科. wangliming5244@yeah.net

收稿日期: 2021-03-20
修回日期: 2021-04-19
接受日期: 2021-05-11
在线出版日期: 2021-06-08

Electroacupuncture combined with Liumotang has beneficial effects on slow transit constipation in rats

Li-Ming Wang, Xing-Jie Shang, Ya-Bi Zhu, Shu-Fang Ye, Yang-Yang Liu, Yong Chen

Li-Ming Wang, Xing-Jie Shang, Ya-Bi Zhu, Shu-Fang Ye, Yang-Yang Liu, Department of Gastroenterology, Lishui City People's Hospital, Lishui 323000, Zhejiang Province, China

Yong Chen, Department of General Surgery, Lishui Liandu District People's Hospital, Lishui 323000, Zhejiang Province, China

Supported by: Lishui City Public Welfare Technology Fund Project, No. 2019SJZC52.

Corresponding author: Li-Ming Wang, Bachelor, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, Lishui People's Hospital, No. 16 Dazhong Street, Bihu Town, Liandu District, Lishui 323000, Zhejiang Province, China. wangliming5244@yeah.net

Received: 2021-03-20
Revised: 2021-04-19
Accepted: 2021-05-11
Published online: 2021-06-08

Abstract

BACKGROUND

The morbidity of slow transit constipation (STC) has been increasing year by year, but the efficacy of commonly used clinical treatments is not completely satisfactory. Studies have shown that traditional Chinese medicine, acupuncture, moxibustion, massage, and Chinese medicine application have achieved certain curative effects in the treatment of STC.

AIM

To investigate the therapeutic effects and mechanisms of electroacupuncture combined with Liumotang on STC in rats.

METHODS

An STC rat model was established by feeding rats diphenoxylate, and then rats were treated with electroacupuncture, Liumotang, or electroacupuncture combined with Liumotang. After treatment, the general condition of rats was observed and the number of fecal pellets, fecal water content, and carbon propulsion rate were recorded. ELISA was used to assess the levels of serum nitric oxide (NO) and endothelial nitric oxide synthase (eNOS). The expression of aquaporin 3,8,9 (AQP3,8,9), c-kit, and stem cell factor (SCF) and the activity of PI3K/AKT pathway were evaluated by Western blot assay.

RESULTS

Compared with the electroacupuncture group or Liumotang group, the treatment of electroacupuncture combined with Liumotang could significantly increase the number of fecal pellets in 24 h, fecal water content, and carbon propulsion

rate. Meanwhile, the combined treatment significantly decreased serum NO and eNOS levels in STC rats. Western blot results showed that the treatment of electroacupunture combined with Liumotang could up-regulate the protein expression of c-kit and SCF, while down-regulate the protein expression of AQP3, AQP8, and AQP9 in the colon tissue of STC rats. Furthermore, the phosphorylation of PI3K and AKT was promoted in the colon tissue of STC rats after the combined treatment.

CONCLUSION

Electroacupunture combined with Liumotang could relieve the symptoms of STC rats. And this therapeutic effect involves many targets, which is mainly related to regulating water and fluid metabolism, increasing gastrointestinal motility, and promoting gastrointestinal peristaltic.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Electroacupunture; Liumotang; Slow transit constipation

Citation: Wang LM, Shang XJ, Zhu YB, Ye SF, Liu YY, Chen Y. Electroacupuncture combined with Liumotang has beneficial effects on slow transit constipation in rats. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2021; 29(11): 585-591
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i11/585.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i11.585

摘要

背景

慢传输型便秘(slow transit constipation, STC)的发病率呈现逐年上升趋势, 但目前临床常用的治疗手段的疗效并不完全令人满意. 研究显示, 中医药、针灸、艾灸、 按摩以及中药贴敷等手段对STC的治疗取得了一定的疗效.

目的

研究电针联合六磨汤对STC大鼠的治疗作用和作用机制.

方法

通过饲喂复方苯乙哌啶构建STC大鼠模型, 并分别给予电针、六磨汤或电针联合六磨汤进行治疗. 治疗结束后, 观察大鼠的一般状况, 并统计大鼠24 h内排便粒数、粪便含水量和小肠碳末推进率; ELISA检测血清一氧化氮(nitric oxide, NO)和内皮型一氧化氮合酶(endothelial nitric oxide synthase, eNOS)含量. Western blot检测水通道蛋白3、8、9 (aquaporin 3,8,9, AQP3,8,9)、c-kit和c-kit配体干细胞因子(stem cell factor, SCF)的表达水平以及PI3K/AKT信号通路的活性.

结果

相较于电针或六磨汤单一治疗组, 电针联合六磨汤治疗可显著增加便秘大鼠24 h内的排便粒数和粪便含水量, 同时加快碳末推进率. 同时, 电针联合六磨汤治疗可显著降低便秘大鼠血清中NO和eNOS水平. Western blot的结果显示, 电针联合六磨汤治疗可显著上调便秘大鼠结肠组织中c-kit和SCF的蛋白表达水平, 下调AQP3、AQP8和AQP9的蛋白表达水平; 此外, 还可显著促进大鼠结肠组织中PI3K和AKT的磷酸化.

结论

电针联合六磨汤治疗可改善STC大鼠的症状, 这种作用涉及多个靶点, 主要与调节水液代谢、增加胃肠动力以及促进胃肠蠕动等相关.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 电针; 六磨汤; 慢传输型便秘

核心提要: 电针联合六磨汤可显著改善慢传输型便秘大鼠的症状. 且, 这种治疗作用主要体现在: 促进小肠推进, 调节便秘大鼠的小肠传输功能; 上调SCF/c-kit信号通路促进Cajal间质细胞数量, 影响结肠的慢波电位, 增加肠道动力; 通过PI3K/AKT信号通路抑制eNOS合成NO, 促进胃肠蠕动; 抑制水通道蛋白的表达, 调节水液代谢, 增加粪便的含水量.

文献来源: 王立明, 尚惺杰, 朱雅碧, 叶淑芳, 刘央央, 陈勇. 电针联合六磨汤对慢传输型便秘大鼠的有益作用. 世界华人消化杂志 2021; 29(11): 585-591
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i11/585.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i11.585

0 引言

慢传输型便秘(slow transit constipation, STC)是常见的便秘类型, 主要表现为结肠蠕动动力降低而致使结肠通过时间的延长并导致粪便滞留于结肠部[1]. STC患者除自感腹胀腹痛外, 还可出现恶心、头晕等症状, 严重者甚至可致肠梗阻、肠穿孔等危及事件[1,2]. 流行病学调查研究显示, 随着人口老龄化的出现以及饮食结构的改变, 各类型慢性便秘的发病率呈现逐年上升趋势. STC不仅影响患者的生活质量, 甚至导致一系列精神心理问题和不良心血管事件[3]. 目前, STC的治疗手段主要是手术或西药(西沙比利等), 但这些治疗手段往往存在术后并发症或不良反应, 进一步增加患者的痛苦[2,4]. 而STC的病因复杂, 发病过程中不仅有多种激素和神经递质的

参与, 还会同时出现多种胃肠微结构的异常, 这导致了药物的治疗难度[5,6]. 近年来大量研究显示, 中医药、针灸、艾灸、按摩以及中药贴敷等手段对STC的治疗取得了一定的疗效[7-9]. 故本研究拟通过STC大鼠模型, 结合中医对本病的认知及已有的研究成果, 探讨电针疗法联合传统方剂六磨汤在STC中的治疗作用, 并从结肠动力学和水液代谢等方面分析其可能的作用机制.

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 试剂: 血清NO及eNOS检测试剂盒购自南京建成生物工程研究所; p-PI3K和PI3K抗体购自上海泊湾生物科技有限公司; p-AKT和AKT抗体购自美国Affinity Biosciences公司; AQP3、AQP8和AQP9抗体购自美国Santa Cruz公司; c-kit、SCF、β-actin和GAPDH抗体购自美国Abcam公司; 复方苯乙哌啶片剂购自于常州康普药业有限公司. 六磨汤方剂出自《世医得效方》, 由我院中药房提供并制备水煎剂(2 g/mL).

1.1.2 实验动物: 50只SPF级雄性SD大鼠(200±20 g)购自浙江维通利华实验动物技术有限公司[SCXK(浙)2019-0001], 实验动物均饲养在条件可控(室温维持在22±2 ℃、湿度维持在50%-70%)的动物房.

1.2 方法

1.2.1 模型构建和分组处理: 大鼠应用普通饲料适应性饲养一周后完全随机分为两组: 对照组(Con)10只, 给予普通饲料正常喂养; 剩余40只给予含复方苯乙哌啶的饲料(8 mg/kg·d, 连续饲养120 d)建立STC模型. 随后将造模成功的40只大鼠随机分为模型组(STC, 10只), 电针治疗组(EA, 10只), 六磨汤治疗组(LMT, 10只)以及电针和六磨汤联合治疗组(EA+LMT, 10只). 电针治疗组大鼠选取支沟、足三里和上巨虚进行电针治疗(2 Hz/100Hz疏密波, 留针15 min, 共15 d), 六磨汤治疗组每天灌胃六磨汤(10 ml/kg·d, 共15 d), 联合治疗组同时接受电针治疗和六磨汤灌胃. STC组大鼠每天给予等体积生理盐水灌胃.

1.2.2 大鼠一般行为观察与检测: 每日按照肉眼主观观察大鼠的皮毛色泽、精神状态(反应和动作是否灵敏)、食纳(摄食状态)和大便形态, 并记录大鼠体重. 在实验结束时, 按照客观指标统计上述情况, 客观实验描述如下:

皮毛状态按照皮毛泽度和浓密程度评估, 浓密光亮记2分, 浓密无光泽记1分, 稀释枯黄记0分; 精神状态按照旷场实验中大鼠活动度评估. 首先将大鼠在安静、无人的行为实验室适应20 min. 然后将大鼠均放入旷场箱(100 cm×100 cm×50 cm; 长×宽×高; 箱底均分25个20 cm×20 cm的方格)的中间方格, 用视频记录仪录像9 min, 并通过回放记录大鼠中间3 min内穿越的方格数. 大鼠活动度以3 min内穿越的总方格数表示.

摄食和排便情况检测: 将大鼠转移至代谢笼(每笼1只大鼠)中, 允许大鼠自由活动. 早上8:00放入50 g饲料, 次日8:00收集称量剩余饲料, 并计算大鼠24 h摄食量(投放饲料量-剩余饲料量), 大鼠食纳欲望按照大鼠24 h摄食量(g)/体重(g)来评估. 收集24 h内的排便并计数排便粒数. 称量粪便重量(记为湿重); 随后60 ℃烘箱内烘干24 h, 再次称重(记为干重). 粪便含水量(%)=(湿重-干重)/干重×100%.

1.2.3 小肠推进检测: 实验结束时, 大鼠禁食12 h, 然后对大鼠灌胃10%活性炭混悬液, 每只灌胃2 mL. 30 min后, 麻醉处死大鼠并暴露腹腔, 将幽门至回盲部的小肠管取出并轻柔拉直, 测量碳末推进长度(cm)和小肠管的总长度(cm). 炭末推进率(%) = 炭末推进长度/小肠管总长度×100%.

1.2.4 ELISA: 麻醉后提取腹主动脉血液, 室温条件下, 静置30 min, 随后经冷冻离心机以3000 rpm离心10 min收集血清. 依据试剂盒操作说明书步骤, 用ELISA法检测血清中NO和eNOS的含量.

1.2.5 Western Blot: 取各组大鼠结肠组织进行匀浆处理, 并利用RIPA裂解液提取组织总蛋白. 之后依据BCA蛋白定量试剂盒测定所提蛋白的浓度并定量. 每个样品取70 μg蛋白并加入4倍体积的蛋白上样缓冲液, 煮沸变性, 经小型垂直电泳装置行10% SDS-PAGE电泳. 随后将凝胶上的蛋白转移至PVDF膜. 取出PVDF膜置于5%脱脂乳中室温封闭60 min. 按抗体说明书推荐的浓度加入相应的一抗, 置于4 ℃冰箱中振摇孵育过夜. 次日复温并用TBST缓冲液漂洗, 随后加入相对应的HRP标记二抗, 室温条件下振摇孵育90 min. 再次用TBST缓冲液漂洗, 并转移至暗室中洒上ECL化学发光液显影, 利用胶片曝光目的条带. 冲洗后, 采用Image J软件对蛋白的表达进行半定量分析.

统计学处理 所得结果表示为均数±标准差(mean±SD), 并利用Graphpad Prism 8统计学软件进行统计分析. 多组数据之间的比较采用单因素方差分析(one-way ANOWA), 多组数据间均数的两两比较选用Bonferroni法. $P<0.05$表示差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 电针联合六磨汤对STC大鼠一般资料和排便情况的影响 一般行为资料观察结果(表1)显示, 对照组大鼠精神状态佳、皮毛柔软光亮、食纳佳; 与对照组比较, STC模型组大鼠体型消瘦(体重显著减轻)、皮毛枯黄稀

表 1　各组大鼠的一般行为资料结果比较

Group	Body weight (g)	Hair score	Food intake desire (× 10^{-3})	Locomotor activity (*n*)
Con	384.25 ± 26.13	1.89 ± 0.12	73.63 ± 11.78	73.26 ± 18.64
STC	177.38 ± 14.34[a]	0.54 ± 0.23[a]	40.23 ± 6.24[a]	25.78 ± 8.71[a]
EA	215.43 ± 20.82[bc]	1.14 ± 0.32[bc]	58.32 ± 9.72[bc]	49.56 ± 9.28[bc]
LMT	236.89 ± 21.25[bc]	1.23 ± 0.35[bc]	60.62 ± 8.75[bc]	52.69 ± 14.25[bc]
EA+LMT	268.39 ± 18.26[b]	1.31 ± 0.38[b]	64.75 ± 14.54[b]	56.84 ± 15.48[b]

n = 10. mean ± SD, [a]*P*<0.05 *vs* Con组; [b]*P*<0.05 *vs* STC组; [c]*P*<0.05 *vs* EA+LMT组.

表 2　电针联合六磨汤对慢传输型便秘大鼠排便情况的影响

Group	Number of fecal pellets	Fecal water content (%)	Carbon propulsion rate (%)
Con	50.37 ± 3.48	47.63 ± 4.02	69.74 ± 4.82
STC	17.56 ± 1.52[a]	20.18 ± 2.57[a]	30.55 ± 2.16[a]
EA	31.09 ± 1.08[bc]	30.14 ± 1.06[bc]	42.39 ± 3.47[bc]
LMT	26.89 ± 2.31[bc]	34.59 ± 1.65[bc]	45.58 ± 2.96[bc]
EA+LMT	48.16 ± 1.33[b]	45.74 ± 2.1[b]	62.87 ± 3.59[b]

n = 10. mean ± SD, [a]*P*<0.05 *vs* Con组; [b]*P*<0.05 *vs* STC组; [c]*P*<0.05 *vs* EA+LMT组.

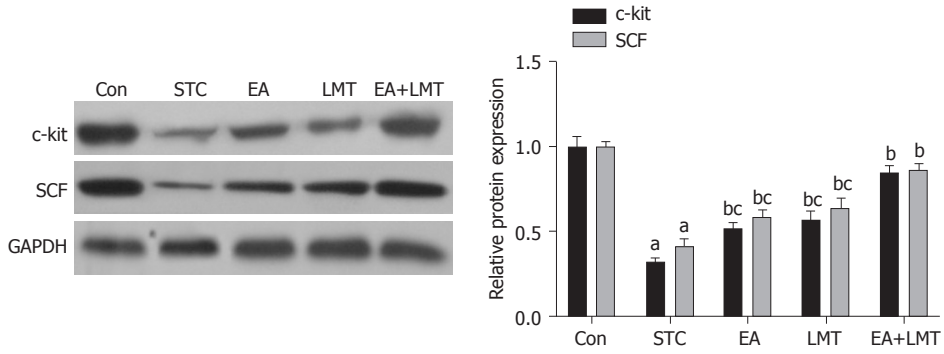


图 1　电针联合六磨汤对慢传输型便秘大鼠结肠组织中c-kit 和 SCF表达的影响. *n* = 10. mean ± SD, [a]*P*<0.05 *vs* Con组; [b]*P*<0.05 *vs* STC组; [c]*P*<0.05 *vs* EA+LMT组.

疏(皮毛积分显著降低)、食纳不佳、精神萎靡(旷场试验中大鼠跨越方格数显著降低)、与STC模型组比较, 电针治疗组、六磨汤治疗组以及联合治疗组大鼠体重明显增加、皮毛积分升高、食纳欲增加、精神状态转好.

大鼠排便情况的统计学结果显示(表2), 与Con组比较, STC组大鼠24 h排便粒数和粪便含水率均显著降低; 此外, 小肠碳末推进率显著减慢. 与STC组相比, 电针治疗、六磨汤治疗以及联合治疗均可显著增加大鼠24 h排便粒数和粪便含水率; 同时加快小肠碳末推进率. 此外, 相较于电针或六磨汤单一治疗, 联合治疗的效果更为显著.

2.2 电针联合六磨汤对STC大鼠结肠组织中c-kit和SCF表达的影响　Western blot实验结果显示, 与Con组相比, STC组大鼠结肠组织中c-kit及其配体SCF的蛋白表达水平显著降低; 与STC组比较, 电针治疗、六磨汤治疗以及联合治疗均可显著上调大鼠结肠组织中c-kit及其配体SCF的蛋白表达水平. 相较于EA和LMT组, EA + LMT组大鼠结肠组织中c-kit和SCF的蛋白表达水平显著升高(图1).

2.3 电针联合六磨汤对STC大鼠血清NO和eNOS含量的影响　ELISA检测结果(图2)显示, 与Con组相比, STC组大鼠血清中NO和eNOS的含量显著增加(*P*<0.01); 与STC组比较, EA和LMT组大鼠血清中NO和eNOS水平未出现显著变化, 而EA + LMT组大鼠血清中NO和eNOS水平显著降低.

2.4 电针联合六磨汤对STC大鼠结肠组织PI3K/AKT信号通路的影响　Western blot实验结果显示, 与Con组相比, STC组大鼠结肠组织中p-PI3K/PI3K和p-AKT/AKT的表

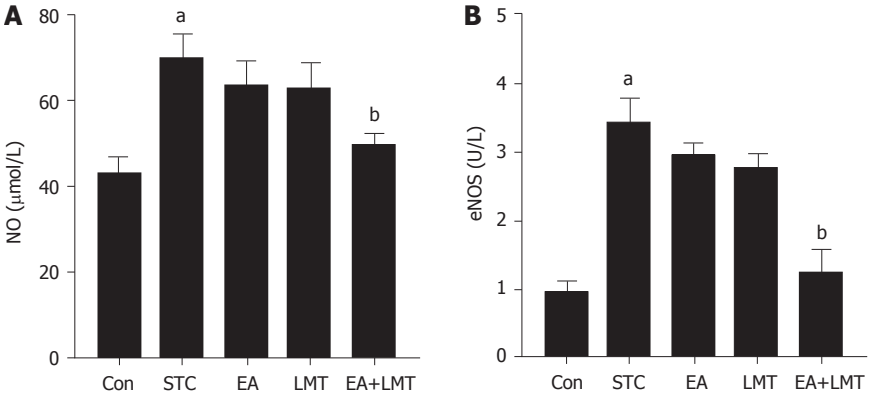


图 2　电针联合六磨汤对慢传输型便秘大鼠血清中NO和eNOS水平的影响. A: NO; B: eNos. n = 10. mean ± SD, [a]P<0.05 *vs* Con组; [b]P<0.05 *vs* STC组.

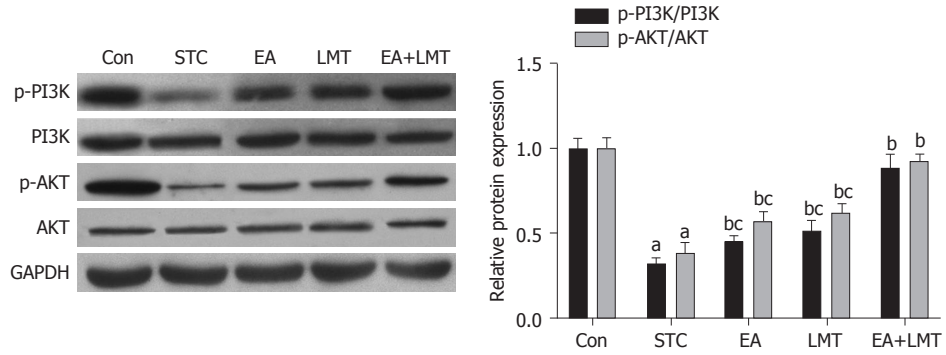


图 3　电针联合六磨汤对慢传输型便秘大鼠结肠组织PI3K/AKT信号通路的影响. n = 10. mean ± SD, [a]P<0.05 *vs* Con组; [b]P<0.05 *vs* STC组; [c]P<0.05 *vs* EA+LMT组.

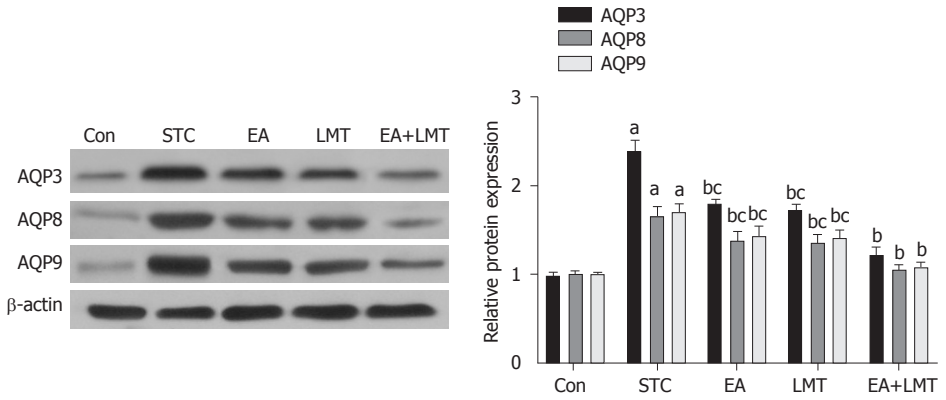


图 4　电针联合六磨汤对慢传输型便秘大鼠结肠组织中AQP3、AQP8和AQP9表达的影响. n = 10. mean ± SD, [a]P<0.05 *vs* Con组; [b]P<0.05 *vs* STC组; [c]P<0.05 *vs* EA+LMT组.

达水平显著降低; 与STC组比较, 电针治疗、六磨汤治疗以及联合治疗均可显著促进大鼠结肠组织中PI3K和AKT的磷酸化. 相较于EA和LMT组, EA+ LMT组大鼠结肠组织中p-PI3K/PI3K和p-AKT/AKT的表达水平显著升高(图3).

2.5 电针联合六磨汤对STC大鼠结肠组织中AQP3、AQP8和AQP9表达的影响 Western blot实验结果显示, 与Con组相比, STC组大鼠结肠组织中AQP3、AQP8和AQP9的蛋白表达水平显著升高; 与STC组比较, 电针治疗、六磨汤治疗以及联合治疗均可显著下调大鼠结肠组织中AQP3、AQP8和AQP9的蛋白表达水平. 相较于EA和LMT组, EA+ LMT组大鼠结肠组织中AQP3、AQP8和AQP9的蛋白表达水平显著降低(图4).

3 讨论

传统中医药在治疗便秘中有着独特的优势和较好的治

疗效果, 且近年来, 中医药和针灸疗法在人群中逐渐推广开来, 给STC这种慢性复杂性疾病的治疗提供了更多的治疗手段. 本研究依据前期的实验结果制定了电针取穴联合传统方剂六磨汤的综合调理方案. 根据“和治内腑”的理论, 选取支沟(便秘要穴)、足三里(胃的下合穴)和上巨虚(大肠的下合穴)进行电针治疗. 六磨汤则是出自《世医得效方》治疗便秘的传统方剂, 主要由大黄、木香、乌药、沉香、枳壳和槟榔组方, 起到理气导滞的功效. 研究结果发现, 电针、六磨汤以及电针联合六磨汤治疗均可以改善STC大鼠的精神状态, 还可增加其24 h排便粒数和粪便含水率, 同时加快小肠碳末推进率. 相较于电针或六磨汤单一治疗组, 电针联合六磨汤治疗对于改善大鼠排便情况具有更好的效果. 这一结果提示, 电针与六磨汤可缓解STC, 且两者具有协同作用.

STC的病因复杂, 目前对其发病机制的研究主要集中于肠道神经系统(enteric nervous system, ENS)及神经递质异常、胃肠运动的起搏细胞Cajal间质细胞(interstitial cells of Cajal, ICC)数量和结构的改变、胃肠激素水平异常、肠道菌群失调以及精神心理因素等[4,10-12]. 其中, ICC是位于胃肠道环形肌层和纵行肌层之间的一群间质细胞, 可调节胃肠道平滑肌的运动[4]. Wang等[13]的研究表明, STC便秘患者的结肠ICC密度显著降低, 且基膜消融, 突起间连接杂乱, 不能形成完整的网络. C-kit则是ICC膜上特异性表达的一种酪氨酸激酶受体; 可通过与配体SCF的结合进一步启动下游信号通路, 调控ICC的生长发育并维持其表型[14]. 本研究发现, 电针及六磨汤治疗可显著上调STC大鼠结肠组织中c-kit及其配体SCF的蛋白表达水平, 且两者对于c-kit和SCF表达的调控具有协同作用. 结果表明, 电针联合六磨汤缓解STC可能与调控ICC的生长发育相关.

此外, STC与ENS和神经递质的失调具有密切的关系. NO是ENS中一种主要的抑制性递质, 可通过减少肠道平滑肌细胞内的Ca^{2+}浓度抑制细胞收缩, 减弱肠道蠕动[15]. 而eNOS则是合成内源性NO的主要限速酶, 研究表明, 通过下调NOS抑制NO的产生是缓解便秘的可行途径之一[16]. 本研究发现, 电针联合六磨汤治疗可显著降低STC大鼠血清中NO和eNOS水平. 但电针或六磨汤单一治疗对STC大鼠血清中的NO和eNOS水平影响并不显著, 可能是由于样本量小的缘故. 在调控eNOS合成的上游酶系中, PI3K/AKT信号通路是机体中研究较多, 作用较明确的信号通路之一, 它可广泛参与调控细胞的增殖、凋亡、代谢以及分化等病理生理过程[17,18]. 故而本研究进一步检测了电针联合六磨汤治疗对PI3K/AKT信号通路的影响, 结果显示, 电针及六磨汤可协同促进STC大鼠结肠组织中PI3K和AKT的磷酸化.

众所周知, 结肠中水液代谢异常也可导致粪便干结, 排出困难. 水通道蛋白(AQPs)是细胞膜上的一种跨膜转运蛋白, 主要负责介导水分子的跨膜转运, 其中在哺乳动物的消化系统中存在AQP1、AQP3、AQP4、AQP8、AQP9、AQP10等9种AQPs的表达[19]. 越来越多的研究也证实结肠中AQPs的异常表达与STC的发生密切相关[20,21]. 本研究发现, 电针及六磨汤可协同降低STC大鼠结肠组织中AQP3、AQP8和AQP9的蛋白表达水平. 结果提示, 该电针联合六磨汤治疗方案可能通过减少水通道蛋白的表达, 抑制结肠中水分的重吸收, 增加粪便含水量, 从而改善便秘症状.

4 结论

综上, 电针联合六磨汤可显著改善STC大鼠的症状. 且, 这种治疗作用主要体现在: 促进小肠推进, 调节便秘大鼠的小肠传输功能; 上调SCF/c-kit信号通路促进ICC数量, 影响结肠的慢波电位, 增加肠道动力; 通过PI3K/AKT信号通路抑制NOS合成NO, 促进胃肠蠕动; 抑制水通道蛋白的表达, 调节水液代谢, 增加粪便的含水量.

文章亮点

实验背景

随着人口老龄化进程的加快以及饮食结构的改变, 慢传输型便秘(slow transit constipation, STC)的发病率也呈增加趋势. 但, 目前常用的STC治疗策略的疗效差强人意, 且存在明显的不良反应.

实验动机

中医综合疗法对STC的治疗取得了一定的疗效, 但尚未形成系统治疗方案.

实验目标

通过建立STC大鼠模型, 探讨电针联合六磨汤对STC的疗效和机制.

实验方法

将大鼠分为对照组, 模型组, 电针治疗组, 六磨汤治疗组和电针+六磨汤联合治疗组. 观察大鼠的一般行为和排便情况. 收集大鼠的血液样本和结肠组织, 用于后续的ELISA检测和Western blot分析.

实验结果

电针和六磨汤在改善STC大鼠的症状方面具有协同治疗作用. 机制研究显示, 电针和六磨汤能协同上调结肠组织中SCF、c-kit、p-PI3K和p-AKT的蛋白表达, 下调

AQP3、AQP8和AQP9的蛋白表达.

实验结论

电针联合六磨汤联合治疗方案可通过调节水液代谢、增加胃肠动力以及促进胃肠蠕动来改善STC大鼠的症状.

展望前景

电针联合六磨汤联合治疗方案是潜在的且有前景的用于STC治疗的方案.

5 参考文献

1 Sailer M. [Slow Transit Constipation]. *Zentralbl Chir* 2019; 144: 179-189 [PMID: 30978764 DOI: 10.1055/a-0860-5960]
2 Camilleri M, Ford AC, Mawe GM, Dinning PG, Rao SS, Chey WD, Simrén M, Lembo A, Young-Fadok TM, Chang L. Chronic constipation. *Nat Rev Dis Primers* 2017; 3: 17095 [PMID: 29239347 DOI: 10.1038/nrdp.2017.95]
3 Jani B, Marsicano E. Constipation: Evaluation and Management. *Mo Med* 2018; 115: 236-240 [PMID: 30228729]
4 Sharma A, Rao S. Constipation: Pathophysiology and Current Therapeutic Approaches. *Handb Exp Pharmacol* 2017; 239: 59-74 [PMID: 28185025 DOI: 10.1007/164_2016_111]
5 朱国栋, 朱安龙. 慢传输型便秘病因机制研究进展. 医学综述 2020; 26: 4623-4628 [DOI: 10.3969/j.issn.1006-2084.2020.23.009]
6 张东旭, 朱安龙. 慢传输型便秘的发病机制与诊治. 中华胃肠外科杂志 2016; 19: 1447-1450 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-0274.2016.12.034]
7 黄业保, 肖倩, 刘春强. 中医药治疗慢传输型便秘的临床研究进展. 中医药临床杂志 2020; 32: 1579-1582 [DOI: 10.16448/j.cjtcm.2020.0847]
8 王波, 陈艳萍, 陈苏宁. 针灸联合胃痛消痞方加减治疗慢传输型便秘临床观察. 中国针灸 2017; 37: 130-134 [DOI: 10.13703/j.0255-2930.2017.02.006]
9 Sun Y, Yan C, Jin S, Shi C, Zhao J, Li G. Curative Effect and Mechanism of Guiren Runchang Granules on Morphine-Induced Slow Transit Constipation in Mice. *Evid Based Complement Alternat Med* 2020; 2020: 5493192 [PMID: 33029167 DOI: 10.1155/2020/5493192]
10 Frieling T, Kreysel C, Blank M, Müller D, Melchior I, Euler P, Kuhlbusch-Zicklam R, Haarmeier T, Schemann M. Autoimmune encephalitis and gastrointestinal dysmotility: achalasia, gastroparesis, and slow transit constipation. *Z Gastroenterol* 2020; 58: 975-981 [PMID: 33036051 DOI: 10.1055/a-1233-2190]
11 Knowles CH, Farrugia G. Gastrointestinal neuromuscular pathology in chronic constipation. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2011; 25: 43-57 [PMID: 21382578 DOI: 10.1016/j.bpg.2010.12.001]
12 Yılmaz TU, Taş Hİ, Uçar E, Cerit C, Çelebi A, Güler SA, Utkan Z. Relationship between functional constipation and anal-retentive behavior features. *Turk J Surg* 2019; 35: 165-170 [PMID: 32550323 DOI: 10.5578/turkjsurg.4035]
13 Wang YB, Ling J, Zhang WZ, Li G, Qiu W, Zheng JH, Zhao XH. Effect of bisacodyl on rats with slow transit constipation. *Braz J Med Biol Res* 2018; 51: e7372 [PMID: 29846410 DOI: 10.1590/1414-431x20187372]
14 Jiang F, Zhou JY, Wu J, Tian F, Zhu XX, Zhu CL, Yang BL, Chen YG. Yangyin Runchang Decoction Improves Intestinal Motility in Mice with Atropine/Diphenoxylate-Induced Slow-Transit Constipation. *Evid Based Complement Alternat Med* 2017; 2017: 4249016 [PMID: 29403536 DOI: 10.1155/2017/4249016]
15 Groneberg D, Voussen B, Friebe A. Integrative Control of Gastrointestinal Motility by Nitric Oxide. *Curr Med Chem* 2016; 23: 2715-2735 [PMID: 27528058 DOI: 10.2174/0929867323666160812150907]
16 Zhu F, Xu S, Zhang Y, Chen F, Ji J, Xie G. Total Glucosides of Paeony Promote Intestinal Motility in Slow Transit Constipation Rats through Amelioration of Interstitial Cells of Cajal. *PLoS One* 2016; 11: e0160398 [PMID: 27478893 DOI: 10.1371/journal.pone.0160398]
17 Villegas SN, Gombos R, García-López L, Gutiérrez-Pérez I, García-Castillo J, Vallejo DM, Da Ros VG, Ballesta-Illán E, Mihály J, Dominguez M. PI3K/Akt Cooperates with Oncogenic Notch by Inducing Nitric Oxide-Dependent Inflammation. *Cell Rep* 2018; 22: 2541-2549 [PMID: 29514083 DOI: 10.1016/j.celrep.2018.02.049]
18 Gong AG, Lau KM, Zhang LM, Lin HQ, Dong TT, Tsim KW. Danggui Buxue Tang, Chinese Herbal Decoction Containing Astragali Radix and Angelicae Sinensis Radix, Induces Production of Nitric Oxide in Endothelial Cells: Signaling Mediated by Phosphorylation of Endothelial Nitric Oxide Synthase. *Planta Med* 2016; 82: 418-423 [PMID: 26824621 DOI: 10.1055/s-0035-1558332]
19 Li C, Wang W. Molecular Biology of Aquaporins. *Adv Exp Med Biol* 2017; 969: 1-34 [PMID: 28258563 DOI: 10.1007/978-94-024-1057-0_1]
20 Zhan Y, Tang X, Xu H, Tang S. Maren Pills Improve Constipation via Regulating AQP3 and NF-κB Signaling Pathway in Slow Transit Constipation In Vitro and In Vivo. *Evid Based Complement Alternat Med* 2020; 2020: 9837384 [PMID: 32774435 DOI: 10.1155/2020/9837384]
21 Sun LL, Jiang HB, Liu BY, Li WD, Du AL, Luo XQ, Li XQ. Effects of rhein on intestinal transmission, colonic electromyography and expression of aquaporin-3 by colonic epithelium cells in constipated mice. *Int J Clin Exp Pathol* 2018; 11: 614-623 [PMID: 31938147]

科学编辑: 刘继红 制作编辑: 张砚梁

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: https://www.baishideng.com

世界华人消化杂志 2021年6月8日; 29(11): 592-600

DOI: 10.11569/wcjd.v29.i11.592

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

临床研究 CLINICAL RESEARCH

自拟解毒抗癌汤剂联合化疗治疗晚期结肠癌患者的临床效果及安全性分析

张 炼, 钟津津, 许 远, 张腮莉, 王 磊, 徐晓翌

张炼, 钟津津, 许远, 王磊, 徐晓翌, 浙江省衢州市中医院肿瘤科 浙江省衢州市 324002

张腮莉, 浙江衢化医院肿瘤科 浙江省衢州市 324004

张炼, 大学本科, 主治医师, 主要从事消化道肿瘤的中西医治疗.

作者贡献分布: 本文文献搜集、数据、论文撰写由张炼、钟津津、许远、张腮莉及王磊共同完成; 徐晓翌对研究设计、文章的框架构思与写作进行指导及修改.

通讯作者: 徐晓翌, 主任医师, 肿瘤科主任, 324002, 浙江省衢州市柯城区衢化路117号, 浙江省衢州市中医院肿瘤科. 2510244063@qq.com

收稿日期: 2020-12-15
修回日期: 2021-03-17
接受日期: 2021-05-11
在线出版日期: 2021-06-08

Clinical efficacy and safety of self-made Jiedu Kangai decoction combined with chemotherapy in treatment of patients with advanced colon cancer

Lian Zhang, Jin-Jin Zhong, Yuan Xu, Sai-Li Zhang, Lei Wang, Xiao-Yi Xu

Lian Zhang, Jin-Jin Zhong, Yuan Xu, Lei Wang, Xiao-Yi Xu, Department of Oncology, Quzhou Municipal Hospital of TCM, Quzhou 324002, Zhejiang Province, China

Sai-Li Zhang, Department of Oncology, Zhejiang Quhua Hospital, Quzhou 324004, Zhejiang Province, China

Corresponding author: Xiao-Yi Xu, Chief Physician, Head of Department, Department of Oncology, Quzhou Municipal Hospital of TCM, No. 117 Quhua Road, Quzhou 324002, Zhejiang Province, China. 2510244063@qq.com

Received: 2020-12-15
Revised: 2021-03-17
Accepted: 2021-05-11

Published online: 2021-06-08

Abstract

BACKGROUND

Colon cancer is the fifth most frequently diagnosed cancer and the fifth leading cause of cancer death in China. Systematic therapy with chemicals and targeted agents have established their status as palliative treatment; however, they always resulted in limited efficacy and obvious toxicities.

AIM

To evaluate the efficacy and safety profile of self-made Jiedu Kangai decoction in combination with chemotherapy in patients with advanced colon cancer.

METHODS

A total of 104 patients with advanced colon cancer who were admitted to our hospital from January 2017 to January 2019 were selected and divided into either a control group or an observation group (52 cases in each) using the random number table method. Both groups were given XELOX regimen chemotherapy, and the observation group was additionally given self-made Jiedu Kangai decoction. Outcomes including objective response rate (ORR), as well as changes in parameters including CA19-9, TGF-β, TNF-α, IL-17, ALT, AST, Cr, BUN, T cells, KPS, and VAS, were evaluated.

RESULTS

After two cycles of treatment in both groups, ORR was significantly higher in the observation group compared to the control group (67.31% *vs* 44.23%, $P < 0.05$). Serum levels of CEA, TK1, CA19-9, TGF-β, TNF-α, and IL-17, as well as $CD8^+$ T cells were significantly lower in the observation group ($P < 0.05$). However, $CD3^+$ and $CD4^+$

T cells were significantly higher in the observation group ($P < 0.05$). There was no statistical differences observed for serum levels of ALT, AST, Cr, and BUN between the groups. KPS status and VAS scores were significantly better in the observation group ($P < 0.05$). The incidences of adverse events including leucopenia (23.08% *vs* 57.69%), neurotoxicity (19.23% *vs* 40.38%), and gastrointestinal toxicities (40.38% *vs* 71.15%) were significant lower in the observation group ($P < 0.05$).

CONCLUSION

Combination therapy with self-made Jiedu Kangai decoction and chemotherapy has better efficacy, can better relieve pain, improve life quality, enhance T cell-mediated immunity, and suppress inflammation, and is association with lower incidence rates of adverse events compared to chemotherapy alone.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Self-made Jiedu Kangai decoction; Chemotherapy; Advanced colon cancer; Carcinoembryonic antigen; Thymidine kinase 1; Carbohydrate antigen 199

Citation: Zhang L, Zhong JJ, Xu Y, Zhang SL, Wang L, Xu XY. Clinical efficacy and safety of self-made Jiedu Kangai decoction combined with chemotherapy in treatment of patients with advanced colon cancer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2021; 29(11): 592-600

URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i11/592.htm

DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i11.592

摘要

背景

结肠癌是我国最常见的癌症, 发病率、死亡率在全部恶性肿瘤中均位居第5位.化疗成为其主要治疗手段之一, 但毒副作用明显, 影响患者治疗依从性.

目的

探究自拟解毒抗癌汤剂联合化疗治疗晚期结肠癌患者的临床效果及安全性.

方法

选取我院2017-01/2019-01收治的晚期结肠癌患者104例作为研究对象, 按照随机数字表法分组, 各52例. 对照组给予XELOX方案化疗, 观察组在对照组基础上给予自拟解毒抗癌汤剂. 比较两组总有效率、治疗前后血清肿瘤标志物[癌胚抗原(carcinoembryonic antigen, CEA)、胸苷激酶1 (thymidine kinase 1, TK1)、糖类抗原199 (carbohydrate antigen 199, CA199)]水平、T淋巴细胞亚群($CD3^+$、$CD4^+$、$CD8^+$)、炎性因子[转化生长因子-β (transforming growth factor-β, TGF-β)、肿瘤坏死因子-α (tumor necrosis factor-α, TNF-α)、白介素-17 (interleukin-17, IL-17)]、视觉模拟评分法(visual analogue scoring, VAS)、Karnofsky功能状态(karnofsky functional status, KPS)评分、肝肾功能指标[丙氨酸转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)、肌酐(creatinine, Cr)、尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)]水平及不良反应.

结果

观察组总有效率(67.31%)高于对照组(44.23%)($P<0.05$); 观察组治疗2个疗程后血清CEA、TK1、CA199低于对照组($P<0.05$); 观察组治疗2个疗程后$CD3^+$、$CD4^+$高于对照组, $CD8^+$低于对照组($P<0.05$); 观察组治疗2个疗程后血清TGF-β、TNF-α、IL-17低于对照组($P<0.05$); 观察组治疗2个疗程后VAS评分低于对照组, KPS评分高于对照组($P<0.05$); 观察组治疗2个疗程后ALT、AST、Cr、BUN水平与对照组差异无学意义($P>0.05$); 观察组白细胞下降、神经毒性、胃肠不适发生率(23.08%、19.23%、40.38%)低于对照组(57.69%、40.38%、71.15) ($P<0.05$).

结论

自拟解毒抗癌汤剂联合化疗治疗晚期结肠癌, 具有良好的抗癌作用, 并能减轻患者疼痛, 提高患者生活质量, 改善患者T细胞免疫功能, 抑制机体炎症反应, 降低不良反应发生率.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 自拟解毒抗癌汤剂; 化疗; 晚期结肠癌; CEA; TK1; CA199

核心提要: 结肠癌是消化系统最常见的恶性肿瘤之一, 发病率及死亡率高, 早期不易发现, 在就诊时多数已属于晚期, 严重威胁着国人的身体健康. 化学药物和靶向药物的系统治疗已经确立了姑息治疗的地位, 但全身化疗往往疗效不尽如人意, 且伴随着较为明显的毒副反应. 本研究以从临床效果、免疫功能、血清肿瘤标志物等观察, 探讨自拟解毒抗癌汤剂联合化疗的应用价值及安全性.

文献来源: 张炼, 钟津津, 许远, 张腮莉, 王磊, 徐晓翌. 自拟解毒抗癌汤剂联合化疗治疗晚期结肠癌患者的临床效果及安全性分析. 世界华人消化杂志 2021; 29(11): 592-600

URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i11/592.htm

DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i11.592

0 引言

2015中国癌症统计数据显示, 我国结直肠癌发病率、死亡率在全部恶性肿瘤中均位居第5位, 其中新发病例37.6

表 1　两组临床资料对比

资料	观察组(n = 52)	对照组(n = 52)	t/χ^2	P
年龄(岁)	63.25 ± 7.26	63.19 ± 7.33	0.042	0.967
体质量指数(kg/m^2)	22.51 ± 1.26	22.46 ± 1.19	0.208	0.836
性别(女/男)	22/30	27/25	0.965	0.326
T分期				
T3	21 (40.38)	24 (46.15)	0.353	0.553
T4	31 (59.62)	28 (53.85)		
N分期				
N1	25 (48.08)	20 (38.46)	0.154	0.695
N2	27 (51.92)	32 (61.54)		
M分期				
M0	2 (3.85)	5 (9.62)	0.613	0.434
M1	50 (96.15)	47 (90.38)		
分化程度				
低分化	12 (23.08)	10 (19.23)	0.736	0.692
中分化	15 (28.85)	19 (36.54)		
高分化	25 (48.08)	23 (44.23)		
合并疾病				
高脂血症	9 (17.31)	11 (21.15)	0.248	0.619
糖尿病	6 (11.54)	8 (15.38)	0.330	0.566
心脏病	4 (7.69)	2 (3.85)	0.177	0.674
高血压	5 (9.62)	3 (5.77)	0.135	0.713

表 2　两组治疗效果比较n (%)

组别	例数	CR	PR	SD	PD	总有效率
观察组	52	0 (0)	20 (38.46)	15 (28.85)	17 (32.69)	35 (67.31)
对照组	52	0 (0)	15 (28.85)	8 (15.38)	29 (55.77)	23 (44.23)
χ^2						5.613
P						0.018

表 3　两组血清肿瘤标志物水平比较(mean ± SD)

时间	组别	例数	CEA (μg/mL)	TK1 (pmol/L)	CA199 (U/L)
治疗前	观察组	52	18.55 ± 2.49	4.62 ± 1.06	77.04 ± 8.13
	对照组	52	18.43 ± 2.71	4.58 ± 1.02	76.95 ± 7.90
	t		0.235	0.196	0.057
	P		0.815	0.845	0.956
治疗2个疗程后	观察组	52	11.26 ± 1.80[a]	2.70 ± 0.57[a]	50.41 ± 5.29[a]
	对照组	52	14.31 ± 2.05[a]	3.43 ± 0.64[a]	62.27 ± 7.18[a]
	t		8.062	6.142	9.590
	P		<0.001	<0.001	<0.001

与同组治疗前相比, [a]P<0.05. CEA: 癌胚抗原; TK1: 胸苷激酶1; CA199: 糖类抗原199.

万, 死亡病例19.1万, 且发病率、死亡率仍保持上升趋势, 极大危害患者生命健康[1]. 目前对早期结肠癌患者首选根治性手术切除治疗, 而对丧失手术机会的晚期结肠癌患者, 化疗成为其主要治疗手段之一. XELOX方案即奥沙利铂+卡培他滨, 是临床常用的一种化疗方案, 大量报道显示, 其治疗消化道肿瘤具有一定的效果, 但可能诱发胃肠系统、骨髓等毒副反应, 影响患者治疗依从性[2,3]. 且晚期结肠癌患者病情严重, 单纯依赖化疗疗

表 4　两组免疫功能比较(mean ± SD, %)

时间	组别	例数	$CD3^+$	$CD4^+$	$CD8^+$
治疗前	观察组	52	54.20 ± 4.37	41.25 ± 4.40	28.15 ± 3.20
	对照组	52	54.41 ± 5.23	40.96 ± 4.72	28.30 ± 3.16
	t		0.222	0.324	0.241
	P		0.825	0.747	0.810
治疗2个疗程后	观察组	52	62.27 ± 7.19[a]	48.04 ± 5.11[a]	25.47 ± 3.34[a]
	对照组	52	55.10 ± 5.48	41.03 ± 4.69	28.69 ± 3.08
	t		5.719	7.288	5.111
	P		<0.001	<0.001	<0.001

与同组治疗前相比, [a]*P*<0.05.

效欠佳[4]. 近年来中医药辅助化疗治疗恶性肿瘤在临床得到广泛应用, 被证实具有增效减毒效果[5]. 但中医药种类丰富多样, 如何配伍辅助化疗能提高晚期结肠癌的疗效尚不明确. 本研究前期小样本量的预实验采用自拟解毒抗癌汤剂联合化疗取得满意效果, 但仍有待临床的大样本量的进一步验证. 鉴于此本研究从免疫功能、血清肿瘤标志物、安全性等角度, 全面探讨自拟解毒抗癌汤剂联合化疗的应用价值, 报告如下.

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 一般资料: 选取我院2017-01/2019-01收治的晚期结肠癌患者104例作为研究对象, 按照随机数字表法分组, 各52例, 两组年龄46-78岁. 组间性别、年龄、体质量指数、TNM分期、分化程度、合并疾病等资料均衡可比(*P*>0.05), 见表1. 本研究经我院伦理委员会审核通过, 患者对本研究知情, 自愿签署知情同意书.

1.1.2 纳入、排除标准: (1)纳入标准: 西医符合结肠癌诊断标准[6]; 中医符合气阴两虚标准[7], 症见胃脘痞闷、乏力、纳差、舌红、口干、便溏、苔黄、脉沉缓; 肿瘤T分期III、Ⅳ期; 拒绝接受手术治疗或不能手术治疗者; Karnofsky功能状态(karnofsky performance status, KPS)评分≥65分; 预计生存期>3 mo; 入组前3 mo内无放化疗等抗癌治疗史; 丧失手术机会或不能耐受手术、不愿接受手术治疗者; (2)排除标准: 严重胃溃疡者; 胃出血者; 合并急性感染类疾病者; 存在相关药物过敏史者; 心肝肾肺功能严重不全者; 完全性肠梗阻者; 未完成治疗者.

1.2 方法

1.2.1 对照组: 给予XELOX方案化疗. 奥沙利铂(Sanofi-Aventis France, 批准文号H20171064) 130 mg/m^2, 与500 mL葡萄糖注射液混合后静滴2 h, d 1, 有糖尿病者将葡萄糖注射液换为生理盐水; 卡培他滨(Roche Pharma (Schweiz) Ltd., 批准文号H20140839) 1000 mg/m^2, 早晚餐后0.5 h, 温水吞服, 2次/d, d 1-14, 21 d为一个疗程, 共2个疗程.

1.2.2 观察组: 在对照组基础上给予自拟解毒抗癌汤剂, 组方炙黄芪30 g、白花蛇舌草9 g、半枝莲15 g、焦三仙各30 g、半边莲20 g、薏苡仁30 g、西洋参8 g、浙贝6 g、莪术9 g、白术15 g、苦参10 g、木香8 g、甘草6 g, 由我院中药室统一煎制, 300 mL/剂, 1剂/d, 早晚分2次温服. 从化疗第1 d开始给药, 21 d为一个疗程, 共2个疗程.

1.2.3 疗效评定: 于治疗前、治疗2个疗程后分别行CT及或MRI检查, 应用GE1.5 T Excite III超导型和8通道胸膜联合体表线圈, 采用精细标注图像, 勾画肿瘤所有层面[6,8], 参照实体瘤疗效评判标准[9], 完全缓解(complete Response, CR): 病灶消失, 维持4 wk以上; 部分缓解(partial response, PR): 病灶减少≥50%, 维持4 wk以上; 稳定(stable disease, SD): 病灶减少<50%或增大<25%, 无新发病灶, 维持4 wk以上; 进展(progressive disease, PD): 病灶增大≥25%. 采用CT及或MRI检测病灶治疗前后大小变化, 总有效率 = (CR+PR+SD)/总例数×100%.

1.2.4 检测方法: (1)主要试剂、仪器: 癌胚抗原(carcino-embryonic antigen, CEA)试剂盒(天津博奥赛斯); 糖类抗原199 (Carbohydrate antigen199, CA199)试剂盒(深圳市新产业生物医学工程股份有限公司); 胸苷激酶1 (Thymidine kinase 1, TK1)试剂盒(北京万联达信科公司); 转化生长因子-β (Transforming growth factor-β, TGF-β)、白介素-17 (Interleukin-17, IL-17)试剂盒(南京森贝伽生物科技有限公司); 肿瘤坏死因子-α (Tumor necrosis factor - α, TNF-α)试剂盒(上海康朗生物科技有限公司); 电化学自动免疫分析仪(罗氏2010); 酶标仪(美国BIO-RAD550); 流式细胞仪(用Beckman Coulter公司XL型). (2)检测方法: 治疗前后分别采集患者清晨肘部静脉血5 mL, 3000 r/min, 15 cm半径离心10 min, 采用电化学发光免疫分析法检测血清CEA、CA199, 采用酶联免疫吸附法检测血清TK1、TGF-β、TNF-α、IL-17, 采用流式细

表 5　两组炎性因子比较(mean ± SD, ng/L)

时间	组别	例数	TGF-β	TNF-α	IL-17
治疗前	观察组	52	1793.24 ± 311.52	331.18 ± 40.67	54.26 ± 8.21
	对照组	52	1796.47 ± 325.51	329.56 ± 41.15	54.51 ± 8.09
	t		0.052	0.202	0.156
	P		0.959	0.840	0.876
治疗2个疗程后	观察组	52	1321.77 ± 204.20[a]	208.63 ± 36.59[a]	35.20 ± 5.23[a]
	对照组	52	1581.39 ± 216.34[a]	285.44 ± 42.28[a]	46.01 ± 6.35[a]
	t		6.293	9.906	9.476
	P		<0.001	<0.001	<0.001

与同组治疗前相比, [a]*P*<0.05. TGF-β: 炎性因子[转化生长因子-β; TNF-α: 肿瘤坏死因子-α; IL-17: 白介素-17.

表 6　两组疼痛程度、生存质量比较(mean ± SD, 分)

组别	例数	VAS		KPS	
		治疗前	治疗2个疗程后	治疗前	治疗2个疗程后
观察组	52	6.17 ± 1.34	4.10 ± 0.83[a]	72.32 ± 3.06	80.27 ± 3.71[a]
对照组	52	6.14 ± 1.29	5.08 ± 1.02[a]	72.45 ± 3.19	75.60 ± 3.34[a]
t		0.116	5.374	0.212	6.746
P		0.908	<0.001	0.833	<0.001

与同组治疗前相比, [a]*P*<0.05. VAS: 视觉模拟评分法; KPS: Karnofsky功能状态.

表 7　两组肝肾功能比较(mean ± SD)

时间	组别	例数	ALT (U/L)	AST (U/L)	Cr (mmol/L)	BUN (mmol/L)
治疗前	观察组	47	43.10 ± 6.23	45.52 ± 7.71	113.28 ± 15.18	7.19 ± 1.20
	对照组	40	44.24 ± 7.19	46.17 ± 7.23	111.86 ± 17.35	7.08 ± 1.33
	t		0.792	0.403	0.407	0.405
	P		0.430	0.688	0.685	0.686
治疗2个疗程后	观察组	47	46.79 ± 7.63	48.20 ± 9.67	120.92 ± 20.19	7.75 ± 1.56
	对照组	40	45.62 ± 8.08	49.68 ± 10.03	118.46 ± 18.71	7.64 ± 1.41
	t		0.694	0.699	0.586	0.343
	P		0.490	0.486	0.560	0.733

ALT: 丙氨酸转氨酶; AST: 冬氨酸氨基转移酶; Cr: 肌酐; BUN: 尿素氮.

胞仪检测$CD3^+$、$CD4^+$、$CD8^+$水平.

观察指标: (1)比较两组总有效率; (2)比较两组治疗前后血清肿瘤标志物: CEA、TK1、CA199水平; (3)比较两组治疗前后T淋巴细胞亚群: $CD3^+$、$CD4^+$、$CD8^+$水平; (4)比较两组治疗前后炎性因子: TGF-β、TNF-α、IL-17水平; (5)比较两组治疗前后疼痛视觉模拟评分法(visual analogue scale, VAS)、KPS评分, 其中VAS评分范围0-10分, 分值越低, 疼痛越轻; KPS评分最高分100分, 分值越高, 生活质量越高; (6)比较两组不良反应.

统计学处理 采用SPSS 22.0统计学软件处理数据, 计量资料以(mean±SD)表示、*t*检验, 计数资料用*n*(%)表示、χ^2检验. *P*<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 治疗效果 观察组总有效率高于对照组(*P*<0.05), 见表2、图1.

2.2 血清肿瘤标志物 治疗前, 两组血清CEA、TK1、CA199相比, 差异无统计学意义(*P*>0.05); 治疗2个疗程后, 两组血清CEA、TK1、CA199低于治疗前, 观察组低于对照组(*P*<.05), 见表3.

表 8　两组不良反应比较n (%)

组别	例数	白细胞下降	神经毒性	胃肠不适	血小板降低
观察组	52	12 (23.08)	10 (19.23)	21 (40.38)	4 (7.69)
对照组	52	30 (57.69)	21 (40.38)	37 (71.15)	6 (11.54)
χ^2		12.940	5.561	9.979	0.443
P		<0.001	0.018	<0.001	0.506

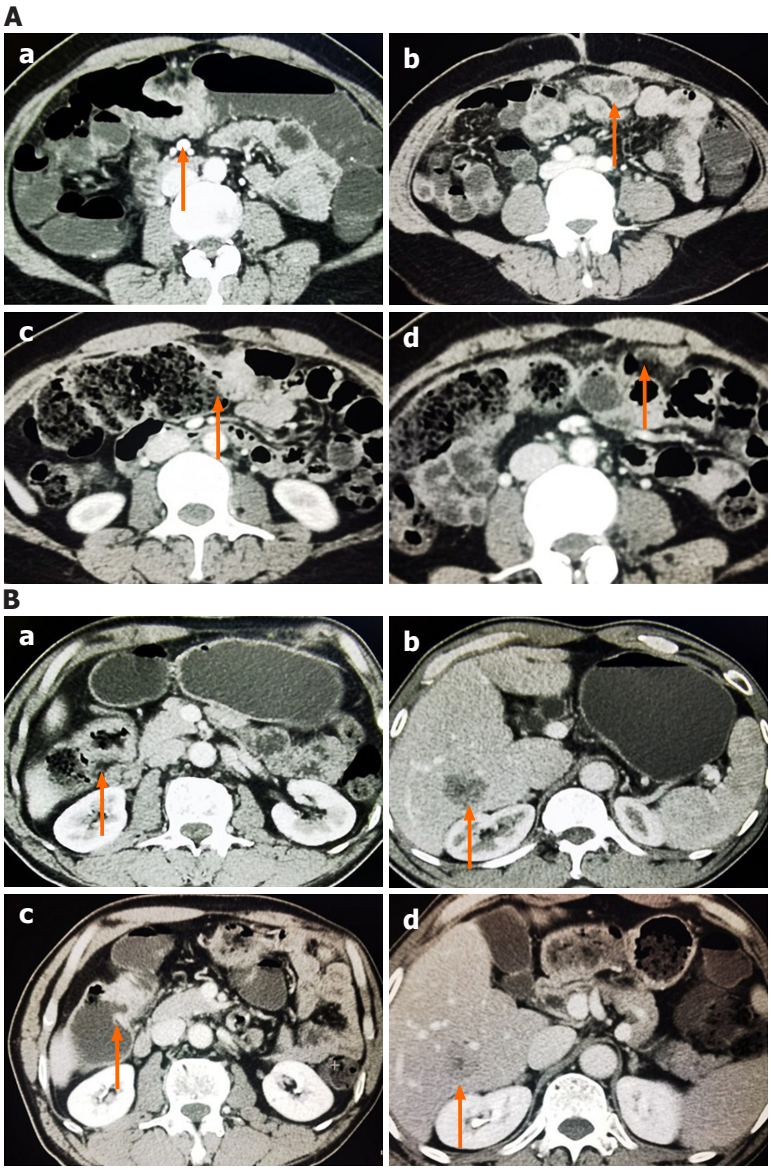


图 1　不同疗效患者治疗前后肿瘤病灶影像图. A: PR患者(横结肠癌伴腹腔、网膜转移)治疗前(a、b)、治疗2个疗程后(c、d)肿瘤病灶(箭头所示), 全腹部CT门脉期; B: SD患者(升结肠癌伴肝转移)治疗治疗前(a、b)、治疗2个疗程后(c、d)肿瘤病灶(箭头所示), 全腹部CT门脉期.

2.3 免疫功能　两组治疗前$CD3^+$、$CD4^+$、$CD8^+$相比, 差异无统计学意义(P>0.05); 观察组治疗2个疗程后$CD3^+$、$CD4^+$高于治疗前及对照组, $CD8^+$低于治疗前及对照组(P<0.05), 见表4.

2.4 炎性因子　治疗前, 两组血清TGF-β、TNF-α、IL-17相比, 差异无统计学意义(P>0.05); 治疗2个疗程后, 两组血清TGF-β、TNF-α、IL-17低于治疗前, 观察组低于对照组(P<0.05), 见表5.

2.5 疼痛程度、生存质量　两组治疗前VAS、KPS评分相比, 差异无统计学意义(P>0.05); 两组治疗2个疗程后VAS评分低于治疗前, 观察组低于对照组, KPS高于治疗前, 观察组高于对照组(P<0.05), 见表6.

2.6 肝肾功能 两组治疗前血清ALT、AST、Cr、BUN差异无统计学意义(P>0.05); 两组治疗2个疗程后血清ALT、AST、Cr、BUN略高于治疗前, 但差异无统计学意义(P>0.05), 且观察组治疗2个疗程后血清ALT、AST、Cr、BUN与对照组差异无统计学意义(P>0.05), 见表7.

2.7 不良反应 观察组白细胞下降、神经毒性、胃肠不适发生率低于对照组(P<0.05); 两组血小板降低相比, 差异无统计学意义(P>0.05), 见表8.

3 讨论

3.1 XELOX方案治疗效果 XELOX方案中奥沙利铂系二氨环己烷的铂类化合物, 为第3代铂类抗癌药, 能作用于DNA, 形成交叉联结, 拮抗癌细胞复制和转录; 卡培他滨口服后经肠黏膜迅速吸收, 并依次在羧基酯酶、胞苷脱氨酶、胸苷磷酸化酶作用下, 催化为氟尿嘧啶, 阻止脱氧尿苷酸甲基化转变为脱氧胸苷酸, 干扰DNA的合成, 从而与奥沙利铂协同发挥抗癌效应[10,11]. 但长期临床工作经验及既往报道发现[12], 单一应用XELOX方案患者临床缓解率和总有效率较低, 故考虑联合用药.

3.2 自拟解毒抗癌汤剂辅助治疗的效果 中医学中, 结肠癌属于“下痢”、“肠澼”等范畴, 多因脾胃失于健运, 化生湿热毒邪积聚于内, 造成气滞血瘀, 瘀久化热, 又加重湿热积聚, 形成恶性循环, 积滞而成有形之肿块, 且湿热郁而化火, 则耗气伤津, 日久则气虚、阴虚, 导致正气虚弱, 易于发病, 故治疗的关键在于益气养阴、健脾化湿. 本研究采用自拟的自拟解毒抗癌汤剂, 结果显示, 观察组治疗2个疗程后总有效率、KPS评分高于对照组, VAS评分低于对照组, 提示自拟解毒抗癌汤剂联合化疗治疗晚期结肠癌, 具有良好的抗癌作用, 并能减轻患者疼痛, 提高患者生活质量. 自拟解毒抗癌汤剂组方中炙黄芪、白术主大补中气, 重在益气生津, 西洋参重在养阴补气、清热生津, 共为君药; 白花蛇舌草、半枝莲、薏苡仁、浙贝健脾利湿、燥湿利水、清热解毒、消肿止痛、解毒抗癌, 共为臣药; 莪术、焦三仙、木香破积、健脾行气, 为佐药, 配伍使用防止苦寒之品太过伤及脾胃, 还可鼓舞正气, 甘草为使, 调和调药, 全方配伍, 攻补兼施, 标本兼治, 可共奏益气养阴、解毒抗癌、健脾化湿之效. 现代医学认为, 自拟解毒抗癌汤剂组方含有氨基酸、黄酮、二萜、生物碱等多种成分, 具有抗病毒、抗肿瘤、免疫调节、保护胃黏膜、升高白细胞、抗炎、保护神经系统、促进胃肠蠕动等多种作用, 能从多靶点、多途径发挥作用, 辅助化疗, 能起到协同作用, 故能获得满意效果[13-15]. CEA、TK1、CA199是血清肿瘤标志物, 在结直肠癌中水平显著升高, 监测其水平对疗效具有较高的评估价值. 本研究显示自拟解毒抗癌汤剂联合化疗能降低CEA、TK1、CA199水平, 增强疗效.

3.3 自拟解毒抗癌汤剂联合化疗对T细胞亚群的影响 近年来肿瘤免疫生物治疗已被公认为除手术切除、放化疗之外的重要抗癌手段, 极具应用前景和意义. 2018年诺贝尔生理学或医学奖授予免疫负调控治疗肿瘤的研究成果, 将肿瘤免疫治疗的作用推向新的高度, 因此如何改善癌症患者免疫功能成为恶性肿瘤领域研究的一个热点. 根据以往研究, 细胞免疫功能在恶性肿瘤的发生、发展过程中发挥着重要作用, 总T淋巴细胞、$CD3^+$、$CD4^+$显著低于健康人群, $CD8^+$高于健康人群[16]. 本研究显示, 自拟解毒抗癌汤剂联合化疗可提高结肠癌患者$CD3^+$、$CD4^+$, 降低$CD8^+$, 改善患者T细胞免疫功能. 吴涛等[17]研究以健脾化湿等为原则, 治疗结直肠癌、胃癌等消化道肿瘤, 发现患者$CD3^+$、$CD4^+$较治疗前升高, 本研究观点与之相似. 自拟解毒抗癌汤剂联合化疗改善机体免疫功能的机制可能与自拟解毒抗癌汤剂的抗癌、免疫调节等多靶点功效有关. 同时本研究还发现, 自拟解毒抗癌汤剂联合化疗能降低白细胞下降、神经毒性、胃肠不适发生率, 减轻化疗的不良反应.

3.4 自拟解毒抗癌汤剂联合化疗对炎症指标的影响 炎症反应与肿瘤发生、进展的关系已被以往大量研究所证实, 多种炎症因子能通过诱导基因突变、改变基因状态、促进血管生成、增强细胞增殖、促进上皮-间质化等途径发促癌作用[18,19]. 其中IL-17能通过结合受体, 激活免疫防御、补体系统, 诱导TNF-α、白介素-6等炎症因子产生, 参与炎症反应. 在肠黏膜表面, 富集了大量可分泌IL-17的细胞, 当局部微环境发生改变后, IL-17能将淋巴细胞、趋化蛋白靶向至黏膜表面, 并能通过白介素-6, 激活Stat3途径, 介导血管新生, 为癌细胞生长提供营养[20,21]. TGF-β在结肠癌组织中呈高表达, 与肿瘤分期、分化程度、血管内皮生长因子密切相关[22]. 本研究显示, 自拟解毒抗癌汤剂联合化疗能降低TGF-β、TNF-β、IL-17表达, 抑制机体炎症反应, 有利于改善局部微环境, 抑制肿瘤的恶性生物学行为. 本研究不足之处在于, 仍未阐明自拟解毒抗癌汤剂联合化疗抗炎作用的分子水平的详细机制, 有待后续基础实验基因靶向技术的进一步验证.

4 结论

自拟解毒抗癌汤剂联合化疗治疗晚期结肠癌, 具有良好的抗癌作用, 并能减轻患者疼痛, 提高患者生活质量, 改善患者T细胞免疫功能, 抑制机体炎症反应, 降低不良反应发生率.

文章亮点

实验背景

我国结肠癌发病率、死亡率在全部恶性肿瘤中均位居第5位, 且发病率、死亡率仍保持上升趋势, 极大危害患者生命健康, 系统性全身治疗是最主要的治疗手段, 但全身化疗往往疗效不尽如人意, 且伴随着较为明显的毒副反应.

实验动机

化疗成为晚期结肠癌主要治疗手段之一, XELOX方案具有一定的效果, 但可诱发胃肠系统、骨髓等毒副反应, 影响患者治疗依从性, 近年来中医药辅助化疗被证实具有增效减毒效果, 但中医药种类丰富多样, 如何配伍辅助化疗能提高晚期结肠癌的疗效尚不明确.

实验目标

自拟解毒抗癌汤剂联合XELOX方案治疗晚期结肠癌患者, 从临床效果、血清肿瘤标志物、免疫功能、不良反应等观察, 探讨应用价值及安全性.

实验方法

本研究纳入确诊为晚期结肠癌的患者. 随机分为观察组和对照组. 观察组采用自拟解毒抗癌汤剂联合XELOX方案治疗, 对照组采用XELOX方案治疗. 本研究观察临床总有效率以及CEA、TK1、CA19-9、TGF-β、TNF-α、IL-17、谷丙转氨酶、谷草转氨酶、肌酐、尿素氮、T细胞免疫功能、VAS和KPS和等参数的变化进行评价.

实验结果

两组患者分别接受两个周期的治疗后, 观察组的临床总有效率明显高于对照组, 观察组血清CEA、TK1、CA199、TGF-β、TNF-α、IL-17、$CD8^+$水平低于对照组; 观察组$CD3^+$、$CD4^+$水平高于对照组; VAS评分及KPS评分均显著优于对照组; 观察组ALT、AST、Cr、BUN水平与对照组水平无统计学差异; 观察组不良事件包括白细胞减少神经毒性和胃肠道毒性显著降低.

实验结论

自拟解毒抗癌汤剂联合化疗治疗晚期结肠癌, 具有良好的抗癌作用, 并能减轻患者疼痛, 提高患者生活质量, 改善患者T细胞免疫功能, 抑制机体炎症反应, 降低不良反应发生率.

展望前景

本研究显示, 自拟解毒抗癌汤剂联合化疗能降低晚期结肠癌TGF-β、TNF-α、IL-17表达, 抑制机体炎症反应, 有利于改善局部微环境, 抑制肿瘤的恶性生物学行为. 本研究不足之处在于, 仍未阐明自拟解毒抗癌汤剂联合化疗抗炎作用的分子水平的详细机制, 有待后续基础实验基因靶向技术的进一步验证.

5 参考文献

1 国家卫生计生委医政医管局, 中华医学会肿瘤学分会. 中国结直肠癌诊疗规范(2017年版). 中华胃肠外科杂志 2018; 21: 92-106 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.0529-5815.2018.04.001]

2 Yu Y, Fang Y, Shen Z, Wang Y, Yan M, Cao H, Liu Y, Wang X, Cui Y, Liu F, Chen W, Li W, Li Q, Jiang H, Sun Y, Liu T. Oxaliplatin plus Capecitabine in the Perioperative Treatment of Locally Advanced Gastric Adenocarcinoma in Combination with D2 Gastrectomy: NEO-CLASSIC Study. *Oncologist* 2019; 24: 1311-e989 [PMID: 31239311 DOI: 10.1634/theoncologist.2019-0416]

3 Kim ST, Oh SY, Lee J, Kang JH, Lee HW, Lee MA, Sohn BS, Hong JH, Park YS, Park JO, Lim HY. Capecitabine plus Oxaliplatin as a Second-Line Therapy for Advanced Biliary Tract Cancers: A Multicenter, Open-Label, Phase II Trial. *J Cancer* 2019; 10: 6185-6190 [PMID: 31772650 DOI: 10.7150/jca.37610]

4 Zheng S, Zhou Y, Sun Y, Wang Z, Lu Y. A two centers study of postoperative adjuvant chemotherapy with S-1 versus SOX/XELOX regimens for gastric cancer after D2 resection: a cohort study. *Cancer Chemother Pharmacol* 2019; 84: 819-827 [PMID: 31388724 DOI: 10.1007/s00280-019-03911-5]

5 张恬, 聂克.止呕中药防治化疗性恶心呕吐与其抗炎作用研究. 山东中医杂志 2018; 37: 611-614 [DOI: 10.16295/j.cnki.0257-358x.2018.07.023]

6 中华人民共和国卫生和计划生育委员会医政医管局, 中华医学会肿瘤学分会.中国结直肠癌诊疗规范(2015版). 中华消化外科杂志 2015; 14: 783-799 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-9752.2015.10.001]

7 中华人民共和国中医药行业标准. 中医病证诊断疗效标准. 中国中医药出版社 2017: 50-54

8 中华医学会放射学分会医学影像大数据与人工智能工作委员会, 中华医学会放射学分会腹部学组,中华医学会放射学分会磁共振学组.结直肠癌CT和MRI标注专家共识(2020). 中华放射学杂志 2021; 55: 111-116 [DOI: 10.3760/cma.j.cn112149-20200706-00894]

9 唐智勇, 靳忠民, 朱广庆. SWE定量分析在乳腺癌辅助化疗疗效评估中的应用及其与肿瘤血红蛋白的相关性. 河北医科大学学报 2018; 39: 193-197 [DOI: 10.3969/j.issn.1007-3205.2018.02.017]

10 Maiello E, Di Maggio G, Cordio S, Cinieri S, Giuliani F, Pisconti S, Rinaldi A, Febbraro A, Latiano TP, Aieta M, Rossi A, Rizzi D, Di Maio M, Colucci G, Bordonaro R. Bevacizumab in Combination With Either FOLFOX-4 or XELOX-2 in First-line Treatment of Patients With Metastatic Colorectal Cancer: A Multicenter Randomized Phase II Trial of the Gruppo Oncologico dell'Italia Meridionale (GOIM 2802). *Clin Colorectal Cancer* 2020; 19: 109-115 [PMID: 32089455 DOI: 10.1016/j.clcc.2020.01.003]

11 Ruzzo A, Graziano F, Galli F, Galli F, Rulli E, Lonardi S, Ronzoni M, Massidda B, Zagonel V, Pella N, Mucciarini C, Labianca R, Ionta MT, Bagaloni I, Veltri E, Sozzi P, Barni S, Ricci V, Foltran L, Nicolini M, Biondi E, Bramati A, Turci D, Lazzarelli S, Verusio C, Bergamo F, Sobrero A, Frontini L, Magnani M. Author Correction: Sex-Related Differences in Impact on Safety of Pharmacogenetic Profile for Colon Cancer Patients Treated with FOLFOX-4 or XELOX Adjuvant Chemotherapy. *Sci Rep* 2020; 10: 1918 [PMID: 32005869 DOI: 10.1038/s41598-020-58486-6]

12 李程, 应伟. 复方苦参注射液联合XELOX方案对晚期结肠癌患者疗效及免疫功能的影响. 标记免疫分析与临床 2019; 26: 318-

321 [DOI: 10.11748/bjmy.issn.1006-1703.2019.02.033]
13 Qian Y, Xiong Y, Feng D, Wu Y, Zhang X, Chen L, Gu M. Coix Seed Extract Enhances the Anti-Pancreatic Cancer Efficacy of Gemcitabine through Regulating ABCB1- and ABCG2-Mediated Drug Efflux: A Bioluminescent Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Study. *Int J Mol Sci* 2019; 20 [PMID: 31652737 DOI: 10.3390/ijms20215250]
14 浦飞飞, 陈凤霞, 夏平. 白花蛇舌草抗肿瘤化学成分和作用机制的研究进展. 癌症进展 2019; 17: 1985-1988, 1996 [DOI: 10.11877/j.issn.1672-1535.2019.17.17.01]
15 Chang HL, Kuo YH, Wu LH, Chang CM, Cheng KJ, Tyan YC, Lee CH. The extracts of Astragalus membranaceus overcome tumor immune tolerance by inhibition of tumor programmed cell death protein ligand-1 expression. *Int J Med Sci* 2020; 17: 939-945 [PMID: 32308547 DOI: 10.7150/ijms.42978]
16 庞连胜, 赵万春. 外周血淋巴细胞免疫表型检验在恶性肿瘤患者细胞免疫功能评价中的应用价值. 国际免疫学杂志 2019; 42: 280-284 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4394.2019.03.010]
17 吴涛, 艾兰·塔拉干. 健脾生血法对恶性消化道肿瘤化疗后骨髓抑制及免疫功能的影响. 贵州医药 2018; 42: 698-700 [DOI: 10.3969/j.issn.1000-744X.2018.06.024]
18 Feng H, Ying R, Chai T, Chen H, Ju H. The association between IL-17 gene variants and risk of colorectal cancer in a Chinese population: A case-control study. *Biosci Rep* 2019; 39 [PMID: 31682719 DOI: 10.1042/BSR20190013]
19 Chen Y, Yang Z, Wu D, Min Z, Quan Y. Upregulation of interleukin-17F in colorectal cancer promotes tumor invasion by inducing epithelial-mesenchymal transition. *Oncol Rep* 2019; 42: 1141-1148 [PMID: 31322258 DOI: 10.3892/or.2019.7220]
20 Chen J, Ye X, Pitmon E, Lu M, Wan J, Jellison ER, Adler AJ, Vella AT, Wang K. IL-17 inhibits CXCL9/10-mediated recruitment of $CD8^+$ cytotoxic T cells and regulatory T cells to colorectal tumors. *J Immunother Cancer* 2019; 7: 324 [PMID: 31775909 DOI: 10.1186/s40425-019-0757-z]
21 Callejas BE, Mendoza-Rodríguez MG, Villamar-Cruz O, Reyes-Martínez S, Sánchez-Barrera CA, Rodríguez-Sosa M, Delgado-Buenrostro NL, Martínez-Saucedo D, Chirino YI, León-Cabrera SA, Pérez-Plasencia C, Vaca-Paniagua F, Arias-Romero LE, Terrazas LI. Helminth-derived molecules inhibit colitis-associated colon cancer development through NF-κB and STAT3 regulation. *Int J Cancer* 2019; 145: 3126-3139 [PMID: 31407335 DOI: 10.1002/ijc.32626]
22 刘烨, 高志海, 安燚. 结肠癌组织中转化生长因子-β1和缺氧诱导因子-1α及血管内皮生长因子的表达及临床意义. 中国慢性病预防与控制 2019; 27: 352-355 [DOI: 10.16386/j.cjpccd.issn.1004-6194.2019.05.008]

科学编辑: 刘继红　制作编辑: 张砚梁

ISSN 1009-3079 (print)　ISSN 2219-2859 (online)　DOI: 10.11569 © 2021 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

• 消息 •

《世界华人消化杂志》栏目设置

本刊讯　本刊栏目设置包括述评, 基础研究, 临床研究, 文献综述, 研究快报, 临床实践, 病例报告, 会议跟踪. 文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确.

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: https://www.baishideng.com

世界华人消化杂志 2021年6月8日; 29(11): 601-608

DOI: 10.11569/wcjd.v29.i11.601

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

临床研究 CLINICAL RESEARCH

胶体金法检测粪便中TU M2PK、COX-2、Vimentin在大肠癌患者中的表达变化及临床意义分析

楼何飞, 马春梅, 傅英芝, 张 术

楼何飞, 马春梅, 傅英芝, 磐安县中医院检验科 浙江省金华市 322300

张术, 杭州市第二人民医院 浙江省杭州市 310015

楼何飞, 主管技师, 研究方向为临床医学检验技术.

作者贡献分布: 此课题由楼何飞、张术设计; 研究过程由楼何飞、马春梅、傅英芝操作完成; 本论文写作由楼何飞完成.

通讯作者: 张术, 主任医师, 310015, 浙江省杭州市拱墅区温州路126号, 杭州市第二人民医院消化科. modong044@163.com

收稿日期: 2021-02-05
修回日期: 2021-03-25
接受日期: 2021-05-11
在线出版日期: 2021-06-08

Detection of TU M2PK, COX-2, and Vimentin expression in stool by colloidal gold method in patients with colorectal cancer and its clinical significance

He-Fei Lou, Chun-Mei Ma, Ying-Zhi Fu, Shu Zhang

He-Fei Lou, Chun-Mei Ma, Ying-Zhi Fu, Clinical Laboratory of Pan'an Traditional Chinese Medical Hospital, Jinhua 322300, Zhejiang Province, China

Shu Zhang, The Affiliated Hospital of Hangzhou Normal University, Hangzhou 310015, Zhejiang Province, China

Corresponding author: Shu Zhang, Chief Physician, The Affiliated Hospital of Hangzhou Normal University, No. 126 Wenzhou Road, Gongshu District, Hangzhou 310015, Zhejiang Province, China. modong044@163.com

Received: 2021-02-05
Revised: 2021-03-25
Accepted: 2021-05-11
Published online: 2021-06-08

Abstract

BACKGROUND

Colorectal cancer is often diagnosed at middle or late stage, which brings great difficulties to the treatment and postoperative recoverys. How to find the lesion at the early stage of the disease is the key to treatment. Colloidal gold method is a rapid, simple, accurate, and economical method for the early diagnosis of colorectal cancer. Combined with the changes of related factors in feces at the early stage of disease, it provides a basis for the early diagnosis of colorectal cancer.

AIM

To detect tumor M2 pyruvate kinase (TU M2PK), cyclooxygenase-2 (COX-2), and Vimentin expression in feces of patients with colorectal cancer by colloidal gold method and analyze its clinical significanced.

METHODS

From January 2013 to January 2017, 124 patients with colorectal cancer diagnosed at our hospital were selected as an observation group, and 41 patients with negative colonoscopy during the same period were selected as a control group. The positive rates of TU M2PK, COX-2, and Vimentin between the two groups and patients with different pathological characteristics were compared, and factors related to the survival of patients with colorectal cancer were analyzed.

RESULTS

The positive expression rates of TU M2PK, COX-2, and Vimentin in the observation group were significantly higher than those in the control group ($P < 0.05$). The positive expression of TU M2PK, COX-2, and Vimentin in patients with colorectal cancer were significantly different among patients with different Dukes stages and tumor

differentiation degrees ($P < 0.05$). There were statistically significant differences in the 1-year survival of patients with different Dukes stages, degrees of differentiation, and TU M2PK, COX-2, and Vimentin expression ($P < 0.05$). After incorporating Cox regression analysis and adjusting for other confounding factors, the hazard ratio (HR) was 3.774 for Dukes stage B, 4.433 for stage C, and 5.536 for stage D. The HR value was 0.414 for moderate differentiation and 0.295 for high differentiation; . The HR value was 5.006 for TU M2PK expression, 4.997 for COX-2 expression, and 4.671 for Vimentin expression. The 1-year survival rate of patients with positive expression of TU M2PK, COX-2, and Vimentin was significantly lower than that of patients with negative expression ($P < 0.05$).

CONCLUSION

TU M2PK, COX-2, and Vimentin are abnormally expressed in the stool of patients with colorectal cancer. The detection of the above indicators by colloidal gold method has potential application value in screening for colorectal cancer and assessing the survival of patients.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Colloidal gold method; Stool; Tumor M2 pyruvate kinase; Cyclooxygenase-2; Vimentin; Colorectal cancer

Citation: Lou HF, Ma CM, Fu YZ, Zhang S. Detection of TU M2PK, COX-2, and Vimentin expression in stool by colloidal gold method in patients with colorectal cancer and its clinical significance. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2021; 29(11): 601-608
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i11/601.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i11.601

摘要

背景

大肠癌一经发现大多都进入到中晚期, 给治疗和术后恢复带来极大的困难. 如何能在发病早期的不明显阶段发现病灶成为治疗的关键. 胶体金法目前属于快速、简单、准确、经济的诊断方法, 结合发病初期粪便中相关因子水平的变化, 为大肠癌早期确诊提供依据.

目的

探讨胶体金法检测粪便中肿瘤M2型丙酮酸激酶(tumor M2-pyruvate kinase, TU M2PK)、环氧化酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)、波形蛋白(Vimentin)在大肠癌患者中的表达及临床意义.

方法

选取2013-01/2017-01我院124例大肠癌患者作为观察组, 同期41例结肠镜检查阴性者作为对照组. 对比两组及不同病理特征患者TU M2PK、COX-2、Vimentin阳性率, 分析大肠癌患者生存情况相关因素.

结果

观察组TU M2PK、COX-2、Vimentin阳性表达率均高于对照组, 差异有统计学意义($P<0.05$); 大肠癌患者TU M2PK、COX-2、Vimentin阳性表达在Dukes分期、分化程度方面相比, 差异有统计学意义($P<0.05$); 不同Dukes分期、分化程度、TU M2PK、COX-2、Vimentin表达患者1年生存情况相比, 差异有统计学意义($P<0.05$); 纳入Cox回归分析, 调整其他混杂因素后, Dukes分期B期HR值为3.774; C期HR值为4.433; D期HR值为5.536; 分化程度中分化HR值为0.414; 高分化HR值为0.295; TU M2PK表达HR值为5.006; COX-2表达HR值为4.997; Vimentin表达HR值为4.671; TU M2PK、COX-2、Vimentin阳性表达患者1年生存率低于阴性患者, 差异有统计学意义($P<0.05$).

结论

大肠癌患者粪便中TU M2PK、COX-2、Vimentin异常表达, 胶体金法检测上述指标对筛查大肠癌及评估患者生存情况具有潜在应用价值.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 胶体金法; 粪便; 肿瘤M2型丙酮酸激酶; 环氧化酶-2; 波形蛋白; 大肠癌

核心提要: 通过胶体金的方法对大肠癌患者粪便中的肿瘤M2型丙酮酸激酶(tumor M2-pyruvate kinase, TU M2PK)、环氧化酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)、波形蛋白(Vimentin)进行快速、方便的检测, 通过其中含量的变化判断发生大肠癌风险的情况, 对评估患者的患病程度和生存情况提供依据.

文献来源: 楼何飞, 马春梅, 傅英芝, 张术. 胶体金法检测粪便中TU M2PK、COX-2、Vimentin在大肠癌患者中的表达变化及临床意义分析. 世界华人消化杂志 2021; 29(11): 601-608
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i11/601.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i11.601

0 引言

大肠癌是全世界范围内最常见恶性肿瘤之一, 据世界卫生组织报道, 此疾病是男性第3位, 女性第2位的常见恶性肿瘤[1]. 大肠癌早期缺乏特异性症状, 多数患者发现时已进展至中晚期, 而早发现、早确诊、早治疗是改善患者预后的关键环节. 有研究显示, 一次性筛查可将筛查群体大肠癌累积病死率降低10%以上[2]. 目前结肠镜检查及组织病理学检查是临床诊断大肠癌“金标准”, 但此疾

病早期无症状或症状不明显, 如何通过简单、患者易接受的手段筛查高危群体是当前急需解决问题之一. 肿瘤M2型丙酮酸激酶(tumor M2 pyruvate kinase, TU M2PK)是丙酮酸激酶同工酶主要成员, 正常情况其以四聚体形式存在, 但在恶性细胞中可转化成二聚体, 参与肿瘤的发生发展过程[3]; 波形蛋白(Vimentin)是一种重要细胞骨架蛋白, 主要在中胚层起源细胞内表达, 主要功能是维持细胞完整性、影响细胞迁移、黏附等过程[4]; 环氧化酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)是一种双功能酶, 具环氧化酶及过氧化氢酶活性. 近年相继有研究表明, TU M2PK、COX-2、Vimentin在肺癌、胃肠道恶性肿瘤中异常表达, 但其对大肠癌筛查价值如何鲜见报道[5,6]. 本研究尝试分析胶体金法检测大肠癌患者粪便中TU M2PK、COX-2、Vimentin表达及临床意义, 为临床完善大肠癌诊疗机制提供参考. 现报告如下.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2013-01/2017-01我院124例大肠癌患者作为观察组, 同期41例结肠镜检查阴性者作为对照组. 纳入标准: 经结肠镜检查及组织病理学诊断确诊; 首次确诊, 入组前未经相关治疗; 原发性大肠癌; 对照组体健, 无恶性肿瘤相关疾病; 患者、家属知情理解, 签署同意书. 排除标准: 合并其他恶性肿瘤疾病者; 终末期患者; 有精神、认知功能缺陷者; 不耐受结肠镜检查者. 观察组男73例, 女51例, 年龄43-79岁, 平均(66.38±5.11)岁, 有大肠癌家族史13例, 不良生活习惯: 喜肉食37例, 喜油炸31例, 吸烟58例. 对照组男22例, 女19例, 年龄41-78岁, 平均(65.29±5.30)岁, 有大肠癌家族史3例, 不良生活习惯: 喜肉食10例, 喜油炸8例, 吸烟20例. 两组性别、年龄、有大肠癌家族史、不良生活习惯基础资料均衡可比($P>0.05$). 本研究经本院医学伦理委员会审批通过.

1.2 方法 采用上海将来实业股份有限公司胶体金法试剂盒测粪便中TU M2PK、COX-2、Vimentin表达. 采用粪便样本独立收集容器采集新鲜粪便样本约5 g, 加稀释液, 振荡, 静置10 min, 再次振荡, 肉眼确认收集装置凹槽内无样本残留, 取稀释管, 采用吸管吸取样本稀释液, 垂直滴加4滴样本于试纸圆形样本孔中, 等待5 min, 确认结果; 结果判断: 视线垂直观察结果显示区测试线, 与质控线对照, 若测试线清晰可见, 即为阳性; 若测试线较弱, 保存图像, 与试剂盒附带正常人质控线阈值图像对比, 测试线较阈值图像深则为阳性; 若仅有质控, 无测试线, 则为阴性.

1.3 观察指标 (1)对比两组TU M2PK、COX-2、Vimentin阳性表达; (2)对比不同病理特征患者TU M2PK、COX-2、Vimentin阳性表达率; (3)统计大肠癌患者1年生存情况; (4)Cox回归分析大肠癌患者生存情况; (5)生存曲线分析.

统计学处理 采用统计学软件SPSS 25.0处理数据, 计数资料以例数描述, 采用χ^2检验; COX回归模型分析预后生存情况; Kaplan-Meier生存曲线分析TU M2PK、COX-2、Vimentin阳性表达与患者死亡的关系, 采用Log-Rank检验. 均采用双侧检验, $\alpha=0.05$.

2 结果

2.1 两组TU M2PK、COX-2、Vimentin阳性表达 观察组TU M2PK、COX-2、Vimentin阳性表达率均高于对照组, 差异有统计学意义($P<0.05$). 见表1.

2.2 不同病理特征患者TU M2PK、COX-2、Vimentin阳性表达率 大肠癌患者TU M2PK、COX-2、Vimentin阳性表达在Dukes分期、分化程度方面相比, 差异有统计学意义($P<0.05$), 在性别、年龄、病灶部位、组织学类型及病灶大小方面相比, 差异无统计学意义($P>0.05$). 见表2.

2.3 大肠癌患者生存情况 不同Dukes分期、分化程度、TU M2PK、COX-2、Vimentin表达患者1年生存情况相比, 差异有统计学意义($P<0.05$). 见表3.

2.4 大肠癌患者生存情况Cox回归分析 纳入Cox回归分析, 调整其他混杂因素后, Dukes分期B期HR值为3.774(95%CI为2.079-6.852), 表示B期患者在某时刻死亡的危险度是A期患者的3.774倍; C期HR值为4.433(95%CI为2.525-7.782), 表示C期患者在某时刻死亡的危险度是A期患者的4.433倍; D期HR值为5.536(95%CI为3.124-9.812), 表示D期患者在某时刻死亡的危险度是A期患者的5.536倍; 分化程度中分化HR值为0.414(95%CI为0.245-0.698), 表示中分化患者在某时刻死亡的危险度是低分化患者的0.414倍; 高分化HR值为0.295(95%CI为0.215-0.404), 表示高分化患者在某时刻死亡的危险度是低分化患者的0.295倍; TU M2PK表达HR值为5.006(95%CI为2.741-9.142), 表示阳性患者在某时刻死亡的危险度是阴性患者的5.006倍, COX-2表达HR值为4.997(95%CI为3.025-8.256), 表示阳性患者在某时刻死亡的危险度是阴性患者的4.997倍; Vimentin表达HR值为4.671(95%CI为2.857-7.637), 表示阳性患者在某时刻死亡的危险度是阴性患者的4.671倍. 见表4.

2.5 生存曲线 TU M2PK、COX-2、Vimentin阳性表达患者1年生存率低于阴性患者, 差异有统计学意义($\chi^2=4.338$、5.070、9.968, $P<0.05$). 见图1.

3 讨论

大肠癌是我国常见恶性肿瘤之一, 也是近三十年发病率

表 1　两组TU M2PK、COX-2、Vimentin阳性表达对比[*n*(%)]

组别	例数	TU M2PK	COX-2	Vimentin
观察组	124	80(64.52)	77(62.09)	71(57.26)
对照组	41	6(14.63)	6(14.63)	3(7.32)
t		30.722	27.765	31.069
P		< 0.001	< 0.001	< 0.001

TU M2PK: 肿瘤M2型丙酮酸激酶; COX-2: 环氧化酶-2; Vimentin: 波形蛋白.

表 2　不同病理特征患者TU M2PK、COX-2、Vimentin阳性表达率对比

临床参数	例数	TU M2PK(*n* = 80)	χ^2/*P*	COX-2(*n* = 77)	χ^2/*P*	Vimentin(*n* = 71)	χ^2/*P*
性别							
男	73	45(61.64)	0.440/0.507	43(58.90)	0.769/0.381	40(54.79)	0.640/0.424
女	51	35(68.63)		34(66.67)		31(60.78)	
年龄							
< 65岁	50	28(56.00)	2.654/0.103	32(64.00)	0.129/0.720	29(58.00)	0.019/0.891
≥65岁	74	52(70.27)		45(60.81)		42(56.78)	
病灶位置							
结肠	77	54(70.13)	2.797/0.095	50(64.94)	0.695/0.404	45(58.44)	0.116/0.733
直肠	47	26(55.32)		27(57.45)		26(55.32)	
Dukes分期							
A+B	68	36(52.94)	8.812/0.003	36(52.94)	5.363/0.021	33(48.53)	4.688/0.030
C+D	56	44(78.57)		41(73.21)		38(67.86)	
分化程度							
高、中	81	47(58.02)	4.300/0.038	42(51.85)	10.416/0.001	39(48.15)	7.921/0.005
低	43	33(76.74)		35(81.40)		32(74.42)	
组织学类型							
腺癌	101	67(66.34)	0.788/0.375	63(62.38)	0.018/0.893	59(58.42)	0.298/0.585
粘液腺癌	23	13(56.52)		14(60.87)		12(52.17)	
病灶大小							
< 5 cm	82	51(62.20)	0.570/0.450	54(65.85)	1.452/0.228	43(52.44)	2.297/0.130
≥5 cm	42	29(69.05)		23(54.76)		28(66.67)	

TU M2PK: 肿瘤M2型丙酮酸激酶; COX-2: 环氧化酶-2; Vimentin: 波形蛋白.

增加最快肿瘤之一, 而如何加强大肠癌筛查, 做到早发现、早治疗是当前急需解决问题之一[7]. 近年基于分子生物学快速发展, 此技术已逐渐成为大肠癌诊断的一项新型无创检测技术, 且有研究表明, 与常规粪便隐血试验对比, 具更高敏感性及特异性, 但哪种指标更具有应用价值尚无定论[8].

目前有关大肠癌的研究较多, 如: 张鑫东等[9]提出常见肿瘤标志物糖类抗原199、癌胚抗原表达与直肠癌转移关系密切, 但根据研究结果不难发现, 其预测预后的敏感度、特异度一般. TU M2PK主要分布在细胞内部, 但随细胞转化、肿瘤坏死等可被释放入体液, 并以无活性二聚体形式存在, 因此, 可在体液内检测到TU M2PK表达, 且有研究发现, U M2PK在消化道肿瘤患者外周血及粪便内高表达, 与肿瘤发生发展密切相关, 且其已被明确作为外周血、粪便内的肿瘤生物标志物[10]. Vimentin是中间丝结合蛋白家族主要成员, 有研究显示, 其对应基因启动子的甲基化与其表达异常关系密切, 此特征与癌前病变、大肠肿瘤等发生有关[11]. Vimentin在粪便内检测敏感性高, 作为大肠癌筛查分子标志物具良好检测性能, 是首次应用粪便DNA甲基化作为大肠癌诊断性检测的靶基因. 本研究采用胶体金法检测大肠癌患者粪便中TU M2PK、Vimentin表达情况, 结果发现, 二者阳性表达率达分别为64.52%, 57.26%, 均存在一定漏诊、误诊情况, 仍需继续完善检测机制. 此外, 正常情况COX-2在体内维持相对稳定状态, 参与前列腺素生成及维持机体正常功能, 但出现炎症反应及发生

表 3　大肠癌患者生存情况

临床参数	例数	1年生存情况		χ^2	P
		生存(n = 108)	死亡(n = 16)		
性别					
男	73	64(87.67)	9(12.33)	0.052	0.819
女	51	44(86.27)	7(13.73)		
年龄					
＜65岁	50	45(90.00)	5(10.00)	0.628	0.428
≥65岁	74	63(85.14)	11(14.86)		
病灶位置					
结肠	77	67(87.01)	10(12.99)	0.001	0.972
直肠	47	41(87.23)	6(12.77)		
Dukes分期					
A+B	68	66(97.06)	2(2.94)	13.297	＜0.001
C+D	56	42(75.00)	14(25.00)		
分化程度					
高、中	81	78(96.30)	3(3.70)	17.590	＜0.001
低	43	30(69.77)	13(30.23)		
组织学类型					
腺癌	101	88(87.13)	13(12.87)	0.001	0.982
粘液腺癌	23	20(86.96)	3(13.04)		
病灶大小					
＜5 cm	82	71(86.59)	11(13.41)	0.056	0.812
≥5 cm	42	37(88.10)	5(11.90)		
TU M2PK					
阳性	80	66(82.50)	14(17.50)	4.239	0.040
阴性	44	42(95.45)	2(4.55)		
COX-2					
阳性	77	63(81.82)	14(18.18)	5.037	0.025
阴性	47	45(95.74)	2(4.26)		
Vimentin					
阳性	71	56(78.87)	15(21.13)	9.996	0.002
阴性	53	52(98.11)	1(1.89)		

TU M2PK: 肿瘤M2型丙酮酸激酶; COX-2: 环氧化酶-2; Vimentin: 波形蛋白.

肿瘤时, 其表达显著升高[12]. 现有研究显示, COX-2在正常分化组织中几乎无表达, 但在结直肠癌等多种恶性肿瘤组织内呈特异性表达[13]. 本研究也发现, 观察组粪便中COX-2阳性表达率62.09%高于对照组(P＜0.05). 结合学者张翔、Lin等[14,15]研究分析, 主要是因COX-2能参与细胞增殖、侵袭及抑制细胞凋亡等过程, 具原癌基因活性, 通过抑制CyclinD1等靶基因表达致细胞停滞在G0/G1期继而妨碍细胞进入DNA合成期及有丝分裂期, 阻断分化过程. 上述研究说明, TU M2PK、COX-2、Vimentin可能共同参与大肠癌发生过程, 或可互为补充为临床筛查大肠癌提供新视角.

本研究对不同病理特征患者TU M2PK、COX-2、Vimentin阳性表达率探讨发现, 随大肠癌Dukes分期升高, 分化能力降低, 上述指标阳性表达率升高(P＜0.05), 反映TU M2PK、COX-2、Vimentin可能同时参与大肠癌发展过程. 此特征亦符合TU M2PK、COX-2、Vimentin病理生理作用, 均参与、影响细胞分裂过程, 或可为临床评价大肠癌病情、患者生存情况提供参考[16,17]. 但还有研究指出[18], 大肠癌患者预后转归与病灶位置、组织学类型等多种因素有关, 是多过程、多因素共同作用的结果. 本研究对比1年期不同生存情况患者一般资料未发现上述特征, 继续Cox回归分析显示, 粪便中TU M2PK、COX-2、Vimentin阳性表达率每升高1个单位患者病死风险均增加4.6倍以上, 客观说明TU M2PK、COX-2、Vimentin是大肠癌发生发展的独立危险因素. 进一步Kaplan-Meier分析显示, TU M2PK、COX-2、Vimentin阳

表 4　大肠癌患者生存情况Cox回归分析

因素	β	S.E.	Wald χ^2	P	HR	95%CI
Dukes分期						
B	1.328	0.312	18.123	< 0.05	3.774	2.079–6.852
C	1.489	0.313	22.632	< 0.05	4.433	2.525–7.782
D	1.711	0.314	29.705	< 0.05	5.536	3.124–9.812
分化程度						
中	–0.883	0.251	12.376	< 0.05	0.414	0.245–0.698
高	–1.222	0.314	15.139	< 0.05	0.295	0.215–0.404
TU M2PK表达	1.611	0.309	27.168	< 0.05	5.006	2.741–9.142
COX–2表达	1.609	0.341	22.262	< 0.05	4.997	3.025–8.256
Vimentin表达	1.541	0.325	22.494	< 0.05	4.671	2.857–7.637

赋值: Dukes分期: A = 1, B = 2, C = 3, D = 4; 分化程度: 低分化 = 1, 中分化 = 2, 高分化 = 3; TU M2PK、COX–2、Vimentin表达: 阴性 = 0, 阳性 = 1. TU M2PK: 肿瘤M2型丙酮酸激酶; COX–2: 环氧化酶–2; Vimentin: 波形蛋白.

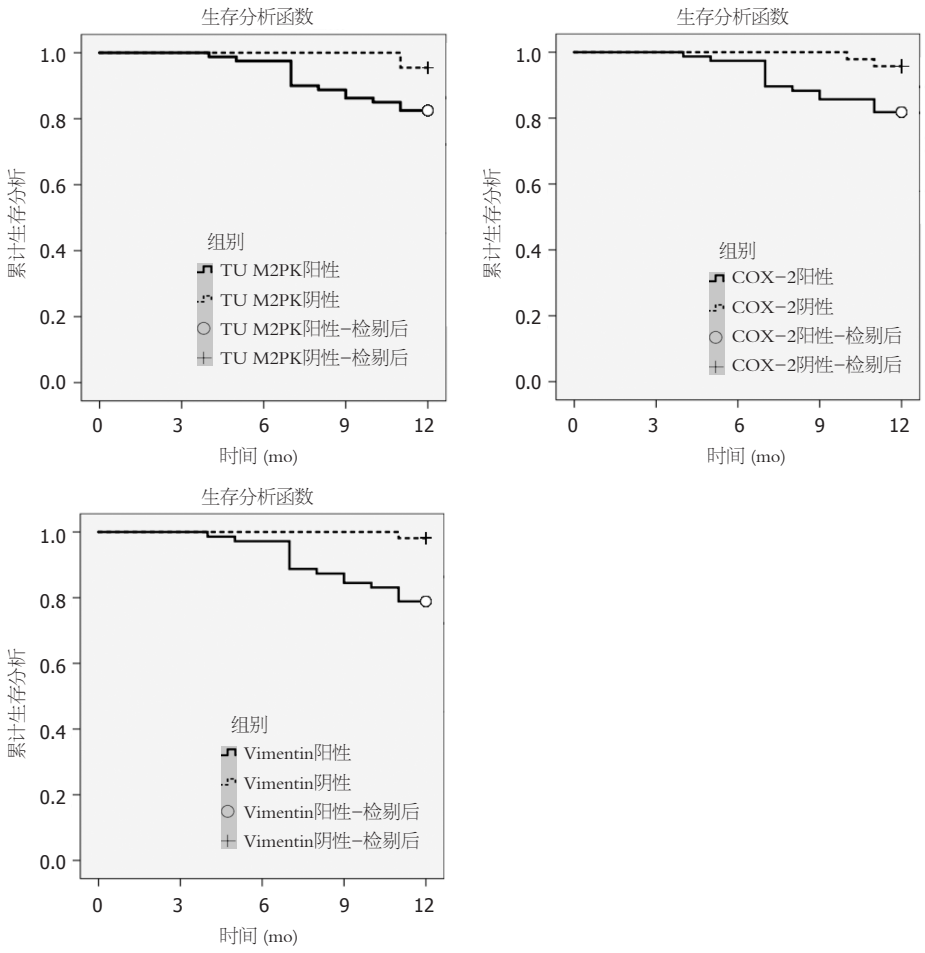


图 1　生存曲线. TU M2PK: 肿瘤M2型丙酮酸激酶; COX–2: 环氧化酶–2; Vimentin: 波形蛋白.

性表达患者1年生存率低于阴性患者(P<0.05), 证实TU M2PK、COX-2、Vimentin表达水平与患者生存情况关系密切. 但本研究不足之处在于随访时间较短, 在阐明大肠癌患者生存情况与TU M2PK、COX-2、Vimentin间关系层面可能缺乏客观性, 仍需后期继续探究.

4 结论

综上可知, 大肠癌患者粪便中TU M2PK、COX-2、

Vimentin异常表达, 胶体金法检测上述指标对筛查大肠癌及评估患者生存情况具有潜在应用价值.

文章亮点

实验背景

由于人们不良的饮食习惯和家族遗传等原因, 大肠癌的发病率呈逐年上升趋势. 而且大肠癌发病早期症状不明显, 极易发展恶化. 目前对于大肠癌的检测主要依靠结肠镜和病理学, 鉴于方法较繁琐且有创伤风险, 自愿接受检测的意愿不强烈.

实验动机

鉴于大肠癌检测手段的局限性和体内检测的微创风险, 体外检测不仅可以实现无创, 而且还能为检测双方带来方便, 提高高危人群的检测意识和积极性. 粪便是反映大肠状态最直接、最灵敏的产物. 作为体外检测主流方法之一的胶体金具有操作方便、检测效率高、检测成本低的特点.

实验目标

本研究的目标是用无创的胶体金体外检测方法探索大肠癌患者粪便中肿瘤M2型丙酮酸激酶(tumor M2-pyruvate kinase, TU M2PK)、环氧化酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)、波形蛋白(Vimentin)等相关因子含量的变化与其患病程度以及生存健康之间的关系, 以期能够为疾病的早发现、早治疗提供相关依据.

实验方法

本研究采用胶体金检测粪便中相关因子含量的方法, 通过观察和随访判断患者的身体状况和恢复情况, 最后用统计学回归分析打方法分析粪便中与大肠癌患者病情关系密切的相关因子情况.

实验结果

大肠癌患者TU M2PK、COX-2、Vimentin阳性表达率均高于阴性对照组, 且不同Dukes分期、分化程度、TU M2PK、COX-2、Vimentin表达患者1年生存情况相比, 差异有统计学意义($P<0.05$). TU M2PK、COX-2、Vimentin阳性表达患者1年生存率低于阴性患者.

实验结论

粪便中TU M2PK、COX-2、Vimentin的表达情况对大肠癌患者的生存期、Dukes分期、分化程度均有显著的影响, 为大肠癌的早期、快速诊断提供一定的借鉴意义.

展望前景

本研究虽然提供了快速检测大肠癌患者病情的方法, 但是也存在病例数不够多、随访时间较短等问题, 仍需后期继续收集病例数, 增加随访时间等深入探究, 在3个检测指标的基础上继续深入挖掘, 发现更多更灵敏的检测指标.

5 参考文献

1 Zorzi M, Cavestro GM, Guzzinati S, Dal Maso L, Rugge M; AIRTUM Working Group. Decline in the incidence of colorectal cancer and the associated mortality in young Italian adults. *Gut* 2020; 69: 1902-1903 [PMID: 31843788 DOI: 10.1136/gutjnl-2019-320406]

2 陈万青, 李霓, 兰平, 陈宏达, 杜灵彬, 孙凤, 黎国威, 何晓生, 王乐, 李子一, 朱陈, 卢明, 曹毛毛, 孙殿钦, 何思怡, 李贺, 杨卓煜. 中国结直肠癌筛查与早诊早治指南(2020, 北京). 中国肿瘤 2021; 30: 1-28 [DOI: 10.3760/cma.j.cn112152-20210105-00010]

3 Yuan Q, Yu H, Chen J, Song X, Sun L. Knockdown of pyruvate kinase type M2 suppresses tumor survival and invasion in osteosarcoma cells both in vitro and in vivo. *Exp Cell Res* 2018; 362: 209-216 [PMID: 29155364 DOI: 10.1016/j.yexcr.2017.11.020]

4 李国炜, 李海洋. 波形蛋白的生物学功能及相关病理的研究进展. 医学综述 2018; 24: 1273-1278 [DOI: 10.3969/j.issn.1006-2084.2018.07.005]

5 桂永燕. 环氧化酶-2基因在食管上皮癌变中的表达及其临床意义的研究进展.实用癌症杂志 2020; 35: 693-694 [DOI: 10.3969/j.issn.1001-5930.2020.04.047]

6 李明, 谭诗云. siRNA介导COX-2基因沉默对大肠癌LoVo细胞侵袭及上皮间质转化的影响. 胃肠病学和肝病学杂志 2018; 27: 1363-1366 [DOI: 10.3969/j.issn.1006-5709.2018.12.008]

7 蔡慧, 徐光寰, 王珏, 王烨菁, 高淑娜, 丁一波, 杜琰. 上海市原卢湾区2004-2011年消化系统常见肿瘤的发病和死亡趋势分析. 中国临床医学 2018; 25: 542-548 [DOI: 10.12025/j.issn.1008-6358.2018.20171118]

8 舒密. 间期大肠癌临床和分子学特征的研究进展. 医学研究生学报 2018; 31: 1005-1008 [DOI: 10.16571/j.cnki.1008-8199.2018.09.022]

9 张鑫东, 葛晓蕾, 刘省存, 郑维清, 沈彤. 血清CA199和CEA对结直肠癌转移和预后预测的价值. 中华疾病控制杂志 2018; 22: 57-61 [DOI: 10.16462/j.cnki.zhjbkz.2018.01.013]

10 Bandara IA, Baltatzis M, Sanyal S, Siriwardena AK. Evaluation of tumor M2-pyruvate kinase (Tumor M2-PK) as a biomarker for pancreatic cancer. *World J Surg Oncol* 2018; 16: 56 [PMID: 29540198 DOI: 10.1186/s12957-018-1360-3]

11 Liu SQ, Xu CY, Wu WH, Fu ZH, He SW, Qin MB, Huang JA. Sphingosine kinase 1 promotes the metastasis of colorectal cancer by inducing the epithelial-mesenchymal transition mediated by the FAK/AKT/MMPs axis. *Int J Oncol* 2019; 54: 41-52 [PMID: 30365116 DOI: 10.3892/ijo.2018.4607]

12 马家驰, 赵晓丹, 亓建波, 郭庆金, 龚珍强, 杜剑波, 陈晓昌. 前列腺素E2和环氧化酶2在结直肠癌组织中的表达及其临床意义. 中华普通外科杂志 2018; 33: 322-325 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-631X.2018.04.014]

13 孙鹏, 权继传, 关旭, 郁雷, 刘正, 姜争, 王贵玉, 王锡山. 环氧合酶-2与结直肠癌的关系及以其为靶点的治疗进展. 肿瘤学杂志 2019; 25: 1031-1036 [DOI: 10.11735/j.issn.1671-170X.2019.12.B002]

14 张翔, 杨觅, 胡静, 李丽, 史炯, 刘宝瑞, 钱晓萍. 结直肠癌中C-MET、COX-2、MSS、Ki-67的表达及其与预后的相关性分析. 解放军预防医学杂志 2018; 36: 598-601 [DOI: 10.3969/j.issn.1000-744X.2018.08.006]

15 Lin YM, Lu CC, Hsiang YP, Pi SC, Chen CI, Cheng KC, Pan

HL, Chien PH, Chen YJ. c-Met inhibition is required for the celecoxib-attenuated stemness property of human colorectal cancer cells. *J Cell Physiol* 2019; 234: 10336-10344 [PMID: 30480806 DOI: 10.1002/jcp.27701]
16 李婷, 李赟. 过表达NDRG1通过调控Wnt/β-catenin信号通路促进滋养层细胞上皮-间质转化. 现代妇产科进展 2019; 28: 666-671 [DOI: 10.13283/j.cnki.xdfckjz.2019.09.004]
17 Tomay F, Marinelli A, Leoni V, Caccia C, Matros A, Mock HP, Tonelli C, Petroni K. Purple corn extract induces long-lasting reprogramming and M2 phenotypic switch of adipose tissue macrophages in obese mice. *J Transl Med* 2019; 17: 237 [PMID: 31337415 DOI: 10.1186/s12967-019-1972-6]
18 张杭, 孙戈, 郑阔, 孟荣贵, 郝立强, 刘连杰, 楼征, 高显华, 张卫. 直肠癌新辅助放化疗后病理完全缓解患者预后的危险因素分析. 中华胃肠外科杂志 2020; 23: 305-311 [DOI: 10.3760/cma.j.cn.441530-20191227-00528]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 © 2021 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出版权转让给本刊编辑部.

2 稿件修改

来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删节时, 本刊编辑部将把原稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改, 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, 须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有. 编辑部可将文章在《中国学术期刊光盘版》等媒体上长期发布; 作者允许该文章被美国《化学文摘》、荷兰《医学文摘库/医学文摘》、俄罗斯《文摘杂志》等国外相关文摘与检索系统收录.

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: https://www.baishideng.com

世界华人消化杂志 2021年6月8日; 29(11): 609-614

DOI: 10.11569/wcjd.v29.i11.609

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

文献综述 REVIEW

SAP早期预防性使用抗生素治疗的研究进展

何 林, 孙 昀

何林, 孙昀, 安徽医科大学第二附属医院重症医学(一)科 安徽省合肥市 230601

何林, 研究生, 研究方向主要为重症急性胰腺炎的临床与基础研究.

基金项目: 安徽医科大学第二附属医院临床研究培育计划项目, No.2020LCZD08.

作者贡献分布: 本文综述由何林完成; 孙昀审校.

通讯作者: 孙昀, 副教授, 主任医师, 230601, 安徽省合肥市蜀山区芙蓉路678号, 安徽医科大学第二附属医院重症医学(一)科. sunyun15@163.com

收稿日期: 2021-03-03
修回日期: 2021-04-07
接受日期: 2021-05-11
在线出版日期: 2021-06-08

Advances in research of early use of prophylactic antibiotics in severe acute pancreatitis

Lin He, Yun Sun

Lin He, Yun Sun, Department of Critical Care Medicine, the Second Affiliated Hospital, Hefei 230601, Anhui Province, China

Supported by: Clinical Research Cultivation Program of The Second Affiliated Hospital of Anhui Medical University, No.2020LCZD08.

Corresponding author: Yun Sun, Associate Professor, Chief Physician, Department of Critical Care Medicine, the Second Affiliated Hospital, Anhui Medical University, No. 678 Furong Road, Hefei 230601, Anhui Province, China. sunyun15@163.com

Received: 2021-03-03
Revised: 2021-04-07
Accepted: 2021-05-11
Published online: 2021-06-08

Abstract

Severe acute pancreatitis (SAP) is a common critical digestive system disease with high mortality, which can lead to multiple organ failure. SAP is often accompanied by massive necrosis of the pancreas, which is prone to secondary infection. Infected pancreatic necrosis is associated with an increased mortality of SAP. Whether early prophylactic use of antibiotics in the treatment of SAP can reduce the incidence of secondary infection is still controversial. This paper reviews the research progress of prophylactic use of antibiotics in the treatment of secondary infection of SAP in recent years.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Severe acute pancreatitis; Antibiotics; Secondary infection; Prevention

Citation: He L, Sun Y. Advances in research of early use of prophylactic antibiotics in severe acute pancreatitis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2021; 29(11): 609-614
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i11/609.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i11.609

摘要

重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)是临床常见的消化系统危重症, 可导致多器官功能衰竭, 死亡率高. SAP常伴胰腺大面积坏死, 易继发感染. 胰腺坏死部位感染与SAP死亡率的增加相关. 早期预防性使用抗生素治疗SAP是否可降低SAP继发感染的发生率仍存在争论, 笔者综述了近年来预防性使用抗生素治疗SAP继发感染的相关研究进展.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 重症急性胰腺炎; 抗生素; 继发感染; 预防

核心提要: 重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)是一类严重危害人类健康的疾病. 近年来积极的液体复苏及脏器功能支持技术的运用使得SAP早期死亡率明显下降. 但后期如出现继发感染, 死亡率仍可高达20%-40%. 进一步认识SAP继发感染的发生机制及探讨有效的感染预防及治疗手段是当前的研究热点. 对于SAP早期预防性抗生素治疗是否可以降低继发感染的发生率及死亡率, 至今尚没有完全统一的意见. 相关研究的还存在者各种缺陷, 临床上需要多中心、大样本的前瞻性研究或基于大数据分析真实世界的研究等来进一步阐明.

文献来源: 何林, 孙昀. SAP早期预防性使用抗生素治疗的研究进展. 世界华人消化杂志 2021; 29(11): 609-614
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i11/609.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i11.609

0 引言

急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)是指多种病因引起的胰酶激活, 继以胰腺局部炎症反应为主要特征, 伴或不伴有其他器官功能改变的疾病, 是消化系统常见的危重疾病. 近年来, 由于胆石症、高脂血症及饮酒人群增加, AP发病率呈增高趋势[1]. 根据国际AP专题研讨会最新修订的AP分级和分类系统[2], AP按严重程度分为3级, 分别为轻症、中重症和重症. 其中, 重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)多伴持续性器官衰竭(>48 h)及合并单个或多个局部并发症, 其死亡率可高达20%-40%[3]. 从胰腺病理角度AP又分为间质水肿性胰腺炎和坏死性胰腺炎[2]. 前者表现为炎性水肿, 临床症状较轻, 常在一周内治愈, 很少继发感染; 坏死性胰腺炎则表现为胰腺和/或胰周组织坏死, 可演变为SAP, 发生胰腺、胰周组织感染的机率约30%[4]. 感染性坏死与SAP的死亡率密切相关[5], 因此如何预防SAP感染发生并从而改善疾病预后成为临床医生迫切希望解决的问题. 我们回顾了近些年的相关文献, 对SAP继发感染发生病因及机制、预防性使用抗生素的疗效、抗生素选择及SAP继发感染预测与早期识别等进行综述.

1 SAP继发感染的病因及发生机制

SAP继发感染可分为胰腺感染及非胰腺感染, 胰腺感染主要见于感染性胰腺坏死, 包括胰腺及胰周组织. 而非胰腺感染主要包括肺炎、菌血症、中心静脉导管感染、尿路感染和胆管炎等.

SAP继发感染发生的具体病因及机制尚不明确. 在疾病早期, 通常在疾病的第1-2周, 胰腺损伤及各种胰酶激活所致的炎症可引发细胞因子级联激活, 临床表现为全身炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome, SIRS), 严重的SIRS可能导致随后的代偿性抗炎反应综合征(compensatory anti-inflammatory response syndrome, CARS), 增加了感染的风险[2]. 后期以持续器官衰竭或伴局部并发症(急性胰周液体积聚, 胰腺假性囊肿, 急性坏死积聚和包裹性坏死)的出现为特征, 多见于中重症急性胰腺炎(moderately severe acute pancreatitis, MSAP)或SAP患者中. 此时, 胰腺和胰周坏死组织感染的风险增加[6].

当前研究普遍认为SAP患者胰腺/胰周感染与肠道菌群移位有关[7,8], 即肠道内细菌或其产物通过受损的肠道屏障进入其他器官或循环系统的过程[9]. 关于肠道细菌移位在SAP的作用途径有几种不同观点, 包括经血源性、经腹膜、经腹水、经淋巴源性移位以及经结肠壁移位并通过反流进入胰管等[10], 而肠道屏障功能受损是上述途径的共同通道. 目前对于肠道屏障功能受损的发生机制的认识集中在以下几点. 首先, 肠道生态屏障被破坏: 多种胃肠道多肽分泌, 损伤Cajal间充质细胞, 导致受损的肠运动神经元减少, 肠运动因此减弱, 进而导致肠道细菌过度生长. 此外, 肠道机械屏障受损: SAP患者由于大量体液丢失以及在第三间隙积聚, 有效循环血量不足, 在机体神经体液调节作用下, 肠血管收缩, 肠管血供急剧减少. 肠黏膜缺血缺氧可导致活性氧代谢产物的增加, 引发肠粘膜氧化应激反应, 继而导致肠上皮细胞凋亡、肠粘膜损伤、肠粘膜层变薄、紧密连接蛋白表达减少以及毛细血管通透性增加[11]. 最后, 肠道免疫屏障受损: 分泌型免疫球蛋白A减少, 肠道抵抗定植的能力降低[9]. 上述三种屏障中任何一种受损都可能导致细菌移位. 另外一种可能的机制为肠道菌群紊乱, 肠道细菌或内毒素进入肠系膜淋巴结, 并通过淋巴系统向远处播散[12].

发生胰腺外感染的SAP患者往往病情更重、病程更长, 大多接受机械通气、留置导尿管、动静脉穿刺置管、肾脏替代治疗、腹腔穿刺引流等有创或介入治疗, 以及坏死组织清除手术治疗. SAP患者早期SIRS可能造成随后的CARS, 使得机体出现免疫功能不全, 上述治疗操作无疑将增大机体发生医源性暴露感染的概率. 最近的一项研究[13]发现, 发生过菌血症及胰腺感染性坏死的病例通常菌血症先于感染性坏死出现, 胰腺外感染对胰腺/胰周感染有一定的预测作用. 另外, 相当数量发生胰腺感染的患者其病原菌和早期发生菌血症时所进行血培养的病原菌一致[6,14].

2 SAP早期预防性使用抗生素治疗的争议

关于早期预防性使用抗生素治疗SAP仍存在争议[15]. 近年来的较多研究[14,16-20]认为预防性使用抗生素治疗SAP不能降低患者继发胰腺或胰周感染的发生率及死亡. 然

而部分研究存在着局限性, 如给予抗生素的种类、剂量及开始给药时间不同、试验组与对照组患者的病情严重程度存在差异、样本较少或未使用双盲的方法等[16,17]. 一项来自在北美和欧洲多中心前瞻性随机对照试验(randomized controlled trial RCT)研究[14]通过将入院120小时内确诊为坏死性胰腺炎且增强CT证实胰腺30%以上坏死的患者纳入试验, 并排除已确诊胰腺或胰周感染及已接受试验药物的患者, 在双盲的情况下随机分为试验组及对照组, 在出现症状5 d内分别给予相同剂量美罗培南或安慰剂治疗, 持续7-21 d, 并观察症状出现42 d内的临床结果. 其结果表明与安慰剂相比, 预防性使用美罗培南并不能降低胰腺或胰周感染发生率及推迟胰腺或胰周感染的发生时间, 与患者死亡率也没有明显的相关性, 而胰腺外感染的发生率有所降低(美罗培南组和安慰剂组分别有32%和48%患者出现胰腺外感染). 近期一项基于日本全国数据库患者的回顾性队列研究[18]通过比较入院后两天内预防性使用碳青霉烯类药物(预防组)和未使用预防性药物(对照组)SAP患者在临床结果上的差异发现: 与对照组相比, 预防性使用抗生素在降低死亡率、感染的发生率及手术治疗的需要方面无明显, 并且住院第三天后口服万古霉素比例更高; 预防性使用抗生素可能增加医院获得性感染的风险. 该研究为一项观察性研究, 样本未随机化, 预防性组患者年龄较大, 病情较预防组更重, 使用机械通气、升压药及持续血液透析等治疗措施比例更高. 这可能造成结果的差异.

同时, 当前也不乏一些研究[16,21-27]认为早期预防性使用抗生素能给SAP患者带来益处, 尤其是对于伴有胰腺坏死面积大于30%或伴多器官功能衰竭的亚群[16,21]. 最近一项对随机对照试验的荟萃分析[22]表明使用抗生素可显著降低非胰腺感染的发生率, 包括肺炎、尿路感染、血培养阳性、真菌感染等. 该研究纳入了11项随机对照试验中747名患者, 其中包括4项多中心随机对照试验及7项单中心随机对照试验. 亚胺培南的预防使用疗效也被部分研究肯定[23,24], 近些年几项对随机对照试验的荟萃分析表明, 预防性使用抗生素减少胰腺、胰周感染的发生率及死亡率[25-27]. 然而, 当前仍缺乏高质量的RCT研究证明预防性使用抗生素能降低SAP感染的发生率及死亡率, 对于SAP患者预防性使用抗生素的益处缺乏说服力.

基于上述研究等形成的各国及各学术组织形成的相关指南在预防性使用抗生素控制SAP继发感染的问题上也并非形成统一一致的推荐意见. 2019年世界急诊外科协会(World Society Emergency Surgery WSES)重症急性胰腺炎管理指南[28]认为SAP患者预防性使用抗生素不能降低病死率或改善病情, 因此不推荐所有SAP患者常规预防性使用抗生素. 美国胃肠病学会在急性胰腺炎早期处理指南[29]中也不建议预防性使用抗生素治疗预测可能为重症或坏死性胰腺炎, 然而其推荐的证据质量不高, 表明仍缺乏有效的证据证明预防性使用抗生素对于SAP患者没有益处. 然而国内外指南中也明确了一些可以使用抗生素的一些指征. 日本近年的急性胰腺炎诊疗指南[30]则指出: 对重症以及坏死性胰腺炎患者, 在早期(发病72 h之内)预防性使用抗生素可能有助于提高患者预后. 我国2019年急性胰腺炎诊疗指南[31]同样认为对于MSAP及SAP患者, 不建议常规使用预防性抗菌药物, 但对于特定SAP亚群如伴有广泛胰腺坏死(坏死面积＞30%-50%) 及持续器官功能衰竭的患者, 预防性抗菌药物的应用可能有益, 仍需进一步研究来验证.

SAP患者真菌感染发生率近年来呈上升趋势, 而真菌感染与疾病的严重程度及预后相关[32]. 有研究表明, 早期诊断和正确治疗AP患者的真菌感染可以改善预后[33]. 然而目前多数AP诊疗指南并不推荐常规预防性抗真菌治疗[28,30,31], 只有在临床上无法用细菌感染来解释发热等表现时, 高度怀疑真菌感染时, 可经验性应用抗真菌药, 同时进行血液或体液真菌培养. 但2016年美国感染病学会(Industrial Designer Society of America, IDSA)侵袭性念珠菌病指南则建议, 对于有念珠菌感染高危因素的腹腔感染, 其中包括坏死性胰腺炎患者, 可预防性抗真菌治疗[34].

综上, 近年来多数研究及据此基础之上形成的指南及共识不支持预防性使用抗生素, 同时也存在一些研究认为SAP患者在预防性使用抗生素治疗中能获得收益, 对于伴有广泛胰腺坏死的SAP的亚组, 指南的意见存在分歧. 当前SAP早期预防性使用抗生素治疗的研究大多还存在有局限性, 针对SAP预防性使用抗生素的争议, 还有待更多细致、严格的、高质量临床研究来解决.

3 SAP继发感染病原学特点及抗生素的选择

胰腺感染在SAP继发感染最为多见[35], 其最常见的致病菌是肠道细菌, 革兰氏阴性细菌如大肠杆菌更为多见, 其次为厌氧菌及真菌, 革兰氏阳性细菌见于粪肠球菌[36]. 胰腺外感染则主要见于肺部感染, 在ICU发生率为23%. 先前的研究[37]报道腹部外感染最常见的病原菌是铜绿假单胞菌, 而近几年的研究则报道肺炎克雷伯菌变得比铜绿假单胞菌更为常见[30].

如上, SAP患者继发感染致病菌主要为革兰阴性菌和厌氧菌, 而胰腺感染通常继发于组织坏死, 在缺乏血液供应的情况下抗生素很难在局部形成有效的浓度. 使用抗菌药物需遵循“降阶梯”策略, 选择抗菌谱为针对革兰阴性菌和厌氧菌为主、脂溶性强、可有效通过血胰屏障的药物[31]. 多项研究表明, 碳青霉烯类及喹诺酮

类抗生素在感染性胰腺坏死中具有较好的组织渗透性和杀菌性能[36,38]. 对于真菌感染, 如果之前没有接触过唑类药物或没有抗唑类念珠菌属定植, 建议使用药物为棘白菌素或氟康唑[34].

4 SAP继发感染的预测及早期识别

由于当前预防性使用抗生素的观点未获得临床的一致认可, 那么如何尽早识别感染从而避免抗感染治疗的延误也是当前临床关注的热点问题.

美国胃肠病学会2013年AP诊疗指南中建议: 对于住院7-10 d后病情持续加重或无改善的SAP患者, 应考虑感染性坏死[39]. 这类患者建议行增强CT检查, 如果增强CT上发现胰腺或胰周有游离气体形成, 则证实发生感染性坏死, 应给与抗生素治疗. 然而, 只有大约一半伴有感染性坏死的患者有游离气体产生[2,40,41]. 当增强CT对感染性坏死的诊断无法定论时, 可在CT引导下行细针穿刺(fine needle aspiration, FNA)并行革兰氏染色及培养, 以指导抗生素合理使用, 其灵敏度高达79%左右. 尽管如此, 假阴性发生率为12-25%[40,42]. 在第一次FNA结果阴性后, 仍然、或再次高度怀疑感染, 可再行FNA. 如果在多次增强CT和FNA检查未证实感染性坏死, 但感染的临床症状仍持续存在, “疑似”感染性坏死应视为“证实”感染性坏死, 可经验性抗感染治疗.

目前, C反应蛋白(C-reactive protein, CRP)、降钙素原(proacalcitonin, PCT)等实验室指标被提出用于预测急性胰腺炎继发感染. 近期的一项回顾性研究报道: 入院后48小时内红细胞比容(hematocrit, HCT)、血尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)、PCT和CRP的最高水平是IPN的独立因素, 在入院后48 h内, 用这4个参数联合诊断可准确预测坏死性胰腺炎继发IPN的发生. 而Rodriguez等[42]则在研究中声明CRP和白细胞计数(white blood cell, WBC)值与AP的早期感染无关, 因此CRP和WBC不应作为抗生素使用决策的生物标志物. PCT作为用于早期预测和识别感染性胰腺坏死的生物标志物被研究者更多的研究者认可[43,44]. 当前正在进行的RCT研究[36]也旨在证明, 基于PCT的算法来指导AP抗生素治疗的启动、持续和中止将导致抗生素的使用减少, 而不会对结果产生不利影响.

5 展望

由于对SAP早期病理生理机制的认识不断深入, 以及液体复苏、器官功能支持保护及营养支持治疗等技术的广泛应用, SAP急性炎症反应期死亡率已明显下降. 但如何进一步降低感染期并发症发生率及死亡率仍是今后相当长时期内临床和基础研究关注的重点. 从前文的综述可以看出, 尽管大多数研究不支持预防性使用抗生素, 仍有部分研究认为预防性使用抗生素对治疗有益, 国内外的指南或共识也有明确提出可以使用抗生素的指征如重症及坏死性胰腺炎, 尤其是伴有广泛胰腺坏死的亚群. 相关研究还存在各种缺陷, 临床上需要多中心、大样本的前瞻性研究或基于大数据分析真实世界的研究等来进一步阐明.

当前的研究多把SAP当作一个群体进行研究, 不同病因如酒精性胰腺炎、高脂血症性、创伤性胰腺炎及胆源性胰腺炎, 其诱发胰腺炎的机制不同, 疾病的病理过程、严重程度及发生感染的可能存在差异, 对某一病因引起的SAP给与预防性抗生素治疗并分析对于疾病预后的影响也是临床今后研究方向. 另外, 当前预防性使用抗生素相关研究多是在发病之初给药, 因此得出了较多阴性结论, 而在出现感染证据之时给药往往又导致感染难以控制. 如何在两者之间寻找到一个合适的节点应用抗生素能在有效控制或避免感染的同时减少因抗生素的过度使用而导致细菌耐药及真菌感染的发生也是临床需进一步探讨的话题. 最后, 当前研究的终点更多的是继发感染的发生率及死亡率等指标. 临床还可纳入更多更细致的研究终点指标, 或可观察到预防性使用抗生素所带来的不一样的结论.

6 参考文献

1 Lee PJ, Papachristou GI. New insights into acute pancreatitis. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2019; 16: 479-496 [PMID: 31138897 DOI: 10.1038/s41575-019-0158-2]

2 Banks PA, Bollen TL, Dervenis C, Gooszen HG, Johnson CD, Sarr MG, Tsiotos GG, Vege SS; Acute Pancreatitis Classification Working Group. Classification of acute pancreatitis--2012: revision of the Atlanta classification and definitions by international consensus. *Gut* 2013; 62: 102-111 [PMID: 23100216 DOI: 10.1136/gutjnl-2012-302779]

3 Boxhoorn L, Voermans RP, Bouwense SA, Bruno MJ, Verdonk RC, Boermeester MA, van Santvoort HC, Besselink MG. Acute pancreatitis. *Lancet* 2020; 396: 726-734 [PMID: 32891214 DOI: 10.1016/S0140-6736(20)31310-6]

4 Soulountsi V, Schizodimos T. Use of antibiotics in acute pancreatitis: ten major concerns. *Scand J Gastroenterol* 2020; 55: 1211-1218 [PMID: 32805137 DOI: 10.1080/00365521.2020.1804995]

5 Werge M, Novovic S, Schmidt PN, Gluud LL. Infection increases mortality in necrotizing pancreatitis: A systematic review and meta-analysis. *Pancreatology* 2016; 16: 698-707 [PMID: 27449605 DOI: 10.1016/j.pan.2016.07.0042009;7:1247-1251]

6 Besselink MG, van Santvoort HC, Boermeester MA, Nieuwenhuijs VB, van Goor H, Dejong CH, Schaapherder AF, Gooszen HG; Dutch Acute Pancreatitis Study Group. Timing and impact of infections in acute pancreatitis. *Br J Surg* 2009; 96: 267-273 [PMID: 19125434 DOI: 10.1002/bjs.6447]

7 Liu H, Li W, Wang X, Li J, Yu W. Early gut mucosal dysfunction in patients with acute pancreatitis. *Pancreas* 2008; 36: 192-196 [PMID: 18376312 DOI: 10.1097/MPA.0b013e31815a399f]

8 Fishman JE, Levy G, Alli V, Zheng X, Mole DJ, Deitch EA. The intestinal mucus layer is a critical component of the gut barrier that is damaged during acute pancreatitis. *Shock* 2014; 42: 264-

270 [PMID: 24978882 DOI: 10.1097/shk.0000000000000209]
9 Liu J, Huang L, Luo M, Xia X. Bacterial translocation in acute pancreatitis. *Crit Rev Microbiol* 2019; 45: 539-547 [PMID: 31851854 DOI: 10.1080/1040841X.2019.1621795]
10 Widdison AL, Karanjia ND, Reber HA. Routes of spread of pathogens into the pancreas in a feline model of acute pancreatitis. *Gut* 1994; 35: 1306-1310 [PMID: 7959243 DOI: 10.1136/gut.35.9.1306]
11 Ozacmak VH, Sayan H, Arslan SO, Altaner S, Aktas RG. Protective effect of melatonin on contractile activity and oxidative injury induced by ischemia and reperfusion of rat ileum. *Life Sci* 2005; 76: 1575-1588 [PMID: 15680167 DOI: 10.1016/j.lfs.2004.08.031]
12 Li XY, He C, Zhu Y, Lu NH. Role of gut microbiota on intestinal barrier function in acute pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2020; 26: 2187-2193 [PMID: 32476785 DOI: 10.3748/wjg.v26.i18.2187]
13 Pando E, Alberti P, Hidalgo J, Vidal L, Dopazo C, Caralt M, Blanco L, Gómez-Gavara C, Bilbao I, Balsells J, Charco R. The role of extra-pancreatic infections in the prediction of severity and local complications in acute pancreatitis. *Pancreatology* 2018; 18: 486-493 [PMID: 29802078 DOI: 10.1016/j.pan.2018.05.481]
14 Dellinger EP, Tellado JM, Soto NE, Ashley SW, Barie PS, Dugernier T, Imrie CW, Johnson CD, Knaebel HP, Laterre PF, Maravi-Poma E, Kissler JJ, Sanchez-Garcia M, Utzolino S. Early antibiotic treatment for severe acute necrotizing pancreatitis: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Ann Surg* 2007; 245: 674-683 [PMID: 17457158 DOI: 10.1097/01.sla.0000250414.09255.84]
15 Mourad MM, Evans R, Kalidindi V, Navaratnam R, Dvorkin L, Bramhall SR. Prophylactic antibiotics in acute pancreatitis: endless debate. *Ann R Coll Surg Engl* 2017; 99: 107-112 [PMID: 27917667 DOI: 10.1308/rcsann.2016.0355.]
16 Isenmann R, Rünzi M, Kron M, Kahl S, Kraus D, Jung N, Maier L, Malfertheiner P, Goebell H, Beger HG; German Antibiotics in Severe Acute Pancreatitis Study Group. Prophylactic antibiotic treatment in patients with predicted severe acute pancreatitis: a placebo-controlled, double-blind trial. *Gastroenterology* 2004; 126: 997-1004 [PMID: 15057739 DOI: 10.1053/j.gastro.2003.12.050]
17 Xue P, Deng LH, Zhang ZD, Yang XN, Wan MH, Song B, Xia Q. Effect of antibiotic prophylaxis on acute necrotizing pancreatitis: results of a randomized controlled trial. *J Gastroenterol Hepatol* 2009; 24: 736-742 [PMID: 19220676 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2008.05758.x]
18 Nakaharai K, Morita K, Jo T, Matsui H, Fushimi K, Yasunaga H. Early prophylactic antibiotics for severe acute pancreatitis: A population-based cohort study using a nationwide database in Japan. *J Infect Chemother* 2018; 24: 753-758 [PMID: 29909051 DOI: 10.1016/j.jiac.2018.05.009]
19 Chatila AT, Bilal M, Guturu P. Evaluation and management of acute pancreatitis. *World J Clin Cases* 2019; 7: 1006-1020 [PMID: 31123673 DOI: 10.12998/wjcc.v7.i9.1006]
20 Faghih M, Fan C, Singh VK. New Advances in the Treatment of Acute Pancreatitis. *Curr Treat Options Gastroenterol* 2019; 17: 146-160 [PMID: 30701454 DOI: 10.1007/s11938-019-00223-8]
21 Jiang K, Huang W, Yang XN, Xia Q. Present and future of prophylactic antibiotics for severe acute pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 279-284 [PMID: 22294832 DOI: 10.3748/wjg.v18.i3.279]
22 Ding N, Sun YH, Wen LM, Wang JH, Yang JH, Cheng K, Lin H, Chen QL. Assessment of prophylactic antibiotics administration for acute pancreatitis: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Chin Med J (Engl)* 2020; 133: 212-220 [PMID: 31929369 DOI: 10.1097/CM9.0000000000000603]
23 Røkke O, Harbitz TB, Liljedal J, Pettersen T, Fetvedt T, Heen LØ, Skreden K, Viste A. Early treatment of severe pancreatitis with imipenem: a prospective randomized clinical trial. *Scand J Gastroenterol* 2007; 42: 771-776 [PMID: 17506001 DOI: 10.1080/00365520601173855]
24 Nordback I, Sand J, Saaristo R, Paajanen H. Early treatment with antibiotics reduces the need for surgery in acute necrotizing pancreatitis--a single-center randomized study. *J Gastrointest Surg* 2001; 5: 113-8; discussion 118-20 [PMID: 11331472 DOI: 10.1016/s1091-255x(01)80021-4]
25 Yao L, Huang X, Li Y, Shi R, Zhang G. Prophylactic antibiotics reduce pancreatic necrosis in acute necrotizing pancreatitis: a meta-analysis of randomized trials. *Dig Surg* 2010; 27: 442-449 [PMID: 21071945 DOI: 10.1159/000318780]
26 Ukai T, Shikata S, Inoue M, Noguchi Y, Igarashi H, Isaji S, Mayumi T, Yoshida M, Takemura YC. Early prophylactic antibiotics administration for acute necrotizing pancreatitis: a meta-analysis of randomized controlled trials. *J Hepatobiliary Pancreat Sci* 2015; 22: 316-321 [PMID: 25678060 DOI: 10.1002/jhbp.221]
27 Lim CL, Lee W, Liew YX, Tang SS, Chlebicki MP, Kwa AL. Role of antibiotic prophylaxis in necrotizing pancreatitis: a meta-analysis. *J Gastrointest Surg* 2015; 19: 480-491 [PMID: 25608671 DOI: 10.1007/s11605-014-2662-6]
28 Leppäniemi A, Tolonen M, Tarasconi A, Segovia-Lohse H, Gamberini E, Kirkpatrick AW, Ball CG, Parry N, Sartelli M, Wolbrink D, van Goor H, Baiocchi G, Ansaloni L, Biffl W, Coccolini F, Di Saverio S, Kluger Y, Moore E, Catena F. 2019 WSES guidelines for the management of severe acute pancreatitis. *World J Emerg Surg* 2019; 14: 27 [PMID: 31210778 DOI: 10.1186/s13017-019-0247-0]
29 Crockett SD, Wani S, Gardner TB, Falck-Ytter Y, Barkun AN; American Gastroenterological Association Institute Clinical Guidelines Committee. American Gastroenterological Association Institute Guideline on Initial Management of Acute Pancreatitis. *Gastroenterology* 2018; 154: 1096-1101 [PMID: 29409760 DOI: 10.1053/j.gastro.2018.01.032]
30 Yokoe M, Takada T, Mayumi T, Yoshida M, Isaji S, Wada K, Itoi T, Sata N, Gabata T, Igarashi H, Kataoka K, Hirota M, Kadoya M, Kitamura N, Kimura Y, Kiriyama S, Shirai K, Hattori T, Takeda K, Takeyama Y, Hirota M, Sekimoto M, Shikata S, Arata S, Hirata K. Japanese guidelines for the management of acute pancreatitis: Japanese Guidelines 2015. *J Hepatobiliary Pancreat Sci* 2015; 22: 405-432 [PMID: 25973947 DOI: 10.1002/jhbp.259]
31 中华医学会消化病学分会胰腺疾病学组, 中华胰腺病杂志编辑委员会, 中华消化杂志编辑委员会等. 中国急性胰腺炎诊治指南(2019年, 沈阳). 中华消化杂志 2019; 11: 721-730
32 Moka P, Goswami P, Kapil A, Xess I, Sreenivas V, Saraya A. Impact of Antibiotic-Resistant Bacterial and Fungal Infections in Outcome of Acute Pancreatitis. *Pancreas* 2018; 47: 489-494 [PMID: 29517630 DOI: 10.1097/MPA.0000000000001019]
33 Kochhar R, Ahammed SK, Chakrabarti A, Ray P, Sinha SK, Dutta U, Wig JD, Singh K. Prevalence and outcome of fungal infection in patients with severe acute pancreatitis. *J Gastroenterol Hepatol* 2009; 24: 743-747 [PMID: 19220667 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2008.05712.x]
34 Pappas PG, Kauffman CA, Andes DR, Clancy CJ, Marr KA, Ostrosky-Zeichner L, Reboli AC, Schuster MG, Vazquez JA, Walsh TJ, Zaoutis TE, Sobel JD. Clinical Practice Guideline for the Management of Candidiasis: 2016 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 2016; 62: e1-50 [PMID: 26679628 DOI: 10.1093/cid/civ933]
35 De Waele JJ, Rello J, Anzueto A, Moreno R, Lipman J, Sakr Y, Pickkers P, Leone M, Ferguson A, Oud L, Vincent JL; EPIC II Investigators. Infections and use of antibiotics in patients admitted for severe acute pancreatitis: data from the EPIC II study. *Surg Infect (Larchmt)* 2014; 15: 394-398 [PMID: 24819027 DOI: 10.1089/sur.2012.228]
36 Mowbray NG, Ben-Ismaeil B, Hammoda M, Shingler G, Al-Sarireh B. The microbiology of infected pancreatic necrosis.

Hepatobiliary Pancreat Dis Int 2018; 17: 456-460 [PMID: 30197163 DOI: 10.1016/j.hbpd.2018.08.007]
37 Xue P, Deng LH, Zhang ZD, Yang XN, Wan MH, Song B, Xia Q. Infectious complications in patients with severe acute pancreatitis. *Dig Dis Sci* 2009; 54: 2748-2753 [PMID: 19104931 DOI: 10.1007/s10620-008-0668-1]
38 Schubert S, Dalhoff A. Activity of moxifloxacin, imipenem, and ertapenem against Escherichia coli, Enterobacter cloacae, Enterococcus faecalis, and Bacteroides fragilis in monocultures and mixed cultures in an in vitro pharmacokinetic/pharmacodynamic model simulating concentrations in the human pancreas. *Antimicrob Agents Chemother* 2012; 56: 6434-6436 [PMID: 23070164 DOI: 10.1128/AAC.00872-12]
39 Tenner S, Baillie J, DeWitt J, Vege SS; American College of Gastroenterology. American College of Gastroenterology guideline: management of acute pancreatitis. *Am J Gastroenterol* 2013; 108: 1400-15; 1416 [PMID: 23896955 DOI: 10.1038/ajg.2013.218]
40 van Baal MC, Bollen TL, Bakker OJ, van Goor H, Boermeester MA, Dejong CH, Gooszen HG, van der Harst E, van Eijck CH, van Santvoort HC, Besselink MG; Dutch Pancreatitis Study Group. The role of routine fine-needle aspiration in the diagnosis of infected necrotizing pancreatitis. *Surgery* 2014; 155: 442-448 [PMID: 24287142 DOI: 10.1016/j.surg.2013.10.001]
41 van Grinsven J, van Brunschot S, van Baal MC, Besselink MG, Fockens P, van Goor H, van Santvoort HC, Bollen TL; Dutch Pancreatitis Study Group. Natural History of Gas Configurations and Encapsulation in Necrotic Collections During Necrotizing Pancreatitis. *J Gastrointest Surg* 2018; 22: 1557-1564 [PMID: 29752684 DOI: 10.1007/s11605-018-3792-z]
42 Rodriguez JR, Razo AO, Targarona J, Thayer SP, Rattner DW, Warshaw AL, Fernández-del Castillo C. Debridement and closed packing for sterile or infected necrotizing pancreatitis: insights into indications and outcomes in 167 patients. *Ann Surg* 2008; 247: 294-299 [PMID: 18216536 DOI: 10.1097/SLA.0b013e31815b6976]
43 Párniczky A, Lantos T, Tóth EM, Szakács Z, Gódi S, Hágendorn R, Illés D, Koncz B, Márta K, Mikó A, Mosztbacher D, Németh BC, Pécsi D, Szabó A, Szücs Á, Varjú P, Szentesi A, Darvasi E, Erőss B, Izbéki F, Gajdán L, Halász A, Vincze Á, Szabó I, Pár G, Bajor J, Sarlós P, Czimmer J, Hamvas J, Takács T, Szepes Z, Czakó L, Varga M, Novák J, Bod B, Szepes A, Sümegi J, Papp M, Góg C, Török I, Huang W, Xia Q, Xue P, Li W, Chen W, Shirinskaya NV, Poluektov VL, Shirinskaya AV, Hegyi PJ, Bátovský M, Rodriguez-Oballe JA, Salas IM, Lopez-Diaz J, Dominguez-Munoz JE, Molero X, Pando E, Ruiz-Rebollo ML, Burgueño-Gómez B, Chang YT, Chang MC, Sud A, Moore D, Sutton R, Gougol A, Papachristou GI, Susak YM, Tiuliukin IO, Gomes AP, Oliveira MJ, Aparício DJ, Tantau M, Kurti F, Kovacheva-Slavova M, Stecher SS, Mayerle J, Poropat G, Das K, Marino MV, Capurso G, Małecka-Panas E, Zatorski H, Gasiorowska A, Fabisiak N, Ceranowicz P, Kuśnierz-Cabala B, Carvalho JR, Fernandes SR, Chang JH, Choi EK, Han J, Bertilsson S, Jumaa H, Sandblom G, Kacar S, Baltatzis M, Varabei AV, Yeshy V, Chooklin S, Kozachenko A, Veligotsky N, Hegyi P; Hungarian Pancreatic Study Group. Antibiotic therapy in acute pancreatitis: From global overuse to evidence based recommendations. *Pancreatology* 2019; 19: 488-499 [PMID: 31068256 DOI: 10.1016/j.pan.2019.04.003]
44 Mofidi R, Suttie SA, Patil PV, Ogston S, Parks RW. The value of procalcitonin at predicting the severity of acute pancreatitis and development of infected pancreatic necrosis: systematic review. *Surgery* 2009; 146: 72-81 [PMID: 19541012 DOI: 10.1016/j.surg.2009.02.013]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 © 2021 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

• 消息 •

《世界华人消化杂志》参考文献要求

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

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: https://www.baishideng.com

世界华人消化杂志 2021年6月8日; 29(11): 615-620

DOI: 10.11569/wcjd.v29.i11.615

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

文献综述 REVIEW

基于肠道微生态探源《黄帝内经》泄泻五脏论

李玉丽, 谭周进

李玉丽, 谭周进, 湖南中医药大学 湖南省长沙市 410208

李玉丽, 博士研究生, 主要从事方剂配伍的微生态学机理探究.

基金项目: 国家自然科学基金面上项目, No. 81874460.

作者贡献分布: 本文综述由李玉丽完成; 谭周进审校.

通讯作者: 谭周进, 教授, 410208, 湖南省长沙市岳麓区学士路300号, 湖南中医药大学. tanzhjin@sohu.com

收稿日期: 2021-04-01
修回日期: 2021-04-10
接受日期: 2021-04-22
在线出版日期: 2021-06-08

Discussion on the theory of treating diarrhea from five viscera in Huangdi Neijing based on intestinal microecology

Yu-Li Li, Zhou-Jin Tan

Yu-Li Li, Zhou-Jin Tan, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, Hunan Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81874460.

Corresponding author: Zhou-Jin Tan, Professor, Hunan University of Chinese Medicine, No. 300 Xueshi Road, Hanpu Science and Education Park, Changsha 410208, Hunan Province, China. tanzhjin@sohu.com

Received: 2021-04-01
Revised: 2021-04-10
Accepted: 2021-04-22
Published online: 2021-06-08

Abstract

Diarrhea is a common digestive tract disease that seriously affects the quality of life of patients. With the development of microecology, the relationship between diarrhea and intestinal microecological disorder has been widely recognized. The elaboration of diarrhea in Huangdi Neijing involves etiology, pathogenesis, clinical manifestation, and treatment, and especially, it pioneered the theory of treating diarrhea from five viscera. Intestinal flora is a "forgotten organ", and dysbacteriosis is an important mechanism of diarrhea. The theory of treating diarrhea from five viscera in Huangdi Neijing embodies the whole concept of TCM theory, which is highly consistent with the connotation of intestinal microecological imbalance. tThis paper systematically collected the literature on intestinal flora related to the five viscera in recent five years. The general introduction of diarrhea treatment from Huangdi Neijing and the microecological mechanism of treating diarrhea from spleen, kidney, liver, heart, and lung were analyzed and expounded. We conclude that the dynamic balance of intestinal flora is the main characteristic of the coordination of functions of the five viscera, and the dysfunction of the five viscera can lead to the disorder of intestinal flora. The research results of intestinal flora will become a key scientific fulcrum to explore the connotation of the theory of treating diarrhea from five viscera in Huangdi Neijing in the future.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Diarrhea; Intestinal flora; Huangdi Neijing; Five viscera; Traditional Chinese medicine

Citation: Li YL, Tan ZJ. Discussion on the theory of treating diarrhea from five viscera in Huangdi Neijing based on intestinal microecology. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2021; 29(11): 615-620
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i11/615.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i11.615

摘要

泄泻是一种常见的消化道疾病, 严重影响了患者的生活质量. 随着微生态学发展, 泄泻与肠道微生态失调的联系已得到广泛认可. 中医经典《黄帝内经》中的泄泻相关论述涉及病因病机、临床表现与治疗诸方面, 尤其是开创了从五脏论治泄泻之先河. 肠道菌群是一个“被遗忘的器官”, 菌群失调是泄泻发病的重要机制. 《黄帝内经》泄泻五脏论体现了中医理论的整体观念, 与肠道微生态失调内涵高度一致. 结合共同的认知基础, 本文系统整理了近5年文献库中与五脏相关肠道菌群研究的文献, 从《黄帝内经》论治泄泻总概论、以及泄泻从脾、肾、肝、心、肺五脏论治的微生态机制进行分析阐述. 研究发现肠道菌群的动态平衡是五脏功能协调的主要特征表现, 五脏功能失调又皆能引起肠道菌群紊乱. 肠道菌群研究成果将成为未来探究《黄帝内经》泄泻五脏论理论内涵的一个关键的科学支点.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 泄泻; 肠道菌群; 《黄帝内经》; 五脏; 中医

核心提要: 近年来研究已证实了中医与肠道微生态的密切联系. 《黄帝内经》从五脏论治泄泻的理论切合临床实际, 为中医辨证论治泄泻奠定了坚实的基础. 因此, 聚焦肠道菌群阐明《黄帝内经》泄泻五脏论的科学机制具有重要的意义.

文献来源: 李玉丽, 谭周进. 基于肠道微生态探源《黄帝内经》泄泻五脏论. 世界华人消化杂志 2021; 29(11): 615-620

URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i11/615.htm

DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i11.615

0 引言

《黄帝内经》(以下简称《内经》)是中华民族第一部中医理论经典, 包括《黄帝内经素问》(以下简称《素问》)和《灵枢经》(以下简称《灵枢》)各八十一篇. 《内经》对泄泻虽无专篇讨论, 但有关内容却散见于29篇中, 其中已涉及了泄泻的名称、分类、病因、病机、病位、临床表现等各个方面, 后世对泄泻的认识也多以书中基本观点为指导思想, 其中关于泄泻五脏论的阐述对现代临床仍有重要的指导意义. 然而泄泻五脏论的内涵仍难以为现代医学所理解, 从而极大地阻碍了该中医理论现代化发展. 人体五脏六腑与肠道微生态在生理病理上相互作用和影响的认识与中医脏腑学说基本一致[1]. 甚至有学者提出“藏象”是古人对“人菌共生”现象的隐喻表述, 可朴素地理解为(粪便中的)肠道菌群以“(肮)脏”的方式“藏(音cang)”在人体(肠道)这个“(形)象”中, 形成了传统中医的藏象学说和脏腑理论[2]. 结合中医学与微生态学理论存在共同的认知基础, 本研究以中医脏腑理论为源, 以肠道微生态研究为证, 创新性地提出从肠道菌群的视角探源《内经》泄泻五脏论的思想内涵.

1 《内经》论治泄泻总概论

《内经》从多方面对泄泻的病因病机进行了描述. 有从外邪而论, 分湿、寒、热、风, 如《素问·阴阳应象大论篇》[3]: “湿胜则濡泻”, 湿为阴邪, 易伤脾阳, 运化失职, 而致泄泻. 《灵枢·邪气藏府病形》[4]: “冬日重感于寒即泄, 当脐而痛”, 寒为阴邪, 寒盛直中胃肠则致泄泻. 《灵枢·百病始生》[4]: “多热则溏出糜”, 热为阳邪, 其性急速, 湿热蕴结, 下注大肠而成泄泻. 《素问·阴阳应象大论篇》[3]: “春伤于风, 夏生飧泄”, 风气通于肝, 感于风则肝气盛, 肝旺乘脾, 脾失健运, 则水谷部分而成泄泻. 又或从饮食立论, 如《素问·太阴阳明论篇》[3]: “食饮不节起居不时者……下为飧泄, 久为肠澼”, 饮食不节也是引起泄泻的重要因素之一. 又或从情志立论, 如《素问·举痛论篇》[3]: “怒则气逆, 甚则呕血及飧泄”, 烦恼郁怒, 肝气不舒, 横逆克脾, 脾失健运而为泄泻, 情志失调也是泄泻的重要诱因. 另有从五运六气的变化认识泄泻, 如《素问·气交变大论篇》[3]: “岁水不及, 湿乃大行……民病腹满身重, 濡泄寒疡流水”, 天地四时五运六气各有偏颇, 人易随之而病, 这些认识都为后世医家治泄之法提供了依据.

《内经》从五脏论治泄泻的思想, 对现代临床治疗本病更具有重要的指导意义. 第一, 泄泻从“脾”论, 脾主运化水谷津液, 脾虚失运, 水谷并走肠间而为泄泻, 如《素问·藏气法时论篇》[3]: “脾病者……虚则腹满肠鸣, 飧泄食不化”. 第二, 泄泻从“肝”论, 肝失疏泄, 横逆克伐脾土, 运化失常而致泄泻, 如《素问·举痛论篇》[3]: “怒则气逆, 甚则呕血及飧泄”. 第三, 泄泻从“肾”论, 肾为胃之关, 肾阳衰微, 关门失守, 可致泄泻, 如《灵枢·邪气藏府病形》[4]: “肾脉……小甚为洞泄”. 第四, 泄泻从“肺”论, 肺络大肠, 肺气虚弱, 大肠主津失司, 腑气失于固摄, 以致泄泻, 如《灵枢·邪气藏府病形》[4]: “肺脉……小甚为泄”. 第五, 泄泻从“心”论, 心络小肠, 可助其泌别, 若小肠泌别清浊功能失司, 清浊混杂而下可现泄泻之证, 如《素问·举痛论篇》曰[3]: “寒气客于小肠, 小肠不得成聚, 故后泄腹痛矣. ”《内经》以“五脏”统论泄泻的思想为后世立论分析泄泻奠定了良好的理论基础, 其理论内涵仍值得现代研究者深入探究.

2 泄泻从“五脏”立论的肠道微生态学机制

近年来, 随着肠道微生态学的发展, 肠道菌群与中医脏腑之间的密切联系受到越来越多的关注. 人体是一个以五脏为核心的整体, 五脏六腑经络相连, 生理相关, 病理相及. 肠道菌群作为人体内特殊的“器官”, 常从多个方面如能量代谢、短链脂肪酸、肝-肠轴、脑-肠轴等途径影响机体健康. 五脏与肠道菌群的联系见图1.

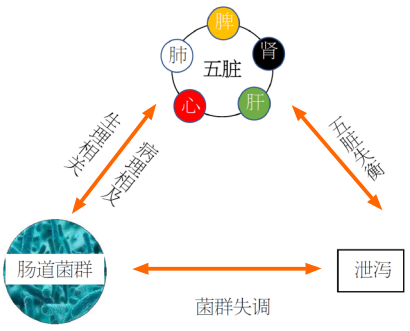


图 1　五脏与肠道菌群的联系.

2.1 泄泻从“脾”论 人体五脏中, “脾”与肠道菌群最为相关. 脾主运化, 其化生的气血精微可濡养五脏六腑, 故为五脏之本. 正常肠道菌群可产生各种酶, 参与食物消化和新陈代谢[5], 与脾的生理功能相通, 肠道菌群故被称为西医理论的“后天之本”[6]. 脾胃生化气血, 滋养肌肉皮毛, 充实卫气, 增强正气抗病御邪的能力. 肠道菌群的定植及发育对肠道免疫系统的发育、激活、功能调节以及全身免疫系统发挥重要作用[7]. 脾主升清, 脾气可将水谷精微上输心、肺以及头目, 并通过心肺化生气血, 以营养全身, 而“脾气”体现的主要是肠道菌群的综合作用[8]. 脾与胃通过经脉相互络属构成表里关系. 胃的幽门与肠道相连, 负责接受胃内容物并消化吸收, 其正常生理功能是由肠道菌群实现的. 脾升胃降, 脾胃为气机升降之枢纽, 维持精微物质的传输. 脾胃升清降浊的功能与肠道菌群参与吸收、消化食物,转化为人体所需要的营养物质濡养全身,满足人体正常需要的作用基本一致. 肠道菌群的部位在肠道, 功能属脾胃[9].

脾胃虚弱是泄泻的常见病机. 《素问·藏气法时论篇》[3]: “脾病者……虚则腹满肠鸣, 飧泄食不化”, 《素问·脉要精微论篇》载[3]: “胃脉……虚则泄”. 脾胃亏虚, 纳运失司, 水谷不化, 合污而下, 即可发生泄泻. 《素问·刺热篇》[3]: “脾热病者……腹满泄”. 脾为湿土, 脾热易与湿邪相合, 脾之湿热下注肠道则大便溏泄. 多项研究证实肠道菌群紊乱是中医脾胃失衡的现代病理基础. 肠道细菌总数、乳酸菌、大肠杆菌(*Escherichia coli*)、厚壁菌门(*Firmicutes*)、变形菌门(*Proteobacteria*)、梭菌属(*Clostridium*)、拟杆菌属(*Bacteroides*)、*Parabacteroides*、拟普雷沃菌属(*Alloprevotella*)和幽门螺杆菌(*Helicobacter*)相对丰度显著变化是脾虚泄泻肠道菌群特征[10,11]. 进一步研究发现脾虚泄泻大鼠肠道黏膜层变薄, 菌群代谢产物短链脂肪酸水平降低[12]. 外邪伤脾也是不容忽视的泄泻病因病机. 《素问·五常政大论篇》[3]: “其病飧泄, 邪伤脾也”. 此处言及脾运失常, 肌肉不充, 卫外失固, 外邪伤脏导致机体抗病防御功能下降而发泄泻. 临床研究证实温中健脾方黄芪健中汤可使腹泻患者脾虚证候减轻, 双歧杆菌属(*Bifidobacteria*)、肠杆菌属(*Enterobacter*)和乳杆菌属(*Lactobacillus*)相对丰度升高, T淋巴细胞含量的变化为$CD4^+$、$CD3^+$水平及$CD4^+/CD8^+$水平升高, 而$CD8^+$水平降低[13]. 这从反面验证了脾虚机体肠道菌群结构发生了改变, 免疫力下降. 复健脾运、调整肠道菌群则可治疗泄泻, 如健脾方药七味白术散、和调健脾汤可增加有益菌水平, 降低病原菌水平而使脾运复健, 菌群失调复衡而泄泻得愈[14,15]. 肠道是中医脾胃实现功能的主要部位, 肠道菌群失调是脾运失司的病理表现, 可将肠道菌群紊乱看作中医从“脾”论治泄泻的现代生物学基础.

2.2 泄泻从“心”论 《灵枢·经脉》载[4]: “心手少阴之脉, 起于心中……络小肠.”心与小肠通过经脉相互联系, 生理功能相互影响, 从而直接影响肠道菌群结构和功能. 现代研究证实了心与小肠来源于同一胚层, 早期胚胎发育中产生的神经脊, 一部分进入了中枢神经系统, 另一部分变成肠神经系统[16]. 又《素问·五藏生成篇》[3]: “诸血者, 皆属于心. ”中医认为心主血液的生成和运行, 这与解剖学的心脏的生理功能相似. 心主血, 心气可以推动血液运行以输送营养物质于全身各脏腑. 脾胃化生的水谷精微注入脉中, 需要经过心火作用化为赤色血液. 心阳虚衰则脾胃化源不足, 气血亏虚则肠菌失养. 心是一身血液运行的枢纽. 肝藏血, 是贮藏和调节血液的重要脏腑. 因此, 心还可通过影响脾、肝等间接影响肠道菌群.另一方面, 《内经》中对心的认知超越了现代医学有关认识, 如《素问·灵兰秘典论篇》[3]: “心者, 君主之官也, 神明出焉. ”心主导机体精神情志活动, 亦与现代神经系统生理功能一致[17]. 同时研究发现中枢神经系统和肠道神经系统通过肠道菌群相互对话[18]. 肠道菌群参与重要中枢神经递质的传递与合成, 如*Bifidobacterium infantis*影响大脑和肠神经系统内中药的神经递质5-羟色胺的传递[19]. 中医学的“心”包涵了现代医学的“脑”的部分功能, 故中医“心与小肠相表里”与现代医学提出的“脑-肠轴”理论是相通的[20].

《素问·举痛论篇》[3]曰: “寒气客于小肠, 小肠不得成聚, 故后泄腹痛矣. ” 外邪伤及小肠, 致其泌别清浊功能失常, 则清浊不分, 水液归于糟粕, 水谷混杂而出

现泄泻. 肠道菌群紊乱, 小肠“受盛化物”功能丧失, 吸收不当, 精微不生. 包括小肠细菌过度生长在内的肠道微生态失衡是腹泻型肠易激综合征关键的发病机制[21]. 远端肠道内菌群移位进入小肠, 引起小肠内厌氧菌过度孳生而表现为营养吸收不良、腹泻、腹胀等症状[22]. 随着“心与小肠相表里”科学认知的深入, “心理肠胃学”概念逐渐被提出, 并且被应用于肠胃疾病的临床实践[23]. 如腹泻型肠易激综合征的发生与心理因素密切相关, 现代医学认为其是以神经内分泌-免疫系统为中介, 受社会心理因素刺激而触发的心身疾病. 肠道菌群、黏膜免疫和肠道神经系统形成互作网络, 构成神经系统疾病相关的肠功能失调的病理生理学基础[24]. 另一方面, 现代“菌心学说”认为失调的肠道菌群会破坏胃肠道黏膜获取碳源、氮源等营养物质, 通过迷走神经和神经内分泌传递给大脑, 大脑解读信号从而实施动作[25]. 因此, 在“心与小肠相表里”的启发下, 甚至可以提出“人心即菌群”、“菌群即人心”的新认知[2]. 由此可见, 肠道菌群紊乱与心与小肠功能失常的发生发展存在着双向影响作用, 肠道菌群可成为从“心”论治泄泻研究的新切入点.

2.3 泄泻从“肝”论 肝主疏泄, 通过敷布条达人体脏腑气血阴阳, 使人体各种功能状态趋于和谐平衡[26]. 肝主藏血, 阴血能柔肝而制约肝刚急之性, 使肝气升发正常, 不至出现肝气亢逆犯脾. 肝与脾功能相关, 脾又与肠道菌群联系密切, 因此, 肝肠相关也是有理可推. 其实现代研究已证实肝脏与肠道并非相互独立的两个器官, 它们在胚胎阶段均起源于前肠, 通过门静脉相互关联. 同时二者通过代谢、免疫和神经内分泌系统交互作用, 实现密切的功能协作[27]. 肝脏与肠道在结构及功能上直接相互作用和影响, “肠-肝轴”的概念由此而生[28]. 现代研究发现肝脏作为免疫中枢, 富集了大量免疫细胞和肠道菌群分泌的内毒素, 肝脏功能无疑与肠道关系紧密[29]. 胆附于肝, 二者互为表里, 肝脏分泌胆汁储存于胆囊, 胆汁排泄到肠道, 影响营养物质代谢及肠道微生物组成[30]. 胆汁的重要组成成分胆汁酸可直接调节肠道菌群组成, 也可以抑制肠道细菌过度生长和易位, 维持肠黏膜和肠内环境的正常稳定[31].

研究肠道菌群与“肝”的关系是探讨从“肝”治疗泄泻的新视角. 《素问·至真要大论篇》[3]: “厥阴之胜……胃脘当心而痛, 上支两胁, 肠鸣飧泄”, 肝胆失疏, 不能疏土健脾胃, 对脾胃之气的调节紊乱, 脾不升清, 精微下泻则飧泄[32]. 疏肝调肝立法选方可改善泄泻机体的肠道菌群失调状态, 如改变拟杆菌门、变形菌门、螺旋体门、疣微菌门以及艾克曼菌属(*Akkermansia*)和严格梭菌属(*Clostridium sensu stricto* 1)等的相对丰度[33,34], 此反面证实了当肠道菌群稳态被破坏而发生泄泻时, 调“肝”诊治具有重要的意义.

2.4 泄泻从“肺”论 肺主气司呼吸, 肺气宣发肃降推动和调节全身水液的输布和排泄. 《灵枢·经脉》曰[4]: “肺手太阴之脉……下络大肠”, 肺络大肠, 大肠为“传导之官”, 传导糟粕. 肺气肃降, 气机流畅, 才能保证大肠通降, 使得人体水谷传导有序, 气血津液化源充足. 现代医学研究证实肺与大肠均由原肠结构分化发育而来[35], 相同的结构来源势必决定了肺肠功能与病理的关系密切. 肺病可导致肠道菌群变化, 如《素问·咳论篇》中记载[3]: “肺咳不已, 则大肠受之, 大肠咳状, 咳而遗失”; 《灵枢·邪气脏腑病形》[4]: “肺脉……小甚为泄”. 肺气虚损, 宣发肃降失司, 通调水道功能障碍, 代谢的水液不走膀胱而直走大肠, 大肠失于固摄, 吸收水液障碍, 清浊不分, 与糟粕俱下而成泄泻; 抑或肺气亏虚, 子病及母, 伤及脾气则运化失常引起泄泻. 研究发现的肺病患者肺部与肠道呈现了相似的微生物群种变化就是肺病及肠的生动体现[36]. 肠病也可影响及肠, 如《素问·痹论篇》曰[3]: “肠痹者, 数饮而出不得, 中气喘争, 时发飧泄. ”邪在大肠, 能上冲胸中, 影响肺的宣发肃降, 肠病及肺, 引起肺脏病证. 肺部微生态与肠道微生态存在一定的相关性, 研究发现溃疡性结肠炎大鼠的肠道微生态改变可伴随出现呼吸道微生态的同步变化[37]. 另一个支持肺肠相关的重要理论是共同黏膜反应认为黏膜部位收到抗原刺激后, 淋巴细胞会迁移至其他黏膜部位, 对远端的免疫反应产生影响[38]. 研究通过对高氧下鼠肺肠灌洗液相关炎症因子的研究发现肺肠之间在黏膜免疫上具有同步性[39]. 肺肠微生态学上的菌群对应规律性变化可能是肺肠传变的机制之一, 这些结论证实了中医的肺肠理论恰与现代研究提出的肺—肠轴的理念相对应. 泄泻发生发展与脾关系密切, 中医五行理论认为脾属土, 肺属金, 金土相生, 故肺亦可通过影响脾的功能间接调控肠道菌群变化. 肠道菌群是现代阐述从“肺”论治泄泻理论的桥梁.

2.5 泄泻从“肾”论 肾藏禀受于父母的先天之精, 先天肾精的强弱对后天生长发育至关重要. 肠道菌群的形成始于胚胎期, 从生命伊始即不断影响着生命进程, 怀孕和哺乳期母体肠道微生物群变化会影响婴幼儿肠道微生物群的改变, 并决定新生儿的适应性免疫[40]. 肠道菌群和肾精均源于先天胎元, 在多个维度影响后天生长[41], 二者所阐释的人体基本生命规律相似. 因此, 有学者提出肾精和肠道菌群是中西医界对机体内精微物质的不同解读[42]. “肾主水”, 调节全身水液代谢, 而大肠主津、小肠主液亦赖肾气的推动和肾阳的气化. 水液代谢障碍会引起肠黏膜上一种负责水液传输的跨

膜蛋白表达异常, 从而引起粪便含水量异常[43]. 肾司二便, 肾阳充足, 开阖有度, 二便得以正常排泄. 肾脏失调, 引发水液代谢紊乱, 肠道功能失常引起的泄泻, 中医常用“利小便以实大便”之法. 目前很多研究证实了肠-肾存在的密切联系, 提出了“肠-肾轴”理论、“肠肾综合征”概念. 近期研究发现健康人肾脏中存在细菌定植, 并且健康人与肾癌患者肾脏定植的细菌具有显著差异[44]. Yoshifuji等[45]研究发现部分肾切除法建立的肾衰竭大鼠模型出现了菌群失调, 具体表现为拟杆菌(*Bacteroides*)和普氏杆菌(*Prevotella*)数量较多, 乳酸杆菌(*Lactobacillus*)减少明显, 而补充乳酸杆菌可以防止肾脏损伤和肠道菌群变化. 陈雪莉等从“肠-肾轴”理论探究清肾颗粒的组方机制发现其既可调节肠道菌群, 又可降低炎症因子水平, 保护肠黏膜屏障[46]. 中医理论认为肾为先天之本, 脾为后天之本, 后天与先天相互资助, 相互促进, 脾与胃肠密切联系, 故脾是肾肠相关有力的间接证据.

《素问·气交变大论篇》[3]: “肾水受邪……病腹满溏泄肠鸣”. 肾阳虚衰, 火不暖土, 虚寒内生, 脾失温养, 肾为胃之关, 关门失守, 下焦不固, 则大便倾下如水, 倾泻无度, 如门户之洞开, 势迫不禁. 研究发现温补肾阳对泄泻机体的肠道菌群结构影响显著, 如改变变形菌门(*Proteobacteria*)、放线菌门(*Actinobacteria*)、韦荣球菌属(*Veillonococcus*)、支原体属(*Mycoplasma*)和*Pleaverella*的相对丰度[47], 这是肾肠相关理论的实际体现.

3 结论

现代对泄泻的认识虽已取得长足的进展, 但无不是在继承《内经》有关泄泻理论的基础上进行的补充和完善. 《内经》泄泻五脏论从整体状态审视了泄泻病机, “五脏皆能令人泄, 非独脾也”. 泄泻病位在肠道, 肠道正常功能的恢复依赖于脾气运化、胃气通降、肝气疏泄、肺气肃降、肾气固摄等脏腑平衡. 作为生命科学重要的分支, 微生态学与中医基础理论存在很多相似点. 肠道菌群是一个“虚拟的器官”, 参与人体营养、免疫、代谢等整体生命活动. 正常生理情况下, 肠道菌群以一定的种类、丰度、比例组合, 保持着一种相互依存、相互制约的动态平衡, 共同维持肠道微生态内环境稳定. 若生理性细菌被大量肠道致病菌替代则会引起肠道菌群失调, 表现为肠道菌群在种类、丰度、比例、定位和生物学特性上的变化. 相关研究已经发现五脏六腑生理功能失常与肠道菌群失调具有统一性. 脾失健运、心失濡养、肾失固摄、肺失宣降、肝失疏泄会引起整体阴阳气血变化, 皆能导致不同程度的肠道菌群失调. 调节五脏整体平衡有利于恢复肠道菌群动态平衡. 因此, 聚焦肠道菌群阐明《内经》泄泻五脏论的科学机制具有重要的意义. 然而, 目前关于泄泻五脏论与肠道菌群相关的研究尚处于初级阶段, 仍需要更多基础和临床研究成果支持以进一步阐明中医经典理论的科学内涵, 促进其在现代临床的应用.

4 参考文献

1 焦巨英, 胡凤林, 刘建均, 娄妮, 尚东. 从肠道菌群探析急性胰腺炎证候演变. 世界科学技术-中医药现代化 2020; 22: 753-758
2 张成岗, 巩文静, 李志慧, 高大文, 高艳. 基于肠道菌群和菌心学说探讨中医现代化发展新思路. 中华中医药杂志 2020; 35: 4304-4307
3 王冰撰注(唐). 黄帝内经素问(鲁兆麟主校). 沈阳: 辽宁科学技术出版社: 1997: 10, 11, 21, 30, 31, 42, 52, 54, 63, 64, 65, 71, 118, 120, 125, 148
4 王冰撰注(唐). 灵枢经(彭建中点校). 沈阳: 辽宁科学技术出版社: 1997: 5, 6, 11, 12, 43
5 Valdes AM, Walter J, Segal E, Spector TD. Role of the gut microbiota in nutrition and health. *BMJ* 2018; 361: k2179 [PMID: 29899036 DOI: 10.1136/bmj.k2179]
6 王文炎, 梁凤霞. 基于脾胃理论探讨“肠道微生物菌群为后天之本”. 世界中医药 2020; 15: 3062-3064
7 Pei X, Xiao Z, Liu L, Wang G, Tao W, Wang M, Zou J, Leng D. Effects of dietary zinc oxide nanoparticles supplementation on growth performance, zinc status, intestinal morphology, microflora population, and immune response in weaned pigs. *J Sci Food Agric* 2019; 99: 1366-1374 [PMID: 30094852 DOI: 10.1002/jsfa.9312]
8 Greenwood MT. Dysbiosis, Spleen Qi, Phlegm, and Complex Difficulties. *Med Acupunct* 2017; 29: 128-137 [PMID: 28736589 DOI: 10.1089/acu.2017.1226]
9 巩静, 陈广, 王定坤, 陆付耳. 从脾胃论治糖尿病与肠道菌群的关系. 中国中西医结合杂志 2016; 36: 484-487
10 Shi X, Li N, Li J, Yang Q, Kan M, Qu X. Effect of qiwei baizhu powder on the intestinal flora of the splenoasthenic diarrhea mice. *Indian J Pharmaceutical Sci* 2021; 82: 1818-1825 [DOI: 10.36468/pharmaceutical-sciences.710]
11 Shi K, Qu L, Lin X, Xie Y, Tu J, Liu X, Zhou Z, Cao G, Li S, Liu Y. Deep-Fried Atractylodis Rhizoma Protects against Spleen Deficiency-Induced Diarrhea through Regulating Intestinal Inflammatory Response and Gut Microbiota. *Int J Mol Sci* 2019; 21 [PMID: 31878055 DOI: 10.3390/ijms21010124]
12 Sun S, Yang Y, Lin X, Chen P, Ye L, Zeng L, Ye Q, Yang X, Ceng J, Shan J, Xie L, Jiang M, Luo F, Chen X. Qiweibaizhu Decoction Treats Diarrheal Juvenile Rats by Modulating the Gut Microbiota, Short-Chain Fatty Acids, and the Mucus Barrier. *Evid Based Complement Alternat Med* 2021; 2021: 8873294 [PMID: 33531924 DOI: 10.1155/2021/8873294]
13 Zhong QJ, Ye JL, Tang N, Shao X. Effect of intestinal perfusion of Huangqi Jianzhong decoction on intestinal flora, mucosal function, and expression of inflammatory factors in patients with antibiotic-associated diarrhea. *World Chin J Dig* 2020; 28: 92-99 [DOI: 10.11569/wcjd.v28.i3.92]
14 Hui H, Wu Y, Zheng T, Zhou S, Tan Z. Bacterial Characteristics in Intestinal Contents of Antibiotic-Associated Diarrhea Mice Treated with Qiweibaizhu Powder. *Med Sci Monit* 2020; 26: e921771 [PMID: 32398636 DOI: 10.12659/MSM.921771]
15 Li X, Wu Y, Xu Z, Chen J, Li Y, Xing H, Zhang X, Yuan J. Effects of Hetiao Jianpi Decoction on Intestinal Injury and Repair in Rats with Antibiotic-Associated Diarrhea. *Med Sci Monit* 2020; 26: e921745 [PMID: 32062668 DOI: 10.12659/MSM.921745]
16 郭宗耀, 刘芸, 高玉萍, 彭岭, 张秋雁, 李杰. “心与小肠相表里”理论的源流与发展. 中医杂志 2017; 58: 96-99

17 张挺, 李其忠, 陈慧娟, 张少军. “心”的中西医学比较研究. 上海中医药大学学报 2002; 16: 10-13
18 Carabotti M, Scirocco A, Maselli MA, Severi C. The gut-brain axis: interactions between enteric microbiota, central and enteric nervous systems. *Ann Gastroenterol* 2015; 28: 203-209 [PMID: 25830558]
19 Desbonnet L, Garrett L, Clarke G, Kiely B, Cryan JF, Dinan TG. Effects of the probiotic Bifidobacterium infantis in the maternal separation model of depression. *Neuroscience* 2010; 170: 1179-1188 [PMID: 20696216 DOI: 10.1016/j.neuroscience.2010.08.005]
20 王世荣, 岳寿松. 微生态学与中医“心与小肠相表里”新论. 中国微生态学杂志 2018; 30: 847-848
21 Ghoshal UC, Nehra A, Mathur A, Rai S. A meta-analysis on small intestinal bacterial overgrowth in patients with different subtypes of irritable bowel syndrome. *J Gastroenterol Hepatol* 2020; 35: 922-931 [PMID: 31750966 DOI: 10.1111/jgh.14938]
22 冯文林, 伍海涛. 从中医小肠腑理论谈小肠在肠易激综合征发病中的作用. 时珍国医国药 2019; 30: 661-662
23 徐天成, 裴丽霞, 陈璐, 易越, 谢天琪, 辛陈, 顾冬梅, 孙建华. 心与小肠相表里的微生态学基础-兼论IBS的发病要素. 中国微生态学杂志 2019; 31: 601-604
24 Pellegrini C, Antonioli L, Colucci R, Blandizzi C, Fornai M. Interplay among gut microbiota, intestinal mucosal barrier and enteric neuro-immune system: a common path to neurodegenerative diseases? *Acta Neuropathol* 2018; 136: 345-361 [PMID: 29797112 DOI: 10.1007/s00401-018-1856-5]
25 Zhang C. The Gut Flora-Centric Theory Based on the New Medical Hypothesis of “Hunger Sensation Comes from Gut Flora”: A New Model for Understanding the Etiology of Chronic Diseases in Human Beings. *Austin Intern Med* 2018; 3: 1030
26 王鑫杏, 陈家旭, 刘燕. 《黄帝内经》肝曰敷和理论探微. 中医杂志 2015; 56: 366-368
27 Kho ZY, Lal SK. The Human Gut Microbiome - A Potential Controller of Wellness and Disease. *Front Microbiol* 2018; 9: 1835 [PMID: 30154767 DOI: 10.3389/fmicb.2018.01835]
28 Marshall JC. The gut as a potential trigger of exercise-induced inflammatory responses. *Can J Physiol Pharmacol* 1998; 76: 479-484 [PMID: 9839072 DOI: 10.1139/cjpp-76-5-479]
29 Heymann F, Tacke F. Immunology in the liver--from homeostasis to disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2016; 13: 88-110 [PMID: 26758786 DOI: 10.1038/nrgastro.2015.200]
30 于东林, 王义国, 张磊. “胆主消化”中医文献源流探析. 中医杂志 2014; 55: 1256-1257
31 Parséus A, Sommer N, Sommer F, Caesar R, Molinaro A, Ståhlman M, Greiner TU, Perkins R, Bäckhed F. Microbiota-induced obesity requires farnesoid X receptor. *Gut* 2017; 66: 429-437 [PMID: 26740296 DOI: 10.1136/gutjnl-2015-310283]
32 曾雅雯. 基于《黄帝内经》和丹溪学说探讨肝脏疾病的发病观. 中医研究 2021; 34: 6-9
33 彭思颖, 刘晓, 秦昆明, 谢莉, 孙戡平, 金俊杰, 杨超, 蔡宝昌. 基于16S rRNA测序技术研究痛泻要方调节腹泻型肠易激综合征模型大鼠肠道菌群的作用机制(英文). 南京中医药大学学报 2020; 36: 641-646
34 Li J, Cui H, Cai Y, Lin J, Song X, Zhou Z, Xiong W, Zhou H, Bian Y, Wang L. Tong-Xie-Yao-Fang Regulates 5-HT Level in Diarrhea Predominant Irritable Bowel Syndrome Through Gut Microbiota Modulation. *Front Pharmacol* 2018; 9: 1110 [PMID: 30323765 DOI: 10.3389/fphar.2018.01110]
35 Harding R, Hooper SB. Regulation of lung expansion and lung growth before birth. *J Appl Physiol* (1985) 1996; 81: 209-224 [PMID: 8828667 DOI: 10.1152/jappl.1996.81.1.209]
36 Rastall RA. Bacteria in the gut: friends and foes and how to alter the balance. *J Nutr* 2004; 134: 2022S-2026S [PMID: 15284393 DOI: 10.1093/jn/134.8.2022S]
37 郑秀丽, 杨宇, 王宝家, 唐洪屈, 周新颖. 从溃疡性结肠炎大鼠呼吸道与肠道微生态同步动态变化探讨“肺与大肠相表里”. 世界中医药 2014; 9: 418-421
38 Wang J, Li F, Tian Z. Role of microbiota on lung homeostasis and diseases. *Sci China Life Sci* 2017; 60: 1407-1415 [PMID: 29019144 DOI: 10.1007/s11427-017-9151-1]
39 韩俊阁, 刘晓燕, 张刘红, 郭霞珍. “肺与大肠相表里”机理的研究-高氧刺激对肺肠黏膜免疫因子含量表达的影响. 世界中医药 2015; 10: 80-82+85
40 Nyangahu DD, Lennard KS, Brown BP, Darby MG, Wendoh JM, Havyarimana E, Smith P, Butcher J, Stintzi A, Mulder N, Horsnell W, Jaspan HB. Disruption of maternal gut microbiota during gestation alters offspring microbiota and immunity. *Microbiome* 2018; 6: 124 [PMID: 29981583 DOI: 10.1186/s40168-018-0511-7]
41 李娟娟, 王凤云, 唐旭东, 吕林. 肠道菌群失调与功能性消化不良的相关性研究. 中国中西医结合消化杂志 2019; 27: 77-81
42 丰雪, 耿少辉, 刘豫蒙, 程凤, 安富竹, 杨丽萍. 论肠道菌群与中医肾精的相关性. 中华中医药杂志 2021; 36: 780-783
43 成西, 马淑然, 邸莎, 王雪娇, 张和鞨. 中医脾主运化水液理论与水通道蛋白的关系发微. 环球中医药 2016; 9: 1215-1216
44 Heidler S, Lusuardi L, Madersbacher S, Freibauer C. The Microbiome in Benign Renal Tissue and in Renal Cell Carcinoma. *Urol Int* 2020; 104: 247-252 [PMID: 31715602 DOI: 10.1159/000504029]
45 Yoshifuji A, Wakino S, Irie J, Tajima T, Hasegawa K, Kanda T, Tokuyama H, Hayashi K, Itoh H. Gut Lactobacillus protects against the progression of renal damage by modulating the gut environment in rats. *Nephrol Dial Transplant* 2016; 31: 401-412 [PMID: 26487672 DOI: 10.1093/ndt/gfv353]
46 陈雪莉, 吕勇. 基于“肠—肾轴”理论探析清肾颗粒对慢性肾衰竭的预防作用机制. 陕西中医药大学学报 2021; 44: 77-80
47 Liu JX, Wang YL, Li Y, Zou DX, Wang DF, Ma XR, Song HX, Yang WP, Wang HN. Experimental study on the effect of Sishen Wan on intestinal flora in rats with diarrhea-type irritable bowel syndrome. *Yaoxue Xuebao* 2019; 54: 670-677 [DOI: 10.16438/j.0513-4870.2018-0920]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: https://www.baishideng.com

www.wjgnet.com

世界华人消化杂志 2021年6月8日; 29(11): I-V

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

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学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学事业的发展, 提高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:

7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA

E-mail: wcjd@wjgnet.com

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

https://www.wjgnet.com

Telephone: +1-925-3991568

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

E-mail: 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》编辑部主任王金磊, 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

E-mail: j.l.wang@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, *T*1/2不能写成tl/2或T, *V*max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, 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, ℃), *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), *j* (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*max, *C*max, *V*d, *T*1/2 *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 kD改为*M*r 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*r (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+、一及-后列出, 在±前后均要列出, 如37.6 ℃±1.2 ℃, 45.6岁±24岁, 56.4 d±0.5 d. 3.56±0.27 pg/ml应为3.56 ng/L±0.27 ng/L. BP用kPa (mmHg), RBC数用1×10^{12}/L, WBC数用1×10^{9}/L, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L. *M*r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_2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、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸用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1×10^{-3} g与5×10^{-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_2应为50 mL/L CO_2; 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 = 45×10^{-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χ^2; (4)样本的相关系数用英文小写*r*; (5)自由度用希文小写υ; (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$^aP<0.05$或$^bP<0.01$($P>0.05$不注). 如同一表中另有一套*P*值, 则用$^cP<0.05$和$^dP<0.01$; 第三套为$^eP<0.05$和$^fP<0.01$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 ofMedical 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志谢中. 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^{a}P<0.05或^{b}P<0.01(*P*>0.05不注). 如同一表中另有一套*P*值, 则用^{c}P<0.05和^{d}P<0.01; 第3套为^{e}P<0.05和^{f}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/min, c/(mol/L), p/kPa, V/mL, t/℃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[2-5]认为……; PCR方法敏感性高[6-7]. 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**
7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton,
CA 94566, USA
Telephone: +1-925-3991568
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
https://www.wjgnet.com

ISSN 1009-3079

© 2021 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

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

2021 年 6 月 28 日　　第 29 卷　　第 12 期　　(Volume 29 Number 12)



12/2021

《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.

ISSN 1009-3079
12>
9 771009 307056

世界华人消化杂志 https://www.wjgnet.com 二零二一年六月二十八日 第二十九卷 第十二期

WCJD 世界华人消化杂志®

目　次

2021年6月28日 第29卷 第12期 (总第680期)

述评

621 靶向SRC治疗胰腺癌的研究新进展

李子一, 孙学英

628 “互联网+”时代背景下炎症性肠病患者的心理问题及干预研究述评

赵月月, 张丽, 杨亚新, 郝娜, 王斌斌, 刘艳芳

基础研究

633 基于脑-肠轴探讨腹部推拿对促进大鼠乙醇性胃黏膜损伤修复的作用机制

海兴华, 刘芳, 骆雄飞, 李华南, 张玮, 王海腾, 孙庆

639 胡椒碱对人结肠癌SW480细胞增殖、迁移和侵袭的抑制作用

邵忆闵, 吴湧

临床研究

647 载药脂微球配合肝动脉栓塞化疗治疗老年肝细胞癌的效果及对生存获益、PD-L1、PD-1水平影响

王浩, 马军杰, 戴献毅

655 输尿管硬镜联合钬激光结合高位胆管切开治疗复杂肝胆管结石

陈晨, 李业荣, 吴金术, 米杨, 汪新天

文献综述

662 门静脉海绵样变性的临床诊疗进展

李昊, 孙培鸣, 孙宏伟, 崔彦

670 肝硬化门静脉血栓形成机制及诊治的探讨

丁靖诺, 赵卫峰

消　　息

632　《世界华人消化杂志》修回稿须知
646　《世界华人消化杂志》正文要求
661　《腹痛的诊断、鉴别诊断与治疗》书讯
669　《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标

封面故事

赵春华, 主任医师, 湖北省宜昌市夷陵医院, 从1988年起从事感染性疾病的临床与科研, 擅长肝、肺的感染性疾病的诊断与治疗. 以第一作者在国内核心期刊发表论文24篇; 主持两项科研课题分别达到国内领先水平和国内先进水平; 出版原创专著《肺结核的CT诊断与临床》一部.

本期责任人

编务 张砚梁; 送审编辑 张砚梁; 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 马玉洁; 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 2021-06-28
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
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
王金磊, 主任
《世界华人消化杂志》编辑部
Baishideng Publishing Group Inc
7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA
Telephone: +1-925-3991568
E-mail: wcjd@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com

出版
百世登出版集团有限公司
Baishideng Publishing Group Inc
7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA
Telephone: +1-925-3991568
E-mail: 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: +86-10-85381892

《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

© 2021 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

WCJD 世界华人消化杂志®

Contents

Volume 29 Number 12 June 28, 2021

EDITORIAL

621 Recent progress in SRC targeted therapy for pancreatic cancer
Li ZY, Sun XY

628 Psychological problems and intervention studies of patients with inflammatory bowel disease in the "Internet +" era: A review
Zhao YY, Zhang L, Yang YX, Hao N, Wang BB, Liu YF

BASIC RESEARCH

633 Exploration of mechanism of abdominal massage to promote repair of ethanol-induced gastric mucosal injury in rats based on brain-gut axis
Hai XH, Liu F, Luo XF, Li HN, Zhang W, Wang HT, Sun Q

639 Inhibitory effects of piperine on proliferation, migration, and invasion of human colon cancer SW480 cells
Shao YM, Wu Y

CLINICAL RESEARCH

647 Drug-loaded lipid microspheres combined with transcatheter arterial chemoembolization for treatment of hepatocellular carcinoma in elderly patients: Efficacy and impact on survival benefit and PD-L1 and PD-1 levels
Wang H, Ma JJ, Dai XY

655 Rigid ureteroscopy and holmium laser combined with high bile duct incision to treat complex hepatic calculus
Chen C, Li YR, Wu JS, Mi Y, Wang XT

REVIEW

662 Progress in clinical diagnosis and treatment of cavernous transformation of the portal vein
Li H, Song PM, Song HW, Cui Y

670 Mechanism, diagnosis, and treatment of portal vein thrombosis in cirrhosis
Ding JN, Zhao WF

COVER Editorial Board Member of *World Chinese Journal of Digestology*, Chun-Hua Zhao, Chief Physician, Yiling Hospital of Yichang in Hubei Province, No. 31 Donghu Road, Xiaoxita Street, Yiling District, Yichang 443100, Hubei Province, China. zch-xbfg@163.com

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

RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE

Assistant Editor: *Yan-Liang Zhang*
Review Editor: *Yan-Liang Zhang*
Production Editor: *Yan-Liang Zhang*
English Language Editor: *Tian-Qi Wang*
Proof Editor: *Yu-Jie Ma*
Layout Reviewer: *Lian-Sheng Ma*

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993
Renamed on January 25, 1998
Publication date June 28, 2021

NAME OF JOURNAL
World Chinese Journal of Digestology

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

EDITOR-IN-CHIEF
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
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
Jin-Lei Wang, Director
World Chinese Journal of Digestology
Baishideng Publishing Group Inc
7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA
Telephone: +1-925-3991568
E-mail: wcjd@wjgnet.com
https://www.wjgnet.com

PUBLISHER
Baishideng Publishing Group Inc
7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA
Telephone: +1-925-3991568
E-mail: 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

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

COPYRIGHT
© 2021 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.

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: https://www.baishideng.com

世界华人消化杂志 2021年6月28日; 29(12): 621-627

DOI: 10.11569/wcjd.v29.i12.621

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

述评 EDITORIAL

靶向SRC治疗胰腺癌的研究新进展

李子一, 孙学英

李子一, 孙学英, 哈尔滨医科大学附属第一医院肝脾外科中心 黑龙江省哈尔滨市 150001

李子一, 博士研究生, 主要从事恶性肿瘤的分子靶向治疗研究.

基金项目: 国家重点研发计划资助项目, No. 2017YFC1308602.

作者贡献分布: 李子一负责文献查阅和整理, 孙学英负责题目设计和文章书写.

通讯作者: 孙学英, 教授, 150001, 黑龙江省哈尔滨市南岗区邮政街23号, 哈尔滨医科大学附属第一医院肝脾外科中心. sunxueying@hrbmu.edu.cn

收稿日期: 2021-02-05
修回日期: 2021-04-06
接受日期: 2021-05-11
在线出版日期: 2021-06-28

Recent progress in SRC targeted therapy for pancreatic cancer

Zi-Yi Li, Xue-Ying Sun

Zi-Yi Li, Xue-Ying Sun, Hepatosplenic Surgery Center, The First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150001, China

Supported by: National Key Research and Development Program of China, No. 2017YFC1308602.

Corresponding author: Xue-Ying Sun, Professor, Hepatosplenic Surgery Center, The First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, No. 23 Youzheng Street, Nangang District, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China. sunxueying@hrbmu.edu.cn

Received: 2021-02-05
Revised: 2021-04-06
Accepted: 2021-05-11
Published online: 2021-06-28

Abstract

Pancreatic cancer (PC) is a highly lethal malignancy with a 5-year survival rate of only 10% and is extremely resistant to chemotherapy. Therefore, developing effective therapeutic drugs is urgently needed. SRC is a proto-oncogenic tyrosine protein kinase and highly expressed in more than 70% of PCs. SRC is involved in regulating the proliferation, infiltration, and metastasis of PC cells as well as tumor angiogenesis, thus representing one of the most promising molecular targets for developing novel drugs. Preclinical studies demonstrate that small-molecule SRC inhibitors display significant anti-cancer activities *in vitro* and *in vivo*, and have a synergistic effect with conventional chemotherapy drugs against PC. Some SRC inhibitors have been evaluated in clinical trials. This article analyzes the regulatory mechanism of SRC and the recent progress and problems in developing drugs targeting SRC for the treatment of PC. Unfortunately, up to date no SRC inhibitor or regiment containing SRC inhibitors has been approved for the clinical treatment of PC. In the authors' opinion, the introduction of precision medicine principles to carry out SRC inhibitor clinical trials, combination of immunotherapy and SRC inhibitors, seeking more selective and effective SRC inhibitors, and further exploration of the SRC regulatory network may be the future directions for developing SRC-targeted therapies against PC.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: SRC; SRC inhibitor; Pancreatic cancer; Targeted therapy; Chemotherapy; Clinical trial

Citation: Li ZY, Sun XY. Recent progress in SRC targeted therapy for pancreatic cancer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2021; 29(12): 621-627
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i12/621.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i12.621

摘要

胰腺癌(pancreatic cancer, PC)致死率极高, 对化疗药物高度耐受, 患者5年生存率仅为10%. 因此, 寻找有效

的PC治疗药物是当今世界性难题. SRC是一种原癌基因酪氨酸蛋白激酶, 在超过70%的PC中呈高表达或高活性状态, 参与调控PC细胞增殖、浸润、转移及肿瘤血管生成, 是研发PC治疗药物最有希望的分子靶点之一. 大量临床前研究证实, 小分子SRC抑制剂在体内和体外实验中表现出强大的抗PC活性, 而且与常规化疗药物协同作用逆转PC耐药. 一些SRC抑制剂已经进入PC治疗的临床试验. 靶向SRC治疗PC具有广阔的应用前景. 本文分析SRC对PC的调控机制以及靶向SRC治疗PC的新进展和存在问题. 作者认为应用精准医学原则指导SRC抑制剂临床试验设计、联合应用免疫治疗、研发更高选择性和更高活性的SRC抑制剂以及对SRC调控网络进一步探讨, 可为靶向SRC治疗PC带来突破.

© **The Author(s) 2021.** Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: SRC; SRC抑制剂; 胰腺癌; 靶向治疗; 化疗; 临床试验

核心提要: SRC在70%胰腺癌中高表达. 小分子SRC抑制剂展示有效的抗胰腺癌活性, 一些SRC抑制剂进入胰腺癌治疗的临床试验. SRC是治疗胰腺癌的潜在分子靶点, 靶向SRC将成为治疗胰腺癌新希望.

文献来源: 李子一, 孙学英. 靶向SRC治疗胰腺癌的研究新进展. 世界华人消化杂志 2021; 29(12): 621-627
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i12/621.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i12.621

0 引言

胰腺癌(pancreatic cancer, PC)是一种致死率极高的恶性肿瘤, 预计在未来二十至三十年内将成为第二大癌症致死原因[1]. 根据我国国家癌症中心发布的最新数据, PC的发病率已高居第10位, 死亡率升高到第6位. 在一些大城市中, PC的发病率和死亡率甚至高达第7位和第5位[2,3]. 大约95%的PC是外分泌细胞肿瘤, 其中最常见的类型是胰腺导管腺癌(pancreatic ductal adenocarcinoma, PDAC)[4]. 其他类型的胰腺肿瘤如神经内分泌肿瘤通常预后较好[5]. PC起病隐匿、进展迅速、早期诊断困难, 约80%-85%的患者就诊时肿瘤已经无法切除或伴有远处转移而失去根治性治疗的机会, PC患者总体5年生存率仅约为10%[1,4]. 在过去的十年中, 由于早期诊断、手术治疗、围手术期管理、放疗技术和系统疗法等方面的进步, PC患者的预后取得一定的改善, 但是药物治疗进展十分缓慢[1].

化疗是晚期PC的主要治疗方法, 但PC对常规化疗药物高度不敏感. 吉西他滨作为临床应用多年的治疗PC一线常用药物, 并未显著延长患者的生存期. FOLFIRINOX(FOL-folinic acid [亚叶酸], F-fluorouracil [氟尿嘧啶], IRIN-irinotecan [伊立替康] 和OX-oxaliplatin [奥沙利铂])方案以及白蛋白结合型紫杉醇联合吉西他滨方案的应用, 使PC患者的生存期得到一定程度的提高[6,7]. 然而, 这些方法仅能为患者提供有限的益处而且有不可避免的毒副作用. 以免疫检查点抑制剂为代表的免疫治疗是当前癌症治疗研究的热点. 靶向细胞毒性T淋巴细胞相关蛋白4 (cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4, CTLA-4)和程序性细胞死亡蛋白1 (programmed cell death protein-1, PD-1)及其配体(PD-L1)的单克隆抗体在一些恶性肿瘤的临床治疗中取得显著疗效[8]. 然而, 针对PC开展的免疫检查点抑制剂治疗的临床试验研究中, 单一免疫检查点抑制剂未能取得显著提高患者生存期的效果; 联合其他药物方案显示初步疗效, 但结果尚需进一步验证[9]. 被批准用于治疗具有微卫星高度不稳定性特征癌症的广谱免疫检查点抑制剂帕博利珠单抗在PC临床试验中仅有5%的反应率[10]. 因此, 寻找有效PC治疗的分子靶点和研发有效药物是当前迫切需要解决的世界性难题.

1 SRC与癌症

SRC最初于1979年由Bishop在劳斯肉瘤病毒(rous sarcoma virus, RSV)中发现, 该基因编码酪氨酸激酶, 可引起鸡发生癌症, 被称为v-Src[11]. 在正常细胞中则被称为c-Src (cellular Src)[12]. 这一发现引起肿瘤发生理论的改变, 即存在于细胞中的基因而非外来基因可以引起癌症. 作为一种原癌基因酪氨酸蛋白激酶, SRC蛋白属于11个激酶成员的SRC家族[13,14]. 该家族成员在肿瘤细胞的增殖、迁移、粘附、侵袭和血管生成等多种信号传导途径中发挥重要作用. 在细胞外信号刺激下, SRC被激活后可诱发核因子及其转录程序的激活; 也可以与具有多种功能的蛋白质相互作用, 如参与细胞骨架重组的蛋白. SRC、YES和FYN是肿瘤细胞普遍表达的三个成员, 它们的激活或失调与多种实体瘤的发生和转移相关[14,15]. 由于在癌症发生发展中起关键作用, SRC成为研发抗癌药物的分子靶点. 当前已有几十种小分子物质被发现具有抑制SRC的活性[16]. 在细胞和动物实验中, 包括达沙替尼(dasatinib)、博舒替尼(bosutinib)和塞卡替尼(saracatinib)在内的多种SRC抑制剂显示出有效的抗肿瘤活性[17-19]. SRC抑制剂已成为癌症研究和药物研发的热点. 根据美国临床试验数据库(ClinicalTrials.gov)的信息, 到目前为止仅达沙替尼就有上百个临床试验已经开展或在进行中.

2 SRC在PC发生发展中的作用和调控机制

SRC在超过70%的临床PC组织中呈高表达或高活性状态, 通过多种机制参与调控PC细胞的增殖、浸润、转移及肿瘤血管生成[20-22]. 例如, SRC上调胰岛素样生长因子1(insulin like growth factor 1, IGF-1)的表达, 促进IGF1-1依赖的PC细胞增殖[23]. 使用siRNA沉默SRC基因通过抑制磷酸化蛋白激酶B、P38丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinases, MAPKs)和细胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase1/2, ERK1/2)的活性, 抑制PC细胞的增殖和转移[24,25]. SRC与RAS协同作用导致基因组的不稳定, 促进PC的发生, 敲除SRC可以抑制由RAS驱动的肿瘤生长[22]. KRAS也可以诱导SRC、PEAK1和ERB-B2组成的激酶扩增环路, 驱动PC细胞的增殖和转移; 但抑制ERB2却增加了SRC依赖的PEAK1的表达以及PEAK1依赖的SRC激活[26].

SRC的激活受多种因素的调节. 天冬氨酸β羟化酶与ADAM12/ADAM15结合可激活SRC信号通路, 促进PC的发展和转移[27]. S100A4蛋白可促进SRC和粘着斑激酶(focal adhesion kinase, FAK)的激活, 抑制S100A4蛋白表达可抑制SRC的磷酸化和PC的侵袭、转移以及血管生成[28]. 另外, 肿瘤缺氧微环境及肿瘤微环境中的炎性细胞因子均可激活SRC, 并参与细胞间的通讯[17,29].

SRC被激活后可以调控下游的一系列信号通路和分子. SRC促进信号传导与转录激活子3(signal transducers and activators of transcription 3, STAT3)的磷酸化[30]. 尽管SRC与JAK之间无相互调控作用, 但二者可以联合促进STAT3的磷酸化[31]. STAT3的磷酸化是PC化学耐药性的关键因素[32]. 靶向抑制SRC可以抑制STAT3介导的信号通路, 促进吉西他滨的抗PC效果[33]. SRC在PC细胞核内与STAT3和表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)组成复合体, 与原癌基因c-Myc结合并促进其转录功能; 同时 SRC可直接磷酸化EGFR介导EGFR的反式激活[34]. EGFR激活的失控是导致PC进展和预后不良的主要因素之一[35]. PC细胞中血小板衍生生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF)和SRC的共表达可以诱发WNT/β-catenin信号通路关键分子的突变, 从而导致PC的复发[36]. SRC还可以与P300结合, 促进P300酪氨酸磷酸化, 与高迁移率族蛋白A2(high-mobility group protein A2, HMGA2)和组蛋白甲基转移酶SMYD3(SET and MYND domain-containing protein 3)启动子结合, 上调其表达, 进而促进PC细胞的迁移[37]. SRC的持续激活可导致使DNA甲基转移酶1相关蛋白(DNA methyltransferase 1-associated protein, Dmap1)在Tyr 246位点发生磷酸化, 阻止DMAP1和有丝分裂检查点蛋白BUB3的相互结合, 抑制DMAP1/Bub3的促DNA甲基化作用, 进而促进PC细胞的增殖和对化疗药物的耐受[38].

3 抗PC SRC抑制剂的研发进展

基于缺乏有效靶向治疗药物和PC普遍存在SRC高表达或高活性的现实, 加上大量研究发现SRC参与调控PC细胞的多种恶性生物学行为, SRC被认为是研发治疗PC药物最有希望的分子靶点之一, SRC抑制剂也成为抗PC药物的重点筛选对象.

3.1 达沙替尼 达沙替尼是研究最多的抗PC SRC抑制剂, 它通过竞争性与三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)位点结合抑制SRC和Abl激酶的活性. 2017年, 达沙替尼被FDA批准用于费城染色体阳性(Ph+)慢性粒细胞白血病的临床治疗. 大量临床前研究发现, 达沙替尼可通过多种通路抑制PC细胞增殖、粘附、迁移、侵袭和转移[20-22]. 达沙替尼还可以下调上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)转录因子SLUG的转录降低, 上调标志蛋白E-钙粘素的转录和翻译, 进而抑制PC细胞的EMT[39]. 然而, 在PC临床试验中, 达沙替尼未能取得如治疗其他类型癌症(如白血病)的效果[40].

3.2 塞卡替尼 与达沙替尼一样, 塞卡替尼具有选择性抑制SRC和Abl激酶的双重活性. 动物实验中, 塞卡替尼可以降低FAK和STAT3信号传导有效抑制PC移植瘤的生长[41]. 然而, 二期临床试验表明, 塞卡替尼并不能改善PC患者的生存期, 并且生物标志物阳性(LRRC19>IGFBP2和PIK3CA突变)患者的频率<3%[42].

3.3 博舒替尼 博舒替尼是一种双重SRC/Abl抑制剂, 已被批准用于费城染色体阳性慢性粒细胞白血病的治疗. 在临床试验中, 博舒替尼显示出比伊马替尼更好的疗效, 尽管服用博舒替尼后患者胃肠道反应更多[43]. 博舒替尼在动物实验中显著抑制PC移植瘤的生长并且抑制STAT3信号传导[44]. 目前, 尚未有博舒替尼治疗PC的临床试验研究报告.

3.4 PP2 PP2是一种ATP竞争性的SRC家族抑制剂. 研究发现PP2具有多方面的抗PC活性. PP2可抑制SRC磷酸化进而下调白介素-8的表达, 抑制PC肿瘤血管生成, 这种抑制作用与ERK1/2和P38 MAPK通路相关[24]. PP2可以抑制PC淋巴管生成, 进而抑制PC的转移[45]. PP2通过抑制转化生长因子β(transforming growth factor-β, TGF-β)受体的功能, 抑制TGF-β介导的信号通路[46]. PP2还可以减少PC干细胞的自我更新以及成瘤性[47]. PP2下调核糖核酸还原酶M2(ribonucleotide reductase M2, RRM2)的表达, 进而降低RRM2调节的转录因子E2F1的活性, 逆转PC的吉西他滨耐药[48]. 然而, 也有研究发现, PP2可抑制PC PK-9和MIA PaCa-2细胞中吉西他滨的抗

肿瘤活性[49], 说明PP2抑制SRC曾敏吉西他滨的效果可能具有细胞依赖性.

3.5 其他SRC抑制剂 CCT3833在KRAS突变的PC中具有显著的抗癌活性, 说明SRC可能是KRAS突变驱动PC的关键治疗靶点[50]. AZM475271通过降低促癌信号TGF-β1的激活, 抑制PC细胞的增殖和转移[51]. KX2-391可以降低PC患者血液中肿瘤标志物CA-199的水平(从38838 U/mL降至267 U/mL)[52]. Oblongifolin C通过泛素-蛋白酶体系统降解SRC, 进而抑制MAPK/ERK信号通路, 提高吉西他滨耐药PC细胞的敏感性, 引起细胞在G0/G1期阻滞, 抑制PC的生长[53].

3.6 多激酶抑制剂 除上述选择性SRC抑制剂外, 一些多激酶抑制剂也具有抑制SRC的活性和抗PC潜力. 例如, 多激酶抑制剂LY-1816可以抑制SRC, 进而抑制PC细胞的增殖、侵袭和迁移; 在动物实验中, LY-1816表现出比达沙替尼和吉西他滨更强的抗癌活性[54]. 新型多激酶抑制剂SKLB261可有效抑制SRC激酶的活性, 抑制PC细胞的增殖、迁移、侵袭并诱导细胞凋亡; 在PC异种移植瘤模型中显示出强大抗血管生成作用, 并且展示出强于达沙替尼、厄洛替尼或吉西他滨的抗肿瘤活性[55].

3.7 SRC抑制剂和其他药物的联合应用 到目前为止, 还没有一种SRC抑制剂在临床试验中被证实具有显著的抗PC活性, 部分原因是由于药物耐受性差, PC基因不稳定对单一药物具有高度适应性迅速产生耐药可能是主要原因[44]. 因此, 联合应用SRC抑制剂与其他药物的治疗策略在科学上更合理, 这样可以增强抗肿瘤功效, 同时最小化固有和获得性耐药性[48,56].

达沙替尼、厄洛替尼和吉西他滨的组合在临床前研究中展示出显著的协同作用, 有效抑制了PC细胞的增殖和移植肿瘤的生长[32]. 达沙替尼可以抑制奥沙利铂诱导的SRC活化, 进而提高奥沙利铂的抗癌活性[57]. MCL-1(myeloid cell leukemia-1)拮抗剂S63845与达沙替尼协同抑制PDAC细胞的增殖和转移[58]. PP2与氟尿嘧啶联合后, 显著降低氟尿嘧啶引起的EGFR/AKT通路的激活, 减少对氟尿嘧啶的化疗抵抗性, 抑制PC细胞的增殖和转移[56]. AZM475271显著提高了吉西他滨的抗肿瘤作用[21]. 然而, 临床试验结果同样让人失望, 达沙替尼和吉西他滨联合治疗晚期PC的临床试验并没有发现达沙替尼可以提高吉西他滨的疗效, 而且因为联合应用毒副作用叠加[59]. 同样, 塞卡替尼与吉西他滨联合使用也未发现可提高吉西他滨的抗癌效果[60].

在对其他实体瘤包括黑素瘤、肉瘤、结肠癌和乳腺癌等的研究发现, 达沙替尼等SRC抑制剂具有很强的免疫调节功能[61], 提示SRC抑制剂可能是免疫疗法的辅助手段. 当前有一项正在进行的II期临床试验正在评估达沙替尼和抗PD-1治疗药物nivolumab组合(NCT02750514)对非小细胞肺癌的治疗作用. 当前, 尚无针对PC的这方面研究报道. PC免疫抑制性微环境是导致免疫治疗效果不理想的重要因素[62], 因此, 有必要开展包括达沙替尼在内的SRC抑制剂和免疫疗法协同作用的研究.

4 结论和展望

PC对药物的耐受是导致治疗效果差的主要原因之一. SRC在超过70%的PC中高表达, 参与调控细胞增殖和转移等信号通路, 是研发靶向药物的重要分子靶点. 尽管在临床前研究中, 多种SRC抑制剂展现出明显的抗PC效果, 但是临床试验并未取得预期结果. 至今尚无一种SRC抑制剂或SRC抑制剂与其他药物联合用药方案被批准用于临床胰腺癌治疗.

针对靶向SRC治疗PC存在的问题, 作者认为可从如下四个方面入手进一步研究. 首先, 尽管临床试验中达沙替尼没有能够提高总体生存期, 但一些PC对达沙替尼表现出持久而稳定的药物反应[40]. 众所周知, PC具有高度异质性[63]. 当前针对SRC抑制剂的PC临床试验未均根据肿瘤分子标志物对患者进行预筛选. 如果能够按照精准医学的原则首先把PC患者细分为不同的亚群, 使治疗药物更有针对性于特定人群, 可提高药物的准确性, 而且避免因选用无效药物而导致的额外费用和毒副作用[64]. 其次, 免疫治疗被认为是当今最有前途的癌症治疗方法, 如果能将SRC抑制剂与免疫治疗结合起来, 无疑是有潜力的治疗策略; 同时可有效解决因免疫抑制性微环境导致的PC免疫治疗效果不理想的问题[62]. 再次, 现有的SRC抑制剂除抑制SRC活性外, 还可以靶向其他激酶, 脱靶(off-target)效应既可导致其疗效欠佳, 也是毒副作用较大的原因. 因此, 需要研发具有更高选择性和更高活性的SRC抑制剂. 最后, 利用单细胞测序、组学技术、生物信息学与大数据分析对复杂的SRC调控网络进一步研究, 可为精准医学和靶向药物的研发提供理论基础. 总之, PC对化疗药物高度耐受, 寻找有效的治疗药物是迫在眉睫的难题. SRC在PC中普遍高表达, 参与多种PC细胞恶性生物学行为的调控; SRC抑制剂在其他恶性肿瘤的临床治疗中取得突破性进展. 因此, SRC无疑是调控PC的重要分子靶点, SRC抑制剂药物的进一步精准研发和临床研究的科学设计可为PC的药物治疗带来突破.

5 参考文献

1 Mizrahi JD, Surana R, Valle JW, Shroff RT. Pancreatic cancer. *Lancet* 2020; 395: 2008-2020 [PMID: 32593337 DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30974-0]

2 Jia X, Du P, Wu K, Xu Z, Fang J, Xu X, Lin K. Pancreatic Cancer Mortality in China: Characteristics and Prediction. *Pancreas* 2018; 47: 233-237 [PMID: 29303909 DOI: 10.1097/mpa.0000000000000976]
3 Chen W, Zheng R, Zhang S, Zeng H, Zuo T, Xia C, Yang Z, He J. Cancer incidence and mortality in China in 2013: an analysis based on urbanization level. *Chin J Cancer Res* 2017; 29: 1-10 [PMID: 28373748 DOI: 10.21147/j.issn.1000-9604.2017.01.01]
4 Grossberg AJ, Chu LC, Deig CR, Fishman EK, Hwang WL, Maitra A, Marks DL, Mehta A, Nabavizadeh N, Simeone DM, Weekes CD, Thomas CR Jr. Multidisciplinary standards of care and recent progress in pancreatic ductal adenocarcinoma. *CA Cancer J Clin* 2020; 70: 375-403 [PMID: 32683683 DOI: 10.3322/caac.21626]
5 Cives M, Strosberg JR. Gastroenteropancreatic Neuroendocrine Tumors. *CA Cancer J Clin* 2018; 68: 471-487 [PMID: 30295930 DOI: 10.3322/caac.21493]
6 Chin V, Nagrial A, Sjoquist K, O'Connor CA, Chantrill L, Biankin AV, Scholten RJ, Yip D. Chemotherapy and radiotherapy for advanced pancreatic cancer. *Cochrane Database Syst Rev* 2018; 3: CD011044 [PMID: 29557103 DOI: 10.1002/14651858.CD011044.pub2]
7 Philip PA, Lacy J, Portales F, Sobrero A, Pazo-Cid R, Manzano Mozo JL, Kim EJ, Dowden S, Zakari A, Borg C, Terrebonne E, Rivera F, Sastre J, Bathini V, López-Trabada D, Asselah J, Saif MW, Shiansong Li J, Ong TJ, Nydam T, Hammel P. Nab-paclitaxel plus gemcitabine in patients with locally advanced pancreatic cancer (LAPACT): a multicentre, open-label phase 2 study. *Lancet Gastroenterol Hepatol* 2020; 5: 285-294 [PMID: 31953079 DOI: 10.1016/s2468-1253(19)30327-9]
8 Robert C. A decade of immune-checkpoint inhibitors in cancer therapy. *Nat Commun* 2020; 11: 3801 [PMID: 32732879 DOI: 10.1038/s41467-020-17670-y]
9 Henriksen A, Dyhl-Polk A, Chen I, Nielsen D. Checkpoint inhibitors in pancreatic cancer. *Cancer Treat Rev* 2019; 78: 17-30 [PMID: 31325788 DOI: 10.1016/j.ctrv.2019.06.005]
10 Lemery S, Keegan P, Pazdur R. First FDA Approval Agnostic of Cancer Site - When a Biomarker Defines the Indication. *N Engl J Med* 2017; 377: 1409-1412 [PMID: 29020592 DOI: 10.1056/NEJMp1709968]
11 Stehelin D, Fujita DJ, Padgett T, Varmus HE, Bishop JM. Detection and enumeration of transformation-defective strains of avian sarcoma virus with molecular hybridization. *Virology* 1977; 76: 675-684 [PMID: 190771 DOI: 10.1016/0042-6822(77)90250-1]
12 Oppermann H, Levinson AD, Varmus HE, Levintow L, Bishop JM. Uninfected vertebrate cells contain a protein that is closely related to the product of the avian sarcoma virus transforming gene (src). *Proc Natl Acad Sci USA* 1979; 76: 1804-1808 [PMID: 221907 DOI: 10.1073/pnas.76.4.1804]
13 Kim LC, Song L, Haura EB. Src kinases as therapeutic targets for cancer. *Nat Rev Clin Oncol* 2009; 6: 587-595 [PMID: 19787002 DOI: 10.1038/nrclinonc.2009.129]
14 Martellucci S, Clementi L, Sabetta S, Mattei V, Botta L, Angelucci A. Src Family Kinases as Therapeutic Targets in Advanced Solid Tumors: What We Have Learned so Far. *Cancers (Basel)* 2020; 12 [PMID: 32498343 DOI: 10.3390/cancers12061448]
15 Stein PL, Vogel H, Soriano P. Combined deficiencies of Src, Fyn, and Yes tyrosine kinases in mutant mice. *Genes Dev* 1994; 8: 1999-2007 [PMID: 7958873 DOI: 10.1101/gad.8.17.1999]
16 Parkin A, Man J, Timpson P, Pajic M. Targeting the complexity of Src signalling in the tumour microenvironment of pancreatic cancer: from mechanism to therapy. *FEBS J* 2019; 286: 3510-3539 [PMID: 31330086 DOI: 10.1111/febs.15011]
17 Liu ST, Pham H, Pandol SJ, Ptasznik A. Src as the link between inflammation and cancer. *Front Physiol* 2013; 4: 416 [PMID: 24474940 DOI: 10.3389/fphys.2013.00416]
18 Aleshin A, Finn RS. SRC: a century of science brought to the clinic. *Neoplasia* 2010; 12: 599-607 [PMID: 20689754 DOI: 10.1593/neo.10328]
19 George TJ Jr, Trevino JG, Liu C. Src inhibition is still a relevant target in pancreatic cancer. *Oncologist* 2014; 19: 211 [PMID: 24457377 DOI: 10.1634/theoncologist.2013-0410]
20 Morton JP, Karim SA, Graham K, Timpson P, Jamieson N, Athineos D, Doyle B, McKay C, Heung MY, Oien KA, Frame MC, Evans TR, Sansom OJ, Brunton VG. Dasatinib inhibits the development of metastases in a mouse model of pancreatic ductal adenocarcinoma. *Gastroenterology* 2010; 139: 292-303 [PMID: 20303350 DOI: 10.1053/j.gastro.2010.03.034]
21 Yezhelyev MV, Koehl G, Guba M, Brabletz T, Jauch KW, Ryan A, Barge A, Green T, Fennell M, Bruns CJ. Inhibition of SRC tyrosine kinase as treatment for human pancreatic cancer growing orthotopically in nude mice. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 8028-8036 [PMID: 15585638 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-04-0621]
22 Shields DJ, Murphy EA, Desgrosellier JS, Mielgo A, Lau SK, Barnes LA, Lesperance J, Huang M, Schmedt C, Tarin D, Lowy AM, Cheresh DA. Oncogenic Ras/Src cooperativity in pancreatic neoplasia. *Oncogene* 2011; 30: 2123-2134 [PMID: 21242978 DOI: 10.1038/onc.2010.589]
23 Flossmann-Kast BB, Jehle PM, Hoeflich A, Adler G, Lutz MP. Src stimulates insulin-like growth factor I (IGF-I)-dependent cell proliferation by increasing IGF-I receptor number in human pancreatic carcinoma cells. *Cancer Res* 1998; 58: 3551-3554 [PMID: 9721859]
24 Trevino JG, Summy JM, Gray MJ, Nilsson MB, Lesslie DP, Baker CH, Gallick GE. Expression and activity of SRC regulate interleukin-8 expression in pancreatic adenocarcinoma cells: implications for angiogenesis. *Cancer Res* 2005; 65: 7214-7222 [PMID: 16103072 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-04-3858]
25 Choi YD, Jung JY, Baek M, Khan S, Song PI, Ryu S, Koo JY, Chauhan SC, Tsin A, Choi C, Kim WJ, Kim M. APE1 Promotes Pancreatic Cancer Proliferation through GFRα1/Src/ERK Axis-Cascade Signaling in Response to GDNF. *Int J Mol Sci* 2020; 21 [PMID: 32438692 DOI: 10.3390/ijms21103586]
26 Kelber JA, Reno T, Kaushal S, Metildi C, Wright T, Stoletov K, Weems JM, Park FD, Mose E, Wang Y, Hoffman RM, Lowy AM, Bouvet M, Klemke RL. KRas induces a Src/PEAK1/ErbB2 kinase amplification loop that drives metastatic growth and therapy resistance in pancreatic cancer. *Cancer Res* 2012; 72: 2554-2564 [PMID: 22589274 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-11-3552]
27 Ogawa K, Lin Q, Li L, Bai X, Chen X, Chen H, Kong R, Wang Y, Zhu H, He F, Xu Q, Liu L, Li M, Zhang S, Nagaoka K, Carlson R, Safran H, Charpentier K, Sun B, Wands J, Dong X. Aspartate β-hydroxylase promotes pancreatic ductal adenocarcinoma metastasis through activation of SRC signaling pathway. *J Hematol Oncol* 2019; 12: 144 [PMID: 31888763 DOI: 10.1186/s13045-019-0837-z]
28 Che P, Yang Y, Han X, Hu M, Sellers JC, Londono-Joshi AI, Cai GQ, Buchsbaum DJ, Christein JD, Tang Q, Chen D, Li Q, Grizzle WE, Lu YY, Ding Q. S100A4 promotes pancreatic cancer progression through a dual signaling pathway mediated by Src and focal adhesion kinase. *Sci Rep* 2015; 5: 8453 [PMID: 25677816 DOI: 10.1038/srep08453]
29 Pham NA, Magalhaes JM, Do T, Schwock J, Dhani N, Cao PJ, Hill RP, Hedley DW. Activation of Src and Src-associated signaling pathways in relation to hypoxia in human cancer xenograft models. *Int J Cancer* 2009; 124: 280-286 [PMID: 18924149 DOI: 10.1002/ijc.23912]
30 Cao X, Tay A, Guy GR, Tan YH. Activation and association of

Stat3 with Src in v-Src-transformed cell lines. *Mol Cell Biol* 1996; 16: 1595-1603 [PMID: 8657134 DOI: 10.1128/mcb.16.4.1595]
31 Rane SG, Reddy EP. JAKs, STATs and Src kinases in hematopoiesis. *Oncogene* 2002; 21: 3334-3358 [PMID: 12032773 DOI: 10.1038/sj.onc.1205398]
32 Nagaraj NS, Washington MK, Merchant NB. Combined blockade of Src kinase and epidermal growth factor receptor with gemcitabine overcomes STAT3-mediated resistance of inhibition of pancreatic tumor growth. *Clin Cancer Res* 2011; 17: 483-493 [PMID: 21266529 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-10-1670]
33 Dosch AR, Dai X, Reyzer ML, Mehra S, Srinivasan S, Willobee BA, Kwon D, Kashikar N, Caprioli R, Merchant NB, Nagathihalli NS. Combined Src/EGFR Inhibition Targets STAT3 Signaling and Induces Stromal Remodeling to Improve Survival in Pancreatic Cancer. *Mol Cancer Res* 2020; 18: 623-631 [PMID: 31949002 DOI: 10.1158/1541-7786.MCR-19-0741]
34 Chen Z, Oh D, Dubey AK, Yao M, Yang B, Groves JT, Sheetz M. EGFR family and Src family kinase interactions: mechanics matters? *Curr Opin Cell Biol* 2018; 51: 97-102 [PMID: 29289897 DOI: 10.1016/j.ceb.2017.12.003]
35 Lemmon MA, Schlessinger J. Cell signaling by receptor tyrosine kinases. *Cell* 2010; 141: 1117-1134 [PMID: 20602996 DOI: 10.1016/j.cell.2010.06.011]
36 Kuo TL, Cheng KH, Shan YS, Chen LT, Hung WC. β-catenin-activated autocrine PDGF/Src signaling is a therapeutic target in pancreatic cancer. *Theranostics* 2019; 9: 324-336 [PMID: 30809277 DOI: 10.7150/thno.28201]
37 Paladino D, Yue P, Furuya H, Acoba J, Rosser CJ, Turkson J. A novel nuclear Src and p300 signaling axis controls migratory and invasive behavior in pancreatic cancer. *Oncotarget* 2016; 7: 7253-7267 [PMID: 26695438 DOI: 10.18632/oncotarget.6635]
38 Li J, Hu B, Wang T, Huang W, Ma C, Zhao Q, Zhuo L, Zhang T, Jiang Y. C-Src confers resistance to mitotic stress through inhibition DMAP1/Bub3 complex formation in pancreatic cancer. *Mol Cancer* 2018; 17: 174 [PMID: 30553276 DOI: 10.1186/s12943-018-0919-5]
39 Dosch AR, Dai X, Gaidarski Iii AA, Shi C, Castellanos JA, VanSaun MN, Merchant NB, Nagathihalli NS. Src kinase inhibition restores E-cadherin expression in dasatinib-sensitive pancreatic cancer cells. *Oncotarget* 2019; 10: 1056-1069 [PMID: 30800218 DOI: 10.18632/oncotarget.26621]
40 Chee CE, Krishnamurthi S, Nock CJ, Meropol NJ, Gibbons J, Fu P, Bokar J, Teston L, O'Brien T, Gudena V, Reese A, Bergman M, Saltzman J, Wright JJ, Dowlati A, Brell J. Phase II study of dasatinib (BMS-354825) in patients with metastatic adenocarcinoma of the pancreas. *Oncologist* 2013; 18: 1091-1092 [PMID: 24072218 DOI: 10.1634/theoncologist.2013-0255]
41 Rajeshkumar NV, Tan AC, De Oliveira E, Womack C, Wombwell H, Morgan S, Warren MV, Walker J, Green TP, Jimeno A, Messersmith WA, Hidalgo M. Antitumor effects and biomarkers of activity of AZD0530, a Src inhibitor, in pancreatic cancer. *Clin Cancer Res* 2009; 15: 4138-4146 [PMID: 19509160 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-08-3021]
42 Arcaroli J, Quackenbush K, Dasari A, Powell R, McManus M, Tan AC, Foster NR, Picus J, Wright J, Nallapareddy S, Erlichman C, Hidalgo M, Messersmith WA. Biomarker-driven trial in metastatic pancreas cancer: feasibility in a multicenter study of saracatinib, an oral Src inhibitor, in previously treated pancreatic cancer. *Cancer Med* 2012; 1: 207-217 [PMID: 23342270 DOI: 10.1002/cam4.27]
43 Cortes JE, Gambacorti-Passerini C, Deininger MW, Mauro MJ, Chuah C, Kim DW, Dyagil I, Glushko N, Milojkovic D, le Coutre P, Garcia-Gutierrez V, Reilly L, Jeynes-Ellis A, Leip E, Bardy-Bouxin N, Hochhaus A, Brümmendorf TH. Bosutinib Versus Imatinib for Newly Diagnosed Chronic Myeloid Leukemia: Results From the Randomized BFORE Trial. *J Clin Oncol* 2018; 36: 231-237 [PMID: 29091516 DOI: 10.1200/jco.2017.74.7162]
44 Messersmith WA, Rajeshkumar NV, Tan AC, Wang XF, Diesl V, Choe SE, Follettie M, Coughlin C, Boschelli F, Garcia-Garcia E, Lopez-Rios F, Jimeno A, Hidalgo M. Efficacy and pharmacodynamic effects of bosutinib (SKI-606), a Src/Abl inhibitor, in freshly generated human pancreas cancer xenografts. *Mol Cancer Ther* 2009; 8: 1484-1493 [PMID: 19509264 DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-09-0075]
45 Ischenko I, Seeliger H, Camaj P, Kleespies A, Guba M, Eichhorn ME, Jauch KW, Bruns CJ. Src tyrosine kinase inhibition suppresses lymphangiogenesis in vitro and in *vivo*. *Curr Cancer Drug Targets* 2010; 10: 546-553 [PMID: 20370688 DOI: 10.2174/156800910791517181]
46 Ungefroren H, Sebens S, Groth S, Gieseler F, Fändrich F. The Src family kinase inhibitors PP2 and PP1 block TGF-beta1-mediated cellular responses by direct and differential inhibition of type I and type II TGF-beta receptors. *Curr Cancer Drug Targets* 2011; 11: 524-535 [PMID: 21395548 DOI: 10.2174/156800911795538075]
47 Alcalá S, Mayoral-Varo V, Ruiz-Cañas L, López-Gil JC, Heeschen C, Martín-Pérez J, Sainz B Jr. Targeting SRC Kinase Signaling in Pancreatic Cancer Stem Cells. *Int J Mol Sci* 2020; 21 [PMID: 33050159 DOI: 10.3390/ijms21207437]
48 Duxbury MS, Ito H, Zinner MJ, Ashley SW, Whang EE. Inhibition of SRC tyrosine kinase impairs inherent and acquired gemcitabine resistance in human pancreatic adenocarcinoma cells. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 2307-2318 [PMID: 15073106 DOI: 10.1158/1078-0432.ccr-1183-3]
49 Ichihara N, Kubota Y, Kitanaka A, Tanaka T, Taminato T. Inhibition of Src reduces gemcitabine-induced cytotoxicity in human pancreatic cancer cell lines. *Cancer Lett* 2008; 260: 155-162 [PMID: 18078709 DOI: 10.1016/j.canlet.2007.10.035]
50 Saturno G, Lopes F, Niculescu-Duvaz I, Niculescu-Duvaz D, Zambon A, Davies L, Johnson L, Preece N, Lee R, Viros A, Holovanchuk D, Pedersen M, McLeary R, Lorigan P, Dhomen N, Fisher C, Banerji U, Dean E, Krebs MG, Gore M, Larkin J, Marais R, Springer C. The paradox-breaking panRAF plus SRC family kinase inhibitor, CCT3833, is effective in mutant KRAS-driven cancers. *Ann Oncol* 2021; 32: 269-278 [PMID: 33130216 DOI: 10.1016/j.annonc.2020.10.483]
51 Bartscht T, Rosien B, Rades D, Kaufmann R, Biersack H, Lehnert H, Ungefroren H. TGF-β Signal Transduction in Pancreatic Carcinoma Cells is Sensitive to Inhibition by the Src Tyrosine Kinase Inhibitor AZM475271. *Anticancer Agents Med Chem* 2017; 17: 966-972 [PMID: 27671303 DOI: 10.2174/1871520616666160926110513]
52 Naing A, Cohen R, Dy GK, Hong DS, Dyster L, Hangauer DG, Kwan R, Fetterly G, Kurzrock R, Adjei AA. A phase I trial of KX2-391, a novel non-ATP competitive substrate-pocket-directed SRC inhibitor, in patients with advanced malignancies. *Invest New Drugs* 2013; 31: 967-973 [PMID: 23361621 DOI: 10.1007/s10637-013-9929-8]
53 Li Y, Xi Z, Chen X, Cai S, Liang C, Wang Z, Li Y, Tan H, Lao Y, Xu H. Natural compound Oblongifolin C confers gemcitabine resistance in pancreatic cancer by downregulating Src/MAPK/ERK pathways. *Cell Death Dis* 2018; 9: 538 [PMID: 29749405 DOI: 10.1038/s41419-018-0574-1]
54 Yang W, Meng L, Chen K, Tian C, Peng B, Zhong L, Zhang C, Yang X, Zou J, Yang S, Li L. Preclinical pharmacodynamic evaluation of a new Src/FOSL1 inhibitor, LY-1816, in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Cancer Sci* 2019; 110: 1408-1419 [PMID: 30618127 DOI: 10.1111/cas.13929]
55 Pan Y, Zheng M, Zhong L, Yang J, Zhou S, Qin Y, Xiang R, Chen Y, Yang SY. A preclinical evaluation of SKLB261, a

multikinase inhibitor of EGFR/Src/VEGFR2, as a therapeutic agent against pancreatic cancer. *Mol Cancer Ther* 2015; 14: 407-418 [PMID: 25519702 DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-14-0485]

56 Ischenko I, Camaj P, Seeliger H, Kleespies A, Guba M, De Toni EN, Schwarz B, Graeb C, Eichhorn ME, Jauch KW, Bruns CJ. Inhibition of Src tyrosine kinase reverts chemoresistance toward 5-fluorouracil in human pancreatic carcinoma cells: an involvement of epidermal growth factor receptor signaling. *Oncogene* 2008; 27: 7212-7222 [PMID: 18794807 DOI: 10.1038/onc.2008.326]

57 Kopetz S, Lesslie DP, Dallas NA, Park SI, Johnson M, Parikh NU, Kim MP, Abbruzzese JL, Ellis LM, Chandra J, Gallick GE. Synergistic activity of the SRC family kinase inhibitor dasatinib and oxaliplatin in colon carcinoma cells is mediated by oxidative stress. *Cancer Res* 2009; 69: 3842-3849 [PMID: 19383922 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-2246]

58 Castillo L, Young AIJ, Mawson A, Schafranek P, Steinmann AM, Nessem D, Parkin A, Johns A, Chou A, Law AMK, Lucas MC, Murphy KJ, Deng N, Gallego-Ortega D, Caldon CE; Australian Pancreatic Cancer Genome Initiative (APGI), Timpson P, Pajic M, Ormandy CJ, Oakes SR. MCL-1 antagonism enhances the anti-invasive effects of dasatinib in pancreatic adenocarcinoma. *Oncogene* 2020; 39: 1821-1829 [PMID: 31735913 DOI: 10.1038/s41388-019-1091-0]

59 Evans TRJ, Van Cutsem E, Moore MJ, Bazin IS, Rosemurgy A, Bodoky G, Deplanque G, Harrison M, Melichar B, Pezet D, Elekes A, Rock E, Lin C, Strauss L, O'Dwyer PJ. Phase 2 placebo-controlled, double-blind trial of dasatinib added to gemcitabine for patients with locally-advanced pancreatic cancer. *Ann Oncol* 2017; 28: 354-361 [PMID: 27998964 DOI: 10.1093/annonc/mdw607]

60 Renouf DJ, Moore MJ, Hedley D, Gill S, Jonker D, Chen E, Walde D, Goel R, Southwood B, Gauthier I, Walsh W, McIntosh L, Seymour L. A phase I/II study of the Src inhibitor saracatinib (AZD0530) in combination with gemcitabine in advanced pancreatic cancer. *Invest New Drugs* 2012; 30: 779-786 [PMID: 21170669 DOI: 10.1007/s10637-010-9611-3]

61 Hekim C, Ilander M, Yan J, Michaud E, Smykla R, Vähä-Koskela M, Savola P, Tähtinen S, Saikko L, Hemminki A, Kovanen PE, Porkka K, Lee FY, Mustjoki S. Dasatinib Changes Immune Cell Profiles Concomitant with Reduced Tumor Growth in Several Murine Solid Tumor Models. *Cancer Immunol Res* 2017; 5: 157-169 [PMID: 28073775 DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-16-0061-T]

62 Wu AA, Jaffee E, Lee V. Current Status of Immunotherapies for Treating Pancreatic Cancer. *Curr Oncol Rep* 2019; 21: 60 [PMID: 31101991 DOI: 10.1007/s11912-019-0811-5]

63 Bailey P, Chang DK, Nones K, Johns AL, Patch AM, Gingras MC, Miller DK, Christ AN, Bruxner TJ, Quinn MC, Nourse C, Murtaugh LC, Harliwong I, Idrisoglu S, Manning S, Nourbakhsh E, Wani S, Fink L, Holmes O, Chin V, Anderson MJ, Kazakoff S, Leonard C, Newell F, Waddell N, Wood S, Xu Q, Wilson PJ, Cloonan N, Kassahn KS, Taylor D, Quek K, Robertson A, Pantano L, Mincarelli L, Sanchez LN, Evers L, Wu J, Pinese M, Cowley MJ, Jones MD, Colvin EK, Nagrial AM, Humphrey ES, Chantrill LA, Mawson A, Humphris J, Chou A, Pajic M, Scarlett CJ, Pinho AV, Giry-Laterriere M, Rooman I, Samra JS, Kench JG, Lovell JA, Merrett ND, Toon CW, Epari K, Nguyen NQ, Barbour A, Zeps N, Moran-Jones K, Jamieson NB, Graham JS, Duthie F, Oien K, Hair J, Grützmann R, Maitra A, Iacobuzio-Donahue CA, Wolfgang CL, Morgan RA, Lawlor RT, Corbo V, Bassi C, Rusev B, Capelli P, Salvia R, Tortora G, Mukhopadhyay D, Petersen GM; Australian Pancreatic Cancer Genome Initiative, Munzy DM, Fisher WE, Karim SA, Eshleman JR, Hruban RH, Pilarsky C, Morton JP, Sansom OJ, Scarpa A, Musgrove EA, Bailey UM, Hofmann O, Sutherland RL, Wheeler DA, Gill AJ, Gibbs RA, Pearson JV, Waddell N, Biankin AV, Grimmond SM. Genomic analyses identify molecular subtypes of pancreatic cancer. *Nature* 2016; 531: 47-52 [PMID: 26909576 DOI: 10.1038/nature16965]

64 Ashley EA. Towards precision medicine. *Nat Rev Genet* 2016; 17: 507-522 [PMID: 27528417 DOI: 10.1038/nrg.2016.86]

科学编辑: 刘继红 制作编辑: 张砚梁



WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: https://www.baishideng.com

世界华人消化杂志 2021年6月28日; 29(12): 628-632

DOI: 10.11569/wcjd.v29.i12.628

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

述评 EDITORIAL

“互联网+”时代背景下炎症性肠病患者的心理问题及干预研究述评

赵月月, 张 丽, 杨亚新, 郝 娜, 王斌斌, 刘艳芳

赵月月, 张丽, 杨亚新, 郑州大学第二附属医院护理部 河南省郑州市 450014

郝娜, 王斌斌, 刘艳芳, 郑州大学第二附属医院消化内科 河南省郑州市 450014

赵月月, 研究生在读, 研究方向为内科护理和护理管理.

基金项目: 2019年河南省医学科技攻关计划联合共建项目, No.LHGJ20190311; 2020年河南省医学科技攻关计划联合共建项目, No.LHGJ20200411.

作者贡献分布: 本文综述由张丽设计; 写作由赵月月完成; 文献查阅由杨亚新, 郝娜, 王斌斌、刘艳芳完成.

通讯作者: 张丽, 副教授, 副主任护师, 450014, 河南省郑州市经八路2号, 郑州大学第二附属医院消化内科. 1297786304@qq.com

收稿日期: 2021-02-22
修回日期: 2021-04-12
接受日期: 2021-05-11
在线出版日期: 2021-06-28

Psychological problems and intervention studies of patients with inflammatory bowel disease in the “Internet +” era: A review

Yue-Yue Zhao, Li Zhang, Ya-Xin Yang, Na Hao, Bin-Bin Wang, Yan-Fang Liu

Yue-Yue Zhao, Li Zhang, Ya-Xin Yang, Nursing Department, The Second Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450014, Henan Province, China

Na Hao, Bin-Bin Wang, Yan-Fang Liu, Department of Gastroenterology, The Second Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450014, Henan Province, China

Supported by: The Joint Construction Project of Henan Province Medical Science and Technology Research Program in 2019, No. LHGJ20190311; Medical Science and Technology of Henan Province in 2020, No. LHGJ20200411.

Corresponding author: Li Zhang, Associate Professor, Deputy Chief Nurse, Department of Consumer Medicine, The Second Affiliated Hospital of Zhengzhou University, No. 2 Jingba Road, Zhengzhou 450014, Henan Province, China. 1297786304@qq.com

Received: 2021-02-22
Revised: 2021-04-12
Accepted: 2021-05-11
Published online: 2021-06-28

Abstract

Inflammatory bowel disease (IBD) is a kind of chronic nonspecific intestinal inflammatory disease. Although its pathogenesis is not yet clear, it has been confirmed that the occurrence, development, and outcome of IBD are closely related to psychological factors. This paper analyzes the psychological problems of patients with IBD and the status on psychological intervention in the “Internet +” era.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Inflammatory bowel disease; Internet+; Psychological problems; Psychological intervention; Review

Citation: Zhao YY, Zhang L, Yang YX, Hao N, Wang BB, Liu YF. Psychological problems and intervention studies of patients with inflammatory bowel disease in the “Internet +” era: A review. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2021; 29(12): 628-632
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i12/628.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i12.628

摘要

炎症性肠病(inflammatory bowel diseases, IBD)是一种慢性非特异性肠道炎症性疾病, 发病机理尚未清楚, 但目前已证实心理因素与IBD发生、发展和疾病结

局等密切相关. 本文就“互联网+”时代背景下IBD患者存在的心理问题和心理干预状况进行分析.

© **The Author(s) 2021.** Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 炎症性肠病; 互联网+; 心理问题; 心理干预; 述评

核心提要: 当前时代背景下, 炎症性肠病(inflammatory bowel diseases, IBD)患者焦虑、抑郁等心理问题较为突出, 科学规范的干预可有效缓解患者心理状况, 促进疾病的恢复, 降低疾病复发率. 基于“互联网+”心理干预可为IBD患者的心理干预途径提供新的研究方向.

文献来源: 赵月月, 张丽, 杨亚新, 郝娜, 王斌斌, 刘艳芳. “互联网+”时代背景下炎症性肠病患者的心理问题及干预研究述评. 世界华人消化杂志 2021; 29(12): 628-632

URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i12/628.htm

DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i12.628

0 引言

炎症性肠病(inflammatory bowel diseases, IBD)在世界范围内都是一种病因尚不明确、不可治愈的慢性非特异性肠道炎症性疾病, 包括溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)和克罗恩病(crohn's disease, CD)[1]. 近年来, 全球IBD的发病率呈逐年上升趋势, 其中美国和欧洲发病患者分别达到100万和250万[2]. 据调查显示我国2005-2014年IBD总病例数为35万, 预计至2025年IBD患者人数可达150万, 位列亚洲第一[3]. IBD反复性、致残性、不可预测性和不可治愈的特点, 导致IBD患者心理问题的发生率高于普通人群及其他慢性病患者, 严重影响了患者的生活质量[4]. 大量研究证实心理因素可影响IBD的发生、发展和疾病结局[5,6]. 但传统心理干预存在诸多局限性, 基于互联网技术的心理干预可以弥补传统线下实施的不足, 拓宽心理干预途径, 提高心理干预的疗效, 并有效降低医疗成本[7-10].

1 炎症性肠病患者的心理问题及其危害

1.1 炎症性肠病的心理问题 IBD发病率较高, 且好发于青壮年, 此阶段正处于个人事业发展和成家立业的人生关键时期, 因疾病特点而难以正常工作及承担家庭生活责任, 承受巨大的心理负担, 导致患者出现焦虑、抑郁和病耻感等心理问题; 此外, 疾病负担和经济损失可进一步加重患者的心理问题[11]. 除此之外, 由于疾病特点, 患者需要定期诊疗, 但目前全球疫情仍处于爆发阶段, 我国疫情控制良好但风险仍存在, 给IBD患者造成一定的就医困难, 无法及时掌握病情以及根据病情变化调整治疗, 进一步加重患者的不良情绪[12].

国外大量文献证实IBD患者的焦虑抑郁水平较高[13,14], Bannaga等[15]报道IBD疾病缓解期约有35%合并有抑郁或焦虑情绪, 活动期合并有抑郁情绪的患者高达60%, 焦虑情绪更高达80%. 同样, 国内研究调查显示IBD患者的焦虑发生率约为45%, 抑郁发生率约为60%[16]. 此外, 感知病耻感是IBD患者最常见的负性情绪之一, 指对感知疾病的贬低、歧视和羞耻感[17]. 国外研究表明[18], IBD患者的病耻感发生率可高达84%. 国内, 罗丹[19]等通过横断面调查研究IBD患者感知病耻感现状, 调查结果显示所有IBD患者均存在不同程度的感知病耻感. 其次, IBD无法治愈、不可预知的疾病特点、潜在的并发症和过重的治疗负担, 这些因素可导致IBD患者心理压力增加[20]. 除此之外, 还有疾病复发、手术、并发症和致残的可能性也会导致患者承受巨大的心理恐惧.

1.2 心理问题对IBD患者的危害 不良心理问题与疾病状态相互作用形成恶性循环, IBD的疾病状态可导致患者产生焦虑与抑郁等心理问题; 反之, 心理问题也会对患者产生巨大的影响. 研究表明焦虑和抑郁对IBD具有强大的诱发作用, 当机体长期处于紧张状态, 可增加血液中肾上腺皮质激素、胰高血糖素和催乳素含量, 并影响神经递质的转移和炎症介质的释放清除, 如白介素、肿瘤坏死因子等, 最终诱导肠道炎症[21]; 此外, Mikocka-Walus等[22]进行前瞻性队列研究结果显示伴有抑郁的IBD患者复发率、激素新使用率、肠瘘发生率、住院率以及手术风险更高; 除此之外, IBD的心理问题还可导致治疗依从性不佳、症状迁延不愈、药物疗效欠佳, 影响疾病预后, 给家庭、生活和社会等方面带来一定程度的负面影响[13].

2 在新时代背景下基于“互联网+”开展IBD患者心理干预的必要性

随着生物医学模式向生物心理社会医学模式的转变, 医护人员更加重视IBD患者的心理问题. 心理干预是慢性病患者综合护理的重要组成部分, 已被证明对慢性疼痛、心血管疾病等患者有效[23,24]. 尤其是在胃肠道疾病患者中效果显著, 在心理干预的支持下, 可以通过减轻压力来改善胃肠道疾病的管理, 从而提高患者生活质量和药物依从性[25]. 同样, 心理干预是IBD治疗过程中不可缺少的一部分, 研究发现心理干预可促进IBD患者的精神心理因素转归, 缓解患者心理压力, 减轻思想负担, 还可有效降低疾病的复发率[26]. Lores等[27]对IBD患者的心理干预研究显示经过12个月的心理干预, IBD患者的焦虑、抑郁水平和生活质量在干预和随访期间均有所改善, 并提出将心理干预纳入患者的日常管理. 但国内

外的IBD治疗中心并没有将心理干预纳入常规治疗中, 这是因为传统线下心理干预常采用面对面就诊, 需要花费大量人力物力, 此外, 时间和空间的限制也会造成诸多不便, 使患者参与积极性较低, 导致治疗依从性不高以及心理干预疗效不显著[28,29]; 此外, 全球疫情仍处于爆发阶段, 由于新冠肺炎的高传染性、防护及隔离措施的特点, 使得传统线下心理干预的手段施展困难, 患者的参与度大大降低.

为了解决上述问题, 结合互联网医疗技术, 提出了基于互联网的心理干预. 新兴的互联网医疗技术是利用移动电话、平板电脑、网络平台和可穿戴设备来改善健康的工具, 可通过视频软件、移动应用、可穿戴设备等信息交流技术, 在医患之间形成克服空间与时间障碍的信息交流, 达到教育、评估、诊疗等目的[30]. 基于互联网和移动的干预措施有助于提高心理干预的利用率, 因为它们易于访问, 可操作性高且成本低[31,32]. 研究表明基于互联网实施的心理干预可增加患者接受心理干预的途径, 提高患者治疗的积极性, 增加患者治疗依从性, 进而降低心理压力, 减轻患者的疾病负担[33,34].

3 “互联网+”时代背景下IBD患者心理干预现状及评析

随着社会的不断发展进步, 互联网医疗技术已经成为我们医护人员进行诊治和护理的媒介, 实现了社会资源与医疗资源的节约、整合及利用最大化, 弥补传统模式在院内尤其是院外管理中的不足, 在慢病长期管理方面具有独一无二的优势[35]. 同样, 基于互联网实施的心理干预在慢性病的心理护理管理中发挥着重要作用[34]. 目前国外已经开展基于互联网平台的心理干预, 研究证实基于互联网平台的心理干预可对焦虑抑郁等心理问题进行早期筛查, 动态了解患者的心理状况, 及时进行心理干预, 可使干预效果显著提升[26]. 前期, 我国针对心理问题的早期识别及干预尚处于初级阶段, 心理干预主要采取面对面沟通的传统方式, 在新型冠状肺炎疫情防控下传统方法并不适用, 疫情期间, 为了突破时间和空间的障碍进行远距离的诊断和访谈, 国内致力发展基于互联网的心理干预. 经过前期探索, 基于互联网的心理干预已经成为较为成熟有效的方式, 为IBD医护团队开展基于互联网的心理干预发挥了非常重要的作用.

国外的IBD心理干预互联网平台发展较为成熟, 其中使用范围最为广泛的是My IBD Coach, 此软件已经得到了广泛的推广和应用, 它能够对IBD患者进行持续监测, 并优化患者与卫生保健提供者之间的疾病知识和交流. 除了疾病活动、药物依从性和副作用外, 还可监测营养不良、吸烟、生活质量、疲乏、生活事件、工作参与、压力、焦虑和抑郁, 并为患者授权提供电子学习[36]. My IBD Coach以及其他IBD平台管理软件可显著改善患者心理状况、增加患者便利性并有效降低医疗成本[37,38]. 相对于国外而言, 我国目前IBD患者心理干预主要途径为电话、微信群、微信公众号和应用程序(Application, APP)等, IBD互联网心理干预平台尚处于起始阶段, 功能较为单一, 大多为评估型和提供信息型, 缺乏决策支持型和提醒型APP[39].

IBD医护团队可根据IBD疾病特点和患者心理状况搭建一个包含评估、知识更新、提醒和决策支持的综合型互联网心理服务平台, 实现语音、视频和直播等多种形式的医患互动. IBD医护团队通过互联网筛检IBD患者的心理问题, 并根据心理评分为IBD患者提供个性化的心理干预措施, 改善其心理状态, 进而提高患者的生活质量. 此外, 互联网心理干预平台还可为IBD心理团队提供共享课程、技术规范等指导, 提高心理咨询师的业务水平, 增加干预效果.

4 结论

IBD患者普遍存在焦虑与抑郁、压力和感知病耻感等心理问题; 同时, 精神心理问题会反作用于患者, 诱发IBD发生、促进疾病复发等, 给家庭和社会等方面带来一定程度的负性影响.

在新时代背景下, 基于“互联网+”的心理干预可弥补线下实施的不足, 拓宽患者心理干预途径, 提高心理干预疗效, 并有效降低医疗成本. 结合研究现状指出, 基于“互联网+”心理干预可为IBD患者心理干预途径提供新的研究方向.

5 参考文献

1 中华医学会消化病学分会炎症性肠病学组. 炎症性肠病诊断与治疗的共识意见(2018年, 北京). 中华消化杂志 2018; 38: 292-311 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-1432.2018.05.002]
2 Ng SC, Shi HY, Hamidi N, Underwood FE, Tang W, Benchimol EI, Panaccione R, Ghosh S, Wu JCY, Chan FKL, Sung JJY, Kaplan GG. Worldwide incidence and prevalence of inflammatory bowel disease in the 21st century: a systematic review of population-based studies. *Lancet* 2017; 390: 2769-2778 [PMID: 29050646 DOI: 10.1016/S0140-6736(17)32448-0]
3 Windsor JW, Kaplan GG. Evolving Epidemiology of IBD. *Curr Gastroenterol Rep* 2019; 21: 40 [PMID: 31338613 DOI: 10.1007/s11894-019-0705-6]
4 Mikocka-Walus A, Knowles SR, Keefer L, Graff L. Controversies Revisited: A Systematic Review of the Comorbidity of Depression and Anxiety with Inflammatory Bowel Diseases. *Inflamm Bowel Dis* 2016; 22: 752-762 [PMID: 26841224 DOI: 10.1097/MIB.0000000000000620]
5 Leone D, Menichetti J, Fiorino G, Vegni E. State of the art: psychotherapeutic interventions targeting the psychological factors involved in IBD. *Curr Drug Targets* 2014; 15: 1020-1029 [PMID: 24975400 DOI: 10.2174/1389450115666140627151702]
6 鞠静怡, 孙晓敏. 精神心理因素与炎症性肠病的关系. 胃肠病学 2020; 25: 183-186
7 McCombie A, Gearry R, Andrews J, Mulder R, Mikocka-Walus

A. Does Computerized Cognitive Behavioral Therapy Help People with Inflammatory Bowel Disease? A Randomized Controlled Trial. *Inflamm Bowel Dis* 2016; 22: 171-181 [PMID: 26360545 DOI: 10.1097/MIB.0000000000000567]
8 Jim HSL, Hyland KA, Nelson AM, Pinilla-Ibarz J, Sweet K, Gielissen M, Bulls H, Hoogland AI, Jacobsen PB, Knoop H. Internet-assisted cognitive behavioral intervention for targeted therapy-related fatigue in chronic myeloid leukemia: Results from a pilot randomized trial. *Cancer* 2020; 126: 174-180 [PMID: 31553815 DOI: 10.1002/cncr.32521]
9 Atema V, van Leeuwen M, Kieffer JM, Oldenburg HSA, van Beurden M, Hunter MS, Aaronson NK. Internet-based cognitive behavioral therapy aimed at alleviating treatment-induced menopausal symptoms in breast cancer survivors: Moderators and mediators of treatment effects. *Maturitas* 2020; 131: 8-13 [PMID: 31787152 DOI: 10.1016/j.maturitas.2019.09.007]
10 Zachariae R, Amidi A, Damholdt MF, Clausen CDR, Dahlgaard J, Lord H, Thorndike FP, Ritterband LM. Internet-Delivered Cognitive-Behavioral Therapy for Insomnia in Breast Cancer Survivors: A Randomized Controlled Trial. *J Natl Cancer Inst* 2018; 110: 880-887 [PMID: 29471478 DOI: 10.1093/jnci/djx293]
11 Roberts CM, Baudino MN, Gamwell KL, Edwards CS, Traino KA, Tung J, Grunow JE, Jacobs NJ, Mullins LL, Chaney JM. Illness Stigma, Worry, Intrusiveness, and Depressive Symptoms in Youth With Inflammatory Bowel Disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2021; 72: 404-409 [PMID: 32925549 DOI: 10.1097/MPG.0000000000002939]
12 吴蓉, 莫萍, 姜佳慧, 张彦秋, 文珍, 陈彬, 彭雪梅, 徐美华, 冷爱民. 新型冠状病毒肺炎疫情下炎症性肠病患者诊疗情况及心理状态问卷调查. 胃肠病学和肝病学杂志 2020; 29: 654-659
13 Byrne G, Rosenfeld G, Leung Y, Qian H, Raudzus J, Nunez C, Bressler B. Prevalence of Anxiety and Depression in Patients with Inflammatory Bowel Disease. *Can J Gastroenterol Hepatol* 2017; 2017: 6496727 [PMID: 29181373 DOI: 10.1155/2017/6496727]
14 Neuendorf R, Harding A, Stello N, Hanes D, Wahbeh H. Depression and anxiety in patients with Inflammatory Bowel Disease: A systematic review. *J Psychosom Res* 2016; 87: 70-80 [PMID: 27411754 DOI: 10.1016/j.jpsychores.2016.06.001]
15 Bannaga AS, Selinger CP. Inflammatory bowel disease and anxiety: links, risks, and challenges faced. *Clin Exp Gastroenterol* 2015; 8: 111-117 [PMID: 25848313 DOI: 10.2147/CEG.S57982]
16 胡义亭, 张建, 贾桂丛, 侯洪涛, 苏少慧, 白云, 王玉珍. 炎症性肠病患者焦虑、抑郁状态分析及其与生活质量的关系. 中国医药导报 2017; 14: 57-59
17 Scambler G. Stigma and disease: changing paradigms. *Lancet* 1998; 352: 1054-1055 [PMID: 9759769 DOI: 10.1016/S0140-6736(98)08068-4]
18 Taft TH, Keefer L, Leonhard C, Nealon-Woods M. Impact of perceived stigma on inflammatory bowel disease patient outcomes. *Inflamm Bowel Dis* 2009; 15: 1224-1232 [PMID: 19180581 DOI: 10.1002/ibd.20864]
19 罗丹, 林征, 卞秋桂, 徐诺, 王美峰. 炎症性肠病患者感知病耻感现状及其对生活质量、服药依从性和心理状态的影响. 中华护理杂志 2018; 53: 1078-1083 [DOI: 10.3761/j.issn.0254-1769.2018.09.012]
20 Zhang M, Hong L, Zhang T, Lin Y, Zheng S, Zhou X, Fan R, Wang Z, Zhang C, Zhong J. Illness perceptions and stress: mediators between disease severity and psychological well-being and quality of life among patients with Crohn's disease. *Patient Prefer Adherence* 2016; 10: 2387-2396 [PMID: 27920505 DOI: 10.2147/PPA.S118413]
21 Mayer EA, Tillisch K. The brain-gut axis in abdominal pain syndromes. *Annu Rev Med* 2011; 62: 381-396 [PMID: 21090962 DOI: 10.1146/annurev-med-012309-103958]
22 Mikocka-Walus A, Pittet V, Rossel JB, von Känel R; Swiss IBD Cohort Study Group. Symptoms of Depression and Anxiety Are Independently Associated With Clinical Recurrence of Inflammatory Bowel Disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2016; 14: 829-835.e1 [PMID: 26820402 DOI: 10.1016/j.cgh.2015.12.045]
23 Kohrt BA, Griffith JL, Patel V. Chronic pain and mental health: integrated solutions for global problems. *Pain* 2018; 159 Suppl 1: S85-S90 [PMID: 30113952 DOI: 10.1097/j.pain.0000000000001296]
24 Kubzansky LD, Huffman JC, Boehm JK, Hernandez R, Kim ES, Koga HK, Feig EH, Lloyd-Jones DM, Seligman MEP, Labarthe DR. Positive Psychological Well-Being and Cardiovascular Disease: JACC Health Promotion Series. *J Am Coll Cardiol* 2018; 72: 1382-1396 [PMID: 30213332 DOI: 10.1016/j.jacc.2018.07.042]
25 Tabibian A, Tabibian JH, Beckman LJ, Raffals LL, Papadakis KA, Kane SV. Predictors of health-related quality of life and adherence in Crohn's disease and ulcerative colitis: implications for clinical management. *Dig Dis Sci* 2015; 60: 1366-1374 [PMID: 25559754 DOI: 10.1007/s10620-014-3471-1]
26 McCombie AM, Mulder RT, Gearry RB. Psychotherapy for inflammatory bowel disease: a review and update. *J Crohns Colitis* 2013; 7: 935-949 [PMID: 23466412 DOI: 10.1016/j.crohns.2013.02.004]
27 Lores T, Goess C, Mikocka-Walus A, Collins KL, Burke ALJ, Chur-Hansen A, Delfabbro P, Andrews JM. Integrated Psychological Care is Needed, Welcomed and Effective in Ambulatory Inflammatory Bowel Disease Management: Evaluation of a New Initiative. *J Crohns Colitis* 2019; 13: 819-827 [PMID: 30721977 DOI: 10.1093/ecco-jcc/jjz026]
28 邹海. 移动互联网平台在急性冠脉综合征患者心理问题早期识别、预警及干预中的应用. 浙江中医药大学 2019
29 Mukhiya SK, Wake JD, Inal Y, Pun KI, Lamo Y. Adaptive Elements in Internet-Delivered Psychological Treatment Systems: Systematic Review. *J Med Internet Res* 2020; 22: e21066 [PMID: 33245285 DOI: 10.2196/21066]
30 Silva BM, Rodrigues JJ, de la Torre Díez I, López-Coronado M, Saleem K. Mobile-health: A review of current state in 2015. *J Biomed Inform* 2015; 56: 265-272 [PMID: 26071682 DOI: 10.1016/j.jbi.2015.06.003]
31 Ebert DD, Cuijpers P, Muñoz RF, Baumeister H. Prevention of Mental Health Disorders Using Internet- and Mobile-Based Interventions: A Narrative Review and Recommendations for Future Research. *Front Psychiatry* 2017; 8: 116 [PMID: 28848454 DOI: 10.3389/fpsyt.2017.00116]
32 Buntrock C, Berking M, Smit F, Lehr D, Nobis S, Riper H, Cuijpers P, Ebert D. Preventing Depression in Adults With Subthreshold Depression: Health-Economic Evaluation Alongside a Pragmatic Randomized Controlled Trial of a Web-Based Intervention. *J Med Internet Res* 2017; 19: e5 [PMID: 28052841 DOI: 10.2196/jmir.6587]
33 Palermo TM, Murray C, Aalfs H, Abu-El-Haija M, Barth B, Bellin MD, Ellery K, Fishman DS, Gariepy CE, Giefer MJ, Goday P, Gonska T, Heyman MB, Husain SZ, Lin TK, Liu QY, Mascarenhas MR, Maqbool A, McFerron B, Morinville VD, Nathan JD, Ooi CY, Perito ER, Pohl JF, Schwarzenberg SJ, Sellers ZM, Serrano J, Shah U, Troendle D, Zheng Y, Yuan Y, Lowe M, Uc A; Consortium for the Study of Chronic Pancreatitis, Diabetes and Pancreatic Cancer. Web-based cognitive-behavioral intervention for pain in pediatric acute recurrent and chronic pancreatitis: Protocol of a multicenter randomized controlled trial from the study of chronic pancreatitis, diabetes and pancreatic cancer (CPDPC). *Contemp Clin Trials* 2020; 88: 105898 [PMID: 31756383 DOI: 10.1016/j.cct.2019.105898]
34 Compen F, Bisseling E, Schellekens M, Donders R, Carlson L, van der Lee M, Speckens A. Face-to-Face and Internet-Based Mindfulness-Based Cognitive Therapy Compared With Treatment as Usual in Reducing Psychological Distress in Patients With Cancer: A Multicenter Randomized Controlled

Trial. *J Clin Oncol* 2018; 36: 2413-2421 [PMID: 29953304 DOI: 10.1200/JCO.2017.76.5669]
35 王佳姝, 耿朝辉, 袁长蓉. 癌症患儿慢性疼痛管理的“智慧护理”诊疗模式发展概况及展望. 解放军护理杂志 2016; 33: 39-43
36 de Jong M, van der Meulen-de Jong A, Romberg-Camps M, Degens J, Becx M, Markus T, Tomlow H, Cilissen M, Ipenburg N, Verwey M, Colautti-Duijsens L, Hameeteman W, Masclee A, Jonkers D, Pierik M. Development and Feasibility Study of a Telemedicine Tool for All Patients with IBD: MyIBDcoach. *Inflamm Bowel Dis* 2017; 23: 485-493 [PMID: 28267047 DOI: 10.1097/MIB.0000000000001034]
37 Dijkstra A, Heida A, van Rheenen PF. Exploring the Challenges of Implementing a Web-Based Telemonitoring Strategy for Teenagers With Inflammatory Bowel Disease: Empirical Case Study. *J Med Internet Res* 2019; 21: e11761 [PMID: 30924785 DOI: 10.2196/11761]
38 Yin AL, Hachuel D, Pollak JP, Scherl EJ, Estrin D. Digital Health Apps in the Clinical Care of Inflammatory Bowel Disease: Scoping Review. *J Med Internet Res* 2019; 21: e14630 [PMID: 31429410 DOI: 10.2196/14630]
39 罗丹, 林征. 智慧护理模式在炎症性肠病护理干预中的研究进展. 护理研究 2017; 31: 3767-3772

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 © 2021 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出版权转让给本刊编辑部.

2 稿件修改

来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删节时, 本刊编辑部将把原稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改, 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, 须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有. 编辑部可将文章在《中国学术期刊光盘版》等媒体上长期发布; 作者允许该文章被美国《化学文摘》、荷兰《医学文摘库/医学文摘》、俄罗斯《文摘杂志》等国外相关文摘与检索系统收录.

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: https://www.baishideng.com

世界华人消化杂志 2021年6月28日; 29(12): 633-638

DOI: 10.11569/wcjd.v29.i12.633

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

基础研究 BASIC RESEARCH

基于脑–肠轴探讨腹部推拿对促进大鼠乙醇性胃黏膜损伤修复的作用机制

海兴华, 刘 芳, 骆雄飞, 李华南, 张 玮, 王海腾, 孙 庆

海兴华, 刘芳, 骆雄飞, 李华南, 张玮, 王海腾, 孙庆, 天津市中医药大学第一附属医院 天津市 300381

海兴华, 主治医师, 硕士研究生, 研究方向为内外兼治治疗脊柱及内科疾患的临床及基础研究.

基金项目: 国家自然科学基金项目, No.81603711.

作者贡献分布: 此课题由海兴华、刘芳、骆雄飞、李华南、张玮及孙庆设计; 研究过程由海兴华、刘芳、骆雄飞、李华南、张玮及王海腾操作完成; 研究所用试剂及分析工具由骆雄飞提供; 数据分析由海兴华、张玮及王海腾完成; 本论文写作由海兴华、刘芳及孙庆完成.

通讯作者: 孙庆, 主任医师, 300381, 天津市西青区昌凌路88号, 天津中医药大学第一附属医院. 13820290606@163.com

收稿日期: 2021–03–25
修回日期: 2021–04–20
接受日期: 2021–05–25
在线出版日期: 2021–06–28

Exploration of mechanism of abdominal massage to promote repair of ethanol-induced gastric mucosal injury in rats based on brain-gut axis

Xing-Hua Hai, Fang Liu, Xiong-Fei Luo, Hua-Nan Li, Wei Zhang, Hai-Teng Wang, Qing Sun

Xing-Hua Hai, Fang Liu, Xiong-Fei Luo, Hua-Nan Li, Wei Zhang, Hai-Teng Wang, Qing Sun, First Teaching Hospital of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300381, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No.81603711.

Corresponding author: Qing Sun, Chief Physician, First Teaching Hospital of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, No. 88 Changling Road, Xiqing District, Tianjin 300381, China. 13820290606@163.com

Received: 2021-03-25
Revised: 2021-04-20
Accepted: 2021-05-25
Published online: 2021-06-28

Abstract

BACKGROUND

As one of the external treatment methods of traditional Chinese medicine, abdominal massage can effectively promote the repair of gastric mucosal injury, but its mechanism is not clear. We hypothesized that abdominal massage can stimulate the hypothalamus through the brain-gut axis, result in the release of intestinal trefoil factor (ITF) to the gastric mucosa, and thus promote the repair of the gastric mucosa.

AIM

To explore the mechanism of abdominal massage to promote the repair of gastric mucosal injury, and to verify the role of the brain-gut axis in this process.

METHODS

Rats were randomly divided into an abdominal massage group, a model group, and a blank control groupp. A rat model of gastric mucosal injury was reproduced by absolute ethanol gavage. The abdominal massage group was given massage intervention every day, and the model group and the blank control group were not given any intervention. After 21 d, the expression of gastrin (GAS) and neuropeptide Y (NPY) in the colon and hypothalamus, and the content of ITF in serum were detected by ELISA. The expression of c-fos protein in the hypothalamus was detected by immunohistochemistry and Western blot. The expression of ITF mRNA in the hypothalamus and gastric mucosa was detected by real-time quantitative RT-PCR.

RESULTS

Compared with the blank control group, the contents of GAS and NPY in the hypothalamus were significantly decreased, the content of GAS in the colon was significantly decreased, the content of NPY in the colon was significantly increased, the expression of c-fos protein in the hypothalamus was significantly increased, and the content of ITF in the hypothalamus and gastric mucosa was significantly increased in the model group. After abdominal massage intervention, the contents of GAS and NPY in the colon and hypothalamus were improved, the expression of c-fos protein in the hypothalamus was significantly decreased, and the levels of ITF mRNA in the hypothalamus and serum ITF and gastric mucosa were significantly increased.

CONCLUSION

Abdominal massage can improve the contents of GAS and NPY in the colon and hypothalamus of rats with gastric mucosal injury, and regulate the central nervous system, which confirms the existence of the brain-gut axis. Abdominal massage can regulate the expression of c-fos protein in the hypothalamus, downregulate the intensity of stress response, and stimulate the hypothalamus to release ITF into blood. ITF reaching the gastric mucosa *via* blood circulation can promote the repair of gastric mucosal injury.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Abdominal massage; Repair of gastric mucosal injury; Brain-gut axis; Intestinal trilobal factor

Citation: Hai XH, Liu F, Luo XF, Li HN, Zhang W, Wang HT, Sun Q. Exploration of mechanism of abdominal massage to promote repair of ethanol-induced gastric mucosal injury in rats based on brain-gut axis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2021; 29(12): 633-638
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i12/633.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i12.633

摘要

背景

腹部推拿作为传统的中医外治法之一, 可以有效促进胃黏膜损伤修复, 但其作用机制尚不明确. 本研究假设腹部推拿作用于腹部后, 可以通过脑-肠轴刺激下丘脑, 并释放肠三叶因子(intestinal trefoil factor, ITF)作用于胃黏膜, 进而发挥修复胃黏膜的作用.

目的

探讨腹部推拿促进胃黏膜损伤修复的作用机制, 验证脑-肠轴在其过程中的桥梁作用.

方法

采用无水乙醇灌胃法复制胃黏膜损伤大鼠模型, 将造模后大鼠随机分为腹部推拿组和模型组, 另设空白对照组. 腹部推拿组每天予推拿干预, 模型组和空白对照组不进行任何干预. 21 d后, 采用ELISA法检测结肠组织和下丘脑中胃泌素(gastrin, GAS)、神经肽Y(neuropeptide Y, NPY)表达及血清中ITF含量, 免疫组化法、Western Blot法检测下丘脑c-fos蛋白的表达, 实时定量RT-PCR技术检测下丘脑和胃黏膜中ITF mRNA表达.

结果

模型组大鼠较空白对照组下丘脑组织中GAS和NPY含量均显著降低, 结肠组织中GAS含量显著降低, NPY含量显著升高, 下丘脑c-fos蛋白的表达显著增强, 下丘脑及胃黏膜中ITF mRNA及血清中ITF水平降低; 而经腹部推拿干预后结肠组织和下丘脑中GAS和NPY含量均有改善, 下丘脑c-fos蛋白的表达显著降低, 且下丘脑及胃黏膜中ITF mRNA和血清ITF水平显著增加.

结论

腹部推拿作用于胃黏膜损伤大鼠腹部可以改善结肠组织和下丘脑中GAS和NPY神经肽的含量, 对中枢神经系统起到调控作用, 验证了脑-肠轴的存在; 且腹部推拿可以调节下丘脑c-fos蛋白表达, 下调应激反应强度, 同时刺激下丘脑释放ITF入血, 并作用于胃黏膜, 从而发挥修复胃黏膜的作用.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 腹部推拿; 胃黏膜损伤修复; 脑-肠轴; 肠三叶因子

核心提要: 肠三叶因子(intestinal trefoil factor, ITF)在急性胃黏膜损害过程中可以起到保护胃黏膜的作用, 而腹部推拿作用后可以上调下丘脑、血清及胃黏膜中ITF的含量, 提示了调节神经内分泌系统可能是腹部推拿促进胃黏膜损伤修复的途径之一.

文献来源: 海兴华, 刘芳, 骆雄飞, 李华南, 张玮, 王海腾, 孙庆. 基于脑–肠轴探讨腹部推拿对促进大鼠乙醇性胃黏膜损伤修复的作用机制. 世界华人消化杂志 2021; 29(12): 633–638
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i12/633.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i12.633

0 引言

胃黏膜损伤是导致胃溃疡及急慢性胃炎的主要病理生理环节[1]. 腹部推拿作为传统的中医外治法之一, 相关临床研究已经证实其能够促进胃黏膜损伤修复, 是中医治疗胃黏膜损伤性疾病的有效方法[2-4]. 脑-肠轴是指通过中枢或外周神经系统将胃肠道与大脑联系起来的神经-内分泌网络, 具有双向调节作用[5], 目前认为是腹部推拿治疗消化系统疾病的基础[6,7]. 已有研究表明, 肠三

表 1 ITF及内参基因引物序列

基因	引物	引物序列 (5'–3')	扩增产物 (bp)
ITF	上游	tggtcctggccttgctgt	212
	下游	ggcacactggtttgcagaca	
β–actin	上游	aaatcgtgcgtgacatcaaa	178
	下游	aaggaaggctggaaaagagc	

ITF: 肠三叶因子.

叶因子(intestinal trefoil factor, ITF)在急性胃黏膜损害过程中可以起到保护胃黏膜的作用[8,9], 当胃黏膜损伤发生时, ITF则可通过神经内分泌途径到达胃脏, 从而发挥促进胃黏膜修复的作用[10]. 基于此, 本研究通过分析比较乙醇性胃黏膜损伤大鼠神经内分泌系统中相关因子的表达变化, 探讨腹部推拿促进胃黏膜损伤修复的作用机制, 并验证脑-肠轴在此过程中的桥梁作用.

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物: 选用SPF级健康成年SD大鼠30只, 6-8周龄, 雌雄不限, 体质量(200±20) g(北京华阜康生物科技股份有限公司, 合格证: SCXK(京)2014-0004).

1.1.2 主要试剂: 无水乙醇(科密欧, 天津); GAS ELISA kit(武汉云克隆科技股份有限公司 中国), NPY ELISA kit(武汉云克隆科技股份有限公司, 中国); UNIQ-10柱式Trizol总RNA抽提试剂盒(生工生物工程(上海)股份有限公司, 中国); Real-time qPCR试剂盒(Sigma, 美国); ITF ELISA kit(武汉云克隆科技股份有限公司, 中国).

1.1.3 主要仪器: AL204型分析天平(Mettler-toledo Instruments公司, 瑞士); KJ-201型振荡器(江苏康健医疗用品有限公司, 中国); DU800-核酸蛋白分析仪(Beckman Coulter公司, 美国); ABI7500型实时荧光定量PCR仪(Applied Biosystems 公司, 美国); DW-86L628型-80 ℃立式超低温保存箱(Haier公司, 中国).

1.2 方法

1.2.1 造模方法: 采用无水乙醇灌胃法复制胃黏膜损伤大鼠模型. 适应性饲养7 d后, 除空白对照组外, 其余实验大鼠均禁食不禁水24 h后, 按照5 mL/kg的剂量行无水乙醇灌胃1次. 模型成功的标准是无水乙醇灌胃后实验大鼠胃黏膜出现条状出血坏死, 病理切片可见腺体破坏、炎性细胞浸润等损伤表现. 造模后2 h即进行实验观察.

1.2.2 分组与干预方法: 采用随机对照的研究方法, 运用随机数字表法将造模成功的胃黏膜损伤大鼠分为腹部推拿组和模型组, 每组各10只. 同时设置10只大鼠作为空白对照组. 腹部推拿组干预操作方法: 将实验大鼠仰卧位束缚于实验台上. 操作者右手食指、中指伸直并拢, 其余三指屈曲放松, 以食指、中指指腹于实验大鼠腹部, 利用腕关节带动二指做回旋揉动, 揉动频率为20-30 次/min, 操作10 min, 连续治疗21 d, 每日正常饲食喂水. 模型组每天将实验大鼠束缚于试验台10 min, 不予任何干预. 空白对照组不予任何干预.

1.2.3 标本采集: 血清: 所有大鼠断头处死后, 快速取血至离心管中, 离心机低温4 ℃离心20 min(3000转/分), 用移液枪收集上清液至冻存管中, 放入冰箱-20 ℃保存; 脑组织: 取血后立即分离出大脑组织用锡箔纸封存标记后浸入液氮中急冻, 后移至-80 ℃低温冰箱保存. 结肠组织: 脑组织取材后, 迅速打开腹腔, 立即剪取50-100 mg结肠组织, 放置于2 mL冻存管中, 于液氮中保存备用.

1.2.4 ELISA法检测结肠组织和下丘脑中GAS、NPY的表达: 将保存的脑组织分离出下丘脑组织, 连同结肠组织分别以无菌剪刀剪成匀浆; 将匀浆放入1.5 mL离心管中, 离心机离心半径75 mm, 2500 r/min离心20 min, 仔细收集上清液, 放入另外的1.5 mL离心管中; 采用ELISA法分别检测结肠组织和下丘脑样本中胃泌素(gastrin, GAS)、神经肽Y(neuropeptide Y, NPY)的水平, 操作严格按照说明书要求进行操作.

1.2.5 实时定量RT-PCR技术检测下丘脑和胃黏膜组织中ITF mRNA表达: Trizol法分别提取下丘脑和胃黏膜组织总RNA. 计算RNA浓度和纯度, 按照试剂盒说明进行反转录, 用引物(表1)扩增并检测. 反应条件: 50 ℃ 5 min, 95 ℃ 15 min, 95 ℃ 15 min, 60 ℃ 15 min. 扩增反应在ABI 7500型实时荧光定量PCR仪上进行, 反应结束后电脑自动绘制出标准曲线, 并由仪器自带软件进行分析. 溶解曲线分析: 先将PCR产物升温至95 ℃, 15 s后降温至60 ℃, 维持1 min后再升温到95 ℃维持15 s, 最后再降温至60 ℃维持15 s. 在此过程中连续收集荧光信号, 并绘制熔解曲线进行.

1.2.6 ELISA法测定血清中ITF的含量: 取实验大鼠血清进行ELISA法检测, 具体操作步骤同GAS和NPY含量检测.

统计学处理 实验数据采用mean±SD表示, 利用SPSS 19.0统计软件进行分析. 两组数据比较采用*t*检验,

表 2　结肠组织和下丘脑中GAS、NPY表达变化比较(mean ± SD)

组别	鼠数	下丘脑		结肠	
		GAS(pg/mL)	NPY(pg/mL)	GAS(pg/mL)	NPY(pg/mL)
空白对照组	10	425.4 ± 23.5	132.4 ± 12.6	93.3 ± 6.3	37.1 ± 2.5
模型组	10	324.9 ± 18.2[a]	115.8 ± 9.7[a]	79.5 ± 4.8[a]	65.5 ± 4.1[a]
腹部推拿组	10	386.2 ± 15.4[a]	124.1 ± 7.3[b]	85.6 ± 2.9[a]	51.4 ± 3.4[a]

与空白对照组比较: [a]$P < 0.01$; 与模型组比较: [b]$P < 0.05$. GAS: 胃泌素; NPY: 神经肽Y.

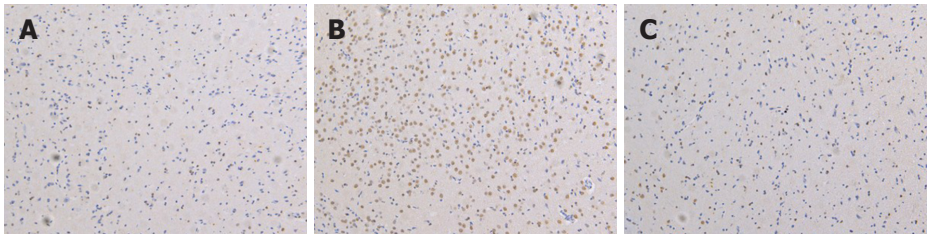


图 1　c–fos蛋白免疫组化染色结果(× 40). A: 空白对照组; B: 模型组; C: 腹部推拿组.

多组数据两两比较, 采用方差分析后Bonfferoni-*t*检验. P<0.05为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 结肠组织和下丘脑中GAS、NPY表达变化 表2显示, 与空白对照组比较, 模型组大鼠下丘脑组织中GAS和NPY含量均显著降低, 同时结肠组织中GAS含量显著降低, NPY含量显著升高, 差异均具有统计学意义(P<0.01); 与模型组比较, 腹部推拿组大鼠下丘脑组织中GAS含量显著升高(P<0.01), NPY含量有所升高(P<0.05), 同时结肠组织中GAS含量显著升高, NPY含量显著降低, 差异均具有统计学意义(P<0.01).

2.2 下丘脑中c-fos蛋白的表达

2.2.1 下丘脑中c-fos蛋白免疫组化实验结果: 图1显示, 相对于空白对照组, 模型组c-fos蛋白的表达显著增强; 经腹部推拿后, c-fos蛋白的表达显著降低.

2.2.2 下丘脑中c-fos蛋白Western Blot实验结果: 图2显示, 与空白对照组比较, 模型组c-fos蛋白表达被显著上调; 与模型组比较, 腹部推拿组c-fos蛋白的表达被显著下调, 与免疫组化结果一致.

2.3 实时定量RT-PCR分析下丘脑和胃黏膜组织中ITF的mRNA表达

2.3.1 腹部推拿对下丘脑中ITF mRNA表达的影响: 图3显示, 与空白对照组比较, 模型组大鼠下丘脑中ITF mRNA表达水平下降, 差异具有统计学意义(P<0.05); 与模型组比较, 腹部推拿组大鼠下丘脑中ITF mRNA的表达水平显著上升, 差异具有统计学意义(P<0.01).

2.3.2 腹部推拿对胃黏膜中ITF mRNA表达的影响: 图4显示, 与空白对照组比较, 模型组大鼠胃黏膜中ITF mRNA表达水平显著下降, 差异具有统计学意义(P<0.01); 与模型组比较, 腹部推拿组大鼠胃黏膜中ITF mRNA的表达水平上升, 差异具有统计学意义(P<0.05).

2.4 ELISA法测定血清中ITF的含量 图5显示, 与空白对照组比较, 模型组血清中ITF水平被下调, 而给予腹部推拿后, 血清中ITF水平被显著上调, 差异具有统计学意义(P<0.01).

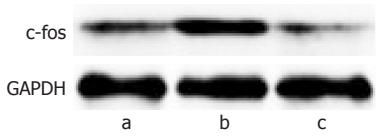


图 2　Western Blot分析下丘脑中c–fos蛋白表达. A: 空白对照组; B: 模型组; C: 腹部推拿组.

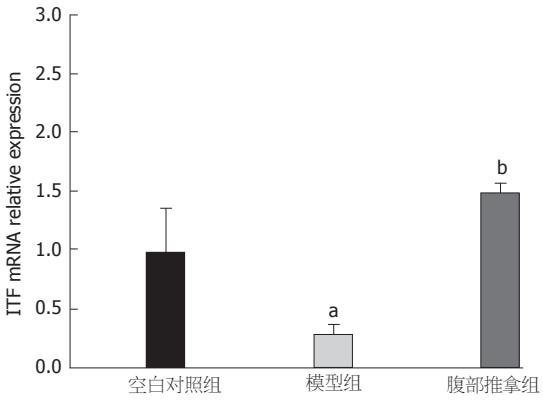


图 3　腹部推拿对下丘脑肠三叶因子mRNA(ITF mRNA)表达的影响. 与空白对照组比较, [a]P<0.05; 与模型组比较, [b]P<0.01.

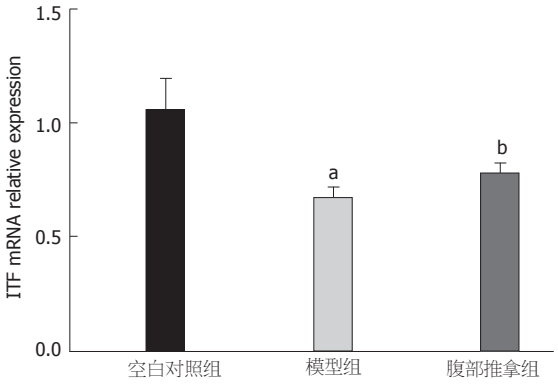


图 4　腹部推拿对胃黏膜肠三叶因子mRNA(ITF mRNA)表达的影响. 与空白对照组比较, $^{a}P<0.01$; 与模型组比较, $^{b}P<0.05$.

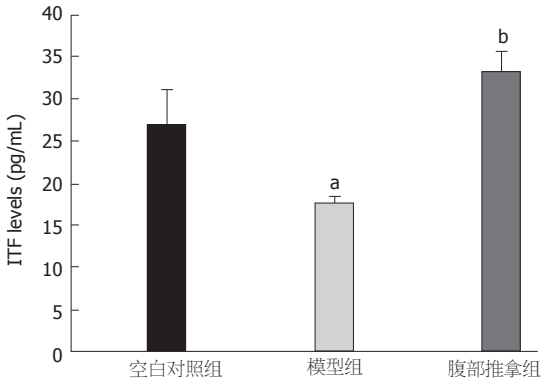


图 5　血清中肠三叶因子(ITF)水平变化. 与空白对照组比较, $^{a}P<0.05$; 与模型组比较, $^{b}P<0.01$.

3 讨论

胃黏膜柔软、血供丰富, 是胃壁屏障的重要物质基础, 由于其与外界直接相通, 极易受到各种物理、化学因素等多种内外攻击因子的刺激, 发生损伤, 从而导致消化性溃疡、各型急慢性胃炎等胃黏膜损伤性疾病[11]. 目前认为胃黏膜损伤形成的主要病理环节为胃黏膜保护机制与损伤因素之间的失衡.

脑-肠轴是由肠神经系统、椎前神经节和中枢神经系统三个层次的神经调节系统共同组成的神经内分泌网络, 其将胃肠道与中枢神经系统紧密联系起来. 相关研究[6,7]已经证实了腹部推拿可以通过脑-肠轴调控中枢神经系统, 以达到治疗消化系统疾病的作用. 本研究发现, 造模后的胃黏膜损伤大鼠结肠组织和下丘脑中GAS和NPY神经肽的含量均有明显改变, 而经腹部推拿干预后大鼠结肠组织和下丘脑中GAS和NPY的含量均有改善, 提示腹部推拿可以同时改善胃黏膜损伤大鼠结肠组织和下丘脑中GAS和NPY神经肽的含量, 说明了腹部推拿作用于大鼠腹部后, 可以对中枢神经系统起到调控作用, 同时也进一步验证了脑-肠轴的存在, 以及脑-肠轴在腹部推拿促进胃黏膜损伤修复过程中的桥梁作用.

c-fos蛋白是神经元被激活的标志, 可有效地用于神经通路追踪和信使传递途径的研究[12]. 本研究显示, 腹部推拿干预可以减少下丘脑中c-fos蛋白的表达, 下调应激反应强度, 也充分证明腹部推拿可以激发下丘脑组织的神经内分泌功能, 具有中枢应激调节作用.

ITF是新型保护性因子三叶草因子家族中的一员, 有研究显示, 其主要由下丘脑合成, 较其他保护性因子表达更加迅速, 在胃黏膜损伤早期即可参与到损伤组织的修复过程中, 具有重要的临床价值[13,14]. 但本研究结果显示, 模型组大鼠下丘脑、血清及胃黏膜组织中ITF表达水平较空白对照组均有所下降, 可能与检测时间点较晚有关; 而腹部推拿干预后实验大鼠下丘脑、血清及胃黏膜组织中ITF的表达水平较模型组均显著增加, 证明了腹部推拿能刺激下丘脑释放ITF入血, 并作用于胃黏膜, 从而发挥修复胃黏膜的作用. 在以后的研究中, 可以通过增加样本量和检测时间点进一步观测各组织中ITF表达水平变化.

4 结论

综上所述, 本研究证实了腹部推拿通过脑-肠轴激活神经内分泌系统达到促进胃黏膜修复的作用, 初步揭示了腹部推拿治疗胃黏膜损伤性疾病的作用机制, 对于未来进行更加深入的研究提供了理论基础, 同时对于腹部推拿治疗消化系统疾病的理论构建及临床推广具有重要的实际意义.

文章亮点

实验背景

胃溃疡、急慢性胃炎等胃黏膜损伤性疾病的发病率呈逐年增加的趋势, 其严重危害患者的身心健康. 腹部推拿可以通过促进胃黏膜损伤修复达到治疗胃黏膜损伤性疾病的目的, 但其作用机制尚不明确, 亟待对其进行进一步探讨.

实验动机

肠三叶因子(intestinal trefoil factor, ITF)在急性胃黏膜损害过程中可以起到保护胃黏膜的作用, 而腹部推拿通过何种途径促进ITF发挥作用尚不明确.

实验目标

探讨腹部推拿对神经内分泌系统的影响, 并分析其促进胃黏膜损伤修复的作用机制.

实验方法

ELISA法检测结肠组织和下丘脑中胃泌素(gastrin, GAS)、神经肽Y(neuropeptide Y, NPY)表达及血清中ITF

含量, 免疫组化法、Western Blot法检测下丘脑c-fos蛋白的表达, 实时定量RT-PCR技术检测下丘脑和胃黏膜中ITF mRNA表达.

实验结果

腹部推拿改善了胃黏膜损伤大鼠结肠组织和下丘脑中GAS和NPY神经肽的含量, 调节了下丘脑c-fos蛋白表达, 同时刺激下丘脑释放ITF入血, 并作用于胃黏膜, 发挥修复胃黏膜的作用.

实验结论

腹部推拿可以通过脑-肠轴调节神经内分泌系统释放ITF, 达到促进胃黏膜损伤修复的作用.

展望前景

本研究仅选取了一种保护性因子作为研究对象, 初步证实了腹部推拿可以调节神经内分泌系统促进胃黏膜损伤修复, 未来可以通过增加样本量、研究指标和观察时间点等方法做更加深入的研究.

5 参考文献

1 郭礼娜. 艾灸、电针预处理对大鼠急性胃黏膜损伤修复相关因子影响的对比观察. 湖南中医药大学 2016
2 屈玉疆, 玄志金. 腹部推拿治疗慢性浅表性胃炎30例. 中国针灸 2013; 8: 743-744 [DOI: 10.13703/j.0255-2930.2013.08.019]
3 曹建明, 高建辉, 刘俊昌. 腹部推拿配合整脊治疗胃痛116例. 中医药临床杂志 2014; 1: 46-47 [DOI: 10.16448/j.cjtcm.2014.01.021]
4 海兴华, 李华南, 张玮, 王海腾, 李东红, 王金贵. 揉腹法治疗慢性浅表性胃炎的临床疗效观察. 广州中医药大学学报 2015; 5: 865-867+873 [DOI: 10.13359/j.cnki.gzxbtcm.2015.05.019]
5 高飞, 刘铁钢, 白辰, 李卓, 李祷旋, 于河, 谷晓红. 脑肠轴与胃肠动力之间相关性的研究进展. 天津中医药大学学报 2018; 6: 520-524 [DOI: 10.11656/j.issn.1673-9043.2018.06.18]
6 张玮, 李华南, 海兴华, 王海腾, 李东红, 王金贵. 腹部推拿对便秘型肠易激综合征血浆脑肠肽含量干预作用的临床研究. 四川中医 2015; 33: 164-166
7 姜庆宇, 李华南, 张玮, 赵娜, 王金贵. 腹部推拿对便秘型肠易激综合征患者组织中脑肠肽CGRP、SP、VIP、CCK的影响. 辽宁中医药大学学报 2014; 16: 70-72 [DOI: 10.13194/j.issn.1673-842x.2014.12.027]
8 Schulze U, Hampel U, Sel S, Goecke TW, Thäle V, Garreis F, Paulsen F. Fresh and cryopreserved amniotic membrane secrete the trefoil factor family peptide 3 that is well known to promote wound healing. *Histochem Cell Biol* 2012; 138: 243-250 [PMID: 22476621 DOI: 10.1007/s00418-012-0943-2]
9 Aikou S, Fukushima Y, Ogawa M, Nozaki K, Saito T, Matsui T, Goldenring JR, Kaminishi M, Nomura S. Alterations in gastric mucosal lineages before or after acute oxyntic atrophy in gastrin receptor and H2 histamine receptor-deficient mice. *Dig Dis Sci* 2009; 54: 1625-1635 [PMID: 19507031 DOI: 10.1007/s10620-009-0832-2]
10 Hoffmann W. Trefoil factors TFF (trefoil factor family) peptide-triggered signals promoting mucosal restitution. *Cell Mol Life Sci* 2005; 62: 2932-2938 [PMID: 16374581 DOI: 10.1007/s00018-005-5481-9]
11 吴琼, 周平启, 张英进, 严洁. 足阳明经与胃相关关系规律的古代和现代研究. 贵阳中医学院学报 2010; 32: 8-10 [DOI: 10.16588/j.cnki.issn1002-1108.2010.02.029]
12 张红梅, 刘晓伟, 曲宏达, 廖剑, 戚振红, 谢子英, 杨恬, 阎伟伟. 左金丸对应激性溃疡大鼠下丘脑室旁核c-fos及HPA轴的调节作用. 中国中西医结合急救杂志 2004; 5: 276-280 [DOI:10.3321/j.issn:1008-9691.2004.05.012]
13 任建林, 潘金水, 卢雅丕. 三叶因子与胃黏膜保护的研究进展. 世界华人消化杂志 2005; 21: 2574-2577 [DOI:10.3969/j.issn.1009-3079.2005.21.012]
14 Kjellev S. The trefoil factor family - small peptides with multiple functionalities. *Cell Mol Life Sci* 2009; 66: 1350-1369 [PMID: 19099184 DOI: 10.1007/s00018-008-8646-5]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁



WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: https://www.baishideng.com

世界华人消化杂志 2021年6月28日; 29(12): 639-646

DOI: 10.11569/wcjd.v29.i12.639

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

基础研究 BASIC RESEARCH

胡椒碱对人结肠癌SW480细胞增殖、迁移和侵袭的抑制作用

邵忆闵, 吴 湧

邵忆闵, 桐庐县中医院药剂科 浙江省杭州市 311500

吴湧, 浙江大学医学院附属杭州市第一人民医院药学部 浙江省杭州市 310006

邵忆闵, 主管药师, 主要从事临床药学方面的工作.

作者贡献分布: 此课题由吴湧设计; 研究过程由邵忆闵及吴湧操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由邵忆闵及吴湧提供; 数据分析由吴湧完成; 本论文写作由邵忆闵及吴湧完成.

通讯作者: 吴湧, 硕士, 主管药师, 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药学部. wyhgfflo52@126.com

收稿日期: 2021-02-22
修回日期: 2021-03-30
接受日期: 2021-05-25
在线出版日期: 2021-06-28

Inhibitory effects of piperine on proliferation, migration, and invasion of human colon cancer SW480 cells

Yi-Min Shao, Yong Wu

Yi-Min Shao, Department of Pharmacy, Tonglu Traditional Chinese Medicine Hospital, Hangzhou 311500, Zhejiang Province, China

Yong Wu, Department of Pharmacy, Affiliated Hangzhou First People's Hospital, Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou 31006, Zhejiang Province, China

Corresponding author: Yong Wu, Master, Pharmacist in Chief, Department of Pharmacy, Affiliated Hangzhou First People's Hospital, Zhejiang University School of Medicine, No. 261 Huansha Road, Shangcheng District, Hangzhou 310006, Zhejiang Province, China. wyhgfflo52@126.com

Received: 2021-02-22
Revised: 2021-03-30
Accepted: 2021-05-25
Published online: 2021-06-28

Abstract

BACKGROUND

Many recent reports have shown that piperine has anticancer activity, but the specific roles and biological mechanisms of piperine in colon cancer are not well studied.

AIM

To investigate the effects and potential mechanisms of piperine on the proliferation, migration, and invasion of human colon cancer SW480 cells.

METHODS

SW480 cells were treated with 0 (blank control), 5, 10, and 20 μg/mL piperine for 24 h, respectively. Cell viability was detected by cell counting kit-8 (CCK-8) assay. Proliferation was detected by 5-ethynyl-2′-deoxyuridine (EDU) staining. Cell migration and invasion were detected by Transwell assay. The protein expression levels of microtubule-associated light chain 3 (LC3), p53, B cell lymphoma/lewkmia-2 (Bcl-2), Bcl-2 associated X protein (Bax), and cleaved cysteine aspartate proteinase-3 (Cleaved caspase 3) were detected by Western blotting.

RESULTS

Piperine inhibited cell viability, proliferation, migration, and invasion in a concentration-dependent manner. Western blot analysis showed that piperine increased the expression of p53, Bax, and Cleaved caspase 3 but decreased the expression of Bcl-2 in SW480 cells compared with control cells.

CONCLUSION

Piperine can inhibit the proliferation, migration, and invasion of SW480 cells, and the mechanism may be related to the up-regulation of p53 signaling pathway and the induction of autophagic cell death.

© **The Author(s) 2021.** Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Colon cancer; Piperine; Proliferation; Migration; Invasion; Autophagy

Citation: Shao YM, Wu Y. Inhibitory effects of piperine on proliferation, migration, and invasion of human colon cancer SW480 cells. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2021; 29(12): 639-646
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i12/639.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i12.639

摘要

背景

最近许多报道显示胡椒碱(piperine, PIP)具有抗癌活性, 而其在结肠癌中的具体作用及生物学机制的研究并不完善.

目的

探究PIP对人结肠癌SW480细胞增殖、迁移和侵袭能力的影响及潜在机制.

方法

分别用0(空白对照)、5、10和20 μg/mL的PIP处理SW480细胞24 h, 采用细胞计数试剂盒8(cell counting kit-8, CCK-8)法检测细胞活性; 采用5-乙炔基-2'脱氧尿嘧啶核苷(5-Ethynyl-2'-deoxyuridine, EdU)染色法检测细胞增殖; 采用Transwell法检测细胞迁移和侵袭; 采用蛋白质免疫印迹(Western blotting)法检测细胞中微管相关蛋白轻链3(microtubule-associated light chain 3, LC3)、p53、B细胞淋巴瘤/白血病-2(B cell lymphoma/lewkmia-2, Bcl-2)、Bcl-2相关X蛋白(Bcl-2 associated X protein, Bax)、劈裂的半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3(cleaved cysteine aspartate proteinase-3, Cleaved caspase 3)蛋白表达水平.

结果

PIP浓度依赖性抑制细胞活力、增殖、迁移和侵袭. Western blotting结果显示, 与空白对照组相比, PIP能升高SW480细胞中p53、Bax、Cleaved caspase 3的表达并降低Bcl-2的表达.

结论

PIP可抑制SW480细胞增殖、迁移和侵袭, 其机制可能与上调p53信号通路和诱导自噬性死亡相关.

© **The Author(s) 2021.** Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 结肠癌; 胡椒碱; 增殖; 迁移; 侵袭; 自噬

核心提要: 胡椒碱(piperine, PIP)能抑制SW480细胞的增殖、迁移和侵袭, 并可上调细胞中p53表达和诱导其自噬性死亡相关.

文献来源: 邵忆闵, 吴湧. 胡椒碱对人结肠癌SW480细胞增殖、迁移和侵袭的抑制作用. 世界华人消化杂志 2021; 29(12): 639-646
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i12/639.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i12.639

0 引言

结直肠癌是一种常见的肠道恶性肿瘤, 其发病率和死亡率呈逐年升高趋势, 且发病年龄呈年轻化趋势[1]. 我国结直肠癌的发病率已跃居所有恶性肿瘤前5位[2]. 肿瘤切除术后辅以化疗仍然是治疗结直肠癌的主要手段, 但由于临床常用的化疗药物常具有较高的毒副作用, 从而严重影响患者的生存质量[3,4]. 因此, 迫切需要寻找新型高效低毒的药物来替代常用的化疗药物. 天然生药提取物因具有丰富的药理活性以及毒性小的特点, 其在肿瘤治疗方面可能具有良好的应用前景[5]. 胡椒碱(piperine, PIP)是一种从黑胡椒中提取的生物碱类活性化合物, 其具有抗氧化、免疫调节、抗肿瘤和促进药物代谢等多种药理活性[6-8]. 虽然, 目前关于PIP的抗肿瘤效应已经进行了一些相关的基础研究[6,7], 但其对结直肠癌细胞的具体生物学功能及机制的研究并不完善. 因此, 本研究选用结肠癌SW480细胞作为研究对象, 旨在探究PIP对SW480细胞细胞迁移和侵袭能力的影响以及潜在的生物学机制, 以评估其作为潜在的抗结肠癌候选药物的可能性.

1 材料和方法

1.1 材料 人结肠癌SW480和HT-29细胞株购于中科院上海细胞库, 人正常结肠粘膜上皮细胞系FHC购于美国典型菌种保藏中心(American Type Culture Collection, ATCC) 细胞库, 人正常结肠粘膜上皮细胞系NCM460购于通派(上海)生物科技有限公司. 改良Eagle培养基(Dulbecco's modification of Eagle's medium Dulbecco, DMEM)、L-15培养基和胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)购自Gibco公司; PIP(纯度>98%)购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司; 二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO)试剂购自Sigma公司; 细胞计数试剂盒8(cell counting kit-8, CCK-8)试剂盒、5-乙炔基-2'脱氧尿嘧啶核苷(5-Ethynyl-2'-deoxyuridine, EdU)试剂盒、β-肌动蛋白(beta-Actin, β-Actin)抗体以及辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)标记的二抗购自上海碧云天生物科技有限公司; Ⅱ型微管相关蛋白轻链3(microtubule-associated light chain 3 Ⅱ, LC3 Ⅱ)抗体购自Abcam公司; LC3、p53、B细胞淋巴瘤/白血病-2 (B cell lymphoma/lewkmia-2, Bcl-2)、Bcl-2相关X蛋白 (Bcl-2 associated X protein, Bax)、劈裂的半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3(cleaved cysteine aspartate proteinase-3, Cleaved

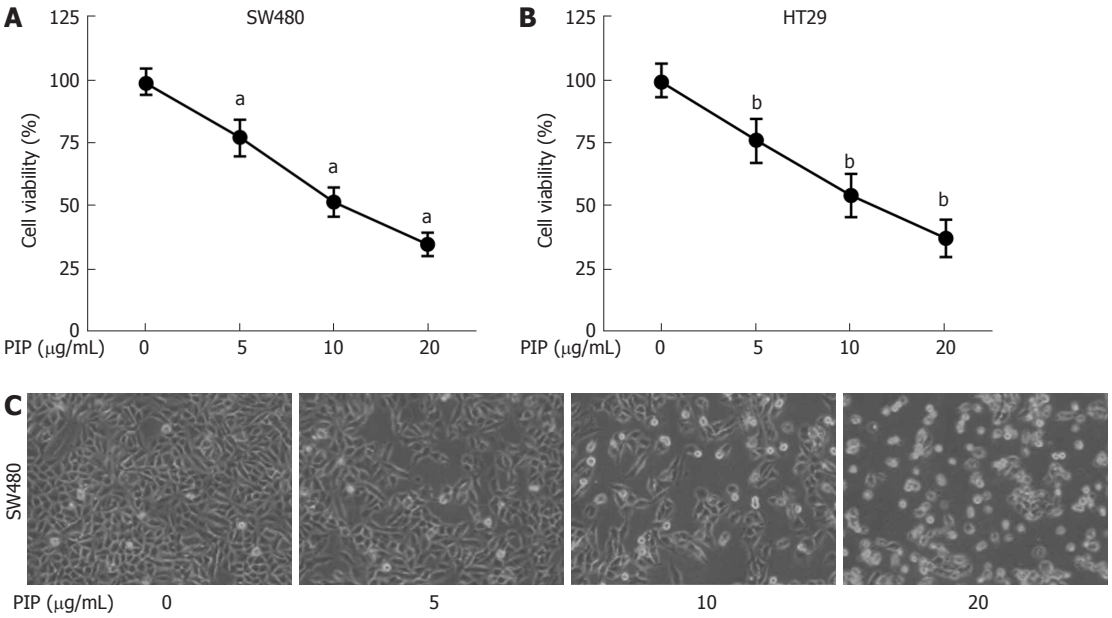


图 1　PIP对SW480和HT29细胞的细胞活性和细胞形态的影响. A和B: CCK-8检测各组SW480(A)和HT-29(B)细胞的细胞活性; C: 倒置显微镜观察各组细胞的细胞形态. n = 3, $^{a}P<0.01$, $^{b}P<0.01$ *vs* 0 μg/mL组. PIP: 胡椒碱.

caspase 3)抗体购自Cell Signaling Technology公司.

1.2 方法

1.2.1细胞培养与溶液制备: 将SW480和HT-29细胞培养于含有10%FBS, 100 μU/mL青霉素-链霉素的L-15培养基中, FHC和NCM460细胞培养于含有10%FBS, 100 μU/mL青霉素-链霉素的DMEM培养基中, 上述细胞均置于37 ℃、5%CO_2的细胞培养箱中培养.

1.2.2 CCK-8法检测细胞活性: 取对数生长期的SW480、HT-29、FHC和NCM460细胞用胰蛋白酶消化后将其接种在96孔板中(5×10^3细胞/孔)每孔做3个复孔, 待细胞贴壁后, 分别用不同浓度的PIP(0、5、10、20 μg/mL)处理细胞24 h, 用倒置相差显微镜观察细胞形态后, 每孔加入10 μL CCK-8试剂, 并在37 ℃孵育2 h, 用酶标仪在450 nm波长处检测吸光度值A. 细胞活性 = ($A_{实验组}$-$A_{对照组}$)/$A_{对照组}$×100%.

1.2.3 EdU染色检测细胞增殖: 取对数生长期的SW480细胞用胰蛋白酶消化后将其接种在96孔板中(5.0×10^3细胞/孔)每孔做3个复孔, 待细胞贴壁后, 分别用不同浓度的PIP(0、5、10、20 μg/mL)处理细胞24 h. 每孔加入50 μM EdU试剂, 并在37 ℃孵育2 h, 按照试剂盒说明书步骤, 对细胞固定和透化后, 每孔加入100 μL Appollo®567染色反应液避光孵育30 min, 然后用DAPI染核. 在荧光显微镜下观察, 随机视野拍照并对EdU阳性细胞计数.

1.2.4 Transwell法检测细胞迁移和侵袭: 用24孔Transwell小室(聚碳酸酯膜, 8 μm孔径)检测细胞的迁移以及侵袭. 收集已被0、5、10、20 μg/mL PIP处理24 h的SW480细胞, 并将其用无血清培养基制成2.0×10^5个/mL的单细胞悬液. 进行侵袭实验时, Transwell板上室内膜表面铺有Matrigel基质胶, 并取100 μL细胞悬液加入上室, 在下室中加入700 μL含10%FBS的培养基, 常规培养24 h.

迁移实验除了不进行铺Matrigel基质胶外, 其他步骤同细胞侵袭实验. 用棉签擦除聚碳酸酯膜上表面的细胞, 并将膜下表面的细胞用甲醇固定5 min后用0.1%结晶紫染色30 min. 用倒置相差显微镜随机选取5个视野的细胞图像, 并对染色的细胞计数.

1.2.5 LC3Ⅱ免疫荧光染色: 将SW480细胞接种在24孔板(2.0×10^5个/孔), 用不同浓度PIP(0、5、10、20 μg/mL)处理24 h后, 收集细胞并用4%多聚甲醛固定20 min, 然后在室温下用Triton X-100透化15 min. 用5%BSA封闭细胞30 min, 然后室温孵育LC3Ⅱ(1:300)2 h. 用PBS洗涤细胞后, 室温孵育荧光标记的二抗(1:300)1 h. 再次用PBS洗涤后, 用DAPI染核, 并在荧光显微镜下观察.

1.2.6 Western blot: 收集已被0、5、10、20 μg/mL PIP处理24 h的SW480细胞, 并用RIPA缓冲液裂解细胞分离得到总蛋白. 用BCA蛋白测定试剂盒测定蛋白浓度. 将等量蛋白质经10% SDS-PAGE凝胶电泳分离后转移到PVDF膜上. 用5%脱脂牛奶封闭2 h后, 分别4 ℃孵育一抗LC3、p53、Bax、Bcl-2和Cleaved caspase 3(均1:1000稀释比例)和β-Actin(1:5000稀释比例)过夜, 经TBS洗涤3次后, 室温孵育1:2000稀释比例的HRP特异性标记的二抗2 h, 最后使用化学发光检测试剂对条带显影. 使用Image J软件对条带进行定量.

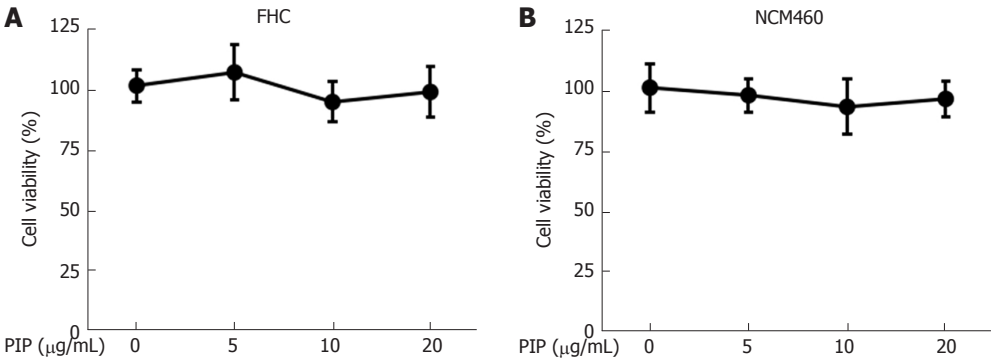


图 2　PIP对FHC和NCM460细胞的细胞活性的影响. A和B: CCK-8检测各组FHC(A)和NCM460(B)细胞的细胞活性. n = 3. PIP: 胡椒碱.

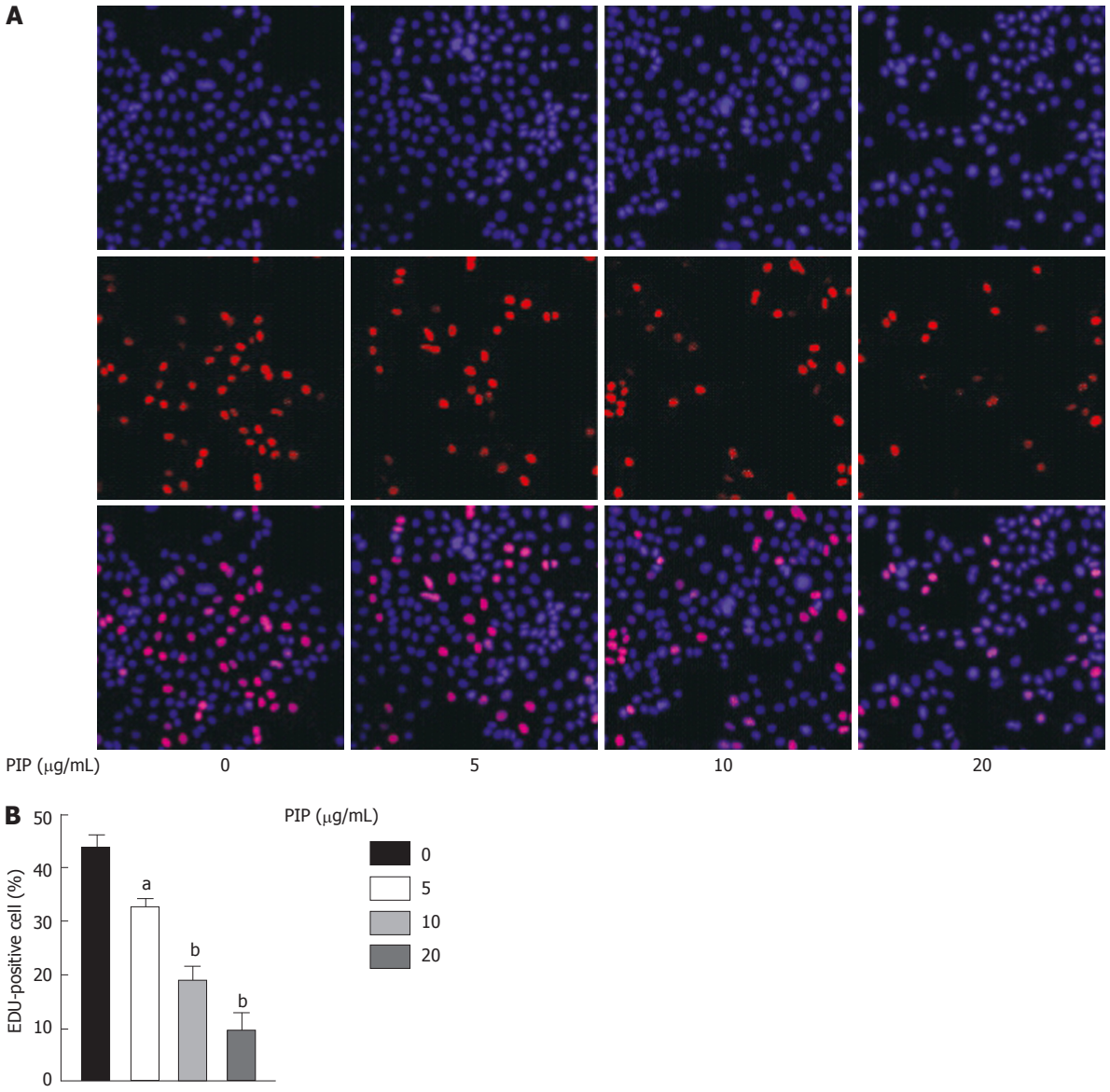


图 3　PIP对SW480细胞增殖的影响. A: 各组细胞代表性的EdU染色图; B: 各组EdU阳性细胞比例的统计结果. n = 3, ^{a}P<0.05, ^{b}P<0.01 *vs* 0 μg/mL组. PIP: 胡椒碱.

统计学处理 所有数据均以mean±SD表示, 并应用SPSS 16.0软件进行统计学分析. 多组间数据比较使用单因素方差分析, 多重比较使用Tukey法. 以P<0.05表示差异有统计学意义.

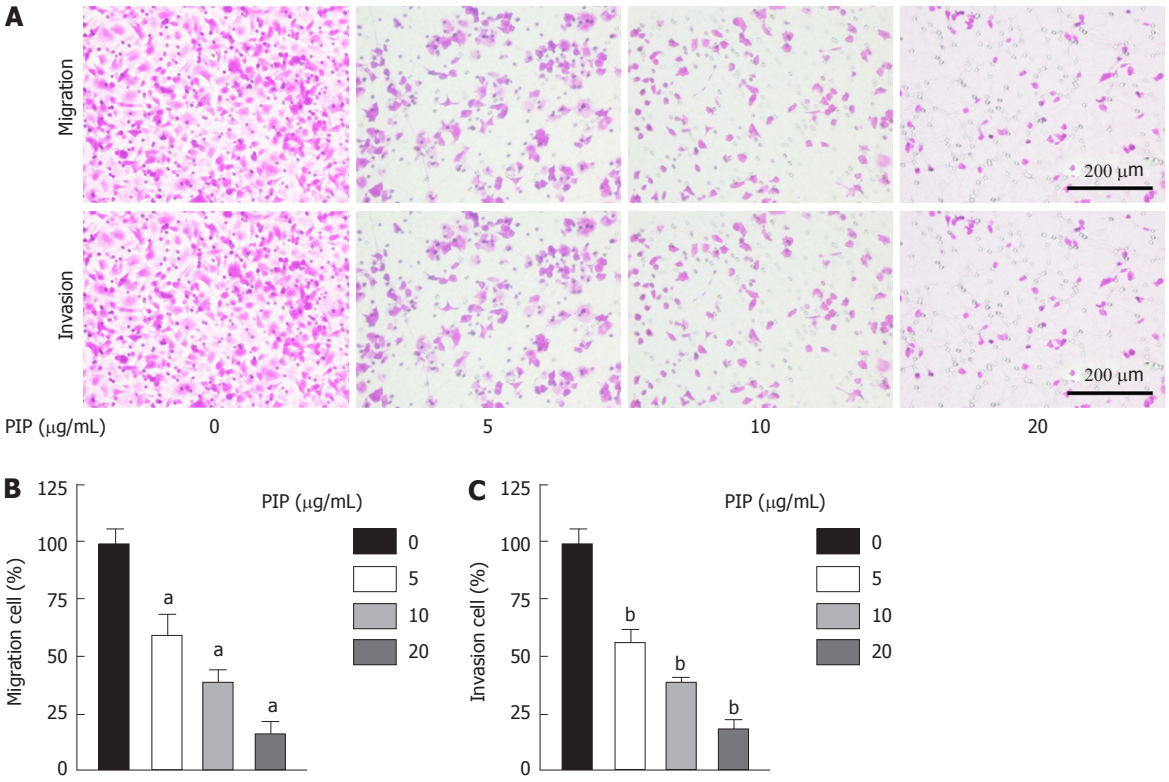


图 4　PIP对SW480细胞的迁移和侵袭的影响. A: 各组细胞代表性的迁移与侵袭图(Transwell法, 结晶紫染色, 比例尺 = 200 μm). B: 细胞迁移的统计结果; C: 细胞侵袭的统计结果. n = 3, ^{a}P<0.01, ^{b}P<0.01 *vs* 0 μg/mL组. PIP: 胡椒碱.

2 结果

2.1 PIP抑制SW480和HT-29细胞的细胞活性并诱导其发生形态异常　用浓度梯度递增的PIP(0、5、10、20 μg/mL)处理SW480和HT-29细胞24 h, CCK-8结果表明, PIP处理的细胞活性显著降低并呈剂量依赖性(图1A、B), 且在PIP浓度达到20 μg/mL时效果最显著. 形态学观察结果表明, PIP处理后的SW480细胞形态萎缩变圆, 且随着浓度增加, 细胞密度也逐渐降低(图1C), 同样, 当PIP浓度达到20 μg/mL时出现明显的细胞碎片和形态学改变. 另外, 在(5、10和20 μg/mL)剂量下的PIP对人正常结肠粘膜上皮细胞系FHC和NCM460的细胞活性没有影响(图2), 提示在该剂量下PIP对正常细胞无毒. 由此可见, PIP能抑制结肠癌细胞的生长并诱导其凋亡.

2.2 PIP抑制SW480细胞的增殖　用浓度梯度递增的PIP(0、5、10、20 μg/mL)处理SW480细胞24 h, EdU染色(图3)结果显示, 随着PIP浓度逐渐升高, EdU阳性细胞比例逐渐降低, 提示SW480细胞增殖逐渐降低, 且PIP在浓度为20 μg/mL时对细胞增殖的抑制作用最为明显.

2.3 PIP抑制SW480细胞迁移和侵袭　Transwell结果(图4)显示, 随着PIP浓度的升高, 细胞的迁移能力和侵袭能力均呈浓度依赖性减弱, 且PIP在浓度为20 μg/mL时对细胞迁移与侵袭的抑制作用最为明显.

2.4 PIP诱导SW480细胞自噬并上调p53信号通路　LC3 II的免疫荧光染色结果(图5A)显示, PIP能诱导SW480细胞自噬. Western blot结果(图5B-G)显示, 随PIP浓度升高, SW480细胞中p53、Bax和Cleaved caspase 3表达以及LC3 II/LC3 I比值逐渐增加, Bcl-2表达逐渐降低. 以上结果说明, PIP能诱导SW480细胞发生自噬性死亡并上调p53信号.

3 讨论

结肠癌是临床中十分常见的一种发病率和死亡率均居高不下的恶性肿瘤性疾病[1,2], 据报道, 全球每年约新增120万例, 且每年约60万例因结肠癌而死亡[9]. 目前手术切除辅以术后化疗是结肠癌治疗中的最常用策略, 但随着化疗时间的延长, 肿瘤细胞对化疗药物的敏感性降低, 造成患者对化疗药物耐药性的产生从而阻碍治疗进程[3]. 因我国传统中药具有药理活性丰富、治疗靶点多、且毒副作用相对较低的特性, 其在肿瘤治疗方面的应用中也受到越来越多的关注[5]. 从众多传统中药中筛选具有高活性的抗肿瘤小分子可能会成为筛选新型抗癌药物的潜在途径. PIP作为一种从黑胡椒内提取的具有天然活性的生物碱, 其已被一些临床前研究证明具有抗肿瘤活性[6,7]. 本研究显示, PIP能抑制SW480细胞增殖、迁移与侵袭, 提示其有望成为抗结肠癌的潜在的替代药物.

肿瘤的发生发展与肿瘤细胞的自噬异常存在密切

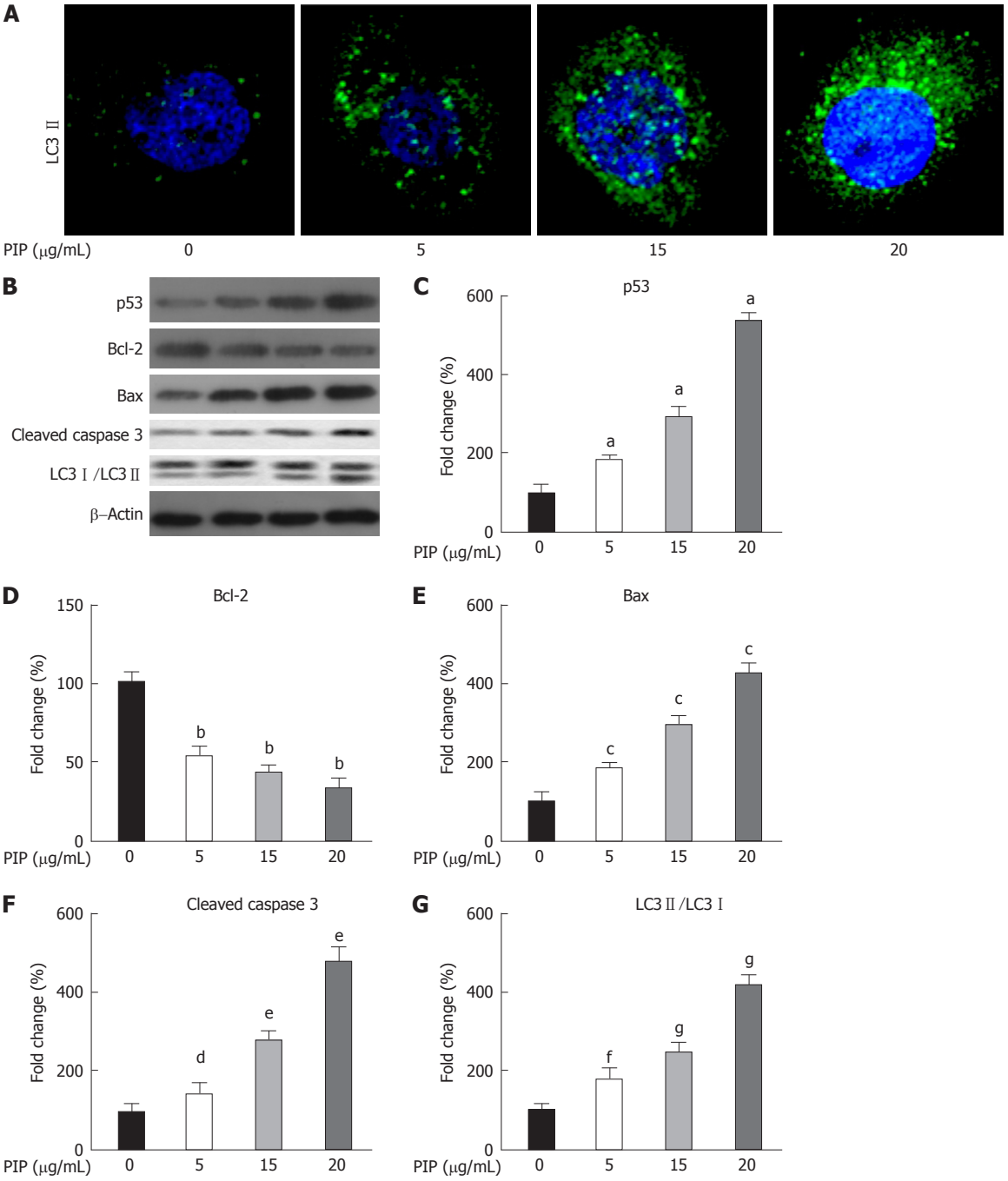


图 5　PIP对SW480细胞的自噬以及p53信号通路的影响. A: 各组细胞代表性的LC3 Ⅱ免疫荧光染色图; B: 各组细胞代表性的p53、Bcl-2、Bax、Cleaved caspase 3以及LC3蛋白表达的Western blot条带图; C: p53相对表达水平的统计结果; D: Bcl-2相对表达水平的统计结果; E: Bax相对表达水平的统计结果; F: Cleaved caspase 3相对表达水平的统计结果; G: LC3 Ⅱ/LC3 Ⅰ比值的统计结果. n = 3, ^{a}P<0.01, ^{b}P<0.01, ^{c}P<0.01, ^{d}P<0.05, ^{e}P<0.01, ^{f}P<0.01, ^{g}P<0.01 *vs* 0 μg/mL组. PIP: 胡椒碱.

的关系[10,11]. 适度自噬可作为实体肿瘤细胞在对抗缺氧缺营养的不利条件下而发挥促生存的一种保护机制, 但过度自噬则会抑制肿瘤细胞的活性、增殖、迁移与侵袭并最终导致细胞死亡[12]. 研究表明, 伊立替康、奥沙利铂和5-FU等常见的化疗药物均能导致结肠癌细胞自噬性死亡[13,14]. 因此, 诱导结肠癌细胞自噬性死亡已经成为潜在的抗结肠癌治疗策略之一. 故本研究探索PIP对SW480细胞自噬的影响, 结果显示, PIP能增强SW480细胞的LC3 Ⅱ的免疫荧光强度并增加LC3 Ⅱ/LC3 Ⅰ比值和Cleaved caspase 3表达, 说明PIP能诱导结肠癌细胞自噬性细胞死亡, 提示PIP的抗结肠癌的作用至少部分与其诱导结肠癌细胞自噬性细胞死亡相关.

本研究继续对PIP的抗结肠癌的作用机制进行了探索. 已有研究表明, p53可通过上调下游基因p21表达导致G1期阻滞[15]和下调Cyclin B1导致G2/M期阻滞[16], 从而抑制结肠癌细胞增殖; p53也可通过上调Bax和下调

Bcl-2的表达来达到促进结肠癌细胞凋亡的作用[17]. 另外, p53能通过下游多信号通路来抑制结肠癌细胞的迁移与侵袭[18,19]. 本研究发现, PIP能浓度依赖性抑制SW480增殖、迁移与侵袭的同时伴随着上调p53、Bax和Cleaved Caspase 3表达并下调Bcl-2的表达, 提示PIP抑制细胞增殖、迁移与侵袭可能在一定程度上与其上调p53信号通路相关. 而p53与细胞自噬的关系相对复杂, 一方面核p53可通过发挥转录因子作用促进细胞自噬[20], 另一方面浆p53以转录活性非依赖性抑制自噬[21]. 此外, 一些毒性应激(比如某些化疗药物)和氧化应激刺激时, 结肠癌细胞自噬也可不依赖p53发生自噬性细胞死亡[13]. 因此, PIP诱导SW480细胞发生自噬性细胞死亡是否通过p53信号仍需进一步研究.

4 结论

总之, 本研究目前结果显示, PIP能抑制SW480细胞增殖、迁移和侵袭, 其作用机制可能与其诱导SW480细胞自噬性细胞死亡和上调p53信号通路相关. 本研究结果还提示, PIP是潜在的结肠癌治疗剂.

文章亮点

实验背景

由于常用的化疗药物具有较高的毒副作用, 且易产生化疗耐药, 造成目前结肠癌患者的化疗效果并不太理想. 因此, 寻找新型高效低毒的结肠癌化疗替代药物显得尤为迫切.

实验动机

据最近研究显示胡椒碱(piperine, PIP)在多种肿瘤中具有抗癌作用, 但其在结肠癌的作用和机制的评估尚不完善.

实验目标

探讨PIP是否具有抗结肠癌的作用.

实验方法

分别通过细胞计数试剂盒8(cell counting kit-8, CCK-8)法、5-乙炔基-2'脱氧尿嘧啶核苷(5-Ethynyl-2'-deoxyuridine, EdU)染色法和Transwell法检测PIP对SW480细胞增殖、迁移以及侵袭的影响, 并用免疫荧光法和蛋白质免疫印迹法分析其潜在的机制.

实验结果

PIP在0-20 μg/mL浓度范围内能以剂量依赖性方式抑制SW480细胞增殖、迁移和侵袭, 并上调细胞中p53表达和诱导其自噬性死亡相关. 另外, 在此剂量范围内对结肠癌上皮细胞无毒性.

实验结论

PIP具有抗结肠癌的作用, 这一作用体现在PIP能抑制结肠癌增殖、迁移和侵袭并能诱导其自噬性死亡.

展望前景

PIP是潜在的结肠癌常用化疗药的替代药物.

5 参考文献

1 Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2019. *CA Cancer J Clin* 2019; 69: 7-34 [PMID: 30620402 DOI: 10.3322/caac.21551]
2 Feng RM, Zong YN, Cao SM, Xu RH. Current cancer situation in China: good or bad news from the 2018 Global Cancer Statistics? *Cancer Commun (Lond)* 2019; 39: 22 [PMID: 31030667 DOI: 10.1186/s40880-019-0368-6]
3 Hu T, Li Z, Gao CY, Cho CH. Mechanisms of drug resistance in colon cancer and its therapeutic strategies. *World J Gastroenterol* 2016; 22: 6876-6889 [PMID: 27570424 DOI: 10.3748/wjg.v22.i30.6876]
4 Booth CM, Nanji S, Wei X, Peng Y, Biagi JJ, Hanna TP, Krzyzanowska MK, Mackillop WJ. Use and Effectiveness of Adjuvant Chemotherapy for Stage III Colon Cancer: A Population-Based Study. *J Natl Compr Canc Netw* 2016; 14: 47-56 [PMID: 26733554 DOI: 10.6004/jnccn.2016.0006]
5 Li X, Yang G, Li X, Zhang Y, Yang J, Chang J, Sun X, Zhou X, Guo Y, Xu Y, Liu J, Bensoussan A. Traditional Chinese medicine in cancer care: a review of controlled clinical studies published in chinese. *PLoS One* 2013; 8: e60338 [PMID: 23560092 DOI: 10.1371/journal.pone.0060338]
6 Manayi A, Nabavi SM, Setzer WN, Jafari S. Piperine as a Potential Anti-cancer Agent: A Review on Preclinical Studies. *Curr Med Chem* 2018; 25: 4918-4928 [PMID: 28545378 DOI: 10.2174/0929867324666170523120656]
7 Zadorozhna M, Tataranni T, Mangieri D. Piperine: role in prevention and progression of cancer. *Mol Biol Rep* 2019; 46: 5617-5629 [PMID: 31273611 DOI: 10.1007/s11033-019-04927-z]
8 Meghwal M, Goswami TK. Piper nigrum and piperine: an update. *Phytother Res* 2013; 27: 1121-1130 [PMID: 23625885 DOI: 10.1002/ptr.4972]
9 Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin* 2018; 68: 394-424 [PMID: 30207593 DOI: 10.3322/caac.21492]
10 Onorati AV, Dyczynski M, Ojha R, Amaravadi RK. Targeting autophagy in cancer. *Cancer* 2018; 124: 3307-3318 [PMID: 29671878 DOI: 10.1002/cncr.31335.]
11 Smith AG, Macleod KF. Autophagy, cancer stem cells and drug resistance. *J Pathol* 2019; 247: 708-718 [PMID: 30570140 DOI: 10.1002/path.5222]
12 Antunes F, Erustes AG, Costa AJ, Nascimento AC, Bincoletto C, Ureshino RP, Pereira GJS, Smaili SS. Autophagy and intermittent fasting: the connection for cancer therapy? *Clinics (Sao Paulo)* 2018; 73: e814s [PMID: 30540126 DOI: 10.6061/clinics/2018/e814s]
13 Stanislav J, Mls J, Červinka M, Rudolf E. The role of autophagic cell death and apoptosis in irinotecan-treated p53 null colon cancer cells. *Anticancer Agents Med Chem* 2013; 13: 811-820 [PMID: 22721392 DOI: 10.2174/18715206113130500015]
14 Jeong S, Kim DY, Kang SH, Yun HK, Kim JL, Kim BR, Park SH, Na

YJ, Jo MJ, Jeong YA, Kim BG, Lee DH, Oh SC. Docosahexaenoic acid enhances oxaliplatin-induced autophagic cell death via the ER stress/Sesn2 pathway in colorectal cancer. *Cancers (Basel)* 2019; 11 [PMID: 31337142 DOI: 10.3390/cancers11070982]
15 Lu L, Huang W, Hu W, Jiang L, Li Y, Wu X, Yuan D, Li M. Kruppel-like factor 2 mediated anti-proliferative and anti-metastasis effects of simvastatin in p53 mutant colon cancer. *Biochem Biophys Res Commun* 2019; 511: 772-779 [PMID: 30833076 DOI: 10.1016/j.bbrc.2019.02.127]
16 Jo HJ, Song JD, Kim KM, Cho YH, Kim KH, Park YC. Diallyl disulfide induces reversible G2/M phase arrest on a p53-independent mechanism in human colon cancer HCT-116 cells. *Oncol Rep* 2008; 19: 275-280 [PMID: 18097607]
17 Houssein M, Abi Saab W, Khalil M, Khalife H, Fatfat M. Cell Death by Gallotannin Is Associated with Inhibition of the JAK/STAT Pathway in Human Colon Cancer Cells. *Curr Ther Res Clin Exp* 2020; 92: 100589 [PMID: 32714471 DOI: 10.1016/j.curtheres.2020.100589]
18 Chen G, Zhou T, Li Y, Yu Z, Sun L. p53 target miR-29c-3p suppresses colon cancer cell invasion and migration through inhibition of PHLDB2. *Biochem Biophys Res Commun* 2017; 487: 90-95 [PMID: 28392396 DOI: 10.1016/j.bbrc.2017.04.023]
19 Liu R, Tang J, Ding C, Liang W, Zhang L, Chen T, Xiong Y, Dai X, Li W, Xu Y, Hu J, Lu L, Liao W, Lu X. The depletion of ATM inhibits colon cancer proliferation and migration via B56γ2-mediated Chk1/p53/CD44 cascades. *Cancer Lett* 2017; 390: 48-57 [PMID: 28093285 DOI: 10.1016/j.canlet.2016.12.040]
20 Goiran T, Duplan E, Rouland L, El Manaa W, Lauritzen I, Dunys J, You H, Checler F, Alves da Costa C. Nuclear p53-mediated repression of autophagy involves PINK1 transcriptional down-regulation. *Cell Death Differ* 2018; 25: 873-884 [PMID: 29352272 DOI: 10.1038/s41418-017-0016-0]
21 Sakitani K, Hirata Y, Hikiba Y, Hayakawa Y, Ihara S, Suzuki H, Suzuki N, Serizawa T, Kinoshita H, Sakamoto K, Nakagawa H, Tateishi K, Maeda S, Ikenoue T, Kawazu S, Koike K. Inhibition of autophagy exerts anti-colon cancer effects via apoptosis induced by p53 activation and ER stress. *BMC Cancer* 2015; 15: 795 [PMID: 26496833 DOI: 10.1186/s12885-015-1789-5]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 © 2021 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: $^{a}P<0.05$, $^{b}P<0.01$($P>0.05$不注). 如同一表中另有一套P值, 则$^{c}P<0.05$, $^{d}P<0.01$; 第3套为$^{e}P<0.05$, $^{f}P<0.01$. 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/min, c/(mol/L), p/kPa, V/mL, t/℃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 cm×4.5 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.

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: https://www.baishideng.com

世界华人消化杂志 2021年6月28日; 29(12): 647-654

DOI: 10.11569/wcjd.v29.i12.647

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

临床研究 CLINICAL RESEARCH

载药脂微球配合肝动脉栓塞化疗治疗老年肝细胞癌的效果及对生存获益、PD-L1、PD-1水平影响

王 浩, 马军杰, 戴献毅

王浩, 马军杰, 戴献毅, 临海市中医院医疗卫生服务共同体检验科 浙江省临海市 317000

王浩, 主管技师, 研究方向为医学检验.

作者贡献分布: 王浩负责课题设计和实验前期工作及论文撰写; 马军杰负责资料搜集; 戴献毅负责资料整理以及数据统计.

通讯作者: 王浩, 主管技师, 317000, 台州市临海市古城街道回浦路61号, 临海市中医院医疗卫生服务共同体检验科. frrlbb@163.com

收稿日期: 2021-02-04
修回日期: 2021-03-12
接受日期: 2021-05-25
在线出版日期: 2021-06-28

Drug-loaded lipid microspheres combined with transcatheter arterial chemoembolization for treatment of hepatocellular carcinoma in elderly patients: Efficacy and impact on survival benefit and PD-L1 and PD-1 levels

Hao Wang, Jun-Jie Ma, Xian-Yi Dai

Hao Wang, Jun-Jie Ma, Xian-Yi Dai, Department of Laboratory Medicine, Medical and Health Service Community, Linhai Hospital of Traditional Chinese Medicine, Linhai 317000, Zhejiang Province, China

Corresponding author: Hao Wang, Chief Technician, Department of Laboratory Medicine, Medical and Health Service Community, Linhai Hospital of Traditional Chinese Medicine, No. 61 Huipu Road, Gucheng Street, Linhai 317000, Zhejiang Province, China. frrlbb@163.com

Received: 2021-02-04
Revised: 2021-03-12
Accepted: 2021-05-25
Published online: 2021-06-28

Abstract

BACKGROUND

Traditional hepatic artery embolization chemotherapy for treatment of liver cancer is often associated with an unsatisfactory prognosis since the tumor cells remain. Drug-loaded lipid microspheres can assist in further killing residual cancer cells and play an important role in the regulation of PD-1 and PD-L1 in the immune response.

AIM

To evaluate the efficacy of drug-loaded lipid microspheres combined with transcatheter arterial chemoembolization in the treatment of hepatocellular carcinoma in elderly patients, and to analyze its effect on the survival benefit and programmed death-1 ligand (PD-L1) and programmed death 1 (PD-1) levels.

METHODS

From October 2015 to October 2018, 112 elderly patients with hepatocellular carcinoma treated at our hospital were selected. According to the principle of controlled design, the patients were randomly divided into either an observation group (n = 56) or a control group (n = 56). The control group received traditional transcatheter arterial chemoembolization, and the observation group received HepaSphere drug-loaded lipid microspheres combined with transcatheter arterial chemoembolization. The efficacy and serum tumor markers [alpha-fetoprotein (AFP), carcinoembryonic antigen (CEA), carbohydrate antigen 199 (CA199), thymidine kinase 1 (TK-1)], tumor angiogenesis-related indicators [vascular endothelial cell growth factor (VEGF), basic fibroblast growth factor (bFGF), and microvessel density (MVD)], and tissue PD-L1 and PD-1 levels were compared between the two groups. The adverse reactions during the treatment period and the survival status of the two groups at 6 mo,

1 year, and 2 years after treatment were also recorded.

RESULTS

The total effective rate in the observation group was 83.93%, which was higher than that (67.86%) of the control group ($P < 0.05$). Compared with the values before treatment, serum AFP, CEA, CA199, and TK-1 levels in the two groups were significantly reduced after treatment; these tumor markers in the observation group were significantly lower than those of the control group after treatment ($P < 0.05$). Compared with the values before treatment, the levels of serum VEGF, bFGF, and MVD in the two groups were significantly reduced after treatment; these tumor angiogenesis-related indicators in the observation group were significantly lower than those of the control group ($P < 0.05$). Compared with the values before treatment, the levels of PD-L1 and PD-1 in the two groups were significantly reduced after treatment; they were also significantly lower in the observation group than in the control group ($P < 0.05$). During treatment, there was no significant difference in the incidence of nausea, vomiting, abdominal pain, fever, or fatigue between the two groups ($P > 0.05$). The 1- and 2-year survival rates of the observation group were significantly higher than those of the control group ($P < 0.05$).

CONCLUSION

Drug-loaded lipid microspheres combined with transcatheter arterial chemoembolization have a significant effect in the treatment of hepatocellular carcinoma in elderly patients, and this combination therapy can effectively inhibit the expression of PD-L1 and PD-1 in cancer tissues and help improve the survival of patients.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Hepatocellular carcinoma; Drug-loaded lipid microspheres; Transcatheter arterial chemoembolization; Survival; Programmed death-1; Programmed death receptor 1

Citation: Wang H, Ma JJ, Dai XY. Drug-loaded lipid microspheres combined with transcatheter arterial chemoembolization for treatment of hepatocellular carcinoma in elderly patients: Efficacy and impact on survival benefit and PD-L1 and PD-1 levels. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2021; 29(12): 647-654
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i12/647.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i12.647

摘要

背景

传统肝动脉栓塞化疗在治疗肝癌时, 肿瘤细胞仍会残留, 患者预后不理想. 载药脂质微球可以帮助进一步杀死残留的癌细胞并发挥重要作用.

目的

探讨载药脂微球结合肝动脉栓塞化疗治疗老年肝细胞癌的效果, 并分析其对患者生存获益、程序性死亡配体1(programmed death ligand, PD-L1)、程序性死亡分子1(programmed death 1, PD-1)水平的影响.

方法

选取2015-10/2018-10我院老年肝细胞癌患者112例, 根据对照设计试验原则, 以随机抽签法分为观察组(n = 56)、对照组(n = 56). 对照组采取传统肝动脉栓塞化疗, 观察组采取HepaSphere载药脂微球结合肝动脉栓塞化疗. 比较两组疗效、血清肿瘤标志物[甲胎蛋白(alpha-fetoprotein, AFP)、癌胚抗原(carcinoembryonic antigen, CEA)、糖类抗原199(carbohydrate antigen 199, CA199)、胸苷激酶1(thymidine kinase 1, TK-1)]、肿瘤血管生成有关指标[血管内皮细胞生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)、微血管密度(microvessel density, MVD)]、组织PD-L1、PD-1水平, 并统计两组治疗期间不良反应、治疗后6 mo、1年及2年生存情况.

结果

观察组治疗总有效率为83.93%, 高于对照组的67.86%(P<0.05); 与治疗前相比, 两组治疗后血清AFP、CEA、CA199、TK-1水平均明显降低, 且观察组低于对照组(P<0.05); 与治疗前相比, 两组治疗后血清VEGF、bFGF水平及MVD均明显降低, 且观察组低于对照组(P<0.05); 与治疗前相比, 两组治疗后组织PD-L1、PD-1水平均明显降低, 且观察组低于对照组(P<0.05); 治疗期间, 观察组恶心、呕吐、腹痛、发热、乏力发生率与对照组比较差异无统计学意义(P>0.05); 观察组治疗后1年、2年生存率高于对照组(P<0.05).

结论

载药脂微球结合肝动脉栓塞化疗治疗老年肝细胞癌的效果显著, 可有效抑制癌组织中PD-L1、PD-1表达, 有助于改善患者生存情况.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 肝细胞癌; 载药脂微球; 肝动脉栓塞化疗; 生存; 程序性死亡配体1; 程序性死亡分子1

核心提要: 传统肝动脉栓塞化疗在肝癌的治疗中肿瘤细胞会有残留, 患者预后改善不理想. 载药脂微球可辅助进一步杀伤残留的癌细胞, 并对免疫反应中的程序性死亡配体1(programmed death ligand, PD-L1)和程序性死亡分子1(programmed death 1, PD-1)起到重要调节作用.

文献来源: 王浩, 马军杰, 戴献毅. 载药脂微球配合肝动脉栓塞化疗治疗老年肝细胞癌的效果及对生存获益、PD-L1、PD-1水平影响. 世界华人消化杂志 2021; 29(12): 647-654
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i12/647.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i12.647

0 引言

肝细胞癌为临床最常见恶性肿瘤之一, 受人们饮食习惯及生活方式变化的影响, 近年来肝细胞癌患病率呈逐渐升高趋势, 其发病率、病死率在我国恶性肿瘤中高居第2、3位, 严重威胁我国人民身体健康[1,2]. 老年群体是肝细胞癌的多发群体, 多数患者不能耐受手术或无法行手术治疗, 肝动脉栓塞化疗作为无法手术治疗肝癌患者的首选治疗方案, 目前广泛应用于老年肝细胞癌患者治疗中, 是除手术之外控制肿瘤进展、延长患者生存期的最有效治疗方法[3]. 相关研究指出[4], 传统肝动脉栓塞化疗虽能取得一定疗效, 但肿瘤供血血管难以完全栓塞坏死, 导致肿瘤细胞残留, 并通过侧支循环继续增殖、转移, 不利于患者预后改善. 近年来, 国内外均有研究[5,6]证实载药脂微球是控制肝癌进展的安全、有效方法. 此外, 新近报道显示[7], 程序性死亡分子1(programmed death-1, PD-1)及程序性死亡配体1(programmed death receptor 1, PD-L1)在肝细胞癌的发生发展中起到重要调节作用, 可作为肝细胞癌治疗的靶指标. 基于此, 本研究尝试探讨载药脂微球结合肝动脉栓塞化疗治疗老年肝细胞癌的效果, 并分析其对患者生存获益、PD-L1、PD-1的影响. 报告如下.

1 材料和方法

1.1 *材料* 经我院伦理委员会审批通过, 选取2015-10/2018-10我院老年肝细胞癌患者112例, 根据对照设计试验原则, 以随机抽签法分为观察组(n = 56)、对照组(n = 56). 对比两组性别、年龄、体质量指数(body mass index, BMI)、Child肝功能分级[8]、肿瘤数目、肿瘤直径, 均无显著差异(P>0.05). 见表1.

纳入标准: (1)符合肝细胞癌诊断标准[9]; (2)年龄≥60岁; (3)首次确诊; (4)预计生存时间>3 mo; (5)病灶未发生远处转移; (6)至少有1个可测量病灶; (7)Karnofsky功能状态[10]评分>60分; (8)患者知晓本研究, 已签署同意书.

排除标准: (1)精神疾病或心理障碍患者; (2)合并其他恶性肿瘤者; (3)继发性肝癌患者; (4)肝癌终末期患者; (5)血液系统疾病患者; (6)伴有严重心脑血管疾病、肺肾功能不全及门静脉血栓疾病者; (7)自身免疫性疾病患者; (8)严重感染性疾病患者.

1.2 *方法* 对照组: 采取传统肝动脉栓塞化疗, 完善血常规、尿常规等各项检查, 建立静脉通道, 采用改良Seldinger法穿刺患者右侧股动脉, 穿刺成功后先后置入动脉鞘、导管, 至肿瘤病灶供血动脉, 采用碘化油(上海万巷制药有限公司, 国药准字H20064893)进行动脉化疗栓塞, 将超液化碘化油与20-60 mg吡柔比星(浙江海正药业股份有限公司, 国药准字H20045982)混合制成混悬乳剂, 进行动脉化疗栓塞.

观察组: 采取HepaSphere载药脂微球(麦瑞通医疗器械有限公司, 20191104)结合肝动脉栓塞化疗, 穿刺部位及方法同对照组, 选用HepaSphere载药微球, 化疗药物为吡柔比星, 将载药微球与20-60 mg吡柔比星混合2 h, 随后将多余液体废弃, 进行动脉化疗栓塞, 摄片提示沉积良好后拔管加压止血. 两组术后均常规给予保肝药物治疗, 根据患者病灶变化情况决定下次治疗时间, 两次介入治疗间隔6-8 wk, 两组治疗次数保持一致.

1.3 观察指标 (1)两组疗效, 再次行介入治疗前评估疗效, 参照实体肿瘤疗效评价标准评估[11]: 完全缓解: 肿瘤病灶消失, 持续时间≥4 wk; 部分缓解: 肿瘤病灶最长径总和缩小≥30%, 维持时间≥4 wk; 疾病进展: 肿瘤病灶最长径总和增大≥20%, 或有新病灶出现; 疾病稳定: 介于部分缓解与疾病进展之间; 总有效率 = (完全缓解+部分缓解)/总例数×100%; (2)两组治疗前、治疗后血清肿瘤标志物[甲胎蛋白(alpha feto protein, AFP)、癌胚抗原(carcinoembryonic antigen, CEA)、糖类抗原199(carbohydrate antigen 199, CA199)、胸苷激酶1(thymidine kinase 1, TK-1)]、肿瘤血管生成有关指标[血管内皮细胞生长因子(vascular epithelial growth factor, VEGF)、碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)、微血管密度(micro vessel density, MVD)]、组织PD-L1、PD-1水平, 采集患者各时间段空腹静脉血6 mL、癌组织标本, 取血液标本以3500 r/min转速离心处理5 min, 取血清, 由专业检测人员采用蛋白芯片-化学发光法血清AFP、CEA、CA19-9水平, 试剂盒购自上海裕隆生物科技有限公司; 采用酶联免疫吸附试验测定血清TK-1、VEGF、bFGF水平, 试剂盒购自北京百奥莱博科技有限公司. 癌组织标本采用细针活检采集, 取癌组织标本采用4%中性福尔马林固定, 常规行石蜡包埋后进行连续切片, 作免疫组化标记以及革兰染色待用, 采用SP免疫组化法检测组织中MVD表达水平, 兔抗人单克隆抗体均购自北京中杉公司, 采用国际常用的Weidner改进式方法测量MVD水平, 记录5个高倍视野内的微血管数, 取其平均数作为最终MVD值; 采用酶联免疫吸附试验测定组织中PD-L1、PD-1表达情况, 具体检测操作参照相关文献[12]; (3)两组治疗期间不良反应, 包括恶心、呕吐、腹痛、发热、乏力; (4)两组治疗后6 mo、1年及2年生存情况.

表 1　两组一般资料比较[(mean ± SD)/*n*(%)]

组别	例数	性别(男/女)	年龄(岁)	BMI	Child肝功能分级		肿瘤数目(例)		肿瘤直径	
					A级	B级	单发	多发	3–5 cm	> 5 cm
观察组	56	30/26	60–79 (70.53 ± 4.23)	18.4–28.3 (24.36 ± 1.96)	21(37.50)	35(62.50)	48(85.71)	8(14.29)	20(35.71)	36(64.29)
对照组	56	35/21	60–78 (69.84 ± 4.08)	18.8–27.9 (23.95 ± 2.17)	25(44.64)	31(55.36)	51(91.07)	5(8.93)	24(42.86)	32(57.14)
$\chi^2/t/u$		0.917	0.879	1.049	0.590		0.783		0.599	
P		0.338	0.382	0.296	0.442		0.376		0.439	

BMI: 体质量指数.

表 2　两组治疗后疗效比较*n*(%)

组别	例数	疾病进展	疾病稳定	部分缓解	完全缓解	总有效率
观察组	56	1(1.79)	8(14.29)	21(37.50)	26(46.43)	47(83.93)
对照组	56	3(5.36)	15(26.79)	20(35.71)	18(32.14)	38(67.86)
χ^2						3.953
P						0.047

表 3　两组治疗前后血清肿瘤标志物水平比较(mean ± SD)

时间	组别	例数	AFP(ng/mL)	CEA(ng/mL)	CA199(kU/L)	TK–1(pmol/L)
治疗前	观察组	56	89.27 ± 9.68	124.27 ± 15.32	56.15 ± 7.48	2.59 ± 1.47
	对照组	56	88.02 ± 8.93	122.59 ± 13.50	55.22 ± 6.67	2.43 ± 1.68
	t		0.710	0.616	0.694	0.536
	P		0.479	0.539	0.489	0.593
治疗后	观察组	56	35.84 ± 4.62[a]	58.97 ± 8.41[a]	21.79 ± 2.52[a]	1.04 ± 0.65[a]
	对照组	56	50.06 ± 6.85[a]	79.86 ± 9.26[a]	35.44 ± 4.18[a]	1.42 ± 0.77[a]
	t		12.879	12.497	20.928	2.822
	P		< 0.001	< 0.001	< 0.001	0.006

与本组治疗前相比, [a]*P* < 0.05; AFP: 甲胎蛋白; CEA: 癌胚抗原; CA199: 糖类抗原199; TK–1: 胸苷激酶1.

统计学处理 数据处理采用SPSS 22.0软件, 计数资料以例数描述, 采用χ^2检验, 计量资料采以mean±SD描述, 两组间比较采用独立样本*t*检验, 采用Kaplan-Meier曲线分析患者生存情况, Log-Rank检验, 均采用双侧检验, *P*＜0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 *疗效* 观察组治疗后总有效率较对照组高(*P*＜0.05). 见表2.

2.2 *血清肿瘤标志物* 组间比较, 两组治疗前血清AFP、CEA、CA199、TK-1水平相比, 差异无统计学意义, 观察组治疗后血清AFP、CEA、CA199、TK-1水平均低于对照组(*P*＜0.05); 组内比较, 两组治疗后血清各指标水平均较本组治疗前降低(*P*＜0.05). 见表3.

2.3 *肿瘤血管生成有关指标* 组间比较, 两组治疗前血清VEGF、bFGF水平及MVD相比, 差异无统计学意义, 观察组治疗后血清VEGF、bFGF水平及MVD均低于对照组(*P*＜0.05); 组内比较, 两组治疗后上述各指标均较本组治疗前降低(*P*＜0.05). 见表4. MVD免疫组化检测图片见图1.

2.4 *组织PD-L1、PD-1水平* 组间比较, 两组治疗前组织PD-L1、PD-1水平相比, 差异无统计学意义, 观察组治疗后组织PD-L1、PD-1水平均低于对照组(*P*＜0.05); 组内比较, 两组治疗后上述各指标水平均较本组治疗前降低(*P*＜0.05). 见表5.

2.5 *不良反应* 两组治疗期间不良反应发生率相比, 差异

表 4　两组治疗前后肿瘤血管生成有关指标水平比较(mean ± SD)

时间	组别	例数	VEGF(pg/mL)	bFGF(pg/mL)	MVD
治疗前	观察组	56	296.82 ± 84.04	8.75 ± 2.16	129.94 ± 32.50
	对照组	56	291.06 ± 79.73	8.59 ± 1.98	125.18 ± 34.28
	t		0.372	0.409	0.754
	P		0.711	0.684	0.452
治疗后	观察组	56	235.86 ± 58.74[a]	3.08 ± 0.92[a]	92.04 ± 22.17[a]
	对照组	56	267.47 ± 62.06[a]	4.62 ± 1.25[a]	104.68 ± 26.85[a]
	t		2.768	7.425	2.717
	P		0.007	< 0.001	0.008

与本组治疗前相比, [a]*P* < 0.05; VEGF: 血管内皮细胞生长因子; bFGF: 碱性成纤维细胞生长因子; MVD: 微血管密度.

表 5　两组治疗前后组织PD-L1、PD-1水平比较(mean ± SD, ng/L)

时间	组别	例数	PD-L1	PD-1
治疗前	观察组	56	1.12 ± 0.09	1.20 ± 0.10
	对照组	56	1.09 ± 0.11	1.17 ± 0.13
	t		1.580	1.369
	P		0.117	0.174
治疗后	观察组	56	0.67 ± 0.05[a]	0.79 ± 0.06[a]
	对照组	56	0.78 ± 0.07[a]	0.90 ± 0.08[a]
	t		9.569	8.232
	P		< 0.001	< 0.001

与本组治疗前相比, [a]*P* < 0.05; PD-L1: 程序性死亡配体1; PD-1: 程序性死亡分子1.

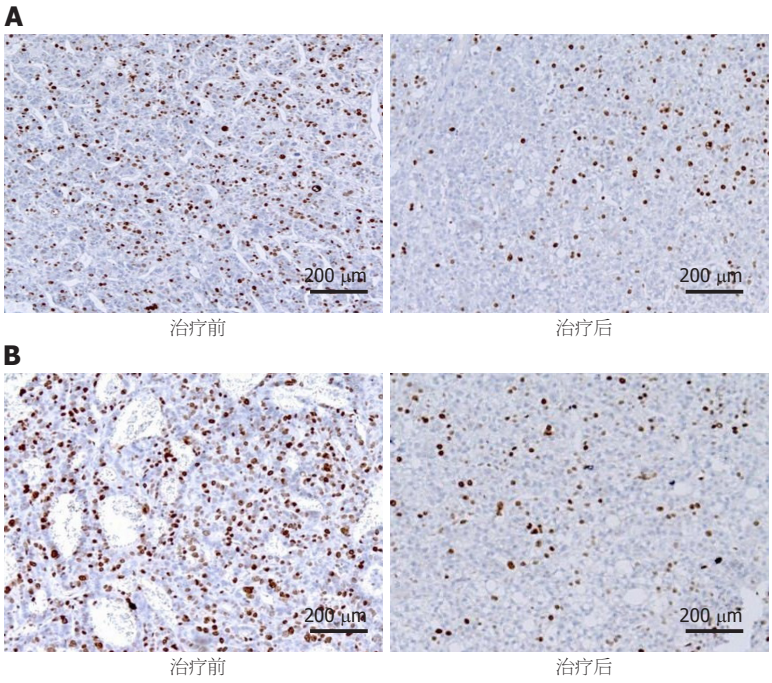


图 1　典型病例治疗前后组织MVD免疫组化染色图片. A: 观察组患者, 男, 年龄71岁, 肿瘤直径4.5 cm, 治疗前后组织MVD免疫组化染色图片; B: 对照组患者, 女, 年龄70岁, 肿瘤直径3.8 cm, 治疗前后组织MVD免疫组化染色图片. MVD: 微血管密度.

表 6　两组治疗期间不良反应比较n(%)

组别	例数	恶心	呕吐	腹痛	发热	乏力
观察组	56	4(7.14)	3(5.36)	8(14.29)	4(7.14)	5(8.93)
对照组	56	8(14.29)	6(10.71)	12(21.43)	7(12.50)	8(14.29)
χ^2		1.493	0.483	0.974	0.907	0.783
P		0.222	0.487	0.324	0.341	0.376

表 7　两组治疗后各时间点生存情况比较n(%)

组别	例数	6个月	1年	2年
观察组	55	50(90.91)	43(78.18)	32(58.18)
对照组	54	44(81.48)	31(57.41)	21(38.89)
χ^2		2.041	5.394	4.060
P		0.153	0.020	0.044

已排除脱落病例.

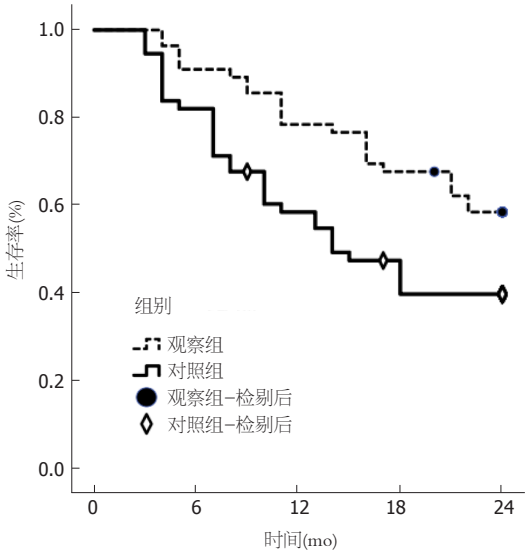


图 2　生存曲线图.

无统计学意义(P>0.05). 见表6.

2.6 生存率 治疗后随访2年, 共有3例病例失访, 观察组1例、对照组2例. 两组治疗后6 mo生存率比较, 差异无统计学意义; 观察组治疗后1年、2年生存率较对照组高(P<0.05). 见表7、图2.

3 讨论

肝细胞癌的发病具有隐匿性, 且进展快、恶性程度高, 多数患者首次确诊时已错过手术治疗时机, 预后非常差. 国内外指南[13,14]均推荐采用肝动脉栓塞化疗治疗无法手术的肝细胞癌患者, 其通过将导管超选择插入肿瘤供血动脉、注入栓塞剂使之闭塞, 引起肿瘤组织缺血坏死, 是治疗肝细胞癌的可靠方法.

本研究发现, 采用传统肝动脉栓塞化疗对老年肝细胞癌患者进行治疗, 可获得良好治疗效果, 但仍有较多患者病情未得到有效缓解. 传统肝动脉栓塞化疗通常采用碘化油与化疗药混合乳液作为栓塞材料, 治疗过程中无法稳定肿瘤局部药浓度, 且癌周侧支循环冲刷导致碘油流失, 加之碘油可降解, 均会影响疗效[15].

本研究发现, 采用HepaSphere载药脂微球结合肝动脉栓塞化疗治疗老年肝细胞癌的总有效率明显高于传统肝动脉栓塞化疗, 提示HepaSphere载药脂微球的应用可显著改善治疗效果. HepaSphere载药微球是一种新型不可降解型载药微球, 治疗前事先对微球进行化疗药物球加载, 通过加载正电荷蒽环类化疗药并缓慢释放, 可使化疗药物与肿瘤接触时间延长, 并降低药物毒性, 同时能够有效地提高局部化疗药物浓度, 降低外周血药物浓度, 从而保护肝功能, 增强疗效[16]. 本研究结果2.2显示, 传统肝动脉栓塞化疗、载药脂微球结合肝动脉栓塞化疗均能明显下调患者血清AFP、CEA、CA199、TK-1水平, 而后者作用更明显. 其中AFP被证实在80%左右肝癌患者的血清中呈高表达状态, 是评估病情和疗效的理想指标[17]; CEA为广谱性肿瘤标志物, CA199主要由肿瘤细胞表面的抗原物质或是肿瘤细胞产生, 二者在肝癌患者血清中明显升高, 明确其水平变化可辅助临床监测病情发展、评估疗效和预后[18,19]; TK-11是细胞DNA合成周期S期特异性激酶, 与细胞增殖密切相, 肿瘤细胞DNA合成剧增, 导致TK-11水平异常升高[20]. 由此可见, 载药脂微球结合肝动脉栓塞化疗能进一步增强抗肿瘤效果, 从而明显下调上述肿瘤标志物水平. 资料显示,

肝癌的发生、转移与新生肿瘤血管形成密切相关, 而肿瘤血管形成则受多种生成因子的调控, VEGF、bFGF及MVD均为反映肿瘤血管形成的指标, 其水平越高提示肿瘤组织内新生血管数量越多, 肿瘤增殖、侵袭、转移等恶性生物学行为越强[21]. 本研究发现载药脂微球结合肝动脉栓塞化疗能明显下调患者血清VEGF、bFGF水平及MVD, 提示其在抑制肿瘤血管形成方面具有明显优势, 可能也是其增强抗肿瘤效果的主要机制之一.

肝细胞癌的发病机制非常复杂, 随着肿瘤免疫学研究的深入, 发现肿瘤细胞可通过多种策略逃离宿主免疫监视与杀伤作用. PD-1/PD-L1通路的激活被证实是介导肿瘤细胞免疫逃逸的重要途径[22]. 周晓思等[23]、哈福双等[24]研究均证实肝癌组织中PD-L1、PD-1表达明显升高, 具有促进肝癌进展的作用. 本研究发现载药脂微球结合肝动脉栓塞化疗在下调肝癌组织中PD-L1、PD-1表达水平方面同样具有显著优势, 提示其能通过抑制PD-1/PD-L1通路, 从而增强机体免疫功能的抗肿瘤作用. 且本研究发现载药脂微球结合肝动脉栓塞化疗并未增加不良反应发生率, 且能明显改善患者生存情况, 进一步证实其是一种治疗老年肝细胞癌患者的安全、可靠方案. 需要指出的是, HepaSphere载药微球加载药物后会发生膨胀, 本研究采用的是50-100 μm规格的HepaSphere载药微球, 加载化疗药物后其粒径膨胀至200-300 μm, 对肿瘤远端血管栓塞能力不尽理想, 但并不会对其整体疗效造成明显影响.

4 结论

综上可知, 对老年肝细胞癌开展载药脂微球结合肝动脉栓塞化疗治疗, 可有效抑制癌组织中PD-L1、PD-1表达及肿瘤微血管生成, 进一步下调血清AFP、CEA、CA199、TK-1水平, 明显提高治疗效果, 有效改善患者生存情况, 且具有一定安全性, 具有较高推广应用价值.

文章亮点

实验背景

不少老年肝癌患者不适宜采取手术治疗, 目前肝动脉栓塞化疗是治疗非手术肝癌常见的方式, 肿瘤的复发和患者生存期的延长均有所改善, 但是依然存在肿瘤供血血管难以完全栓塞坏死, 无法彻底消除残留的不足.

实验动机

针对肝动脉栓塞化疗无法有效根除老年患者肝癌的情况, 同时尚未有更有效的药物代替该方法, 因此联合治疗成为治疗该病最有前景的方式. 载药脂微球能够提高局部肿瘤药物的浓度, 延长药物时间, 延长患者生存期, 为进一步根除癌细胞提供借鉴.

实验目标

本研究将载药脂微球治疗与肝动脉栓塞化疗治疗相结合, 观察对老年肝癌患者的生存获益以及免疫反应中程序性死亡分子1(programmed death-1, PD-1)及程序性死亡配体1(programmed death receptor 1, PD-L1)水平的变化. 为不方便进行手术治疗的老年肝癌患者提供临床治疗的借鉴.

实验方法

本研究通过联合用药的治疗方法, 检测和随访获取相关数据, 统计学方法进行分析, 通过对照比较的方法, 验证联合用药组与单一用药组的差异, 突出载药脂微球治疗在肝癌治疗中的功效.

实验结果

治疗后, 观察组总有效率高于对照组; 观察组血清甲胎蛋白(alpha feto protein, AFP)、癌胚抗原(carcinoembryonic antigen, CEA)、糖类抗原199(carbohydrate antigen 199, CA199)、胸苷激酶1(thymidine kinase 1, TK-1)水平和组织中PD-L1、PD-1水平均低于对照组; 两组以上各指标较本组治疗前均降低. 观察组治疗后1年、2年生存率较对照组高.

实验结论

载药脂微球治疗联合肝动脉栓塞化疗治对老年肝癌患者的治疗效果更好, 可有效控制相关因子表达水平, 且生存期限更长, 为载药脂微球治疗在肝癌中的进一步治疗提供有力支撑.

展望前景

载药脂微球治疗可以辅助化疗取得更有益的治疗效果, 但是载药脂微球受到使用方法、术者技术和载药饱和度等因素影响, 因此还需加大对载药微球稳定性的进一步研究以保证最佳效果的可持续性.

5 参考文献

1 朱笑生, 刘文超. 原发性肝癌全球流行情况和危险因素的新进展. 现代肿瘤医学 2018; 26: 163-167 [DOI: 10.3969/j.issn.1672-4992.2018.14.039]
2 王姗, 吴庆旺, 李小科, 叶永安. 《原发性肝癌诊疗规范(2019年版)》解读. 临床肝胆病杂志 2020; 36: 996-999 [DOI: 10.3969/j.issn.1001-5256.2020.05.009]
3 刘晓, 杜丹丹, 肖书萍. TACE术后肝癌病人生命质量现状及影响因素研究. 全科护理 2020; 18: 99-101 [DOI: 10.12104/j.issn.1674-4748.2020.14.028]
4 刘娟芳, 段旭华, 任建庄, 焦德超, 韩新巍. CalliSpheres载药微球与碘油经导管动脉化疗栓塞治疗原发性巨块型肝癌的疗效对比. 中华肝脏病杂志 2019; 27: 460-462 [DOI: 10.3760/cma.

j.issn.1007-3418.2019.06.014]
5 杨锦钊, 陈锦棠, 赵振梁, 李卓永, 林坚, 梁宇闯. 载药微球经动脉栓塞治疗原发性巨块型肝癌的对比分析研究. 现代医用影像学 2019; 28: 241-243
6 Kennoki N, Saguchi T, Sano T, Takara Y, Moriya T, Shirota N, Otaka J, Chiba N, Kawachi S, Serizawa H, Koizumi K, Tokuuye K. Long-term Histopathologic Follow-up of a Spherical Embolic Agent; Observation of the Transvascular Migration of HepaSphere™. *BJR Case Rep* 2019; 5: 20180066 [PMID: 31131132 DOI: 10.1259/bjrcr.20180066]
7 李小松, 姜涛. PD-1/PD-L1在肝细胞癌预后判断作用中的研究进展. 山东医药 2020; 60: 102-105 [DOI: 10.3969/j.issn.1002-266X.2020.10.027]
8 张良杰, 李伟, 陈家盛, 刘传苗, 赵守松. 乙肝肝硬化肠道菌群变化与肝功能Child-Pugh分级、LPS及血氨的相关性. 牡丹江医学院学报 2021; 42: 9-13, 21
9 中国抗癌协会肝癌专业委员会, 中华医学会肝病学分会肝癌学组, 中国抗癌协会病理专业委员会, 中华医学会病理学分会消化病学组, 中华医学会外科学分会肝脏外科学组, 中国抗癌协会临床肿瘤学协作专业委员会, 全国肝胆肿瘤及移植病理协作组. 原发性肝癌规范化病理诊断指南(2015版). 中华肝脏病杂志 2015; 23: 321-327 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-3418.2015.05.001]
10 Thuluvath PJ, Thuluvath AJ, Savva Y. Karnofsky performance status before and after liver transplantation predicts graft and patient survival. *J Hepatol* 2018; 69: 818-825 [PMID: 29883596 DOI: 10.1016/j.jhep.2018.05.025]
11 Vogel A, Cervantes A, Chau I, Daniele B, Llovet JM, Meyer T, Nault JC, Neumann U, Ricke J, Sangro B, Schirmacher P, Verslype C, Zech CJ, Arnold D, Martinelli E. Hepatocellular carcinoma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2019; 30: 871-873 [PMID: 30715202 DOI: 10.1093/annonc/mdy510]
12 邹强生, 魏贞, 杜军华. PD-1, PD-L1, CA125在原发性肝癌中的表达变化及临床意义. 现代消化及介入诊疗 2019; 24: 851-854, 860 [DOI: 10.3969/j.issn.1672-2159.2019.08.008]
13 中国医师协会介入医师分会. 中国肝细胞癌经动脉化疗栓塞治疗(TACE)临床实践指南. 中华肝脏病杂志 2019; 27: 172-181 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-3418.2019.03.003]
14 Meyers BM, Knox J, Cosby R, Beecroft JR, Chan KKW, Coburn N, Feld J, Jonker D, Mahmud A, Ringash J; Gastrointestinal Disease Site Group. Nonsurgical management of advanced hepatocellular carcinoma: a clinical practice guideline. *Curr Oncol* 2020; 27: e106-e114 [PMID: 32489260 DOI: 10.3747/co.27.5891]
15 谷鹏. CalliSpheres载药栓塞微球治疗中晚期原发性肝癌的短期疗效和安全性研究. 山西医药杂志 2020; 49: 2187-2189 [DOI: 10.3969/j.issn.0253-9926.2020.16.040]
16 陈猛, 许荣德, 胡宝山, 陈晓明, 李伟科, 周泽健, 庄文行, 麦启聪. HepaSphere载药微球栓塞治疗原发性肝癌的近期疗效及安全性. 肿瘤防治研究 2019; 46: 627-631 [DOI: 10.3971/j.issn.1000-8578.2019.19.0029]
17 段瑞娴. 血清糖类抗原125糖类抗原199甲胎蛋白癌胚抗原水平测定在肝硬化患者临床分析中的应用价值. 实用医技杂志 2019; 26: 15-17 [DOI: 10.19522/j.cnki.1671-5098.2019.01.004]
18 王晨曦. 血清AFP、TSGF、CEA、CA199在原发性肝癌中的水平变化及诊断价值. 中国卫生工程学 2020; 19: 754-756
19 冷俊, 秦兵. 血清4项肿瘤标志物联合检测诊断原发性肝癌的价值. 实用临床医药杂志 2020; 24: 18-20, 31 [DOI: 10.7619/jcmp.202015005]
20 王胜军, 管京乐, 丁强, 彭伟. 血清胸苷激酶1在TACE治疗原发性肝癌疗效评估的意义. 肝胆外科杂志 2018; 26: 219-221 [DOI: 10.3969/j.issn.1006-4761.2018.03.020]
21 段彬, 罗成静, 罗海阳. Callispheres可载药栓塞微球联合多西紫杉醇TACE对原发性肝癌患者bFGF VEGF和MVD的影响. 河北医学 2019; 25: 14-18 [DOI: 10.3969/j.issn.1006-6233.2019.01.004]
22 Song P, Zhang J, Shang C, Zhang L. Real-world evidenceand clinical observations of the treatment of advanced non-small cell lung cancer with PD-1/PD-L1 inhibitors. Sci Rep 2019; 9: 4278 [PMID: 30862891 DOI: 10.1038/s41598-019-40748-7]
23 周晓思, 秦蓉, 赵红川, 耿小平. PD-1/PD-L1在原发性肝癌中的表达及临床意义. 肝胆外科杂志 2019; 27: 66-69 [DOI: 10.3969/j.issn.1006-4761.2019.01.019]
24 哈福双, 韩涛, 唐飞, 闫俊卿, 王浩宇. 程序性细胞死亡蛋白1及其配体抑制剂治疗肝细胞癌效果的预测因素. 临床肝胆病杂志 2020; 36: 1389-1392 [DOI: 10.3969/j.issn.1001-5256.2020.06.044]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: https://www.baishideng.com

世界华人消化杂志 2021年6月28日; 29(12): 655-661

DOI: 10.11569/wcjd.v29.i12.655

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

临床研究 CLINICAL RESEARCH

输尿管硬镜联合钬激光结合高位胆管切开治疗复杂肝胆管结石

陈 晨, 李业荣, 吴金术, 米 杨, 汪新天

陈晨, 李业荣, 吴金术, 米杨, 汪新天, 湖南省人民医院(湖南师范大学附属第一医院)肝胆外科 湖南省长沙市 410000

陈晨, 博士, 主要从事肝胆管结石的相关研究.

基金项目: 湖南省创新引导计划--临床医疗技术创新引导项目, No. 2018SK50708; 湖南省教育厅科研计划项目, No. 19C1183; 湖南省卫生健康委员会科研计划项目, No. C2016005.

作者贡献分布: 主要实验、数据分析和文章起草由陈晨完成; 病例选择、临床资料整理由李业荣、米杨完成; 课题设计、文章修改和审阅由吴金术、汪新天完成.

通讯作者: 汪新天, 主任医师, 410000, 湖南省长沙市解放西路61号, 湖南省人民医院(湖南师范大学附属第一医院)肝胆外科.
wangxintian_001@163.com

收稿日期: 2021-02-24
修回日期: 2021-04-10
接受日期: 2021-05-25
在线出版日期: 2021-06-28

Rigid ureteroscopy and holmium laser combined with high bile duct incision to treat complex hepatic calculus

Chen Chen, Ye-Rong Li, Jing-Shu Wu, Yang Mi, Xin-Tian Wang

Chen Chen, Li Ye, Rong Wu, Jin Shu, Mi Yang, Xin-Tian Wang, Department of Hepatobiliary Surgery, Hunan Provincial People's Hospital (The First Affiliated Hospital of Hunan Normal University), Changsha 410000, Hunan Province, China

Supported by: Guidance Project of Technological Innovation Guidance Plan of Hunan Province--Clinical Medical Technology Innovation, No. 2018SK50708; Scientific Research Project of Hunan Education Department, No. 19C1183; Scientific Research Project of Hunan Health Commission, No. C2016005.

Corresponding author: Xin-Tian Wang, Chief Physician, Department of Hepatobiliary Surgery, Hunan Provincial People's Hospital (The First Affiliated Hospital of Hunan Normal University), No. 61 Jiefang Xi Lu, Changsha 410000, Hunan Province, China.
wangxintian_001@163.com

Received: 2021-02-24
Revised: 2021-04-10
Accepted: 2021-05-25
Published online: 2021-06-28

Abstract

BACKGROUND

Hepatobiliary stones are commonly found in southern China. Complex hepatobiliary stones have become a difficult problem in biliary surgery because of their complexity and high residual stone rate and recurrence rate after surgery. In recent years, with the advancement of imaging technology and the improvement of surgical skills, the combined application of various anatomical techniques, endoscopic systems, and lithotripsy has achieved better results in the treatment of complicated hepatobiliary stones.

AIM

To evaluate the effect of rigid ureteroscopy and holmium laser combined with high bile duct incision to cure complex hepatolithiasis.

METHODS

A retrospective analysis was performed on 115 complex hepatolithiasis cases at our department from January 2013 to December 2017. We compared the difference in average intraoperative blood loss, average length of stay in hospital after operation, postoperative complications, and residual calculi after operation between 44 cases undergoing choledochoscopic surgeryith and 71 undergoing rigid ureteroscopy and holmium laser combined with high bile duct incisionion.

RESULTS

In the choledochoscopic surgery group, the average intraoperative blood loss was 237.5 mL, the average length

of stay in hospital after operation was 14.2 d, and the residual stone rate was 4.5%; the corresponding values in the combination group were 185.2 mL, 11.0 d, and 2.5%, respectively. There were significant differences in intraoperative blood loss and postoperative hospitalization days between the two groups. The postoperative residual stone rate and postoperative complication rate were significantly lower in the combination group than in the choledochoscopic surgery group.

CONCLUSION

Postoperative residual stone rate and postoperative complication rate are lower in patients undergoing rigid ureteroscopy and holmium laser combined with high bile duct incision than in those undergoing choledochoscopic surgery. The combination therapy can reduce postoperative hospital stay and intraoperative blood loss, and can be regarded as an excellent operation for patients with complicated hepatolithiasis.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Rigid ureteroscopy; Holmium laser; Complex hepatolithiasis

Citation: Chen C, Li YR, Wu JS, Mi Y, Wang XT. Rigid ureteroscopy and holmium laser combined with high bile duct incision to treat complex hepatic calculus. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2021; 29(12): 655-661

URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i12/655.htm

DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i12.655

摘要

背景

肝胆管结石常见于我国南方地区. 而复杂性肝胆管结石由于其病情复杂、手术后残石率及复发率较高, 成为胆道外科的一个难点. 近年来随着影像学技术的进步及外科医生手术技巧的提高, 各种解剖技术、内镜系统以及碎石手段的联合应用,在治疗复杂肝胆管结石中取得了较好的效果.

目的

探讨输尿管硬镜及钬激光结合高位胆管切开术在复杂肝胆管结石上的治疗效果.

方法

回顾性分析我科2013-01/2018-12的115例复杂肝胆管结石病例. 比较44例术中使用纤维胆道镜及71例术中使用输尿管硬镜及钬激光结合高位胆管切开患者的术中出血量、术后平均住院时间、术后残石率有无差异.

结果

术中使用纤维胆道镜患者平均术中出血量237.5 mL, 平均术后住院天数14.2 d, 术后残石率13.6%; 术中使用输尿管硬镜及钬激光结合高位胆管切开手术患者平均术中出血量185.2 mL, 平均术后住院天数11.0 d, 术后残石率2.5%. 本研究中输尿管硬镜组术中出血量、术后住院天数及残石率均优于纤维胆道镜组.

结论

输尿管硬镜及钬激光结合高位胆管切开在治疗复杂肝胆管结石上取得较满意的临床效果, 具有较广阔的临床应用前景, 但此临床技术仍需要在经验丰富的高年资胆道外科专科医师指导下逐步开展. 术前建议常规行磁共振胰胆管成像检查, 明确胆树形态及可能存在的胆道变异, 结合术中超声的使用, 以减少术中意外胆管损伤及胆管出血等并发症的发生, 降低术后残石率.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 输尿管硬镜; 钬激光; 复杂肝胆管结石

核心提要: 复杂肝胆管结石常合并肝门部胆管旋转移位、肝门胆管狭窄, 导致术中肝门胆管显露困难, 治疗棘手. 我科针对这类胆道外科疾病采用肝门部胆管高位切开、结合输尿管硬镜胆道探查和钬激光碎石的术式开展临床治疗, 取得了较为满意的诊治效果.

文献来源: 陈晨, 李业荣, 吴金术, 米杨, 汪新天. 输尿管硬镜联合钬激光结合高位胆管切开治疗复杂肝胆管结石. 世界华人消化杂志 2021; 29(12): 655-661

URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i12/655.htm

DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i12.655

0 引言

肝胆管结石是我国常见的疾病, 并发症多, 残石率及复发率高, 治疗上较棘手[1,2]. 复杂肝胆管结石目前尚无明确统一的定义, 一般合并下述情况在临床上考虑为复杂性肝胆管结石: (1)因肝胆管结石有多次胆道手术史, 结石残留、复发、胆管炎反复发作, 合并腹腔致密性粘连[3]; (2)弥漫型肝胆管结石; (3)肝胆管结石合并高位胆道狭窄、胆道变异; (4)肝胆管结石合并胆汁性肝硬化、门静脉高压、门静脉海绵样变、先天性胆管囊状扩张症、肝脓肿; (5)结石合并胆道肿瘤[4]、消化道内瘘、胆道支气管内瘘等. 复杂肝胆管结石常合并肝门部胆管旋转移位、肝门胆管狭窄, 导致术中肝门胆管显露困难, 治疗棘手[5]. 肝门部胆管炎性狭窄是肝胆管结石疾病常见的合并症. 复杂肝胆管结石常合并胆管慢性炎症及胆道感染, 术中探查经常可发现肝门部胆管“线性”狭窄, 常规方法沿肝门部胆管入肝取石常十分困难, 取石器械常

表 1 结石分布

结石分布(段)	A组	B组
Ⅰ	4/44 (9.09%)	5/71 (7.04%)
Ⅱ	5/44 (11.36%)	7/71 (9.85%)
Ⅲ	3/44 (6.81%)	6/71 (8.45%)
Ⅳ	15/44 (34.09%)	18/71 (25.35%)
Ⅴ	4/44 (9.09%)	8/71 (11.26%)
Ⅵ	5/44 (11.36%)	6/71 (8.45%)
Ⅶ	4/44 (9.09%)	11/71 (15.49%)
Ⅷ	4/44 (9.09%)	10/71 (14.08%)

表 2 观察组和对照组手术方式

术式	A组(例)	B组(例)
胆道探查+左(或)右半肝切除	31	0
胆道探查、左(或)右半肝切除、胆肠内引流术	9	0
左肝外叶切除、肝方叶切除术	1	5
左肝外叶切除、胆肠内引流术	1	0
左(或)右半肝切除、全尾叶切除	3	0
肝实质切开取石, 胆总管探查术	0	9
左肝外叶切除, 胆总管探查术	0	18
胆总管探查、胆肠内引流术	0	9
胆囊切除、胆总管探查术	0	30

无法顺利进入肝内各段胆管[6]. 我科针对这类胆道外科疾病采用肝门部胆管高位切开、结合输尿管硬镜胆道探查和钬激光碎石的术式开展临床治疗, 取得了较为满意的诊治效果.

1 材料和方法

1.1材料

1.1.1 回顾性总结: 2013-01/2018-12我湖南省人民医院肝胆五病室诊治的115例复杂肝胆管结石病例的临床资料, 将2017年前入院的归为对照组(A组), 将2017年后入院的归为观察组(B组), 其中男39例, 女76例, 平均年龄51.85岁(34-74岁); 其中全肝结石50例, 右肝叶结石31例, 左肝叶结石34例, 结石分布如表1; 术前肝功能Child评估均为A级.

1.1.2 两组术式: 44例患者术中使用纤维胆道镜探查联合液电碎石仪碎石取石术归为A组: 具体术式: 11例胆道探查+右半肝切除; 19例胆道探查+左半肝切除; 7例胆道探查、左半肝切除、胆肠内引流术; 2例胆道探查、右半肝切除、胆肠内引流术; 1例左肝外叶切除、肝方叶切除术; 1例左肝外叶切除、胆肠内引流术; 2例左半肝切除、全尾叶切除; 1例右半肝切除、全尾叶切除. 71例患者术中使用输尿管硬镜联合钬激光结合高位胆管切开取石术归为B组. 具体术式: 18例行左肝外叶切除, 胆总管探查术; 9例行胆总管探查、胆肠内引流术; 30例行胆囊切除、胆总管探查术; 5例行左肝外叶切除、肝方叶切除术; 9例行肝实质切开取石, 胆总管探查术(表2).

两组术后均复查腹部CT及胆道造影, 任何一项检查发现结石则将其归为术后残余结石.

术中使用的输尿管硬镜及钬激光进行肝内胆管碎石的相关技术上报湖南省人民医院医学伦理委员会及医务部审批同意后作为院级新技术在我科临床术中使用.

仪器设备: 奥林巴斯纤维胆道镜, 取石网篮, 国产(ISA-ⅢA)可调节水泵, 国产爱科凯能钬激光系统及光纤, 日立ALOKA超声系统, 德国WOLF狼牌8.5/9Fr成人输尿管硬镜, 国产乔牌内镜显视系统.

1.2 方法

1.2.1 术中采用纤维胆道镜联合液电碎石仪碎石取石: 反L形手术切口进腹, 切开胆总管置入纤维胆道镜进行探查. 探查左、右肝管, 然后探查胆总管下段. 探查到结石后, 使用取石网篮或取石钳取石. 当遇到取石钳或网篮难以取出的结石时, 采用经纤维胆道镜联合液电碎石仪取石; 常规留置T管, 术后可经T管窦道取残余结石[7,8].

1.2.2 术中采用输尿管硬镜及钬激光结合高位胆管切开取石术: 反L形手术切口进腹, 套通文氏孔, 置入肝门阻

表 3　观察组和对照组在术中情况及临床疗效的比较

项目	观察组(n = 71)	对照组(n = 44)	χ^2/t值	P值
残石率(%)	2.8	13.6	5.127	0.0236
术中出血量(mL)	185.2 ± 132.5	237.5 ± 173.2	1.715	0.0452
术后住院时间(d)	11.0 ± 5.12	14.2 ± 5.61	3.139	0.0012
手术时间(Min)	311.63 ± 97.65	345.26 ± 106.75	1.731	0.0435

表 4　察组和对照组在术后并发症发生率方面的比较

并发症	A组	B组	P值
胆道出血	3/44 (6.81%)	2/71 (2.81%)	
胆漏	2/44 (4.54%)	1/71 (1.41%)	
腹水	3/44 (6.81%)	2/71 (2.81%)	
切口感染	2/44 (4.54%)	1/71 (1.41%)	
总并发症	10 (22.72%)	6 (8.45%)	0.0316

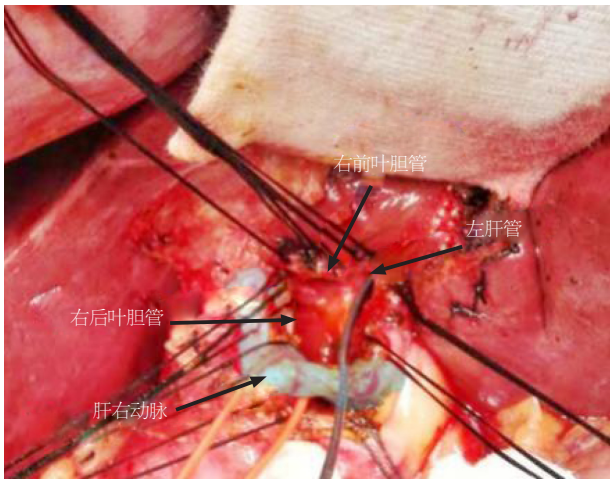


图 1　手术中充分显露的胆管.

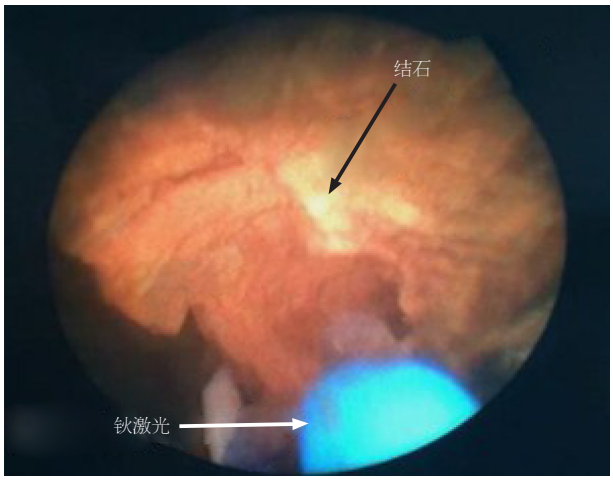


图 2　输尿管硬镜下钬激光碎石.

断带备用, 游离肝门板, 显露肝门部胆管, 切开胆总管, 见肝门部胆管旋转移位或肝总管狭窄, 根据结石所在胆管位置, 视术中需要高位切开左肝管或右肝管至二级以上胆管, 充分显露肝门(图1), 直视下可见各支胆管开口, 置入输尿管硬镜探查, 遇肝内铸形胆管结石采用钬激光碎石(图2), 结合术中超声探查各终末支胆管(图3), 同时使用温生理盐水灌洗胆道, 取出结石. 输尿管硬镜直视下探查各支胆管结石取净与否(图4A-F), 防止残留结石. 待取净肝内各支胆管结石后, 行肝门部胆管拼合成形, 行T管引流或胆肠内引流术. 术中若遇结石所在肝叶严重纤维化或毁损, 则行肝叶切除术.

统计学处理 使用SPSS 22.0 统计软件. 以mean±SD表示计量资料, 组间比较采用样本t检验; 率的比较采用χ^2检验, P<0.05为差异有统计学意义.



图 3　手术中超声(胆管取石后).

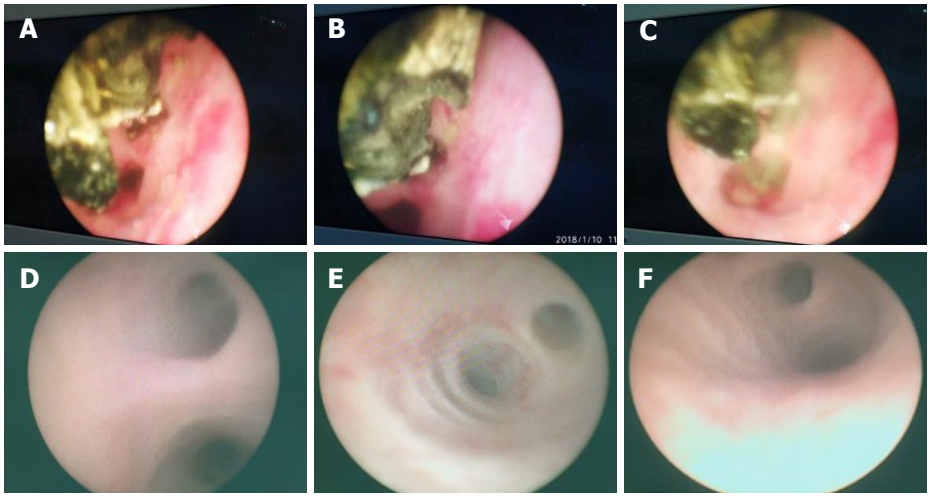


图 4　输尿管硬镜和钬激光碎石后各支胆管内镜. A-C: 输尿管硬镜探查各支胆管内结石; D-F: 经钬激光碎石后各支胆管内镜下所见(D: 左肝管, E: 右后叶胆管, F: 右前叶胆管).

2 结果

纤维胆道镜组平均术中出血量237.5 mL, 平均术后住院天数14.2 d, 术后残石率13.6%. 输尿管硬镜组术中平均出血量185.2 mL, 平均术后住院天数11.0 d, 术后残石率2.8%. 手术均顺利完成, 两组均无围手术期死亡病例, 所有患者均顺利出院.

2.1 临床疗效　观察组术后经CT复查证实2例患者术后肝胆管内残留结石; 对照组术后经CT复查证实2例患者术后肝胆管内残留结石. 如表3所示, 观察组结石残存率2.8% (2/71), 对照组结石残存率为13.6% (6/44), 结果分析发现观察组结石残存率低于对照组(P<0.05); 观察组术中出血量(185.2±132.5) mL, 对照组术中出血量(237.5±173.2) mL, 结果分析发现观察组术中出血量与观察组对比(P>0.05), 两组术中出血量无显著差别; 观察组术后住院时间(12.75±4.61) d, 对照组术后住院时间(13.83±5.12) d, 结果分析发现观察组术后住院时间与对照组进行对比(P<0.05), 两组术后住院天数有统计学意义.

2.2 术后并发症比较　观察组患者手术后胆道出血3例(6.81%), 胆漏2例(4.54%), 腹水3例(6.81%), 切口感染2例(4.54%); 组患者手术后胆道出血2例(2.81%), 胆漏1例(1.41%), 腹水2例(2.81%), 切口感染1例(1.41%), 经过积极治疗后两组有并发症的患者均好转出院. 两组术后总并发症发生率比较(P<0.05). 详情见表4

3 讨论

对于复杂性肝胆管结石, 肝门部胆管狭窄若不解除, 术后残石率高, 并且狭窄导致的胆汁引流不畅易导致术后肝胆管结石的复发. 因此, 解除肝门部胆管狭窄在治疗复杂肝胆管结石疾病上具有十分重要的临床意义[9]. 本中心术中采用的高位胆管切开的手术方式是指将胆管切开至左右肝管汇合部以上的二、三级胆管, 使左右肝管各分支开口得到很好的显露, 既可以显露各二级以上胆管的开口, 方便取出胆管内的结石[10], 又可以解除肝门部的狭窄.

随着当代医疗技术及装备的不断发展和革新, 临床既往常用的纤维胆道镜探查联合液电碎石取石在复杂肝胆管结石的治疗上, 十分耗时且取石效率低, 导致使用受限[11]. 本中心采用输尿管硬镜及钬激光结合高位胆管切开取石的手术方式具有如下优势: (1)能有效改善传统的经胆管切开取石术存在的创伤大、出血多、术后残石率高等情况[12]; (2)将传统的肉眼视角转变为内镜视角, 拓展手术视野[13,14], 敞开显露肝门部各支胆管后, 由于狭窄在肝门部胆管, 肝内胆管常因肝门部胆管梗阻而继发扩张, 解除肝门部狭窄后可顺利置入输尿管硬镜到达各支肝内胆管, 配合可调节功率和能量的钬激光能够快速有效地碎石而安全取石, 提高了取石效率; (3)肝门胆管敞开后, 输尿管硬镜下探查各支胆管, 可清晰显示胆管可能的存在变异情况, 如右后叶胆管异位开口于左肝管等[15], 防止手术中意外的胆道损伤; (4)与对照组的取石方法相比, 输尿管硬镜能快速出入探查各胆管分支, 经硬镜直视下取石, 避免了盲目掏取肝内胆管结石, 对于嵌顿于胆管内体积大且质地硬的铸型结石, 使用钬激光能更高效的进行碎石, 故可见观察组的手术时间短于对照组(311.63±97.65) Min比(345.26±106.75) Min, (P<0.05). 可见使用输尿管硬镜联合钬激光结合高位胆管切开取石术能有效的缩短手术时间、减少患者住院时间、加快术后康复, 减轻术者劳动负荷; (5)术中如遇肝内迂曲的胆管时, 输尿管硬镜能在一定程度上撑开胆管, 显露结石; (6)肝内胆管结石多为胆色素性或混合性结石, 遇铸形结石, 精准调节碎石能量, 结合输尿管

镜可以做到定位精确、损伤小、便于操作的优点[14,16]; (7)强行使用纤维胆道镜下网篮套取较大的铸形结石或嵌顿性结石时很容易造成胆管内壁的撕裂损伤, 而硬镜联合钬激光可将结石击碎后安全取出; (8)输尿管硬镜前端镜头内径比常用纤维胆道镜更细, 可以顺利进入肝内二级以上胆管进行胆道探查; (9)纤维胆道镜光纤容易损坏, 维修费用较为昂贵; 输尿管硬镜系统清晰、耐用[17], 经济性比较高. 相关文献[18,19]报道通过钬激光碎石术治疗复杂性结石, 可将结石完全清除并且没有黏膜损伤, 为安全有效的碎石手段. 袁来顺等[19]认为钬激光碎石术可明显降低取石难度, 并有组织损伤少的特点. 本研究中输尿管硬镜组术中出血量、术后住院天数及残石率均优于纤维胆道镜组.

行肝门部胆管高位切开时需特别提防门静脉的损伤, 特别是在左肝管高位切开时, 需注意门静脉左支矢状部, 胆管切开前应控制入肝的门脉血流[20]. 应配合术中超声, 辨清血管走向[21]. 术前可行磁共振胰胆管成像(magnetic resonance cholangiopancreatography, MRCP)检查, 排除胆道变异[22], 以免胆管切开时误损伤变异胆管.

输尿管硬镜配合钬激光碎石取石后, 我们行肝门部胆管拼合成形术, 采用4/0薇乔可吸收线拼合切开胆管壁, 形成“肝胆管盆”, 可方便地进行胆肠内引流术, 既解除原有狭窄的胆管开口, 利于术后充分的引流, 同时由于肝门部胆管狭窄的解除, 在预防肝胆管结石的复发上有较为积极的作用[23].

肝胆管结石患者常有多次手术史, 术中粘连较重, 粘连分离面较广, 术中止血材料(如微孔多聚糖止血粉)的恰当使用在降低术中及术后迟发性出血有较积极作用[24,25].

4 结论

本中心采用输尿管硬镜及钬激光结合高位胆管切开在治疗复杂肝胆管结石上取得较满意的临床效果, 具有较广阔的临床应用前景, 但此临床技术仍需要在经验丰富的高年资胆道外科专科医师指导下逐步开展. 术前建议常规行MRCP检查, 明确胆树形态及可能存在的胆道变异, 结合术中超声的使用, 以减少术中意外胆管损伤及胆管出血等并发症的发生, 降低术后残石率.

文章亮点

实验背景

目前, 我国肝胆管结石的发病率仍居高不下, 而单纯使用电子胆道镜治疗复杂性肝胆管结石往往难以获得理想的临床疗效, 患者不免经历多次胆道手术, 生活质量较差. 对于复杂性肝胆管结石, 肝门部胆管狭窄若不解除, 术后残石率高, 并且狭窄导致的胆汁引流不畅易导致术后肝胆管结石的复发.

实验动机

采用的高位胆管切开的手术方式使左右肝管各分支开口得到很好的显露, 结合术中运用输尿管硬镜联合钬激光进一步减少肝胆管结石术后残石率、复发率及术后并发症, 同时提高复杂性肝胆管结石病的临床疗效.

实验目标

进一步减少复杂性肝胆管结石术后残石率、复发率及术后并发症.

实验方法

回顾性总结: 2013-01/2018-12我湖南省人民医院肝胆五病室诊治的115例复杂肝胆管结石病例的临床资料, 对比分析两组残石率、术中出血量、术后住院时间、手术时间以及手术并发症发生率的差异.

实验结果

输尿管硬镜组在术中平均出血量、平均术后住院天数、术后残石率、以及术后并发症发生率均低于纤维胆道镜组.

实验结论

采用输尿管硬镜及钬激光结合高位胆管切开相较于采用纤维胆道镜联合液电碎石仪碎石取石治疗复杂肝胆管结石可取得更好临床效果.

展望前景

术前对此类患者常规行磁共振胰胆管成像检查可以明确胆树形态及可能存在的胆道变异, 结合术中超声的使用, 以减少术中意外胆管损伤及胆管出血等并发症的发生并进一步降低术后残石率.

5 参考文献

1 张学文, 杨永生, 张丹. 肝内胆管结石分型及治疗方法选择. 中国实用外科杂志 2009; 29: 790-792
2 何小东, 刘乔飞. 肝胆管结石病的诊断与治疗. 中华消化外科杂志 2015; 14: 275-279 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-9752.2015.04.004]
3 许志峰. 复杂胆道结石的微创治疗进展. 中国普通外科杂志 2017; 26: 1049-1056 [DOI: 10.3978/j.issn.1005-6947.2017.08.014]
4 梁力建, 李绍强. 复杂肝胆管结石诊断和治疗原则. 中国实用外科杂志 2009; 29: 542-544
5 刘战培. 57例有手术史胆管结石患者行腹腔镜胆道手术的临床分析. 第三军医大学学报 2014; 36: 838-841
6 叶小勇, 吕会增, 张帆. 腹腔镜胆总管探查术治疗复杂性肝胆管结石疗效分析. 中国普通外科杂志 2014; 23: 256-258 [DOI: 10.7659/j.issn.1005-6947.2014.02.024]
7 田志强, 罗昆仑, 余锋, 方征, 刘洪. 腹腔镜联合胆道镜钬激光碎石治疗肝胆管结石55例临床分析. 中华实用诊断与治疗杂志 2014; 28: 695-696 [DOI: 10.13507/j.issn.1674-3474.2014.07.029]

8 毛伟坤.腹腔镜联合胆道镜取石术治疗肝内胆管结石的临床疗效.中国内镜杂志 2014, 20(6):636-638
9 董家鸿, 田远虎. 肝胆管结石外科治疗进展. 中华普外科手术学杂志(电子版)2012; 6: 340-344 [DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-3946.2012.04.064]
10 潘井岗, 沈波, 朱胜昌, 黎堃. 高位胆管切开取石术与肝叶切除术治疗肝内胆管结石的临床效果对比. 当代医学 2018; 24: 120-122 [DOI: 10.3969/j.issn.1009-4393.2018.33.052]
11 邢培武, 郭凤生, 郭小刚. 腹腔镜下胆道镜联合钬激光碎石治疗肝内胆管结石54例. 中国现代普通外科进展 2013; 16: 384-385,396 [DOI: 10.3969/j.issn.1009-9905.2013.05.015]
12 仝麟龙, 张俊杰. 腹腔镜下胆道镜联合钬激光碎石术与传统开腹术治疗胆管结石疗效的Meta分析. 中国医学工程 2019; 27: 10-14 [DOI: 10.19338/j.issn.1672-2019.2019.01.003]
13 钟以全, 周映平, 苏建良, 刘铁强, 李俊芳. 输尿管硬镜在肝内外胆管结石开放手术中的应用: 附30例报告. 中国普通外科杂志 2013; 22: 239-241 [DOI: 10.7659/j.issn.1005-6947.2013.02.024]
14 韩志敏, 盛银行, 张风奎. 经皮肝胆道镜术两种不同路径治疗复杂肝内外胆管结石的临床疗效比较. 肝胆外科杂志 2016; 24: 422-425 [DOI: 10.3969/j.issn.1006-4761.2016.06.007]
15 陈曦. 精准肝切除治疗肝内胆管结石60例临床疗效分析. 中国普通外科学文献(电子版) 2014; 130-134 [DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-0793.2014.02.011]
16 朱昱, 戴启强, 顾玲玲, 吕尚东, 方哲平. 胆道镜联合钬激光治疗复杂性肝内外胆管结石. 肝胆胰外科杂志 2017; 29: 160-161 [DOI: 10.11952/j.issn.1007-1954.2017.02.018]
17 黄佳, 黄海, 方兆山, 张智, 桂善乐, 罗金武, 阮婕. 经T管窦道硬镜联合钬激光碎石术治疗肝内外胆管残余结石的临床研究. 中国医学物理学杂志 2019; 36: 864-868 [DOI: 10.3969/j.issn.1005-202X.2019.07.022]
18 Sauer BG, Cerefice M, Swartz DC, Gaidhane M, Jain A, Haider S, Kahaleh M. Safety and efficacy of laser lithotripsy for complicated biliary stones using direct choledochoscopy. *Dig Dis Sci* 2013; 58: 253-256 [PMID: 22903184 DOI: 10.1007/s10620-012-2359-1]
19 袁来顺, 路旭, 孙松. 钬激光联合纤维胆道镜治疗肝内外胆管结石的效果观察. 临床肝胆病杂志 2015; 31: 1634-1636 [DOI: 10.3969/j.issn.1001-5256.2015.10.018]
20 赵云峰, 马秀现, 孙玉岭, 徐鹏, 许培钦. 高位肠-腔人工血管架桥术联合门奇断流术治疗门脉高压症疗效观察. 中国普通外科杂志 2011; 20: 1351-1354
21 张成武, 赵大建, 吴伟顶, 胡智明, 刘杰, 张宇华. 肝悬吊法联合选择性出入肝血流阻断在半肝切除术中的应用. 中华肝胆外科杂志 2011; 17: 266-268 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-8118.2011.03.027]
22 雷海燕, 杨毅, 沈钧康. 术前MRCP对肝外胆管变异评估的临床价值. 中华消化外科杂志 2010; 9: 200-202 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-9752.2010.03.014]
23 赵宏志, 秦鸣放. 十二指肠镜在诊治腹腔镜胆道术后并发症中的应用价值. 中华普通外科学文献(电子版) 2010; 4: 49-51 [DOI: 10.3969/j.issn.1674-0793.2010.01.018]
24 王为民, 何远翔, 黄海林, 王强, 查玮. 多微孔多聚糖止血球控制f-1静脉高压手术创面活动性出血的疗效. 第二军医大学学报 2015; 26: 1311-1312
25 邓明武, 贺德. 局部止血材料在普通外科手术中的应用研究进展. 医学综述 2013; 19: 3524-3526 [DOI: 10.3969/j.issn.1006-2084.2013.19.022]

科学编辑: 刘继红 制作编辑: 张砚梁



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 © 2021 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

• 消息 •

书讯

本刊讯 由池肇春教授主编的《腹痛的诊断、鉴别诊断与治疗》已由人民卫生出版社出版发行.

腹痛是消化系统最常见的症状之一, 可引起腹痛的疾病很多, 容易发生误诊或漏诊, 以致患者得不到及时的诊治. 本书由全国著名消化内科及相关学科专业学者共同执笔, 为近年在腹痛诊疗方面的最新代表作. 精装, 图文并茂, 内容新颖实用, 全书2014千字, 分上下两篇, 上篇为总论, 包括腹痛的病理生理学、腹痛的病因与发病机制、腹痛的临床诊断、腹痛的内镜与影像诊断与鉴别诊断、腹痛的实验室诊断、腹痛的治疗等11章. 下篇为各论, 分别介绍腹痛疾病的鉴别诊断与治疗. 从第12章至第15章分别介绍腹腔脏器炎症、阻塞、扭转、穿孔、破裂、血管疾病、心肺疾病、妇科疾病、急性中毒等引起急性腹痛的鉴别诊断与治疗. 从第17章至第29章分别介绍胃肠、胰, 肾、感染、肿瘤引起的慢性腹痛鉴别诊断与治疗. 从第30章至第36章分别介绍肝胆系统疾病和系统疾病引起腹痛的鉴别诊断与治疗. 最后一章为经典案例53例, 分别介绍了不同案例的诊治体会、经验与教训.

全书以症状鉴别诊断为中心, 与治疗并重, 均作了全面与详尽的阐述, 是一部有关腹痛诊治的新作, 有较高的学术水平和参考价值, 可为消化内科、普外科、小儿科、感染科、肿瘤科、影像科和妇产科等学科医师学习与参考. 每册定价188元 , 购书热线 010-59787592, 010-59787584, 010-65264830, 人卫智慧服务商城(人卫社官方购书网站)、当当、京东、天猫等网店均可搜索购书, 欢迎选购.

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: https://www.baishideng.com

世界华人消化杂志 2021年6月28日; 29(12): 662-669

DOI: 10.11569/wcjd.v29.i12.662

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

文献综述 REVIEW

门静脉海绵样变性的临床诊疗进展

李 昊, 孙培鸣, 孙宏伟, 崔 彦

李昊, 孙培鸣, 孙宏伟, 崔彦, 战略支援部队特色医学中心普通外科 北京市 100101

李昊, 主治医师, 主要从事消化外科的临床和基础研究工作.

作者贡献分布: 本课题由崔彦设计; 由李昊、孙培鸣、孙宏伟共同收集资料和分析;论文撰写由李昊完成; 崔彦指导论文写作.

通讯作者: 崔彦, 博士, 教授, 主任医师, 100101, 北京市朝阳区安翔北里9号, 战略支援部队特色医学中心普通外科. dryancui@aliyun.com

收稿日期: 2021-03-09
修回日期: 2021-04-08
接受日期: 2021-05-11
在线出版日期: 2021-06-28

Progress in clinical diagnosis and treatment of cavernous transformation of the portal vein

Hao Li, Pei-Ming Sun, Hong-Wei Sun, Yan Cui

Hao Li, Pei-Ming Sun, Hong-Wei Sun, Yan Cui, Department of General Surgery, Strategic Support Force Medical Center, Beijing 100101, China

Corresponding author: Yan Cui, PhD, Professor, Chief Physician, Department of General Surgery, Strategic Support Force Medical Center, No. 9 Anxiang Beili, Chaoyang District, Beijing 100101, China. dryancui@aliyun.com

Received: 2021-03-09
Revised: 2021-04-08
Accepted: 2021-05-11
Published online: 2021-06-28

Abstract

Cavernous transformation of the portal vein (CTPV) refers to the compensatory neoformation of venous collaterals around the hepatic portal after the main portal vein or its branches are blocked, in order to maintain liver blood perfusion. This disease is relatively rare, and in clinical practice, its etiology, diagnosis, and treatment are not well understood. Patients with portal hypertension-related syndromes need to receive active treatment. The main goal of treatment is to prevent upper gastrointestinal hemorrhage and hypersplenism caused by portal hypertension, and to restore hepatopetal portal blood perfusion. It is necessary to fully assess the patient's condition and understand the best indications for each treatment. On this basis, we should adopt individualized comprehensive treatment strategies. This article reviews the latest advances in the understanding of the etiology, diagnosis, classification, and treatment of CTPV.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Cavernous transformation of the portal vein; Etiology; Diagnosis; Treatment

Citation: Li H, Song PM, Song HW, Cui Y. Progress in clinical diagnosis and treatment of cavernous transformation of the portal vein. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2021; 29(12): 662-669
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i12/662.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i12.662

摘要

门静脉海绵样变性(cavernous transformation of portal vein, CTPV)是指门静脉主干或其分支受阻后, 机体为维持肝脏血流灌注, 在肝门区代偿性形成的大量海绵样侧支血管丛. 该病较罕见, 临床实践中缺乏对其病因及诊疗原则的认识. 对于出现门静脉高压相关症状的患者需要采取积极治疗措施. 治疗的主要目的是防治门静脉高压引起的上消化道出血和脾功能亢进, 以及恢复肝脏门静脉血流灌注. 需要在充分了解患者病情及每种治疗方式最佳适应症的基础上, 采用个体化综合治疗策略. 本文就CTPV的病因、诊断、分型、

治疗方面的最新进展作一综述.

© **The Author(s) 2021.** Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 门静脉海绵样变性; 病因; 诊断; 治疗

核心提要: 门静脉海绵样变性(cavernous transformation of portal vein, CTPV)是一种罕见疾病, 主要病理改变为门静脉系统血流受阻后肝门区代偿性形成大量海绵样侧支血管丛. 约一半的CTPV患者病因不明确, 最常见的可知病因是各种原因导致的门静脉血栓形成. CTPV的临床表现以门静脉高压相关症候群为主, 结合病史及影像学表现可明确诊断, 但误诊较常见. 治疗上, 需在充分了解患者病情及掌握各种治疗方式最佳适应症的基础上, 采用个体化综合治疗策略.

文献来源: 李昊, 孙培鸣, 孙宏伟, 崔彦. 门静脉海绵样变性的临床诊疗进展. 世界华人消化杂志 2021; 29(12): 662-669
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i12/662.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i12.662

0 引言

门静脉海绵样变性(cavernous transformation of portal vein, CTPV), 又称门静脉海绵状瘤(portal cavernoma), 是先天性或继发性病变导致门静脉主干和/或其分支完全或部分受阻后, 门静脉压力增高致肝门区代偿性形成大量向肝的扩张迂曲侧支静脉丛, 形似海绵, 故得此名[1]. 绝大多数CTPV是门静脉栓塞后的继发表现, 可发生于急性门静脉血栓形成(portal vein thrombosis, PVT)后的6-20 d内[2,3], 约占全人群门静脉高压症(portal hypertension, PH)的3.5%[4], 其中儿童更常见, 约占儿童PH的40%[4,5]. 该病继续进展导致门静脉压力不断升高, 引起反复上消化道出血、脾大、脾功能亢进等症状. 1869年, Balfour和Stewart首次报道了CTPV[6], 后相继有中心报道该疾病[7-10]. 近年来随着诊断技术的不断提高, 对该病的检出率逐渐增加, 诊疗理念也在同步更新中. 本文结合近期相关文献, 对门静脉海绵样变性的临床诊疗进展进行了综述.

1 病因

一般认为, 任何可以导致肝外门静脉阻塞(extrahepatic portal vein obstruction, EHPVO)的疾病均可引起CTPV. 但确定CTPV的具体病因往往较困难, 约50%CTPV在经详细问诊及检查后仍难确定病因[9]. 除极罕见的先天因素(如门静脉先天性闭锁、门静脉发育不全或狭窄等)外, 绝大多数CTPV继发于各种原因导致的PVT. 故本文该部分着重回顾了PVT的危险因素.

静脉血栓形成的三要素包括高凝状态、血管内皮损伤和血流瘀滞(Virchow三联征), 它们也可用以阐释PVT的形成机制. 门静脉血流具有压力低、流速慢、流量大的特点, 是血栓形成的好发部位. 儿童和成人PVT的危险因素有所差异. 对于儿童, 常见的危险因素包括门静脉损伤与继发性炎症刺激, 如脐静脉置管、脐静脉感染、脐炎、新生儿脓毒症等[11,12]. 成人PVT的危险因素更为复杂, 可概括为局部因素和全身因素. 局部因素包括门静脉血管瘤、肝内动脉-门静脉瘘、肝门占位性病变(如肝细胞癌、肝包虫病等)、门静脉癌栓(多见于肝细胞癌)、肝静脉阻塞性疾病(如布加综合征)、腹腔内炎症(如门静脉炎、胰腺炎、胆道感染、肝脓肿、化脓性阑尾炎、克罗恩病、溃疡性结肠炎等)、手术(脾切除术、胆囊切除术、胆肠吻合术、胰十二指肠切除术、肝切除及肝移植等)以及各种原因的肝硬化等[7,13-17]. 全身因素主要指先天性或后天性高凝状态. 根据现有报道[17-20], 全身因素包括骨髓增生性疾病(包括真性红细胞增多症、原发性血小板增多症、慢性骨髓纤维化, 约占21%)、凝血酶原基因G20210A突变(约占15%)、抗磷脂抗体综合征(约占9%)、恶性肿瘤(如胰腺癌、胃癌)、凝血因子(抗凝血酶III、蛋白S和蛋白C)缺乏、JAK-2基因V617F突变、口服避孕药、阵发性睡眠性血红蛋白尿、高同型半胱氨酸血症、凝血因子V莱顿(Leiden)突变和亚甲基四氢叶酸还原酶基因突变等. 在接受包括骨髓穿刺活检在内的彻底病因检查的患者中, 72%可发现一种或多种全身危险因素, 仅5%存在孤立的局部危险因素. 因此, PVT通常是局部危险因素和全身危险因素综合作用的结果[16].

在CTPV形成过程中, 新发静脉侧支可以分为向肝型(门-门分流)和离肝型(门-体分流)[1,3]. 栓塞门静脉的部分再通, 肝结肠韧带和肝十二指肠韧带内的小静脉迂曲扩张及侧支静脉交通形成等病理改变可同时发生于EHPVO, 但这些代偿性改变不足以缓解内脏床中的高压并补偿减少的肝脏血流, 以致离肝血管在门-体交通部位发展为静脉曲张、痔疮、侧支交通或自发分流[21]. De Gaetano等[3]通过超声多普勒观察到在肝内局部门静脉受阻病例中, 受阻部位附近的一段门静脉会分流至另一节段门静脉, 相似的血流重分布现象也出现在某些肝实质疾病(如肝硬化)中. 肝内血流重分布的原因可能是向肝血流的阻力分布不均. 随着门静脉阻力的增加, 受影响严重区域的血流可能会逆转并分流到相对健康的区域. 当门静脉海绵状转化蔓延至肝脏时, 进入高阻力区域的门静脉血流可能会转移到另一段阻力较低的静脉中. 肝硬化和其他肝实质疾病患者发生PVT相对频繁, 但与无肝脏疾病患者相比, 较少患者出现门脉血栓再通与门静脉海绵样变[19], 其原因可能与病肝门静脉血流阻

力大于健康肝脏有关, 即存在明显肝内性门静脉高压. 据此推测, 门静脉海绵样变形成的一个必要条件是门静脉受阻部位的远端无较大血流阻力.

2 临床表现与诊断

先天性CTPV如未发展到PH, 可不出现任何症状. 继发性CTPV可表现为反复上消化道出血、脾大、脾功能亢进、腹水、门静脉高压性胃病、门静脉性肺动脉高压(portopulmonary hypertension, PPHTN)以及门静脉高压性胆病(portal hypertensive biliopathy, PHB)等[22]. PHB是由扩张侧支静脉压迫胆管或引起胆道缺血性损伤所致. 在磁共振胆道水成像中, 77%-100%的CTPV患者出现了胆道形态变化[23,24], 但多数PHB患者无明显症状或仅有单纯肝酶异常, 少数患者可发展为胆石症, 出现腹痛、梗阻性黄疸等胆管炎症状[22,25]. 如门静脉血栓和胆道病变长期存在或继续发展, 可导致肠系膜静脉充血、局部肠道缺血、胆汁性肝硬化失代偿、肝性脑病等难治性致命性病变[26-28].

除典型临床表现外, CTPV的诊断主要依靠影像学检查, 如超声、电子计算机断层扫描(computed tomography, CT)、磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)等. 在正常门静脉的位置, 门静脉被多个侧支静脉血流代替是CTPV的特征性表现. 据此影像学表现, 往往可确诊CTPV. 超声检查是CTPV初始评估的首选方法. 两项独立研究报告[29,30]显示, 超声诊断CTPV的敏感性为89%-93%, 特异性为92%-99%. 彩色多普勒超声还可提供血流速度、方向、流量等方面信息, 用以详细评估疾病严重程度. 影响超声诊断准确性的因素包括肥胖、腹水、肠内气体和操作者经验等[31]. 微泡对比增强多普勒超声和内镜超声具有更高的诊断效能[32,33]. 若超声检查提示门静脉血流正常, 则可排除CTPV; 若发现PVT及门静脉侧支循环形成, 则需要进一步行CT或MRI检查以确诊并明确病变范围. 腹部增强CT可有效评估门静脉系统. 门静脉期显像可提供血栓范围、局部因素、肠充血和缺血范围等重要信息. CT检查的缺点包括辐射暴露、对比剂肾病风险以及技术因素引起的结果解读差异等. 增强MRI已部分取代CT, 成为超声检查后的一线诊断方式. MRI的优点是无辐射, 并对合并胆道疾病或恶性肿瘤患者的敏感性更高, 缺点为费用昂贵、易产生运动伪影以及腹水或肥胖影响图像质量等[19]. 此外, 上消化道造影及胃镜检查可研判食管胃底静脉曲张程度及破裂出血风险.

3 分型

目前CTPV的分型主要依赖超声表现. Ueno等[34]将CTPV划分为3型, 即Ⅰ型: 门静脉主干区域多条侧支静脉形成, 正常门静脉结构显示不清, 多为特发性; Ⅱ型: 门静脉主干存在, 腔内见栓子伴周围侧支静脉形成, 良性及恶性栓子均可引起; Ⅲ型: 门静脉腔外肿物压迫或侵犯致门静脉主干阻塞, 伴周围侧支静脉形成, 多由外部恶性病灶引起. 通过该种形态学分型可大体推断CTPV的病因. 秦石成等[35]通过对14例CTPV患儿行彩色多普勒超声检查, 根据门静脉阻塞部位将其分为3型, 即Ⅰ型: 肝外型, 肝门部门静脉主干狭窄或闭塞, 代之为分布于肝门部和胆囊床部蜂窝状管状回声. Ⅱ型: 混合型, Ⅰ型合并肝内门静脉左和(或)右分支狭窄或闭塞, 管壁回声增强, 周围见蜂窝状管道回声. Ⅲ型: 肝内型, 肝内门静脉左和(或)右分支狭窄或闭塞, 而肝外门静脉主干未受累. 该分型便于明确门静脉阻塞部位, 指导后续治疗. 冯子毅等[36]结合术前彩色多普勒超声及临床表现, 将CTPV分为4型, 即Ⅰ型: 门静脉有海绵样变性,但无临床症状, 无脾大, 此型患者仅需严密观察, 无需治疗; Ⅱ型: 门静脉有海绵样变性, 同时有PH, 但海绵样变仅限于门静脉, 此型可灵活选择断流术或分流术治疗; Ⅲ型: 在Ⅱ型基础上海绵样变波及大部分肠系膜上静脉和部分脾静脉, 此型宜选择远端脾-肾分流术治疗; Ⅳ型: 在Ⅱ型基础上, 海绵样变波及整个门静脉系统, 该型患者仅做贲门周围血管离断术及脾切除, 以缓解贫血和出血症状. 该分型主要用于评估CTPV的严重程度和病变范围, 进而指导手术方案的选择及判断预后.

4 治疗

CTPV的治疗目的主要是防治门静脉高压引起的上消化道出血和脾功能亢进, 以及恢复肝脏门静脉血流灌注. 目前治疗方式多样, 应针对患者具体情况和每种治疗方式的特点, 细致评估, 采用个体化综合治疗策略, 以使患者治疗获益最大化.

4.1 药物治疗

4.1.1 *抗凝药物*: 抗凝治疗的目的是防止血栓复发或扩展至其他内脏静脉, 从而预防肠梗塞和PH相关症状. 经典抗凝治疗主要以肝素(普通肝素或低分子量肝素)和维生素K拮抗剂为基础. 研究证实, 抗凝剂的使用不仅可以降低血栓复发率和进展率[26,37], 还可以改善患者远期生存率[28]. 最近一项荟萃分析结果提示抗凝治疗可显著提高肝硬化合并PVT患者的门静脉再通率, 与降低食管静脉曲张破裂出血的风险相关[38]. 抗凝治疗前需详细评估患者的凝血功能, 尤其对于存在肝硬化凝血功能障碍的患者, 更要仔细权衡出血风险及治疗获益, 优化抗凝方案[39]. 当然在长期抗凝过程中也需要定期监测凝血功能. 在PVT和骨髓增生性疾病患者中, 发生肝素诱导的血小

板减少症的概率可达20%, 这些患者使用的抗凝剂几乎均为普通肝素[40]. 近期一项大型回顾性队列研究显示利伐沙班、阿哌沙班和达比加群等直接口服抗凝药物(direct oral anticoagulants, DOACs)治疗非肝硬化性PVT是安全有效的[41], 这一结论仍需要随机对照研究的验证. 目前, 美国和欧洲相关指南对不能用其他方式纠正的严重高凝状态患者建议使用抗凝治疗[2,27], 而对无高凝状态患者是否进行长期抗凝治疗, 尚无定论.

4.1.2 *降压药物*: β受体阻滞剂具有减缓心率、降低门静脉压力的作用. 非选择性β受体阻滞剂可降低慢性EHPVO和重度静脉曲张患者的出血风险并提高长期生存率[28]. 一项针对EHPVO患者的大型队列研究发现, 接受β受体阻滞剂的患者和接受内镜下套扎术预防性治疗患者的出血率相似(分别为32%和25%)[42]. 另有研究表明, 在未接受抗凝治疗的患者中, 内镜下静脉曲张套扎和普萘洛尔预防静脉曲张再出血的疗效相似[43]. 最近有国内外学者发现, 使用非选择性β受体阻滞剂与肝硬化患者PVT形成或进展风险增加相关[44,45], 一项荟萃分析结果同样提示了该结论[46], 但在非肝硬化患者中是否存在相同血栓形成风险, 及其促血栓机制尚未明确. 非选择性β受体阻滞剂在CTPV治疗中带来的获益与风险有待进一步评估.

4.1.3 *其他药物*: 血管加压素类、生长抑素类药物等可以明显减少内脏器官的血流量, 降低曲张血管出血风险, 而又不引起体循环动脉血压的显著变化, 因而在治疗食管胃底静脉曲张出血方面有一定临床价值[47,48].

4.2 *内镜治疗* 内镜下止血治疗可用于CTPV所致的食管胃底静脉曲张破裂出血的急诊或预防性治疗, 主要包括内镜下硬化剂注射、组织胶注射和套扎治疗, 其优点为疗效确切、简单、微创、适用范围广, 局限性是无法从根本上缓解门静脉高压, 治疗后易复发. 一般认为, 硬化治疗不能作为预防首次出血的一线治疗. 门静脉海绵样变性时, 高压的内脏静脉血经大量侧支静脉流向低压的肝窦, 硬化剂注射可导致多处内脏静脉血栓形成, 影响患者日后行分流手术, 可能造成严重后果[49]. 硬化剂和组织胶注射易引起食管溃疡、狭窄、缺血穿孔、异位栓塞等严重并发症. 套扎治疗也可导致食管穿孔、狭窄, 以及其他静脉(脾静脉、肠系膜上静脉等)血栓形成[49], 对突出不明显的曲张静脉无法结扎. 超声内镜引导下可更准确地将组织胶注射至曲张静脉内, 并可对治疗后静脉闭塞情况进行更有效的评估. 然而, 超声内镜下组织胶注射仍可出现异位栓塞等严重并发症. 弹簧圈与组织胶共同注入曲张静脉内可起到固定支架的作用, 使组织胶存留在曲张静脉内, 减少组织胶用量及异位栓塞发生率[50]. 目前普遍认为, 内镜联合药物治疗可达到更理想的治疗效果.

4.3 *介入治疗* 经颈静脉肝内门-体分流术(transjugular intrahepatic porto-systemic shunts, TIPS)能够再通门静脉, 降低门静脉压力, 是预防肝硬化合并门静脉血栓患者食管胃底静脉曲张再出血的重要方法[51]. 曾有学者认为, CTPV是TIPS的禁忌症. 但随着技术的进步和对目标患者的选择, TIPS已可在73.3%-85%的CTPV患者中成功实施, 并显著降低了平均门静脉压力及再出血率, 说明TIPS对预防CTPV患者食管胃底静脉曲张再出血有显著作用[10,52-55]. TIPS成功与否主要与门静脉血栓的范围和局部解剖条件相关. 一项针对15例EHPVO患者的研究发现, 经皮经肝门静脉再通在92%肝内门静脉分支未闭的患者中可以成功实施, 而在肝内门静脉分支阻塞的患者中均失败[56]. 联合经皮经肝、经脾和经肠系膜静脉入路可能会提高TIPS成功率[10,53,57]. 肝性脑病为TIPS最常见的并发症,在CTPV患者中的发病率可达28%[52,53,58]. 有学者发现, TIPS术中同时行曲张静脉栓塞, 可延长由支架功能障碍导致的再发门静脉高压到再出血时间[10]. 在EHPVO背景下, 应着重强调在门静脉再通后立即行围手术期抗凝治疗. 上述研究皆为小样本回顾性分析, 尚需大规模前瞻性研究的验证.

4.4 *手术治疗* 对于内镜或药物治疗后发生的难治性再出血, 存在严重脾功能亢进或者PHB的CTPV患者可行手术治疗. 主要术式有断流术、分流术、联合手术、转流术及肝移植等, 每种术式各有优势与不足, 具体术式的选择需根据患者具体病情而定. 因CTPV有大量侧支血管形成, 部分解剖结构发生改变, 血管内压力较高, 容易造成副损伤及术中急性出血, 手术风险大, 建议经验丰富的外科医师操作.

4.4.1 *断流术*: 经典的门奇静脉断流术为脾切除加贲门周围血管离断术. 该术式离断了导致食管胃底静脉曲张破裂出血的病理性曲张侧支血管, 止血迅速, 同时切除脾脏, 根治了脾功能亢进, 疗效确切[59]. 但该术式存在一些局限性, 如术中很难将曲张静脉完全离断, 同时还会破坏向肝交通静脉; 未解决门静脉高压以致新的侧支曲张血管形成; 离断了胃底周围静脉, 可加重门静脉高压性胃病; 门静脉血栓形成或加重, 导致门静脉压力进一步升高等[60]. 目前, 断流术已很少作为CTPV的首选术式, 但因其操作简便, 术中创伤小及术后恢复快, 对肝功能没有要求等优点, 仍可用于治疗急诊上消化道出血或无法完成分流术的CTPV患者[61].

4.4.2 *分流术*: 门腔静脉分流术分为非选择性分流术和选择性分流术. 非选择性分流术虽能有效降低门静脉压力, 防止食管胃曲张静脉破裂出血, 但也因门腔分流量过大导致肝脏门静脉灌注不足, 易引起肝功能损害、肝

脏萎缩或发育受限(肝损害程度与吻合口大小和位置有关). 同时, 门脉中血氨代谢不足也更易导致肝性脑病[62]. 随着外科技术和理念的进步, 针对PH的择期分流术更多采用选择性分流, 其中远端脾肾分流术是治疗CTPV的常用术式. 该术式不仅可以有效缓解脾胃区的门静脉压力, 降低食管胃曲张静脉破裂出血风险, 还可减少对肠区静脉回流的影响, 保证一定的肝脏门静脉灌注. 远端脾肾分流术维持长期疗效的关键点是保持脾肾静脉吻合口的通畅, 避免吻合口血栓形成. 吻合血管的直径、吻合技术以及缝线材质对吻合口血栓形成的影响较大[5,49].

4.4.3 Rex手术: 以上术式虽然缓解了CTPV患者的PH, 但对生理结构改变较大, 未从根本上解决EHPVO引起的肝脏门静脉血流灌注不足问题, 尤其对于儿童患者, 长期的肝脏供血不足可能会导致肝功能不全、萎缩, 生长发育障碍, 神经认知异常, 影响长期生活质量[63,64]. de Ville等[65]于1992年首先报道了Rex术式, 为1例部分肝移植术后门静脉血栓形成的患儿重建了门静脉通路, 后将其应用于CTPV治疗. 该术式通过将自体静脉移植物在门静脉左支(Rex隐窝内)或与之相连通的开放的脐静脉与肝外门静脉或门静脉系统其他属支间架桥转流, 尽可能恢复了门静脉的生理性解剖和血流动力[4], 逆转了PH相关症状及门体分流的不良后果, 是一种针对CTPV相对治愈性的治疗方式. Rex手术与非生理性分流术在缓解食管胃静脉曲张和PHB方面疗效相似, 但在改善脾大、脾功能亢进、肝功能异常、肝脏萎缩、身体发育障碍以及肝性脑病等方面更具优势, 与传统分流术(如远端脾肾分流术)相比, 吻合口血栓形成的发生率更低[64]. Rex手术已逐渐成为部分CTPV患者的首选术式. 满足以下条件的CTPV患者适宜行Rex手术: (1)肝内门静脉结构完整通畅; (2)肝静脉压力梯度正常, 无影响门脉血流的基础肝病; (3)肠系膜上静脉和脾静脉无明显血栓形成; (4)有可供利用的架桥血管(管腔通畅, 直径≥5 mm, 长度达到无张力吻合); (5)无严重内源性高凝状态; (6)体重>8 kg[64]. 在临床实践中, Rex术前需要详细评估肝脏功能, 必要时行肝穿刺活检, 以排除影响门静脉回流的肝脏疾病, 并需选择超声、CT或MRI血管成像、以及术前或术中门静脉造影等检查对门静脉及其属支和架桥血管进行充分评估. Rex手术方案的具体设计应在充分术前评估的基础上遵循个体化原则. 术后抗凝治疗可有效预防术后分流血管血栓形成, 尤其对于伴有凝血机制异常的CTPV患者[66]. 受Rex手术理念启发, 目前也有肝外门静脉与门静脉右支搭桥的个案报道[67], 可在门静脉左支闭锁的情况下采用, 但其长期预后尚待进一步评估.

4.4.4 联合手术: 断流术联合分流术既能及时阻断门奇静脉间异常侧支血流, 达到急性止血的要求, 又可有效降低门静脉压力, 防止食管胃底曲张血管形成, 达到预防远期消化道复发性出血的目的. 联合手术同样需注意预防吻合血管的栓塞. 小样本研究显示, 断流术联合限制性门腔分流(吻合口径约0.8 cm)发生吻合口阻塞和肝性脑病的概率较低[68], 可达到较好的远期效果. 目前, 更常采用的联合术式为贲门周围血管离断术加Rex手术. 有研究表明, 对CTPV患者采用贲门周围血管离断术加Rex手术联合治疗, 患者术后血细胞计数明显增加, 术后消化道出血的发生率也明显降低, 远期预后良好[69,70].

4.4.5 肝移植: 肝移植可从根本上解决EHPVO导致的PH, 与其他治疗方式相比, 其疗效更为可靠. 对于CTPV患者, 在其他手术方式治疗失败、反复消化道出血且难以有效控制、伴肝功能衰竭者, 肝移植可作为最终的治疗方式. 儿童CTPV患者可选择亲体肝移植或劈离式肝移植. 随着肝移植手术技术的进步和术后免疫抑制治疗效果的提升, 儿童肝移植术后5年生存率已达90%以上[71]. 有临床研究结果显示, 亲体肝移植可根治EHPVO, 恢复门静脉血流通畅, 长期有效降低门静脉压力, 改善生长发育情况[49]. 但肝移植手术操作复杂, 技术要求高, 治疗费用昂贵, 加之肝源紧缺, 在临床实际中较难广泛开展和普及.

5 结论

CTPV是一种罕见疾病, 主要病理改变为门静脉系统血流受阻后肝门区代偿性形成大量海绵样侧支血管丛. 约一半的CTPV患者病因不明确, 最常见的可知病因是各种原因导致的门静脉血栓形成. CTPV的临床表现以门静脉高压相关症候群为主, 结合病史及影像学表现可明确诊断. 治疗上, 需在充分了解患者病情及掌握各种治疗方式最佳适应症的基础上, 采用个体化综合治疗策略.

6 参考文献

1 Kuy S, Dua A, Rieland J, Cronin DC 2nd. Cavernous transformation of the portal vein. *J Vasc Surg* 2016; 63: 529 [PMID: 26804220 DOI: 10.1016/j.jvs.2014.05.013]

2 DeLeve LD, Valla DC, Garcia-Tsao G; American Association for the Study Liver Diseases. Vascular disorders of the liver. *Hepatology* 2009; 49: 1729-1764 [PMID: 19399912 DOI: 10.1002/hep.22772]

3 De Gaetano AM, Lafortune M, Patriquin H, De Franco A, Aubin B, Paradis K. Cavernous transformation of the portal vein: patterns of intrahepatic and splanchnic collateral circulation detected with Doppler sonography. *AJR Am J Roentgenol* 1995; 165: 1151-1155 [PMID: 7572494 DOI: 10.2214/ajr.165.5.7572494]

4 董家鸿, 纪旭. 门静脉海绵样变性的外科治疗策略. 中华消化杂志 2014; 34: 10-12 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-1432.2014.01.00]

5 孙蕊, 李龙. 儿童门静脉海绵样变性的外科手术治疗研究进展. 临床小儿外科杂志 2020; 19: 1145-1151 [DOI: 10.3969/j. issn.1671-6353.2020.12.016]

6 Balfour GW, Stewart TG. Case of Enlarged Spleen Complicated with Ascites, Both Depending upon Varicose Dilatation and Thrombosis of the Portal Vein. *Edinb Med J* 1869; 14: 589-598 [PMID: 29639641]
7 Hassine HB. Hydatid disease of the liver with portal vein invasion and cavernous transformation: A case report and literature review. *IDCases* 2021; 23: e01006 [PMID: 33251112 DOI: 10.1016/j.idcr.2020.e01006]
8 Ahmed O, Ohman JW, Vachharajani N, Yano M, Sanford DE, Hammill C, Fields RC, Hawkins WG, Strasberg SM, Doyle MB, Chapman WC, Khan AS. Feasibility and safety of non-operative management of portal vein aneurysms: a thirty-five year experience. *HPB (Oxford)* 2021; 23: 127-133 [PMID: 32561177 DOI: 10.1016/j.hpb.2020.05.006]
9 Elkrief L, Houssel-Debry P, Ackermann O, Franchi-Abella S, Branchereau S, Valla D, Hillaire S, Dutheil D, Plessier A, Hernandez-Gea V, Bureau C. Portal cavernoma or chronic non cirrhotic extrahepatic portal vein obstruction. *Clin Res Hepatol Gastroenterol* 2020; 44: 491-496 [PMID: 32819872 DOI: 10.1016/j.clinre.2020.03.016]
10 金苏云, 王广川, 李赵鹏, 黄广军, 李翠, 陈功海, 张春清. 经颈静脉肝内门体分流术预防门静脉海绵样变食管胃底静脉曲张再出血的临床应用. 中华消化病与影像杂志(电子版) 2021; 11: 31-36 [DOI: 10.3877/cma.j.issn.2095-2015.2021.01.007]
11 Dubbink-Verheij GH, Visser R, Roest AA, van Ommen CH, Te Pas AB, Lopriore E. Thrombosis after umbilical venous catheterisation: prospective study with serial ultrasound. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2020; 105: 299-303 [PMID: 31391204 DOI: 10.1136/archdischild-2018-316762]
12 Bhatt MD, Chan AK. Venous thrombosis in neonates. *Fac Rev* 2021; 10: 20 [PMID: 33718937 DOI: 10.12703/r/10-20]
13 Vibert E, Azoulay D, Castaing D, Bismuth H. [Portal cavenorma: diagnosis, aetiologies and consequences]. *Ann Chir* 2002; 127: 745-750 [PMID: 12538094 DOI: 10.1016/s0003-3944(02)00897-0]
14 Mori A, Arimoto A, Hamaguchi Y, Kajiwara M, Nakajima A, Kanaya S. Risk Factors and Outcome of Portal Vein Thrombosis After Laparoscopic and Open Hepatectomy for Primary Liver Cancer: A Single-Center Experience. *World J Surg* 2020; 44: 3093-3099 [PMID: 32394012 DOI: 10.1007/s00268-020-05565-4]
15 Maconi G, Bolzacchini E, Dell'Era A, Russo U, Ardizzone S, de Franchis R. Portal vein thrombosis in inflammatory bowel diseases: a single-center case series. *J Crohns Colitis* 2012; 6: 362-367 [PMID: 22405175 DOI: 10.1016/j.crohns.2011.10.003]
16 Denninger MH, Chaït Y, Casadevall N, Hillaire S, Guillin MC, Bezeaud A, Erlinger S, Briere J, Valla D. Cause of portal or hepatic venous thrombosis in adults: the role of multiple concurrent factors. *Hepatology* 2000; 31: 587-591 [PMID: 10706547 DOI: 10.1002/hep.510310307]
17 祁兴顺, 韩国宏, 樊代明. 门静脉阻塞研究进展. 中华医学杂志 2014; 94: 473-475 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2014.06.020]
18 Khanna R, Sarin SK. Idiopathic portal hypertension and extrahepatic portal venous obstruction. *Hepatol Int* 2018; 12: 148-167 [PMID: 29464506 DOI: 10.1007/s12072-018-9844-3]
19 Intagliata NM, Caldwell SH, Tripodi A. Diagnosis, Development, and Treatment of Portal Vein Thrombosis in Patients With and Without Cirrhosis. *Gastroenterology* 2019; 156: 1582-1599.e1 [PMID: 30771355 DOI: 10.1053/j.gastro.2019.01.265]
20 Mezouar S, Frère C, Darbousset R, Mege D, Crescence L, Dignat-George F, Panicot-Dubois L, Dubois C. Role of platelets in cancer and cancer-associated thrombosis: Experimental and clinical evidences. *Thromb Res* 2016; 139: 65-76 [PMID: 26916298 DOI: 10.1016/j.thromres.2016.01.006]
21 Khanna R, Sarin SK. Non-cirrhotic portal hypertension - diagnosis and management. *J Hepatol* 2014; 60: 421-441 [PMID: 23978714 DOI: 10.1016/j.jhep.2013.08.013]
22 European Association for the Study of the Liver. Electronic address: easloffice@easloffice.eu. EASL Clinical Practice Guidelines: Vascular diseases of the liver. *J Hepatol* 2016; 64: 179-202 [PMID: 26516032 DOI: 10.1016/j.jhep.2015.07.040]
23 Llop E, de Juan C, Seijo S, García-Criado A, Abraldes JG, Bosch J, García-Pagán JC. Portal cholangiopathy: radiological classification and natural history. *Gut* 2011; 60: 853-860 [PMID: 21270119 DOI: 10.1136/gut.2010.230201]
24 Condat B, Vilgrain V, Asselah T, O'Toole D, Rufat P, Zappa M, Moreau R, Valla D. Portal cavernoma-associated cholangiopathy: a clinical and MR cholangiography coupled with MR portography imaging study. *Hepatology* 2003; 37: 1302-1308 [PMID: 12774008 DOI: 10.1053/jhep.2003.50232]
25 Pittman ME, Kierans AS, Rao D, Yantiss RK, Samstein B, Jessurun J. Portal Cavernoma Cholangiopathy: Histologic Features and Differential Diagnosis. *Am J Clin Pathol* 2019; 151: 255-262 [PMID: 30357333 DOI: 10.1093/ajcp/aqy132]
26 Amitrano L, Guardascione MA, Scaglione M, Pezzullo L, Sangiuliano N, Armellino MF, Manguso F, Margaglione M, Ames PR, Iannaccone L, Grandone E, Romano L, Balzano A. Prognostic factors in noncirrhotic patients with splanchnic vein thromboses. *Am J Gastroenterol* 2007; 102: 2464-2470 [PMID: 17958760 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2007.01477.x]
27 de Franchis R; Baveno VI Faculty. Expanding consensus in portal hypertension: Report of the Baveno VI Consensus Workshop: Stratifying risk and individualizing care for portal hypertension. *J Hepatol* 2015; 63: 743-752 [PMID: 26047908 DOI: 10.1016/j.jhep.2015.05.022]
28 Terlouw LG, Moelker A, Abrahamsen J, Acosta S, Bakker OJ, Baumgartner I, Boyer L, Corcos O, van Dijk LJ, Duran M, Geelkerken RH, Illuminati G, Jackson RW, Kärkkäinen JM, Kolkman JJ, Lönn L, Mazzei MA, Nuzzo A, Pecoraro F, Raupach J, Verhagen HJ, Zech CJ, van Noord D, Bruno MJ. European guidelines on chronic mesenteric ischaemia - joint United European Gastroenterology, European Association for Gastroenterology, Endoscopy and Nutrition, European Society of Gastrointestinal and Abdominal Radiology, Netherlands Association of Hepatogastroenterologists, Hellenic Society of Gastroenterology, Cardiovascular and Interventional Radiological Society of Europe, and Dutch Mesenteric Ischemia Study group clinical guidelines on the diagnosis and treatment of patients with chronic mesenteric ischaemia. *United European Gastroenterol J* 2020; 8: 371-395 [PMID: 32297566 DOI: 10.1177/2050640620916681]
29 Tessler FN, Gehring BJ, Gomes AS, Perrella RR, Ragavendra N, Busuttil RW, Grant EG. Diagnosis of portal vein thrombosis: value of color Doppler imaging. *AJR Am J Roentgenol* 1991; 157: 293-296 [PMID: 1853809 DOI: 10.2214/ajr.157.2.1853809]
30 Bach AM, Hann LE, Brown KT, Getrajdman GI, Herman SK, Fong Y, Blumgart LH. Portal vein evaluation with US: comparison to angiography combined with CT arterial portography. *Radiology* 1996; 201: 149-154 [PMID: 8816536 DOI: 10.1148/radiology.201.1.8816536]
31 Chen J, Zhu J, Zhang C, Song Y, Huang P. Contrast-enhanced ultrasound for the characterization of portal vein thrombosis vs tumor-in-vein in HCC patients: a systematic review and meta-analysis. *Eur Radiol* 2020; 30: 2871-2880 [PMID: 32020403 DOI: 10.1007/s00330-019-06649-z]
32 Marshall MM, Beese RC, Muiesan P, Sarma DI, O'Grady J, Sidhu PS. Assessment of portal venous system patency in the liver transplant candidate: a prospective study comparing ultrasound, microbubble-enhanced colour Doppler ultrasound, with arteriography and surgery. *Clin Radiol* 2002; 57: 377-383 [PMID: 12014935 DOI: 10.1053/crad.2001.0839]
33 Lai L, Brugge WR. Endoscopic ultrasound is a sensitive and specific test to diagnose portal venous system thrombosis (PVST). *Am J Gastroenterol* 2004; 99: 40-44 [PMID: 14687139 DOI: 10.1046/

j.1572-0241.2003.04020.x]
34 Ueno N, Sasaki A, Tomiyama T, Tano S, Kimura K. Color Doppler ultrasonography in the diagnosis of cavernous transformation of the portal vein. *J Clin Ultrasound* 1997; 25: 227-233 [PMID: 9314103 DOI: 10.1002/(sici)1097-0096(199706)25:5<227::aid-jcu2>3.0.co;2-f]
35 秦石成, 秦兆冰, 吴振东, 程安玲. 小儿门静脉海绵样变性的彩色多普勒超声诊断. 中国超声医学杂志 1998; 14: 45-46
36 冯子毅, 刘磊, 夏培. 小儿门静脉海绵样变性的分型及手术方式选择的探讨. 中国现代医学杂志 2004; 14: 114-115, 118
37 Spaander MC, Hoekstra J, Hansen BE, Van Buuren HR, Leebeek FW, Janssen HL. Anticoagulant therapy in patients with non-cirrhotic portal vein thrombosis: effect on new thrombotic events and gastrointestinal bleeding. *J Thromb Haemost* 2013; 11: 452-459 [PMID: 23289370 DOI: 10.1111/jth.12121]
38 Wang L, Guo X, Xu X, De Stefano V, Plessier A, Noronha Ferreira C, Qi X. Anticoagulation Favors Thrombus Recanalization and Survival in Patients With Liver Cirrhosis and Portal Vein Thrombosis: Results of a Meta-Analysis. *Adv Ther* 2021; 38: 495-520 [PMID: 33155180 DOI: 10.1007/s12325-020-01550-4]
39 中华医学会消化病学分会肝胆疾病学. 肝硬化门静脉血栓管理专家共识(2020年, 上海). 临床肝胆病杂志 2020; 36: 2667-2674 [DOI: 10.3969/j.issn.1001-5256.2020.12.007]
40 Randi ML, Tezza F, Scapin M, Duner E, Scarparo P, Scandellari R, Fabris F. Heparin-induced thrombocytopenia in patients with Philadelphia-negative myeloproliferative disorders and unusual splanchnic or cerebral vein thrombosis. *Acta Haematol* 2010; 123: 140-145 [PMID: 20134155 DOI: 10.1159/000280466]
41 Naymagon L, Tremblay D, Zubizarreta N, Moshier E, Troy K, Schiano T, Mascarenhas J. The efficacy and safety of direct oral anticoagulants in noncirrhotic portal vein thrombosis. *Blood Advances* 2020; 4: 655-666 [DOI: 10.1182/bloodadvances.2019001310]
42 Noronha Ferreira C, Seijo S, Plessier A, Silva-Junior G, Turon F, Rautou PE, Baiges A, Bureau C, Bosch J, Hernández-Gea V, Valla D, García-Pagan JC. Natural history and management of esophagogastric varices in chronic noncirrhotic, nontumoral portal vein thrombosis. *Hepatology* 2016; 63: 1640-1650 [PMID: 26799606 DOI: 10.1002/hep.28466]
43 Sarin SK, Gupta N, Jha SK, Agrawal A, Mishra SR, Sharma BC, Kumar A. Equal efficacy of endoscopic variceal ligation and propranolol in preventing variceal bleeding in patients with noncirrhotic portal hypertension. *Gastroenterology* 2010; 139: 1238-1245 [PMID: 20547163 DOI: 10.1053/j.gastro.2010.06.017]
44 Nery F, Correia S, Macedo C, Gandara J, Lopes V, Valadares D, Ferreira S, Oliveira J, Gomes MT, Lucas R, Rautou PE, Miranda HP, Valla D. Nonselective beta-blockers and the risk of portal vein thrombosis in patients with cirrhosis: results of a prospective longitudinal study. *Aliment Pharmacol Ther* 2019; 49: 582-588 [PMID: 30671978 DOI: 10.1111/apt.15137]
45 Xu X, Xu S, Primignani M, De Stefano V, He Y, Yi F, Guo X, Valla D, Qi X. Nonselective β-Blockers May Progress the Thrombosis of Portal Venous System in Cirrhotic Patients: A Retrospective Observational Study. *Adv Ther* 2020; 37: 1452-1463 [PMID: 32076942 DOI: 10.1007/s12325-020-01250-z]
46 Xu X, Guo X, De Stefano V, Silva-Junior G, Goyal H, Bai Z, Zhao Q, Qi X. Nonselective beta-blockers and development of portal vein thrombosis in liver cirrhosis: a systematic review and meta-analysis. *Hepatol Int* 2019; 13: 468-481 [PMID: 31175581 DOI: 10.1007/s12072-019-09951-6]
47 宋义娟. 奥曲肽与垂体后叶素治疗肝硬化上消化道出血疗效比较探讨. 系统医学 2019; 4: 67-69 [DOI: 10.19368/j.cnki.2096-1782.2019.07.067]
48 中华医学会肝病学分会, 中华医学会消化病学分会, 中华医学会内镜学分会. 肝硬化门静脉高压食管胃静脉曲张出血的防治指南. 临床肝胆病杂志 2016; 32: 203-219 [DOI: 10.3969/j.issn.1001-5256.2016.02.002]
49 王建尧. 门静脉海绵样变性的诊疗进展. 临床小儿外科杂志 2010; 9: 225-228 [DOI: 10.3969/j.issn.1671-6353.2010.03.028]
50 Bhat YM, Weilert F, Fredrick RT, Kane SD, Shah JN, Hamerski CM, Binmoeller KF. EUS-guided treatment of gastric fundal varices with combined injection of coils and cyanoacrylate glue: a large U.S. experience over 6 years (with video). *Gastrointest Endosc* 2016; 83: 1164-1172 [PMID: 26452992 DOI: 10.1016/j.gie.2015.09.040]
51 Yue-Meng W, Li YH, Wu HM, Yang J, Yang LH, Xu Y. Portal Vein Thrombosis in Patients With Cirrhosis Undergoing Elective Transjugular Intrahepatic Portosystemic Shunt: Risk Factors, Warfarin Efficacy, and Clinical Outcomes. *Clin Appl Thromb Hemost* 2018; 24: 462-470 [PMID: 28110540 DOI: 10.1177/1076029616689593]
52 Fanelli F, Angeloni S, Salvatori FM, Marzano C, Boatta E, Merli M, Rossi P, Attili AF, Ridola L, Cerini F, Riggio O. Transjugular intrahepatic portosystemic shunt with expanded-polytetrafuoroethylene-covered stents in non-cirrhotic patients with portal cavernoma. *Dig Liver Dis* 2011; 43: 78-84 [PMID: 20637712 DOI: 10.1016/j.dld.2010.06.001]
53 Luo X, Nie L, Zhou B, Yao D, Ma H, Jiang M, Zhang H, Li X. Transjugular intrahepatic portosystemic shunt for the treatment of portal hypertension in noncirrhotic patients with portal cavernoma. *Gastroenterol Res Pract* 2014; 2014: 659726 [PMID: 24868203 DOI: 10.1155/2014/659726]
54 Wang L, He F, Yue Z, Zhao H, Fan Z, Zhao M, Qiu B, Yao J, Lin Q, Dong X, Liu F. Techniques and long-term effects of transjugular intrahepatic portosystemic shunt on liver cirrhosis-related thrombotic total occlusion of main portal vein. *Sci Rep* 2017; 7: 10868 [PMID: 28883536 DOI: 10.1038/s41598-017-11455-y]
55 Qi X, Han G, Yin Z, He C, Wang J, Guo W, Niu J, Zhang W, Bai M, Fan D. Transjugular intrahepatic portosystemic shunt for portal cavernoma with symptomatic portal hypertension in non-cirrhotic patients. *Dig Dis Sci* 2012; 57: 1072-1082 [PMID: 22147244 DOI: 10.1007/s10620-011-1975-5]
56 Marot A, Barbosa JV, Duran R, Deltenre P, Denys A. Percutaneous portal vein recanalization using self-expandable nitinol stents in patients with non-cirrhotic non-tumoral portal vein occlusion. *Diagn Interv Imaging* 2019; 100: 147-156 [PMID: 30503174 DOI: 10.1016/j.diii.2018.07.009]
57 Entezari P, Riaz A, Thornburg B, Salem R. Percutaneous Ultrasound-Guided Superior and Inferior Mesenteric Vein Access for Portal Vein Recanalization-Transjugular Intrahepatic Portosystemic Shunt: A Case Series. *Cardiovasc Intervent Radiol* 2021; 44: 496-499 [PMID: 33230650 DOI: 10.1007/s00270-020-02713-0]
58 Jiang ZB, Shan H, Shen XY, Huang MS, Li ZR, Zhu KS, Guan SH. Transjugular intrahepatic portosystemic shunt for palliative treatment of portal hypertension secondary to portal vein tumor thrombosis. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 1881-1884 [PMID: 15222028 DOI: 10.3748/wjg.v10.i13.1881]
59 Su AP, Zhang ZD, Tian BL, Zhu JQ. Transjugular intrahepatic portosystemic shunt versus open splenectomy and esophagogastric devascularization for portal hypertension with recurrent variceal bleeding. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2017; 16: 169-175 [PMID: 28381381 DOI: 10.1016/S1499-3872(16)60129-7]
60 吴振, 尹琦, 胡彦华. 脾切断流术后再发上消化道出血的研究进展. 医学综述 2020; 26: 3465-3470 [DOI: 10.3969/j.issn.1006-2084.2020.17.025]
61 张丹, 陈亚军, 张廷冲, 彭春辉, 庞文博, 王增萌, 沈秋龙. 贲门周围血管离断联合脾切除术治疗小儿门静脉海绵样变性效果回顾. 国际外科学杂志 2014; 41: 409-413 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4203.2014.06.014]
62 张金山, 李龙. 小儿门静脉高压手术治疗新进展. 临床小儿外科杂志 2019; 18: 989-993 [DOI: 10.3969/j.issn.1671-6353.2019.12.001]
63 Lautz TB, Sundaram SS, Whitington PF, Keys L, Superina RA. Growth impairment in children with extrahepatic portal vein obstruction is improved by mesenterico-left portal vein bypass. *J Pediatr Surg* 2009; 44: 2067-2070 [PMID: 19944209 DOI: 10.1016/j.jpedsurg.2009.05.016]

64 Shneider BL, de Ville de Goyet J, Leung DH, Srivastava A, Ling SC, Duché M, McKiernan P, Superina R, Squires RH, Bosch J, Groszmann R, Sarin SK, de Franchis R, Mazariegos GV. Primary prophylaxis of variceal bleeding in children and the role of MesoRex Bypass: Summary of the Baveno VI Pediatric Satellite Symposium. *Hepatology* 2016; 63: 1368-1380 [PMID: 26358549 DOI: 10.1002/hep.28153]
65 de Ville de Goyet J, Clapuyt P, Otte JB. Extrahilar mesenterico-left portal shunt to relieve extrahepatic portal hypertension after partial liver transplant. *Transplantation* 1992; 53: 231-232 [PMID: 1733076]
66 Bhat R, Lautz TB, Superina RA, Liem R. Perioperative strategies and thrombophilia in children with extrahepatic portal vein obstruction undergoing the meso-Rex bypass. *J Gastrointest Surg* 2013; 17: 949-955 [PMID: 23385441 DOI: 10.1007/s11605-013-2155-z]
67 Long L, Jinshan Z, Zhen C, Qi L, Ning D, Mei D, Wei C. Portal-to-right portal vein bypass for extrahepatic portal vein obstruction. *J Pediatr Surg* 2018; 53: 1403-1407 [PMID: 29198895 DOI: 10.1016/j.jpedsurg.2017.10.059]
68 杨维良, 闫朝岐, 张好刚, 马玉林, 王夫景, 迟强, 杨学伟. 成人门静脉海绵样变63例的诊断与外科治疗. 中华肝胆外科杂志 2010; 16: 115-118 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-8118.2010.02.012]
69 Muratore S, Flanagan S, Hunter D, Acton R. Recanalization of Chronic Extrahepatic Portal Vein Obstruction in Pediatric Patients Using a Minilaparotomy Approach. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2019; 68: 384-388 [PMID: 30418414 DOI: 10.1097/MPG.0000000000002206]
70 Wang RY, Wang JF, Liu Q, Ma N, Chen WX, Li JL. Combined Rex-bypass shunt with pericardial devascularization alleviated prehepatic portal hypertension caused by cavernomatous transformation of portal vein. *Postgrad Med* 2017; 129: 768-776 [PMID: 28643575 DOI: 10.1080/00325481.2017.1343646]
71 Kohli R, Cortes M, Heaton ND, Dhawan A. Liver transplantation in children: state of the art and future perspectives. *Arch Dis Child* 2018; 103: 192-198 [PMID: 28918383 DOI: 10.1136/archdischild-2015-310023]

科学编辑: 刘继红　制作编辑: 张砚梁

ISSN 1009-3079 (print)　ISSN 2219-2859 (online)　DOI: 10.11569 © 2021 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.

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: https://www.baishideng.com

世界华人消化杂志 2021年6月28日; 29(12): 670-676

DOI: 10.11569/wcjd.v29.i12.670

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

文献综述 REVIEW

肝硬化门静脉血栓形成机制及诊治的探讨

丁靖诺, 赵卫峰

丁靖诺, 赵卫峰, 苏州大学附属第一医院感染病科 江苏省苏州市 215000

丁靖诺, 主要从事传染病、肝病方面的研究.

作者贡献分布: 本综述由丁靖诺完成; 赵卫峰审校.

基金项目: 苏州市科技发展计划, No.SY2020009.

通讯作者: 赵卫峰, 教授, 主任医师, 215000, 江苏省苏州市姑苏区十梓街188号, 苏州大学附属第一医院感染病科. zhaoweifeng@suda.edu.cn

收稿日期: 2021-03-24
修回日期: 2021-04-12
接受日期: 2021-05-11
在线出版日期: 2021-06-28

Mechanism, diagnosis, and treatment of portal vein thrombosis in cirrhosis

Jing-Nuo Ding, Wei-Feng Zhao

Jing-Nuo Ding, Wei-Feng Zhao, Department of Infectious Diseases, The First Affiliated Hospital of Soochow University, Suzhou 215000, JiangSu Province, China

Supported by: The Development Plan of Science and Technology in Suzhou, No.SY2020009.

Corresponding author: Wei-Feng Zhao, Professor, Chief Physician, Department of Infectious Diseases, The First Affiliated Hospital of Soochow University, No. 188 Shizijie, Gusu District, Suzhou 215000, JiangSu Province, China. zhaoweifeng@suda.edu.cn

Received: 2021-03-24
Revised: 2021-04-12
Accepted: 2021-05-11
Published online: 2021-06-28

Abstract

Portal vein thrombosis (PVT) is one of the common complications of cirrhosis. Its formation is influenced by many factors, such as liver function grade, blood coagulation state, portal vein pressure, and blood flow velocity. The treatment of patients with PVT is more difficult than that of patients without PVT, and the prognosis is poor. However, the presence of PVT is usually asymptomatic, thus early detection and intervention are important. Currently, there are different views on the mechanism of PVT. This review will discuss the mechanism of PVT and summarize its pathogenesis, diagnosis, and treatment, with an aim to provide evidence for clinical practice.

© **The Author(s) 2021.** Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Cirrhosis, Portal vein thrombosis; Mechanism

Citation: Ding JN, Zhao WF. Mechanism, diagnosis, and treatment of portal vein thrombosis in cirrhosis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2021; 29(12): 670-676
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i12/670.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i12.670

摘要

门静脉血栓(portal vein thrombosis, PVT)是肝硬化患者常见的并发症之一. 其形成受多种因素影响, 如肝功能分级、血凝状态、门静脉压力及血流速度等. 合并PVT患者的治疗较非PVT患者有着更大的难度, 且预后不佳. 但PVT起病往往隐匿, 不易察觉, 因此早期识别至关重要. 目前国内外对于PVT的形成机制有着不同的观点, 研究热点也在逐步推进. 本综述将对PVT形成机制进行探讨, 针对发病机制、诊断、治疗进行总结, 以更好的指导临床.

© **The Author(s) 2021.** Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 肝硬化; 门静脉血栓; 形成机制

核心提要: 门静脉血栓(portal vein thrombosis, PVT)为肝硬化常见并发症之一, 多种机制参与其血栓形成. 本综述从生理性止血过程三阶段以及肝脏结构改变两个角度出发, 探讨门静脉血栓形成的相关因素.

文献来源: 丁靖诺, 赵卫峰. 肝硬化门静脉血栓形成机制及诊治的探讨. 世界华人消化杂志 2021; 29(12): 670-676
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i12/670.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i12.670

0 引言

门静脉血栓(portal vein thrombosis, PVT)在健康人群的发生率约为1%, 而在肝硬化人群中其发生率约为5%-20%[1]. 并且, 其发生率随着慢性肝病(chronic liver disease, CLD)的进展而变化. Noronha等[2]开展的队列研究中观察了241例肝硬化患者, 随访29 mo的资料显示非肿瘤性PVT在第1年和第3年的累计发病率分别为3.7%和7.6%, 且研究提示肝硬化失代偿事件与低血小板计数是PVT形成的独立危险因素; Nery等[3]观察了Child-Pugh评分为A级或B级肝硬化患者共1234例, 平均随访时间为47 mo, 118例患者发生PVT(完全阻塞17例、不完全阻塞87例、从不完全阻塞到完全阻塞进展14例), 且在第1、3、5年PVT的累积发病率分别为4.6%、8.2%、10.7%, 其发生率与基线肝病水平(即入组时肝功能水平及门静脉高压程度)相关. 这些研究提示PVT的发生与肝功能损伤的程度及持续时间密切相关.

1 PVT形成的机制

1.1 血液系统成分及功能变化 肝脏疾病对生理性止血过程的三个阶段, 即一期止血阶段、凝血阶段、纤溶阶段均会产生影响. 由于肝脏合成功能的减弱, 血凝状态很难维持生理状态的平衡, 促使CLD患者出血或血栓形成的风险增大. 对于晚期肝硬化患者, 极度的肝功能损伤致使促凝功能受限, 出现凝血功能异常. 然而, 由于止血过程的再平衡, 肝硬化患者形成血栓风险同样较高. PVT形成最主要的原因便是机体止血途径的不平衡.

1.1.1 止血阶段失衡: (1)血小板减少症(Thrombocytopenia): 血小板减少症是CLD中常见的一种血液系统功能障碍性疾病. 研究表明[4], 血小板减少是CLD中是首先出现的血液系统异常指标, 之后才会伴随白细胞及血红蛋白的减少. 在CLD导致肝硬化的患者中, 血小板减少症发生率可达到78%, 而CLD患者其发生率只有6%[5]. 目前对于CLD中血小板减少的机制, 最常见的是脾功能亢进假说, 其他还包括相关毒物造成的骨髓抑制, 如病毒、酒精以及免疫相关损伤[6]. CLD及肝硬化患者循环中低水平的促血小板生成素(TPO)以及脾脏中大量血小板聚集是目前血小板减少症的主要机制[6]. TPO作为主导因素刺激血小板的生成, 在CLD患者中可导致血小板的减少[7]. 血清TPO水平与损伤肝细胞的数量及残余肝细胞的功能密切相关, Adinolfi等[8]对209名肝硬化患者进行研究发现, 肝脏的纤维化程度越重, 血浆TPO水平越低. 此外, 有研究表明抗GP Ⅱ bⅢa抗体所诱导的B细胞在肝硬化患者的检测率中高达99%[9], 免疫介导的血小板破坏在肝硬化相关的血小板减少症中更加突出[10]; (2)血小板功能的缺陷: 血小板功能的缺陷主要是指血小板黏附、聚集、释放等功能的异常. 目前对于血小板功能缺陷的检测方法较少, 口颊粘膜出血时间是一种粗略测定血小板功能的实验方法. 光透射聚集术和血小板功能测定(platelet function assay, PFA)可被用于测量血小板对各种体外激动剂(胶原蛋白、腺苷二磷酸)的反应, 但不适合常规应用于临床工作中[9]. 相当一部分肝硬化患者在体外试验中显示出血小板聚集受损[11]. 意大利的一项研究中[12], 使用PFA-100法和光透射聚集法对于肝硬化的病人进行血小板功能的检测, 有93.8%的患者出现血小板粘附或聚集缺陷. 血小板功能的缺陷使得血小板在正常止血过程中无法发挥作用, 引起止血功能异常; (3)血浆中血管性血友病因子(von Willebrand factor, vWF)及血浆金属蛋白酶(a disintegrin-like and metalloprotease with thrombospondin type 1 motif 13, ADAMTS-13)水平: vWF是反映肝脏内皮细胞损伤的重要指标之一. 在肝硬化及门静脉高压患者中, 血管性血友病因子抗原(von Willebrand factor antigen, vWF-Ag)有着显著的升高[13]. 在对54名肝硬化患者进行各类vWF相关的功能检测中发现[14], 高水平的vWF在CLD及肝硬化患者中较为常见, 并且可增强在血管损伤部位血小板的黏附功能, 有助于诱导原发性止血, 在一定程度上弥补肝硬化患者血小板数量和功能的缺陷. 但对于肝硬化及慢加急性肝衰竭患者而言, vWF水平可以作为一项独立的预后因素[15]. 一项纳入102名肝硬化患者的实验中[16], vWF-Ag水平增高被认为是肝硬化患者主要的止血功能障碍, 并且可以作为预测肝硬化患者发生腹水、静脉曲张及病死率的独立危险因素. ADAMTS-13通过限制体内vWF作用于血小板, 在CLD及肝硬化患者中水平降低, 并与PVT形成密切相关. 其可能的机制是由于激活的星状细胞致使ADAMTS-13生成逐渐减少, 以致血管内大量vWF多聚体的增多, 这些多聚体可使局部血小板黏附和血浆凝血因子激活, 从而促进PVT形成[17]. 对64名失代偿性肝硬化患者进行血清学分析[18], 发现低水平的ADAMTS-13在失代偿性肝硬化患者中可作为PVT形成的有效预测指标.

1.1.2 凝血阶段失衡: (1)凝血因子的变化: 除了凝血因子

Ⅷ(factor Ⅷ, FⅧ)由肝窦内皮细胞及库普弗细胞产生以外, 肝脏实质细胞合成大部分的凝血因子. 在CLD及肝硬化患者中, 由于持续的炎症反应导致肝细胞不断的损伤和修复, 肝脏合成功能降低, 凝血因子减少, 出血风险增大. FⅧ可以协同增加血小板的黏附作用, 其水平的升高被认为是PVT形成的重要因素之一. 在肝硬化患者中, FⅧ水平可以增长到健康人群的几倍[11]. 一项纳入85名肝外门静脉阻塞(extrahepatic portal vein obstruction, EHPVO)患者的研究中发现[19], FⅧ在肝硬化伴肝外门脉阻塞的患者中显著增高. 其发生机制可能涉及血浆中高水平vWF和低水平的低密度脂受体相关蛋白. vWF可与FⅧ结合以保护其免受金属蛋白酶的切割和清除, 而低密度脂蛋白受体相关蛋白作为一种介导细胞降解FⅧ的功能性配体, 在肝硬化患者中表达不足. 两者共同作用以维持肝硬化患者血浆中高水平的FⅧ[20]; (2)蛋白C、蛋白S水平: 蛋白C(protein C, PC)、蛋白S(protein S, PS)均是维生素K依赖的蛋白, PS可作为辅助因子协助PC降解FⅤ、FⅧ而发挥抗凝作用. PC、PS缺乏症是一种血栓性疾病, 可促进PVT的形成. PC缺乏而引起PVT的患者, 常常呈现慢性病程, 并伴有门静脉海绵样变性. CLD及肝硬化合并PVT的患者中, 常常伴随PC的降低. Patil等研究表明[21], 在对比515名肝硬化患者和219名非肝硬化患者中, 低PC水平与肝功能障碍、炎症损伤、脓毒症等密切相关, 并且可以作为独立的预后因子. Abo-Elenein[22]将60名研究对象进行分组分析, 结果显示PC在肝硬化患者中显著降低, 并且可以作为CLD进展至肝硬化的病情评估的一项指标. 一项纳入116名肝硬化患者的研究显示[23], PVT的形成与血浆中低水平的PC、PS密切相关. Hung等人[24]对349名肝硬化患者进行分析, PS水平是代偿期肝硬化患者发生PVT的独立危险因素之一, 其也作为肝移植患者短期生存期的预后因素.可见, PC、PS水平与肝硬化疾病进展密切相关, 并且可作为预测PVT形成的危险因素. (3)抗凝血酶水平: 抗凝血酶Ⅲ(antithrombin Ⅲ, AT-Ⅲ)是由肝脏合成的抗凝调节物, 其参与灭活FIX, FX和FXI等相关凝血因子, 对凝血途径起着一定的抑制作用. Kirkeby等[25]对77例肝硬化合并PVT患者进行回顾性队列研究显示, 研究对象体内AT-Ⅲ、PC、PS水平显著降低, 分别占比90.9%(70例), 93.5%(72例), 57.1%(44例), 反映患者体内的高凝状态, 易于PVT的形成. 日本的一项随机双盲对照实验表明, 使用AT-Ⅲ治疗肝硬化合并PVT患者的有效率显著高于安慰剂对照组[26]. 由于AT-Ⅲ可以抑制体内的高凝状态, 对于肝移植的患者在移植前后使用抗AT-Ⅲ能够促进PVT的溶解[27,28]. 肝硬化患者测定AT-Ⅲ水平可以反映其PVT形成的风险, 有助于临床诊治及预后分析.

1.1.3 纤溶阶段失衡: CLD患者的出血倾向并不完全归因于血小板数量、功能异常及凝血因子异常. 纤维蛋白溶解亢进以及血管内皮细胞损伤等相关因素亦与出血倾向有关[29]. 人体内的纤溶系统维持一定的平衡, 除了组织纤溶酶原激活物(tissue plasminogen activator, t-PA)以及纤溶酶原激活物抑制物1型(plasminogen activator inhibitor-1, PAI-1)是由内皮细胞合成, 其余成分几乎都是由肝脏细胞合成. 因此对于CLD及肝硬化的患者而言, 纤溶系统的失衡及再平衡影响着患者出血及血栓的风险. 血浆中纤溶酶原、α-抗纤溶酶(α-antiplasmin, α-AP)、凝血酶原活化的纤溶抑制剂(thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor, TAFI)水平在肝硬化患者中降低[30], 内皮细胞合成的t-PA及PAI-1的清除降低, 使得纤溶系统的再平衡.高纤维蛋白溶解状态存在于30%-46%的终末期肝病患者, 引起出血倾向增加[31]. Rijken[30]的研究表明, 运用两种全血综合纤溶能力实验对患者进行纤溶检测, 至少有一种在大多数CLD患者(60%)中可检测到高纤维蛋白溶解. 尽管这种高纤维蛋白溶解状态会诱发出血风险, 对于进展期肝硬化患者, 体内纤溶状态的失衡也有可能促进血栓形成. TAFI、PAI-1作为体内抑制纤溶系统的物质, 可以减慢纤维蛋白溶解的速度, 在止血过程中发挥着重要的作用. 意大利帕多瓦大学医院的研究表明[32], 合并PVT的肝硬化患者血浆中TAFI及PAI-1水平显著高于非PVT的肝硬化患者, 提示TAFI、PAI水平的增加可能引起血栓降解障碍, 从而导致纤维蛋白溶解明显减少, 增加PVT形成的风险. 血栓弹力图(thromboelastography, TEG)是反映血液凝固动态变化的实验室指标. 其反映纤维蛋白的形成速度, 溶解状态和凝块的坚固性、弹力度. 它可以用来评估CLD患者体内的血凝状态, 以进一步明确患者出血或血栓的风险, 指导晚期肝硬化患者合并凝血异常的临床用血[33]. 研究发现, 肝硬化患者与非肝硬化对照组相比, 反应时间(TEG-R) 、凝固时间(TEG-K)延长, 而血块生成速率(TEG-α)、最大血凝块强度(TEG-MA)降低, 且凝血指数(TEG-CI)呈现负值, 提示肝硬化患者存在体内低凝的血凝状态[34]. 在进展期肝硬化患者中, Kohli[35]也发现TEG的应用可以很好的判断患者体内的低凝状态. 失代偿期肝硬化患者的TEG实验提示缩短的TEG-R(89%), 缩短的TEG-K(69%), 升高的TEG-α(81%), 提示患者体内存在高凝状态[36]. 同样, 在复旦大学中山医院研究发现[37], 合并PVT的肝硬化患者与未合并PVT的肝硬化患者相比, TEG-R有着显著降低的趋势, TEG-α、TEG-CI与对照组相比也呈现升高的趋势, 表明PVT组初始纤维蛋白形成时间缩短, 肝硬化合并PVT患者体内存在的高凝状态. 不难发现, 当CLD进展至肝硬化, TEG在整个疾病进程

中呈现一个动态变化的趋势. 在肝硬化代偿期, 体内低凝状态使得TEG-R、TEG-K均延长, 并且TEG-MA降低, 血栓形成率低, 出血风险相对较大; 当疾病进一步进展, 在部分肝硬化失代偿期患者体内凝血再平衡而呈现高凝状态, TEG-R、TEG-K均缩短, TEG-α升高, 增强血栓硬度, 促使PVT的形成.

1.2 肝脏实质及门静脉系统变化 除了血液系统的影响, 肝脏本身的炎症损伤及门静脉改变也是导致PVT的又一重要因素. 炎症、酒精、脂肪、药物、寄生虫、自身免疫疾病及遗传相关因素等促使肝脏结构和功能的改变, 引起肝星状细胞的激活以及细胞外基质的堆积, 纤维瘢痕组织聚集和血管扭曲变形等, 进一步引起肝窦血流动力学的异常, 肝窦压力增高引起血流阻力的增加, 进而影响门静脉的压力与血流. 门静脉压力的测量可通过行经颈静脉肝内门腔分流术(trans-jugular intrahepatic porto-systemic shunt, TIPS)直接测量, 也可通过肝静脉压力梯度(hepatic vein pressure gradient, HVPG)间接测定. 正常HVPG为3-5 mmHg, 当HVPG大于正常值时, 常提示不同程度的门静脉高压. 门静脉血流速度的减慢也是促进PVT形成的原因. Zocco[38]研究提示当门静脉血流速度＜15 cm/s时PVT的发生风险增高, 其敏感度较高, 并且具有很好的阴性预测值[39]. 在肝硬化患者中由于非选择性β受体阻滞剂(non-selective beta blockers, NSBB)的使用, 导致门静脉血流速度的减少以及血流量的降低, 同样会加重PVT的形成[40]. 使用NSBB不仅促使PVT的形成, 甚至加速PVT的进展[41]. 门静脉高压引起门静脉直径变宽也是引起PVT的因素. 门静脉直径与门静脉压力呈正相关, 门静脉直径宽度是提示门静脉高压的敏感指标[42]. Sakamoto等[43]在实验中也发现, 门静脉高压合并获得性的门体侧支循环的动物, 其门静脉与主动脉比率是显著提高的. 在肝硬化患者合并PVT以及不合并PVT的对照中, 合并PVT的患者门静脉直径显著大于对照组[44], 提示门静脉直径过宽也可能导致PVT的形成. 各种因素引起门静脉血流动力学变化, 导致血液涡流, 内皮细胞受损暴露胶原, 都可促进PVT形成.

PVT形成机制总结: 无论是血液系统成分还是肝脏结构与功能的变化, PVT的形成都是多因素共同作用. CLD患者由于基础疾病(病毒、酒精、脂肪浸润、寄生虫、免疫损伤等)对肝脏的持续损伤, 引起肝脏合成分解、代谢转化功能都受到一定的损伤. 在CLD进展过程中, 肝脏合成功能障碍致使止血、凝血及纤溶的生理状态失去平衡. 当发展为肝硬化时, 这种失衡尤为明显. 在止血阶段, 由于血小板数量减少及功能减弱, 促使较高的出血倾向; 而高水平的vWF及低水平的ADAMTS-13, 有助于提高循环系统中vWF多聚体水平, 促使局部血小板黏附增强及凝血因子的激活, 从而诱发PVT的形成. 在凝血阶段, 由于CLD及肝硬化患者肝脏合成功能的减弱, 导致血浆中促凝血因子的减少, 加重出血风险. 而肝硬化患者体内同时伴有FⅧ的升高, 促使血小板黏附增强, PC、PS、AT-Ⅲ水平的降低, 均使得凝血因子降解减弱, 促进凝血过程, 诱导PVT的形成. 在纤溶阶段, 肝脏合成功能障碍致使纤溶酶原、α-AP合成的降低, t-PA清除的降低引发体内的纤溶亢进, 增加出血倾向. 而部分肝硬化患者体内TAFI、PAI-1的升高抑制纤溶过程, 减慢纤溶速度, 促进PVT的形成. 此外, 除了血液系统的失衡, 肝脏本身的结构和功能的变化, 在PVT的形成中也起着重要作用. 门静脉压力的变化引起血流动力学的紊乱, 血液产生涡流, 加重对内皮细胞的损伤, 进而增加血小板的黏附和凝血因子在门静脉系统的聚集, 促进PVT的形成.

2 PVT诊断

对于PVT的诊断, 目前主要依靠影像学资料. 超声(ultrasound, US)和电子计算机断层扫描(computed Tomography, CT)是常用的检查手段. US由于其便捷经济, 能够筛查出无症状的PVT患者, 对症状明显的患者也可进行初步诊断[45]. 在US灰阶显像中, 血栓在急性PVT中表现为轻度扩张静脉腔内的低回声或等回声物质, 而在慢性PVT中表现为高回声物质. US还可以评估门静脉的血流速度及门静脉的宽度, 以进一步明确PVT的诊断. 对于慢性PVT引起的门静脉海绵样变性, US可提示门静脉周围多发小血管影. 电子计算机断层扫描静脉造影(computed tomography venography, CTV)和磁共振静脉造影(magnetic resonance venography, MRV)是PVT的确诊检查, 尤其是对于脾静脉及肠系膜静脉血栓的形成的诊断, 其主要表现为管腔的充盈缺损. 此外, CT、MRI还可以评判肠系膜静脉血栓引起的肠缺血坏死程度. 血管造影属于侵袭性操作, 在PVT的诊断中常不作为首选. 除此以外, 相应的辅助检查手段, 如血凝常规、TEG等, 可间接提示PVT形成. 在CLD进展至肝硬化的过程中, TEG呈现动态变化. 在肝硬化代偿期, 体内低凝状态使得TEG-R、TEG-K均延长, 并且TEG-MA降低, 血栓形成率低, 出血风险相对较大; 当疾病进一步进展, 在部分肝硬化失代偿期患者体内凝血再平衡而呈现高凝状态, 血栓硬度增强, 进而TEG-R、TEG-K均缩短, TEG-α升高. TEG的动态变化也反映肝硬化患者体内血凝状态的变化, 可辅助影像学检查进行PVT诊断. 在影像学资料提示患者可能存在PVT时, 需要结合患者的病因、病程、是否合并肝硬化、肝硬化的程度、肝功能分级、脾脏大小、血凝程度及临床表现等综合评估, 进行确切的诊

断, 同时要密切鉴别非肝硬化性PVT和门静脉癌栓的区别. 对于PVT的分期目前建议分为急性症状性PVT和非急性症状性PVT[46]. 若肝硬化患者存在急性腹痛、恶心呕吐等消化道症状, 可定义为急性症状性PVT, 且应立即行影像学检查明确诊断.

3 PVT治疗

PVT的治疗依据其成因的不同机制与环节, 具体包括抗凝治疗、溶栓治疗及TIPS治疗. 国内研究表明[47], 约有39.8%的PVT患者出现了自发性的血栓再通, 即一过性的PVT, 但其具体机制仍然不明确.

3.1 *抗凝治疗* 肝硬化合并PVT患者中实施抗凝治疗, 能够促使门静脉血管的再通, 并且维持抗凝治疗能够避免门静脉血栓的再形成[48]. 抗凝药物能够有效减少并且预防PVT的发生, 同时还能够降低肝硬化失代偿期发生率及提高远期生存率[49]. 由于CLD及肝硬化患者凝血功能的异常, 何时启动抗凝治疗及抗凝治疗的周期、药物的选择及剂量都需要进一步评估PVT的严重程度. 有研究提示, 在确诊PVT的前6个月启动抗凝治疗, 会使PVT再通机率变大[50,51]. 抗凝治疗前应先评估患者的血凝状态, 是否合并有食管胃底静脉曲张、Child-Pugh评分等级等. 对于有高危出血倾向的患者, 在抗凝治疗前行内镜下栓塞套扎或适当的NSBB缩血管药物进行出血预防. 常用的抗凝药物选择包括维生素K拮抗剂(华法林)、肝素类药物(肝素、低分子肝素、磺达肝癸钠)及口服抗凝药(利伐沙班等), 在使用抗凝药物时应密切检测INR、APTT、血小板计数等血凝指标, 若出现出血倾向时应减药或暂缓使用.

3.2 *溶栓治疗* 目前关于PVT行溶栓治疗的报道较少, 仍参考深静脉血栓的溶栓治疗方法. 对于急性PVT伴有腹痛、肠壁水肿, 在使用抗凝药物治疗的基础上, 应用低剂量的重组组织型纤溶酶原激活物(tPA)系统性溶栓治疗加上局部的溶栓治疗, 局部再通率可达86%, 完全再通率可达50%[52]. 常用的系统性溶栓药包括尿激酶和链激酶及tPA. 局部溶栓可考虑行介入治疗, 包括经皮门静脉穿刺、经颈静脉肝穿刺, 但由于出血风险较大, 除了对于急性PVT的临床应用外, 目前暂不推荐使用.

3.3 TIPS TIPS术被认为是治疗肝硬化合并PVT的有效治疗之一, 它不仅能够通过加快血流速度使门静脉栓塞再通, 还可以显著降低门静脉压力. 国外研究报道[53], 在成功的TIPS术后门静脉再通率可以达到80%左右. 对于适量的抗凝药物使用后血栓仍出现继续扩增的情况下可以考虑行TIPS术[50], 但对于门静脉完全闭塞的PVT, TIPS有一定的难度. 并且对于门静脉海绵样变性的患者而言, TIPS的治疗更是得到了限制[54]. 因此, 对于抗凝治疗何时转为TIPS术治疗的时机仍需要更多的研究数据支持.

4 结论

对于PVT的形成机制、诊断、治疗目前国际上的研究仍在不断深入. 作为临床医生, 应该考虑到PVT的发生发展过程及机制, 做好病因预防, 对于CLD及肝硬化所致PVT应该积极针对原发病治疗. 充分运用影像学资料以诊断、评估PVT及鉴别诊断. 在PVT治疗上, 全面评估患者的凝血状态, 合理使用抗凝药物. 对于效果不佳者, 可考虑添加溶栓治疗和TIPS治疗, 以缓解症状和使门静脉再通.

5 参考文献

1 Chen H, Trilok G, Wang F, Qi X, Xiao J, Yang C. A single hospital study on portal vein thrombosis in cirrhotic patients - clinical characteristics & risk factors. *Indian J Med Res* 2014; 139: 260-266 [PMID: 24718401]

2 Noronha CF, Marinho RT, Cortez-Pinto H, Ferreira P, Dias MS, Vasconcelos M, Alexandrino P, Serejo F, Pedro AJ, Gonçalves A, Palma S, Leite I, Reis D, Damião F, Valente A, Xavier Brito L, Baldaia C, Fatela N, Ramalho F, Velosa J. Incidence, predictive factors and clinical significance of development of portal vein thrombosis in cirrhosis: A prospective study. *Liver Int* 2019; 39: 1459-1467 [PMID: 31021512 DOI: 10.1111/liv.14121]

3 Nery F, Chevret S, Condat B, de Raucourt E, Boudaoud L, Rautou PE, Plessier A, Roulot D, Chaffaut C, Bourcier V, Trinchet JC, Valla DC; Groupe d'Etude et de Traitement du Carcinome Hépatocellulaire. Causes and consequences of portal vein thrombosis in 1, 243 patients with cirrhosis: results of a longitudinal study. *Hepatology* 2015; 61: 660-667 [PMID: 25284616 DOI: 10.1002/hep.27546]

4 Qamar AA, Grace ND, Groszmann RJ, Garcia-Tsao G, Bosch J, Burroughs AK, Ripoll C, Maurer R, Planas R, Escorsell A, Garcia-Pagan JC, Patch D, Matloff DS, Makuch R, Rendon G; Portal Hypertension Collaborative Group. Incidence, prevalence, and clinical significance of abnormal hematologic indices in compensated cirrhosis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2009; 7: 689-695 [PMID: 19281860 DOI: 10.1016/j.cgh.2009.02.021]

5 Peck-Radosavljevic M. Thrombocytopenia in chronic liver disease. *Liver Int* 2017; 37: 778-793 [PMID: 27860293 DOI: 10.1111/liv.13317]

6 Saab S, Brown RS Jr. Management of Thrombocytopenia in Patients with Chronic Liver Disease. *Dig Dis Sci* 2019; 64: 2757-2768 [PMID: 31011942 DOI: 10.1007/s10620-019-05615-5]

7 Miller JB, Figueroa EJ, Haug RM, Shah NL. Thrombocytopenia in Chronic Liver Disease and the Role of Thrombopoietin Agonists. *Gastroenterol Hepatol (NY)* 2019; 15: 326-332 [PMID: 31391802]

8 Adinolfi LE, Giordano MG, Andreana A, Tripodi MF, Utili R, Cesaro G, Ragone E, Durante Mangoni E, Ruggiero G. Hepatic fibrosis plays a central role in the pathogenesis of thrombocytopenia in patients with chronic viral hepatitis. *Br J Haematol* 2001; 113: 590-595 [PMID: 11380442 DOI: 10.1046/j.1365-2141.2001.02824.x]

9 Kajihara M, Kato S, Okazaki Y, Kawakami Y, Ishii H, Ikeda Y, Kuwana M. A role of autoantibody-mediated platelet destruction in thrombocytopenia in patients with cirrhosis. *Hepatology* 2003; 37: 1267-1276 [PMID: 12774004 DOI: 10.1053/jhep.2003.50209]

10 Pradella P, Bonetto S, Turchetto S, Uxa L, Comar C, Zorat F, De Angelis V, Pozzato G. Platelet production and destruction in liver cirrhosis. *J Hepatol* 2011; 54: 894-900 [PMID: 21145808 DOI:

10.1016/j.jhep.2010.08.018]
11 Kujovich JL. Coagulopathy in liver disease: a balancing act. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2015; 2015: 243-249 [PMID: 26637729 DOI: 10.1182/asheducation-2015.1.243]
12 Debernardi Venon W, Ponzo P, Sacco M, Mengozzi G, Raso S, Valpreda A, Rizzetto M, Marzano A. Usefulness of thromboelastometry in predicting the risk of bleeding in cirrhotics who undergo invasive procedures. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2015; 27: 1313-1319 [PMID: 26225869 DOI: 10.1097/MEG.0000000000000442]
13 Rutter K, Etschmaier A, Ferlitsch M, Maieron A, Hametner S, Horvatits T, Paternostro R, Salzl P, Reiberger T, Peck-Radosavljevic M, Quehenberger P, Hofer H, Trauner M, Ferenci P, Ferlitsch A. von Willebrand factor antigen (vWF-Ag): A non-invasive predictor of treatment response and serious adverse events in HCV patients with interferon triple therapy. *Dig Liver Dis* 2016; 48: 1194-1199 [PMID: 27476467 DOI: 10.1016/j.dld.2016.06.033]
14 Lisman T, Bongers TN, Adelmeijer J, Janssen HL, de Maat MP, de Groot PG, Leebeek FW. Elevated levels of von Willebrand Factor in cirrhosis support platelet adhesion despite reduced functional capacity. *Hepatology* 2006; 44: 53-61 [PMID: 16799972 DOI: 10.1002/hep.21231]
15 Eidelberg A, Kirubakaran R, Nair SC, Eapen CE, Elias E, Goel A. Systematic review: role of elevated plasma von-Willebrand factor as predictor of mortality in patients with chronic liver disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2019; 31: 1184-1191 [PMID: 31498279 DOI: 10.1097/MEG.0000000000001491]
16 Kalambokis GN, Oikonomou A, Christou L, Kolaitis NI, Tsianos EV, Christodoulou D, Baltayiannis G. von Willebrand factor and procoagulant imbalance predict outcome in patients with cirrhosis and thrombocytopenia. *J Hepatol* 2016; 65: 921-928 [PMID: 27297911 DOI: 10.1016/j.jhep.2016.06.002]
17 Lancellotti S, Basso M, Veca V, Sacco M, Riccardi L, Pompili M, De Cristofaro R. Presence of portal vein thrombosis in liver cirrhosis is strongly associated with low levels of ADAMTS-13: a pilot study. *Intern Emerg Med* 2016; 11: 959-967 [PMID: 27220954 DOI: 10.1007/s11739-016-1467-x]
18 Mikuła T, Kozłowska J, Stańczak W, Sapuła M, Różyk A, Wiercińska-Drapało A. Serum ADAMTS-13 Levels as an Indicator of Portal Vein Thrombosis. *Gastroenterol Res Pract* 2018; 2018: 3287491 [PMID: 29849584 DOI: 10.1155/2018/3287491]
19 Martinelli I, Primignani M, Aghemo A, Reati R, Bucciarelli P, Fabris F, Battaglioli T, Dell'Era A, Mannucci PM. High levels of factor VIII and risk of extra-hepatic portal vein obstruction. *J Hepatol* 2009; 50: 916-922 [PMID: 19304336 DOI: 10.1016/j.jhep.2008.12.020]
20 Tripodi A, Mannucci PM. The coagulopathy of chronic liver disease. *N Engl J Med* 2011; 365: 147-156 [PMID: 21751907 DOI: 10.1056/NEJMra1011170]
21 Patil AG, Bihari C, Shewade HD, Nigam N, Sarin SK. Decreased protein C function predicts mortality in patients with cirrhosis. *Int J Lab Hematol* 2018; 40: 466-472 [PMID: 29704446 DOI: 10.1111/ijlh.12836]
22 Abo-Elenein AM, Mabrouk MM, Abou-Saif S, Saeed OM, Khodeir S, Elkadeem M, Elashry H, Haydara T, Zaghloul MS, Seleem WM, Elshweikh SA, Abd-Elsalam S. Role of Both Protein C and Antithrombin III as Predictors of Stage of Liver Disease in Chronic Viral Hepatitis B or C Infected Patients. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets* 2020; 20: 112-117 [PMID: 31142255 DOI: 10.2174/1871530319666190529092555]
23 Zhang D, Hao J, Yang N. Protein C and D-dimer are related to portal vein thrombosis in patients with liver cirrhosis. *J Gastroenterol Hepatol* 2010; 25: 116-121 [PMID: 19686413 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2009.05921.x]
24 Hung HC, Lee JC, Cheng CH, Wang YC, Wu TH, Lee CF, Wu TJ, Chou HS, Chan KM, Lee WC. Protein S for Portal Vein Thrombosis in Cirrhotic Patients Waiting for Liver Transplantation. *J Clin Med* 2020; 9 [PMID: 32326024 DOI: 10.3390/jcm9041181]
25 Kirkeby MH, Larsen JB, Grønbaek H, Hvas AM. Thrombophilia testing in patients with portal vein thrombosis. *Scand J Clin Lab Invest* 2020; 80: 694-698 [PMID: 33026843 DOI: 10.1080/00365513.2020.1827289]
26 Hidaka H, Kokubu S, Sato T, Katsushima S, Izumi N, Igura T, Asahara S, Notsumata K, Osaki Y, Tsuji K, Kawanaka H, Akahoshi T, Hirota S, Matsutani S; NPB-06 study group. Antithrombin III for portal vein thrombosis in patients with liver disease: A randomized, double-blind, controlled trial. *Hepatol Res* 2018; 48: E107-E116 [PMID: 28666312 DOI: 10.1111/hepr.12934]
27 Imai H, Egawa H, Kajiwara M, Nakajima A, Ogura Y, Hatano E, Ueda M, Kawaguchi Y, Kaido T, Takada Y, Uemoto S. Resolution of preoperative portal vein thrombosis after administration of antithrombin III in living donor liver transplantation: case report. *Transplant Proc* 2009; 41: 3931-3933 [PMID: 19917415 DOI: 10.1016/j.transproceed.2008.10.104]
28 Hirata Y, Sanada Y, Omameuda T, Katano T, Miyahara G, Yamada N, Okada N, Onishi Y, Sakuma Y, Sata N. Antithrombin III treatment for portal vein thrombosis after living donor liver transplantation: a case report. *Surg Case Rep* 2020; 6: 159 [PMID: 32621097 DOI: 10.1186/s40792-020-00920-y]
29 Webster CR. Hemostatic Disorders Associated with Hepatobiliary Disease. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2017; 47: 601-615 [PMID: 28034472 DOI: 10.1016/j.cvsm.2016.11.009]
30 Rijken DC, Kock EL, Guimarães AH, Talens S, Darwish Murad S, Janssen HL, Leebeek FW. Evidence for an enhanced fibrinolytic capacity in cirrhosis as measured with two different global fibrinolysis tests. *J Thromb Haemost* 2012; 10: 2116-2122 [PMID: 22906184 DOI: 10.1111/j.1538-7836.2012.04901.x]
31 Kujovich JL. Hemostatic defects in end stage liver disease. *Crit Care Clin* 2005; 21: 563-587 [PMID: 15992673 DOI: 10.1016/j.ccc.2005.03.002]
32 Rossetto V, Spiezia L, Senzolo M, Rodriguez-Castro KI, Gavasso S, Woodhams B, Simioni P. Does decreased fibrinolysis have a role to play in the development of non-neoplastic portal vein thrombosis in patients with hepatic cirrhosis? *Intern Emerg Med* 2014; 9: 397-403 [PMID: 23504244 DOI: 10.1007/s11739-013-0929-7]
33 Kumar M, Ahmad J, Maiwall R, Choudhury A, Bajpai M, Mitra LG, Saluja V, Mohan Agarwal P, Bihari C, Shasthry SM, Jindal A, Bhardwaj A, Kumar G, Sarin SK. Thromboelastography-Guided Blood Component Use in Patients With Cirrhosis With Nonvariceal Bleeding: A Randomized Controlled Trial. *Hepatology* 2020; 71: 235-246 [PMID: 31148204 DOI: 10.1002/hep.30794]
34 Shin KH, Kim IS, Lee HJ, Kim HH, Chang CL, Hong YM, Yoon KT, Cho M. Thromboelastographic Evaluation of Coagulation in Patients With Liver Disease. *Ann Lab Med* 2017; 37: 204-212 [PMID: 28224766 DOI: 10.3343/alm.2017.37.3.204]
35 Kohli R, Shingina A, New S, Chaturvedi S, Benson A, Biggins SW, Bambha K. Thromboelastography Parameters Are Associated with Cirrhosis Severity. *Dig Dis Sci* 2019; 64: 2661-2670 [PMID: 30915655 DOI: 10.1007/s10620-019-05597-4]
36 Nekisa Zakeri, Laura Iogna Prat, David Patch, Dominic Yu, Avik Majumdar, Clare Melikian, Emmanuel Tsochatzis. Thromboelastography demonstrates a hypercoagulable profile in cirrhosis and correlates with liver disease severity. *Gut* 2019; 68: A132-A133 [DOI: 10.1136/gutjnl-2019-BSGAbstracts.250]
37 Huang X, Fan X, Zhang R, Jiang S, Yang K, Chen S. Systemic inflammation and portal vein thrombosis in cirrhotic patients with gastroesophageal varices. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2020; 32: 401-405 [PMID: 31356372 DOI: 10.1097/MEG.0000000000001526]

38 Zocco MA, Di Stasio E, De Cristofaro R, Novi M, Ainora ME, Ponziani F, Riccardi L, Lancellotti S, Santoliquido A, Flore R, Pompili M, Rapaccini GL, Tondi P, Gasbarrini GB, Landolfi R, Gasbarrini A. Thrombotic risk factors in patients with liver cirrhosis: correlation with MELD scoring system and portal vein thrombosis development. *J Hepatol* 2009; 51: 682-689 [PMID: 19464747 DOI: 10.1016/j.jhep.2009.03.013]

39 Stine JG, Wang J, Shah PM, Argo CK, Intagliata N, Uflacker A, Caldwell SH, Northup PG. Decreased portal vein velocity is predictive of the development of portal vein thrombosis: A matched case-control study. *Liver Int* 2018; 38: 94-101 [PMID: 28632958 DOI: 10.1111/liv.13500]

40 Xu X, Guo X, De Stefano V, Silva-Junior G, Goyal H, Bai Z, Zhao Q, Qi X. Nonselective beta-blockers and development of portal vein thrombosis in liver cirrhosis: a systematic review and meta-analysis. *Hepatol Int* 2019; 13: 468-481 [PMID: 31175581 DOI: 10.1007/s12072-019-09951-6]

41 Xu X, Xu S, Primignani M, De Stefano V, He Y, Yi F, Guo X, Valla D, Qi X. Nonselective β-Blockers May Progress the Thrombosis of Portal Venous System in Cirrhotic Patients: A Retrospective Observational Study. *Adv Ther* 2020; 37: 1452-1463 [PMID: 32076942 DOI: 10.1007/s12325-020-01250-z]

42 李陈婕, 羊志辉, 施小六, 卢放根, 刘德良. 肝硬化门静脉血栓形成危险因素的Meta分析. 世界华人消化杂志 2017; 3: 241-251

43 Sakamoto Y, Sakai M, Watari T. Portal Vein/Aorta Ratio in Dogs with Acquired Portosystemic Collaterals. *J Vet Intern Med* 2017; 31: 1382-1387 [PMID: 28804949 DOI: 10.1111/jvim.14802.]

44 Lin GS, Xu Q, Zhao SY, Zhang YX. [Clinical features of liver cirrhosis complicated by portal vein thrombosis and related risk factors]. *Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi* 2016; 24: 513-517 [PMID: 27784429 DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-3418.2016.07.006]

45 Margini C, Berzigotti A. Portal vein thrombosis: The role of imaging in the clinical setting. *Dig Liver Dis* 2017; 49: 113-120 [PMID: 27965037 DOI: 10.1016/j.dld.2016.11.013]

46 Hepatobiliary Disease Study Group, Chinese Society of Gastroenterology, Chinese Medical Association. Consensus for management of portal vein thrombosis in liver cirrhosis (2020, Shanghai). *J Dig Dis* 2021; 22: 176-186 [PMID: 33470535 DOI: 10.1111/1751-2980.12970]

47 Qi X, Guo X, Yoshida EM, Méndez-Sánchez N, De Stefano V, Tacke F, Mancuso A, Sugawara Y, Yang SS, Teschke R, Arora A, Valla DC. Transient portal vein thrombosis in liver cirrhosis. *BMC Med* 2018; 16: 83 [PMID: 29871683 DOI: 10.1186/s12916-018-1069-8]

48 Noronha Ferreira C, Reis D, Cortez-Pinto H, Tato Marinho R, Gonçalves A, Palma S, Leite I, Rodrigues T, Pedro AJ, Alexandrino P, Serejo F, Sobral Dias M, Ferreira P, Vasconcelos M, Damião F, Xavier Brito L, Baldaia C, Fatela N, Ramalho F, Velosa J. Anticoagulation in Cirrhosis and Portal Vein Thrombosis Is Safe and Improves Prognosis in Advanced Cirrhosis. *Dig Dis Sci* 2019; 64: 2671-2683 [PMID: 30852769 DOI: 10.1007/s10620-019-05572-z]

49 Intagliata NM, Davis JPE, Caldwell SH. Coagulation Pathways, Hemostasis, and Thrombosis in Liver Failure. *Semin Respir Crit Care Med* 2018; 39: 598-608 [PMID: 30485890 DOI: 10.1055/s-0038-1673658]

50 Senzolo M, M Sartori T, Rossetto V, Burra P, Cillo U, Boccagni P, Gasparini D, Miotto D, Simioni P, Tsochatzis E, A Burroughs K. Prospective evaluation of anticoagulation and transjugular intrahepatic portosystemic shunt for the management of portal vein thrombosis in cirrhosis. *Liver Int* 2012; 32: 919-927 [PMID: 22435854 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2012.02785.x]

51 Rodriguez-Castro KI, Vitale A, Fadin M, Shalaby S, Zerbinati P, Sartori MT, Landi S, Pettinari I, Piscaglia F, Han G, Burra P, Simioni P, Senzolo M. A prediction model for successful anticoagulation in cirrhotic portal vein thrombosis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2019; 31: 34-42 [PMID: 30188408 DOI: 10.1097/MEG.0000000000001237]

52 Benmassaoud A, AlRubaiy L, Yu D, Chowdary P, Sekhar M, Parikh P, Finkel J, See TC, O'Beirne J, Leithead JA, Patch D. A stepwise thrombolysis regimen in the management of acute portal vein thrombosis in patients with evidence of intestinal ischaemia. *Aliment Pharmacol Ther* 2019; 50: 1049-1058 [PMID: 31489698 DOI: 10.1111/apt.15479]

53 Luca A, Miraglia R, Caruso S, Milazzo M, Sapere C, Maruzzelli L, Vizzini G, Tuzzolino F, Gridelli B, Bosch J. Short- and long-term effects of the transjugular intrahepatic portosystemic shunt on portal vein thrombosis in patients with cirrhosis. *Gut* 2011; 60: 846-852 [PMID: 21357252 DOI: 10.1136/gut.2010.228023]

54 Rodrigues SG, Sixt S, Abraldes JG, De Gottardi A, Klinger C, Bosch J, Baumgartner I, Berzigotti A. Systematic review with meta-analysis: portal vein recanalisation and transjugular intrahepatic portosystemic shunt for portal vein thrombosis. *Aliment Pharmacol Ther* 2019; 49: 20-30 [PMID: 30450634 DOI: 10.1111/apt.15044]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: https://www.baishideng.com

www.wjgnet.com

世界华人消化杂志 2021年6月28日; 29(12): I-V

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

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学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学事业的发展, 提高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:

7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA

E-mail: wcjd@wjgnet.com

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

https://www.wjgnet.com

Telephone: +1-925-3991568

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

E-mail: 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》编辑部主任王金磊, 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

E-mail: j.l.wang@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, *T*1/2不能写成tl/2或T, *V*max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, 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, ℃), *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), *j* (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*max, *C*max, *V*d, *T*1/2 *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 kD改为*M*r 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*r (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+、一及-后列出, 在±前后均要列出, 如37.6 ℃±1.2 ℃, 45.6岁±24岁, 56.4 d±0.5 d. 3.56±0.27 pg/ml应为3.56 ng/L±0.27 ng/L. BP用kPa (mmHg), RBC数用1×10^{12}/L, WBC数用1×10^{9}/L, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L. *M*r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_2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、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸用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1×10^{-3} g与5×10^{-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_2应为50 mL/L CO_2; 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 = 45×10^{-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χ^2; (4)样本的相关系数用英文小写*r*; (5)自由度用希文小写υ; (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$^aP<0.05$或$^bP<0.01$($P>0.05$不注). 如同一表中另有一套*P*值, 则用$^cP<0.05$和$^dP<0.01$; 第三套为$^eP<0.05$和$^fP<0.01$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 ofMedical 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志谢中. 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^{a}P<0.05或^{b}P<0.01(*P*>0.05不注). 如同一表中另有一套*P*值, 则用^{c}P<0.05和^{d}P<0.01; 第3套为^{e}P<0.05和^{f}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*/min, *c*/(mol/L), *p*/kPa, *V*/mL, *t*/℃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[2-5]认为……; PCR方法敏感性高[6-7]. 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**
7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton,
CA 94566, USA
Telephone: +1-925-3991568
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
https://www.wjgnet.com

ISSN 1009-3079

© 2021 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.